

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**ATIVAÇÃO DO SUBTIPO DE RECEPTOR 5-HT_{1A} DO
NÚCLEO PARAVENTRICULAR DO HIPOTÁLAMO SOBRE A
INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO.**

Patrícia de Souza Villa

São Carlos
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**ATIVÇÃO DO SUBTIPO DE RECEPTOR 5-HT_{1A} DO
NÚCLEO PARAVENTRICULAR DO HIPOTÁLAMO SOBRE A
INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO.**

Patrícia de Souza Villa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos como requisito para obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas, área de concentração Fisiologia.

São Carlos
2006

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

V712as

Villa, Patrícia de Souza.

Ativação do subtipo de receptor 5-HT_{1A} do núcleo paraventricular do hipotálamo sobre a ingestão de água e sódio / Patrícia de Souza Villa. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

89 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Neurofisiologia. 2. Ingestão de água e sódio. 3. Serotonina. 4. Núcleo paraventricular do hipotálamo. 5. 5-HT_{1A}. I. Título.

CDD: 612.8 (20^a)

Orientador
Prof. Dr. Luiz Antônio de Arruda Camargo

“A verdadeira ciência leva os
homens a se curvar diante de Deus.”

(Voltaire)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Luiz Antônio de Arruda Camargo, pela oportunidade de ingressar no mestrado e pela sua orientação.

Ao Prof. José Vanderlei Menani, pelo auxílio, conselhos e ensinamentos. Por estar sempre disponível a ajudar. Por ser um exemplo profissional.

A Profa. Patrícia Maria de Paula pelas importantes sugestões e dicas.

Aos outros professores do Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, que sempre dispostos a ajudar, muito me auxiliaram e ensinaram.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas que muito contribuíram para minha formação.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, pela amizade, pelo estímulo diário e por toda contribuição científica.

A todos os funcionários do Laboratório de Fisiologia, Ana Victor, Silas P. Barbosa, Reginaldo C. Queiroz, Sílvia Fógliã e Silvana A. D. Malavolta por todo auxílio e toda dedicação ao me ajudarem no desenvolvimento desta dissertação.

A todos que contribuíram meus sinceros agradecimentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus por mais esta realização em minha vida.

A meus pais, que sempre me apoiaram e encorajaram a lutar pelos meus objetivos. Por estarem sempre presentes em minha vida, apesar da distância. Por todo esforço e dedicação para me verem realizada. Pelo amor incondicional que sempre me trouxe coragem para continuar. Por serem o meu alicerce e a minha referência.

A minha querida e única irmã, que sempre torceu por mim. Agradeço pelas suas orações e por sua amizade.

Ao meu querido noivo Leo, pela sua companhia, por estar sempre ao meu lado, presente, me apoiando e me estimulando. Obrigada pelos seus conselhos, pela sua compreensão, e principalmente, pelo seu amor.

RESUMO

O núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV) tem uma importante participação no controle do balanço hidroeletrólítico estando envolvido também na regulação da ingestão de água e sódio. Pesquisas recentes mostraram a presença de receptores do tipo 5-HT₁ no sistema nervoso central, destacando-se os subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} e 5-HT_{1D}. O receptor 5-HT_{1A} foi um dos primeiros a ser identificado e é encontrado nas formas somatodendrítica e pós-sináptica. Estudos anteriores demonstraram o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} do NPV do hipotálamo no controle do equilíbrio hidroeletrólítico. Portanto, os objetivos deste estudo foram: a) investigar os efeitos de injeções bilaterais de serotonina (5-HT) no NPV sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica e sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio; b) investigar os efeitos da injeção de 8-OH-DPAT, agonista 5-HT_{1A}, no NPV sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica e sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio; c) investigar a ação do pMPPF, antagonista 5-HT_{1A}, no NPV sobre os efeitos da 5-HT e do 8-OH-DPAT na ingestão de água e NaCl 1,8%. Ratos Holtzman (280-320 g) foram submetidos ao implante de cânulas bilateralmente no NPV. Utilizando-se o bregma foram determinados os pontos de introdução das cânulas de aço inoxidável conforme as seguintes coordenadas: 1,8 mm caudal ao bregma, 0,6 mm lateral à linha mediana e 5,0 mm abaixo da dura-máter. Os seguintes resultados foram obtidos: Injeções de 5-HT (10, 20, 40 e 50 µg/ 0,2 µl) no NPV reduziram a ingestão de água (13,4±2,0; 12,6±1,3; 12,9±1,0 e 9,0±2,9 ml/ 30 min vs. sal: 18,4±0,8 ml/ 30 min, respectivamente, n = 6-8) e nas doses 10 e 20 µg/ 0,2 µl reduziram a ingestão de NaCl 1,8% (7,9±3,0 e 9,0±2,1 ml/ 30 min, respectivamente, vs. sal: 17,7±1,8 ml/ 30 min, n = 7). Injeções de 8-OH-DPAT (1,0; 2,5 e 5,0 µg/ 0,2 µl) no NPV reduziram a ingestão de água (15,4±1,3; 14,8±1,2 e 14,2±0,9 ml/ 120 min, respectivamente, vs. sal: 19,1±1,0 ml/ 120 min, n=10) e nas doses de 2,5 µg e 5 µg reduziram também a ingestão de NaCl 1,8% (12,4±2,7 ml/ 60 min vs. sal: 19,3±1,0 ml/ 60 min; 12,2±1,8 ml/ 120 min vs. sal: 20,2±1,0 ml/ 120 min, respectivamente, n=9). Injeções bilaterais de pMPPF (antagonista 5-HT_{1A}) prévias as injeções de 8-OH-DPAT bloquearam completamente o seu efeito inibitório sobre a ingestão de água (sal+DPAT: 13,8±1,1 ml/ 90 min vs. pMPPF+DPAT: 16,4±1,1 ml/ 90 min, n=12) e NaCl 1,8% (sal+DPAT: 11,4±2,9 ml/ 30 min vs. pMPPF+DPAT: 17,6±1,7 ml/ 30 min, n=8). O antagonista 5-HT_{1A} reduziu parcialmente o efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica (sal+5-HT: 5,9±1,6 ml/ 30 min vs. pMPPF+5-HT: 12,3±1,1 ml/ 30 min, n=12) e sobre a ingestão de sódio induzida por depleção (sal+5-HT: 2,8±1,3 ml/ 30 min vs. pMPPF+5-HT: 12,3±1,9 ml/ 30 min, n=15). O antagonista pMPPF administrado isoladamente no NPV não alterou a ingestão de água e NaCl 1,8%. Esses resultados demonstram a existência de mecanismos serotoninérgicos no NPV do hipotálamo inibitórios da ingestão de água e sódio e a participação dos receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos no controle da ingestão de água induzida por privação hídrica e ingestão de sódio induzida por depleção de sódio, e que este receptor não possui efeito inibitório tônico sobre estes comportamentos. Foi demonstrado também que outros subtipos de receptores serotoninérgicos do NPV do hipotálamo estão envolvidos no controle da dipsogênese e natriorexigênese.

ABSTRACT

Hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) has an important role in the hydroelectrolytic balance and it also participates in the regulation of water and sodium intake. Recent researches described the presence of 5-HT₁ receptors in the central nervous system, standing out the subtypes 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} and 5-HT_{1D}. The receptor 5-HT_{1A} was one of the firsts to be identified and it is found in the somatodendritic and pos-synaptic forms. It has been showed the participation of PVN 5-HT_{1A} receptor in the hydroelectrolytic balance. Therefore, the aim of this study was: a) To investigate the effects of bilateral injections of serotonin (5-HT) in the PVN about water intake induced by water deprivation and water and 1.8% NaCl intake induced by sodium depletion; b) To investigate the effects of 8-OH-DPAT injection, an 5-HT_{1A} agonist, in the PVN about water intake induced by water deprivation and water and 1.8% NaCl intake induced by sodium depletion; c) To investigate the action of pMPPF, an 5-HT_{1A} antagonist, into the PVN on the effects of 5-HT and 8-OH-DPAT on the water and 1.8% NaCl intake. Holtzman rats (280-320 g) were submitted to the implant of cannulas bilaterally in the PVN. For the implant, the animals were adapted to a stereotaxic apparatus. Using the bregma, introduction points of the stainless steel cannulas were identified according to the coordinates: 1.8 mm caudal to bregma, 0.6 mm lateral to the midline and 5.0 mm below dura mater. 5-HT injections (10, 20, 40 and 50 µg/ 0.2 µl) in the PVN reduced the water intake (13.4±2.0; 12.6±1.3; 12.9±1.0 and 9.0±2.9 ml/ 30 min vs. sal: 18.4±0.8 ml/ 30 min, respectively, n = 6-8) and the doses 10 and 20 µg/ 0.2 µl reduced the 1.8% NaCl intake (7.9 ± 3.0 and 9.0 ± 2.1 ml/ 30 min, respectively, vs. sal: 17.7 ± 1.8 ml/ 30 min, n = 7). 8-OH-DPAT injections (1.0, 2.5 and 5.0 µg/ 0.2 µl) in the PVN reduced the water intake (15.4 ± 1.3; 14.8 ± 1.2 and 14.2 ± 0.9 ml/ 120 min vs. sal: 19.1 ± 1.0 ml/ 120 min, n = 10) and the doses 2.5 µg and 5 µg also reduced 1.8% NaCl intake (12.4 ± 2.7 ml/ 60 min vs. sal: 19.3 ± 1.0 ml/ 60 min; 12.2 ± 1.8 ml/ 120 min vs. sal: 20.0 ± 1.0 ml/ 120 min, respectively, n = 9). pMPPF bilateral injections (5-HT_{1A} antagonist) preview to 8-OH-DPAT injections have completely blocked the inhibitory effect over water intake (sal + DPAT: 13.8 ± 1.1 ml/ 90 min vs. pMPPF + DPAT: 16.4 ± 1.1 ml/ 90 min, n = 12) and 1.8% NaCl (sal + DPAT: 11.4 ± 2.9 ml/ 30 min vs. pMPPF + DPAT: 17.6 ± 1.7 ml/ 30 min, n = 8). 5-HT_{1A} antagonist partially reduced the inhibitory effect of 5-HT on water intake induced by water deprivation (sal+5-HT: 5.9±1.6 ml/ 30 min vs. pMPPF+5-HT: 12.3±1.1 ml/ 30 min, n=12) as well as on sodium intake induced by sodium depletion (sal+5-HT: 2.8±1.3 ml/ 30 min vs. pMPPF+5-HT: 12.3±1.9 ml/ 30 min, n=15). Our results demonstrate the presence of serotonergic mechanisms in PVN inhibiting water and sodium intake and also the participation of pos-synaptic 5-HT_{1A} receptors on water intake control induced by water deprivation and on sodium intake induced by sodium depletion, and that this receptor doesn't have a tonic inhibitory effect. This work also showed others subtypes serotonergic PVN receptors participating in the dipsogenesis and natriorexigenesis control.

ABREVIATURAS

ANG II: angiotensina II

ACTH: corticotropina

AV3V: região ântero-ventral do terceiro ventrículo

CRH: hormônio liberador da corticotropina

EPM: erro padrão da média

Furo-cap: furosemida sc associada a inibidor da enzima conversora de angiotensina, captopril

GABA: ácido γ -aminobutírico

icv: intracerebroventricular

ip: intraperitoneal

NaCl: cloreto de sódio

NDR: núcleo dorsal da rafe

NMR: núcleo mediano da rafe

NE: norepinefrina

NPBL: núcleo parabraquial lateral

NPV: núcleo paraventricular

NPY: neuropeptídeo Y

NTS: núcleo do trato solitário

OSF: órgão subfornical

PCPA: p-clorofenilalanina

sc: subcutâneo

SNC: sistema nervoso central

5-HT: serotonina (5- hidroxitriptamina)

8-OH-DPAT: 8-hidroxi-2-(dipropilamina)tetralina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 - Animais.....	22
3.2 - Implante das cânulas bilateralmente no NPV.....	22
3.3 - Injeção de substâncias no cérebro.....	22
3.4 - Substâncias utilizadas.....	23
3.5 - Indução e medida da ingestão de água - Privação Hídrica.....	23
3.6 - Indução e medida da ingestão de água e NaCl 1,8%. - Depleção de Sódio.....	23
3.7 - Análise Histológica.....	24
3.8 - Análise Estatística.....	24
4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	25
4. 1 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	25
4. 2 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	25
4. 3 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	26
4.4 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	27
4.5 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF isoladas e seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	27
4.6 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF isoladas e seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	28
4.7 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	29
4.8 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	29

5. RESULTADOS	30
5.1 – Análise histológica.....	30
5.2 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	31
5.3 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	32
5.4 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.....	34
5.5 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	35
5.6 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica	37
5.7 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	39
5.8 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica	41
5.9 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.....	42
5. 10 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT e 8-OH-DPAT em áreas diversas adjacentes ao NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzidas por privação hídrica e por depleção de sódio, respectivamente, vinte e quatro horas antes do experimento.....	44
6. DISCUSSÃO	48
7. BIBLIOGRAFIA	56
ANEXOS.....	63

1-INTRODUÇÃO

A água e o sódio são componentes importantes para o controle da homeostase. A manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico é de extrema importância para a constância do meio interno, condição básica para a funcionalidade dos diferentes órgãos e sistemas. Os mecanismos homeostáticos envolvem ajustes no volume de água e de íons ingeridos e excretados, por meio de regulações neuroendócrinas comportamentais. O processo da sede e da ingestão de sódio, bem como a excreção de água e eletrólitos, são regulados ao nível central por um circuito neural complexo. Assim, tanto o comportamento de ingestão de água quanto de sódio são críticos para a correção do volume dos líquidos extracelular e intracelular para assegurar uma osmolalidade normal (KAWAKO et al., 1992; THUNHORST e FITTS, 1994; THUNHORST e JOHNSON, 1994).

Essas respostas comportamentais a perda de líquidos corporais juntamente com reflexos e respostas neurais e endócrinas também são críticas para se restabelecer a homeostasia. Assim como essas respostas endócrinas e neurais, esses comportamentos estão sob o controle de influências ascendentes tanto excitatórias quanto inibitórias de alterações na osmolaridade, fatores endócrinos como a angiotensina e aldosterona, e sinais neurais de barorreceptores de baixa e alta pressão. As influências excitatórias e inibitórias que alcançam o encéfalo requerem a capacidade integrativa do sistema neural que inclui estruturas como a lâmina terminal, a amígdala, a área perifornical, o núcleo paraventricular (NPV), o núcleo parabraquial lateral (NPBL), o núcleo do trato solitário (NTS) e a área postrema. Essas regiões recebem aferências sensoriais e processam as informações relacionadas ao balanço hidromineral. Osmorreceptores que controlam a sede estão localizados nas vísceras e em estruturas centrais livres da barreira hemato-encefálica, por exemplo, o órgão sub-fornical (OSF). A angiotensina e a aldosterona agem em estruturas da lâmina terminal e na amígdala para estimular a sede e o apetite ao sódio em condições de hipovolemia (JOHNSON e THUNHORST, 1997).

Técnicas neuroanatômicas e métodos de mapeamento funcional, como lesão, estimulação elétrica, ativação metabólica, e expressão de genes tem indicado numerosas estruturas encefálicas envolvidas no processamento de informações sistêmicas relacionadas ao volume intra e extracelular e pressão arterial (JOHNSON e THUNHORST, 1997). As mais importantes dentre essas regiões são (figura 1): área postrema, NTS, medula rostroventrolateral e caudoventrolateral, NPBL, OSF, região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V), região ventral do núcleo pré-óptico mediano, órgão vasculoso da lâmina

terminal, núcleo pré-óptico periventricular, região magnocelular e parvocelular do NPV, núcleo supra-óptico, núcleos central e medial da amígdala, hipotálamo lateral/ região perifornical, hipotálamo dorsomedial e ventromedial, estria terminal, zona incerta, lócus ceruleus, complexo do vago motor dorsal e coluna intermediolateral da medula espinhal (JOHNSON e THUNHORST, 1997).

Muitos neurotransmissores/ neuromoduladores associados à rede neural relacionada ao controle dos fluídos corporais foram identificados: glutamato, ácido γ -aminobutírico (GABA), acetilcolina, norepinefrina, serotonina (5-HT), angiotensina II (ANG II), vasopressina, ocitocina e hormônio liberador de corticotropina (CRH). Destes, a ocitocina e a 5-HT são agentes neuroquímicos com ação central inibitória e com papéis essenciais na integração dos impulsos sensoriais com a rede neural responsável pela manutenção do balanço hidromineral (JOHNSON e THUNHORST, 1997).

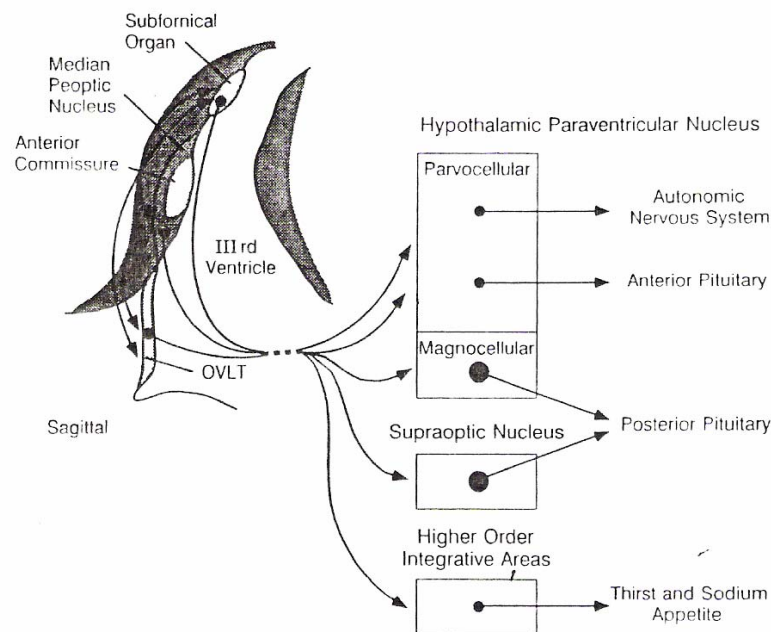


Figura 1: Órgãos circunventriculares associados à lâmina terminal e projeções descendentes para regiões anteriores do encéfalo envolvidas no controle autonômico, neuroendócrino e comportamental da regulação cardiovascular e da homeostase. OVL: órgão vasculoso da lâmina terminal (JOHNSON e THUNHORST, 1997).

O hipotálamo e as áreas periventriculares apresentam uma rede neuronal complexa, que recebem aferências de diversas regiões do cérebro. Essas áreas desempenham

importante papel integrador das informações recebidas e, através de eferências, proporcionam ajustes nos sistemas simpático, parassimpático, neuroendócrino e comportamental que mantém a homeostasia (JOHNSON et al., 1991).

Diversos estudos têm mostrado que o NPV do hipotálamo é uma área central de extrema importância na regulação da ingestão de água e sódio e no balanço dos líquidos e eletrólitos (SWANSON e SAWCHENKO, 1980; JENSEN et al, 1992; TANAKA et al., 2001, 2002). Os receptores do NPV envolvidos nessas funções são angiotensinérgicos (CAMARGO e SAAD, 1999; JENSEN et al., 1992), catecolaminérgicos (STADLER et al., 1992) e vasopressinérgicos (CAMARGO e SAAD, 2001; CAMARGO et al., 2003). O NPV também possui receptores serotoninérgicos que interferem na regulação da síntese do CRH (LIPOSITS et al., 1987) e na secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que, por sua vez, possui importante papel na regulação do metabolismo hídrico (PAN e GILBERT, 1992). Assim, a participação de diversos núcleos celulares do NPV é ampla e de relevância na regulação hídrica-cardiovascular (JENSEN et al., 1992).

Assim, o NPV constitui-se num importante centro de integração neuroendócrina (BADOER, 1996). Pode ser dividido em 8 subnúcleos distintos, sendo 3 subnúcleos magnocelulares e 5 subnúcleos parvocelulares (SWANSON e SAWCHENKO, 1980). As porções magnocelulares são constituídas por neurônios grandes, secretores de vasopressina e de ocitocina, que se projetam para a hipófise posterior (figura 2), onde estes hormônios são liberados na circulação. A porção parvocelular está relacionada principalmente com as vias neurais envolvidas no controle da atividade simpática. É constituída de neurônios pequenos, que se projetam para a eminência média (figura 2) liberando fatores que influenciam a liberação de hormônios da hipófise anterior, portanto relacionados à liberação de hormônios hipotalâmicos reguladores. Outros neurônios parvocelulares se projetam para numerosas regiões do sistema nervoso central (SNC) como o tronco cerebral e medula espinhal, incluindo diversas estruturas envolvidas no controle cardiovascular e no equilíbrio hidroeletrólítico (SWANSON e SAWCHENKO, 1980; KISS, 1988; BADOER, 1996).

A porção magnocelular do NPV é envolta pela porção parvocelular que se projeta para a eminência média e se interconecta através de vias bidirecionais com grupos de células autonômicas do tronco cerebral e medula espinhal. Evidências morfológicas sugerem que as populações neuronais do NPV, essencialmente separadas, estão envolvidas no controle de mecanismos neuroendócrinos tanto ao nível posterior quanto anterior (através da eminência média) da glândula pituitária, e nos mecanismos autonômicos simpáticos e parassimpáticos (SWANSON e SAWCHENKO, 1980; SAWCHENKO e SWANSON, 1983).

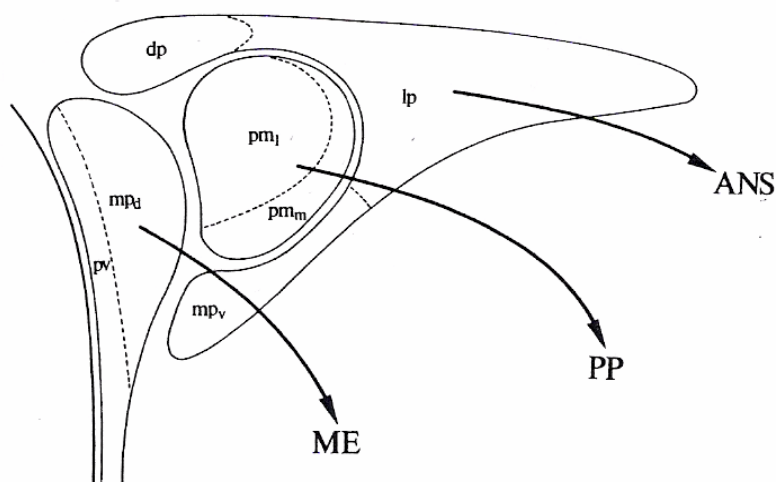


Figura 2: Representação esquemática da relação entre as divisões citoarquitetônicas e funcionais do NPV. Os três maiores grupos funcionais se projetam para a eminência média (ME), para o lobo posterior da glândula pituitária (PP) e para grupos celulares autonômicos pré-ganglionares no tronco cerebral e medula espinhal (ANS) (dp - região parvocelular dorsal; lp - região parvocelular lateral; mpv - região parvocelular ventromedial; mpd - região parvocelular dorsomedial; pv - região periventricular; pml - região magnocelular posterior lateral; pmm - região magnocelular posterior medial) (SAWCHENKO e SWANSON, 1983).

A divisão parvocelular recebe densas projeções da maioria dos grupos celulares do hipotálamo e estas projeções terminam preferencialmente em mais de uma das cinco divisões definidas anatomicamente e funcionalmente. Estas vias ascendem das partes lateral, medial, mediana e periventricular da região pré-óptica, dos núcleos supraquiasmático, ventromedial, dorsomedial, pré-mamilar, e supra-mamilar e das áreas hipotalâmicas anterior, retroquiasmática, lateral e posterior (SAWCHENKO e SWANSON, 1983). O OSF e a estria terminal também se projetam fortemente para várias partes do NPV (SAWCHENKO e SWANSON, 1983). Além destas, o NPV recebe projeções do NPV contralateral e do núcleo supra-óptico ipsilateral (SILVERMAN et al., 1981).

Relativamente poucas projeções destas estruturas se projetam para a divisão magnocelular do NPV, destacando-se o núcleo dorsomedial do hipotálamo, núcleo pré-óptico mediano, OSF e estria terminal. Estes grupos celulares inervam preferencialmente a parte

ocitocinérgica (dorsomedial e estria terminal) ou vasopressinérgica (OSF) da porção magnocelular do NPV (SAWCHENKO e SWANSON, 1983).

Informações sensoriais do nervo vago e glossofaríngeo alcançam o NPV através de vias diretas. Foi demonstrado autorradiograficamente que o NTS e o núcleo parabraquial, se projetam diretamente ao NPV. Estas projeções inervam preferencialmente a porção parvocelular deste núcleo (SWANSON e SAWCHENKO, 1980).

Dentre estas áreas com as quais o NPV tem conexões, no controle do balanço hidroeletrólítico destacam-se o OSF e os núcleos da rafe (MCKINLEY et al., 1990; PETERSEN et al., 1989). Há evidências experimentais de vias neurais do OSF, um sítio alvo para a ANG II circulante, para o NPV que participa na regulação do balanço hidroeletrólítico e funções cardiovasculares (MCKINLEY et al., 1990). Destruição do NPV ou inativação do sistema angiotensinérgico ou noradrenérgico do NPV resulta na redução de respostas pressoras e dipsogênicas à estimulação elétrica ou química (ANG II) do OSF. Ativação de vias eferentes do OSF proporciona um aumento na liberação de noradrenalina no NPV (TANAKA et al., 2001). Esta via parece ser mais importante para o mecanismo de indução da sede.

Evidências de estudos autorradiográficos indicam a existência de projeções ascendentes dos núcleos mesencefálicos da rafe para o NPV. Estes grupos de células mesencefálicas enviam projeções serotoninérgicas principalmente para a porção parvocelular do NPV. Estas fibras localizam-se preferencialmente nas partes mediais da divisão parvocelular (principalmente periventricular), onde células se projetam para a eminência média, e contém substâncias hipofisiotrópicas como a somatostatina, CRH, e dopamina (SAWCHENKO et al., 1983).

Existem sete famílias e pelo menos 14 subtipos de receptores da 5-HT (5-hidroxitriptamina) identificados no sistema nervoso central de mamíferos (SAUDOU e HEN, 1994; BARNES e SHARPE, 1999). Estudos autorradiográficos mostram uma diferença regional desses subtipos dentro do cérebro. Dentre esses subtipos, os subtipos 5-HT_{1A} e o 5-HT_{1B}, têm recebido maior atenção como possíveis alvos para drogas usadas na ansiedade e depressão (ASE et al., 2000). O subtipo 5-HT_{1A} está principalmente concentrado em diversos sítios centrais dentre eles o hipotálamo (PASOS et al., 1998). Farmacologicamente, os receptores 5-HT_{1A} são os melhores caracterizados da família 5-HT pela existência de uma grande variedade de agonistas seletivos. Eles são encontrados no SNC na forma somatodendrítica e pós-sináptica (FELDMAN et al., 1997). Na forma somatodendrítica

caracterizam-se por agir como autorreguladores da liberação de 5-HT, controlando sua disponibilidade na fenda sináptica, conseqüentemente, inibindo a liberação de 5-HT.

Estudos fisiológicos, clínicos e farmacológicos documentaram importante participação do receptor 5-HT_{1A} em funções neuroendócrinas, termorregulação, cefaléias, comportamento sexual, ingestão de alimento, memória, sistema imune e distúrbios comportamentais como agressividade, depressão e ansiedade (RAYMOND et al, 1999). A molécula do receptor 5-HT_{1A} apresenta sete domínios transmembrânicos e é acoplada a uma proteína G (PUCADYIL et al, 2005). Em neurônios, os principais sinais que emanam do receptor 5-HT_{1A} são a inibição da adenilil-ciclase e a abertura de canais de potássio. Também foi demonstrada a inibição da corrente de cálcio e a ativação da fosfolipase C (RAYMOND et al., 1999).

Estudo de Sawchenko et al. (1983) identificou fibras serotoninérgicas imunorreativas no NPV, demonstrando que essas fibras são mais abundantes nas regiões periventricular, dorsal e ventromedial da porção parvocelular do NPV. Na porção magnocelular, a concentração de fibras serotoninérgicas é um pouco menor e se encontram preferencialmente localizadas onde há grande concentração de células ocitocinérgicas.

Há muitas evidências de que a 5-HT possui um papel importante no controle da ingestão de alimento e esta ação da 5-HT no NPV já está bem documentada (CURRIE et al., 1994; HUTSON et al., 1988; MANCILLA-DIAZ et al., 2005; SHOR-POSNER et al., 1986; SIMANSKY, 1996). A facilitação da neurotransmissão serotoninérgica está associada com a inibição dessa ingestão. Drogas que aumentam a atividade serotoninérgica, incluindo a 5-HT e seus precursores, como agonistas 5-HT e inibidores da sua recaptação promovem a redução da ingestão de alimento (CURRIE et al., 1994). Isto contrasta com o potente efeito estimulatório da norepinefrina (NE) quando infundida no NPV (CURRIE et al., 1994). Além disso, injeção de 5-HT no hipotálamo medial produz redução da ingestão de alimento induzida pela NE no NPV. A ingestão de alimento induzida pela infusão de NE é também reduzida pela administração de agonistas serotoninérgicos diretamente no NPV (CURRIE et al., 1994).

A administração de 5-HT no NPV não retarda o início da ingestão do alimento mas provoca a redução da duração e da proporção da refeição (SHOR-POSNER et al., 1986). A 5-HT também provoca aumento do intervalo entre as refeições. A ausência de efeito na latência para iniciar a ingestão após a injeção de 5-HT no NPV sugere que a 5-HT endógena influencia primariamente a finalização da alimentação (induz saciedade), ao invés de influenciar o seu início (supressão da fome) (SIMANSKY, 1996). Assim, sugere-se que o

NPV através de vias serotoninérgicas aumenta a saciedade (SHOR-POSNER et al., 1986; SIMANSKY, 1996). A preferência pelo tipo de dieta também é alterada com a administração de 5-HT no NPV, reduzindo a ingestão de alimentos ricos em carboidratos (SHOR-POSNER et al., 1986).

O agonista 5-HT_{1B}, RU24969, quando administrado sistemicamente ou infundido no NPV provoca hipofagia dose-dependente em ratos privados de alimento por 18 horas (HUTSON et al., 1988). Resultados semelhantes foram obtidos com o agonista 5-HT_{1B/1C}, TFMPP. A ingestão de alimento foi reduzida quando o agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, foi administrado sistemicamente em ratos privados de alimento, mas não houve alteração quando foi infundido no NPV de ratos privados de alimento e de ratos saciados (HUTSON et al., 1988). Mancilla-Diaz et al. (2005) administrou antagonistas 5-HT_{1A} (WAY-100635) e 5-HT_{1B} (SB 216641) previamente a injeções de 5-HT no NPV e verificou que o efeito hipofágico induzido pela 5-HT requer a ativação dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, e a contribuição específica destes receptores é diferente, sendo que o 5-HT_{1A} demonstra uma característica mais seletiva, reduzindo a ingestão de carboidrato.

Entretanto, vários estudos demonstraram que o agonista seletivo 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, administrado subcutaneamente (sc) e nos núcleos da rafe, aumenta a ingestão de alimento espontânea e induzida por NE (CURRIE et al. 1994; BENDOTTI e SAMANIN, 1985; DOURISH et al., 1985). Acredita-se que o 8-OH-DPAT aumenta a ingestão reduzindo a secreção de 5-HT através da estimulação de receptores 5-HT_{1A} somatodendríticos. Dourish et al. (1985) demonstraram também que doses elevadas de 8-OH-DPAT sc reduziram a ingestão de alimento em ratos privados de alimento por 24 horas. Assim, em baixas doses (60 µg/ Kg ou menos) o 8-OH-DPAT tem ação preferencial nos autorreceptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} que são responsáveis por aumentar a ingestão de alimento, enquanto em altas doses (125 µg/ kg ou mais) age predominantemente em receptores pós-sinápticos e reduzem a ingestão de alimento (DOURISH et al., 1985).

Mecanismos serotoninérgicos centrais estão também envolvidos na regulação da função do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. Neste sistema, o CRH é o maior regulador do ACTH e é sintetizado nos corpos neuronais do NPV e transportado pelos axônios para a eminência média onde é liberado para alcançar a glândula pituitária pelo sistema venoso portal. O ACTH controla a liberação dos hormônios adrenocorticais, que são os mineralocorticóides e glicocorticóides. Os mineralocorticóides, representados principalmente pela aldosterona, possuem ação fundamental no equilíbrio hidroeletrólítico. A aldosterona aumenta a reabsorção de sódio pelas células epiteliais tubulares renais, aumentando o volume do líquido extracelular e

conseqüente aumento da pressão arterial (GUYTON e HALL, 1996). Os impulsos para os neurônios produtores de CRH provavelmente são modulados em parte pela inervação serotoninérgica originada nos núcleos da rafe (PAN e GILBERT, 1992). Foi demonstrado que a injeção unilateral de 8-OH-DPAT, agonista 5-HT_{1A}, diretamente no NPV de ratos causa uma significativa elevação nos níveis de ACTH que é bloqueada pela administração sistêmica do antagonista pindolol (PAN e GILBERT, 1992; BAGDY e MAKARA, 1994). Este fato sugere que receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos medeiam respostas neuroendócrinas no NPV.

Poucos trabalhos na literatura exploram o papel da 5-HT do SNC no controle da ingestão de água e de sódio, e estão longe de serem conclusivos. Alguns estudos mostram que a 5-HT e agonistas serotoninérgicos exercem uma inibição da ingestão de água quando atuam centralmente (REIS et al, 1990; DE-CASTRO-E-SILVA et al, 1997; CASTRO et al, 2000). Lesões eletrolíticas do núcleo dorsal da rafe (NDR) promovem um aumento da ingestão de água em animais saciados (TANGARPRÉGASSON et al., 1973, 1974) bem como a p-clorofenilalanina (PCPA), um agente neurotóxico que provoca a depleção da 5-HT central e produz uma ação dipsogênica (SHISHEVA, et al., 1987).

A injeção do MK-212, um agonista serotoninérgico 5-HT₂/5HT_{1C} injetado no terceiro ventrículo, reduz a ingestão de água em ratos privados por 16 horas (REIS et al., 1990). Quando administrada por via peritoneal, a 5-HT e agonistas da 5-HT parecem induzir um aumento na ingestão de água, provavelmente com o aumento da liberação de ANG II (ROWLAND et al., 1994; SIMANSKI et al., 1995). Recentemente foi demonstrado que a ativação pós-sináptica dos receptores 5-HT_{1D} em regiões que circundam o terceiro ventrículo promovem uma diminuição da ingestão de água em ratos desidratados e naqueles em que a ingestão de água foi estimulada pela ANG II, carbacol e isoproterenol (DE-CASTRO-E-SILVA et al., 1997). Foi também sugerido que os receptores centrais 5-HT₄ exercem um papel duplo no controle da ingestão de água, aumentando a ingestão induzida pela ANG II, e diminuindo a sede induzida pelo carbacol injetados no terceiro ventrículo (CASTRO et al., 2000).

Rouah-Rosilio et al. (1994) demonstraram que a administração de dexfenfluramina, uma droga que aumenta a transmissão serotoninérgica, reduziu de 75% a 90% a ingestão de NaCl 3% em ratos depletados de sódio e a ingestão espontânea de NaCl 1,8%. A depleção da 5-HT central através da administração da PCPA aumentou a ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio e por estimulação beta-adrenérgica (LIMA et al., 2004). Foi demonstrado também que a ativação central dos receptores 5-HT_{2B/2C} e 5-HT₃ reduziu a ingestão de NaCl 1,5% (CASTRO et al., 2003).

Outros trabalhos (COLOMBARI et al., 1996; MENANI et al., 1998; DE GOBBI et al., 2000; MARGATHO et al., 2002), têm mostrado o papel da 5-HT e antagonistas serotoninérgicos sobre a ingestão de água e de sódio no NPBL de ratos. Menani et al. (1998) demonstraram que a administração do antagonista 5-HT_{1/2}, metisergida, no NPBL, aumentou a ingestão de NaCl 1,8% em ratos depletados de sódio. Foi demonstrado também que injeções bilaterais de 8-OH-DPAT, agonista 5-HT_{1A}, no NPBL aumentaram a ingestão de sódio e de água induzida por injeção sc de furosemida (10mg/ kg) combinada com uma baixa dose do inibidor da enzima conversora da angiotensina, captopril (5 mg/ kg) (furo-cap) (DE GOBBI et al., 2005).

Assim, o NPV e as vias serotoninérgicas, em especial, o receptor 5-HT_{1A}, merecem destaque quanto às suas funções no equilíbrio hidroeletrolítico. Enquanto suas ações quanto à ingestão de alimento, produção de ACTH e ingestão de água e sódio no NPBL estão bem documentadas, o papel das vias serotoninérgicas e do receptor 5-HT_{1A} do NPV do hipotálamo sobre a ingestão de água e sódio não foi ainda estudado.

2-OBJETIVOS

Considerando a importância do NPV na regulação do balanço hidroeletrólítico e no controle da ingestão de água e sódio, e que o sistema serotoninérgico central está também envolvido na dipsogênese e natriorexigênese, os objetivos deste estudo foram:

2.1 - Estudar os efeitos da ativação dos receptores serotoninérgicos do NPV do hipotálamo sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica e sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio;

2.2 - Estudar os efeitos da ativação específica dos receptores 5-HT_{1A} do NPV sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica e sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio;

2.3 – Investigar a ação do pMPPF, antagonista 5-HT_{1A}, no NPV sobre os efeitos da 5-HT e do 8-OH-DPAT na ingestão de água induzida por privação hídrica e sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

3-MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Animais

Foram utilizados ratos adultos Holtzman, pesando entre 280 - 320 g, fornecidos pelo Biotério das Faculdades de Odontologia e Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Araraquara. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em salas climatizadas (temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade $60 \pm 10\%$) com ciclo claro-escuro 12-12 h, tendo disponível ração, água e NaCl 1,8% *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara (processo CEEA/FOAr nº 08/2004).

3.2 – Implante das cânulas bilateralmente no NPV

Os animais foram anestesiados por uma mistura de quetamina (80 mg/kg de peso corporal) e xilazina (7 mg/ kg de peso corporal) e adaptados a um aparelho estereotáxico (modelo Kopf 900). O lambda e bregma foram utilizados como referência para nivelar o crânio. Utilizando-se o bregma foram determinados os pontos de introdução das cânulas de aço inoxidável nos NPVs. Nesses pontos foram feitas trepanações dos ossos do crânio com uma broca esférica, abrindo-se orifícios de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro. As cânulas (12 X 0,5 mm d.i.) foram posicionadas bilateralmente no cérebro conforme as coordenadas: 1,8 mm caudal ao bregma, 0,6 mm lateral à linha mediana e 5,0 mm abaixo da dura-máter. As cânulas foram fixadas nas cabeças dos ratos com parafusos e resina acrílica. Uma dose profilática de pentabiótico veterinário (60.000 UI de penicilina) foi administrada via intramuscular nos ratos após a cirurgia.

3.3 – Injeção de substâncias no cérebro

As drogas foram dissolvidas em solução salina fisiológica estéril e foram injetadas no cérebro dos ratos utilizando-se uma seringa Hamilton (10 μl), conectada com um tubo de polietileno PE-10 e este a uma agulha injetora que foi introduzida no NPV pelas

cânulas guias previamente fixadas no cérebro. A cânula injetora (0,3 mm d.i.) foi 2 mm mais longa do que as cânulas guias. O volume de injeção no NPV foi 0,2 µl.

3.4 – Substâncias utilizadas

- 5-HT (Sigma[®]): 10, 20, 40, e 50 µg/ 0,2 µl;
 - 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin - 8-OH-DPAT (RBI[®]) (agonista 5-HT_{1A}): 1, 2,5 e 5 µg/ 0,2 µl;
 - 4-(2'-metoxifenil)-1-[2'-[N-(2''-piridinil)-p-fluorobenzamido] etil] piperazine - pMPPF (RBI[®]) (antagonista 5-HT_{1A}): 3,8 µg/ 0,2 µl;
 - furosemida (Sigma[®]): 20 mg/ kg de peso corporal;
- Solução salina fisiológica foi injetada nos experimentos controles.

3.5 – Indução e medida da ingestão de água – Privação Hídrica

A quantidade de água ingerida nos protocolos experimentais foi quantificada por meio de buretas de vidro graduadas em 0,1 ml, adaptadas com um bico de metal. Os animais não tiveram acesso à ração durante os experimentos de ingestão.

Os ratos tiveram à disposição água e ração e foram ambientados nas gaiolas desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos.

A ingestão de água foi induzida por privação hídrica durante 24 horas antes do experimento. No início deste período, as buretas de água foram retiradas de suas gaiolas. Após 24 horas, foi oferecida água aos animais. Para o registro da ingestão de água foram utilizadas buretas com divisão de 0,1 ml.

Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Durante o período de experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

3.6 – Indução e medida da ingestão de água e NaCl 1,8% - Depleção de sódio

A quantidade de água e NaCl 1,8% ingeridos nos protocolos experimentais foi quantificada por meio de buretas de vidro graduadas em 0,1 ml, adaptadas com um bico de metal. Os animais não tiveram acesso à ração durante os experimentos de ingestão.

Além de água e ração, os ratos tiveram acesso a solução de NaCl 1,8%, desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos.

A ingestão de NaCl 1,8% foi induzida pelo tratamento com furosemida (20 mg/kg) sc. Imediatamente após o tratamento com furosemida, as gaiolas foram lavadas para que os ratos ficassem confinados em um ambiente isento de sódio, a ração foi substituída por outra deficiente de sódio e foram mantidos sem NaCl 1,8% por 24 horas (as buretas de água não foram removidas). Após esse período, foram oferecidos aos animais água e NaCl 1,8%. Para o registro da ingestão de água e NaCl 1,8% foram utilizadas buretas com divisão de 0,1 ml.

Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Durante o período de experimento, os ratos não tiveram acesso à ração.

3.7 – Análise histológica

Ao final dos experimentos, os animais foram profundamente anestesiados com uma dose de tiopental sódico (80 mg/kg, ip). A seguir o coração foi exposto cirurgicamente, e os animais foram então submetidos à perfusão de salina tamponada (20 mL) seguida da perfusão com solução de formalina 10% (20 mL). Em seguida os cérebros foram retirados e fixados em formalina 10% por pelo menos 72 horas. Com o auxílio de um micrótomo de congelamento (Leica SM 2000 R) os cérebros foram seccionados em cortes coronais de 50 μ m. Os cortes histológicos, montados em lâminas, foram corados pelo método de Nissl, usando o corante Giemsa, para posterior análise no microscópio óptico.

3.8 - Análise Estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e analisados pela análise de variância de duas vias (ANOVA) associadas ao Student-Newman-Keuls, assumindo-se $p < 0,05$.

4-PROTÓCOLOS EXPERIMENTAIS

4.1 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Objetivo: Verificar a ação da 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água foi induzida por privação hídrica, conforme descrito no item 3.5. Injeções bilaterais de 5-HT (10, 20, 40 e 50 µg/ 0,2 µl) ou salina foram feitas antes do oferecimento de água aos animais. A medida da ingestão de água foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Os experimentos foram realizados em grupos compostos por dez animais.

Cada grupo foi submetido a quatro experimentos, sendo separados por no mínimo 48 horas de intervalo entre eles. A ordem de utilização das doses de 5-HT nos experimentos foi aleatória. Nos dois primeiros experimentos, metade do grupo era controle recebendo injeções de veículo e a outra metade recebeu injeção de 5-HT na dose eleita, no experimento seguinte foi feito o inverso, a metade do grupo que recebeu injeção de 5-HT, recebeu desta vez, injeção de veículo e vice-versa. Nos dois últimos experimentos todos os animais do grupo receberam injeções de 5-HT nas doses designadas, assim, cada grupo de ratos foi submetido a quatro experimentos e a três diferentes doses.

As buretas graduadas foram oferecidas aos ratos imediatamente após a injeção cerebral. Os grupos submetidos ao protocolo de privação hídrica tinham acesso somente a buretas de água. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

4.2 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Objetivo: Verificar a ação da 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV a ingestão de água e NaCl 1,8% foi induzida por depleção de sódio através do tratamento com furosemida sc, conforme descrito no item 3.6. Injeções bilaterais de 5-HT (10 ou 20 µg/ 0,2 µl) ou salina no

NPV foram feitas antes do oferecimento de NaCl 1,8% e água aos animais. Os animais foram divididos em grupos de dez para a realização dos experimentos.

Neste caso, cada grupo foi submetido a três experimentos sendo separados por no mínimo 48 horas de intervalo entre eles. A ordem de utilização das doses de 5-HT nos experimentos foi aleatória. Nos dois primeiros experimentos, metade do grupo era controle recebendo injeções de veículo e a outra metade recebeu injeção de 5-HT na dose eleita, no experimento seguinte foi feito o inverso, a metade do grupo que recebeu injeção de 5-HT, recebeu desta vez, injeção de veículo e vice-versa. No último experimento todos os animais do grupo receberam injeções de 5-HT na dose restante, assim, cada grupo de ratos foi submetido a três experimentos e a duas diferentes doses (10 e 20 µg).

As buretas graduadas contendo água e NaCl 1,8% foram oferecidas aos ratos imediatamente após a injeção cerebral. A medida da ingestão foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração

4. 3 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Objetivo: Verificar o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} do NPV no controle da ingestão de água induzida por privação hídrica.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água foi induzida por privação hídrica. As injeções de 8-OH-DPAT (1,0, 2,5 e 5,0 µg/ 0,2 µl) ou salina foram feitas antes do oferecimento de água aos animais. Os experimentos foram realizados em grupos compostos por dez animais.

Cada grupo foi submetido a quatro experimentos, sendo separados por no mínimo 48 horas de intervalo entre eles. A ordem de utilização das doses de 8-OH-DPAT nos experimentos foi aleatória. Nos dois primeiros experimentos, metade do grupo era controle recebendo injeções de veículo e a outra metade recebeu injeção de 8-OH-DPAT na dose designada, no experimento seguinte foi feito o inverso, a metade do grupo que recebeu injeção de 8-OH-DPAT, recebeu desta vez, injeção de veículo e vice-versa. Nos dois últimos experimentos todos os animais do grupo receberam injeções de 8-OH-DPAT nas doses restantes, assim, cada grupo de ratos foi submetido a quatro experimentos e a todas as três doses utilizadas de 8-OH-DPAT.

As buretas graduadas foram oferecidas aos ratos imediatamente após a injeção cerebral. Os grupos submetidos ao protocolo de privação hídrica tinham acesso somente a buretas de água. A medida da ingestão de água foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

4.4 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Objetivo: Verificar a participação dos receptores 5-HT_{1A} do NPV no controle da ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV a ingestão de água e NaCl 1,8% foi induzida pelo tratamento com furosemida sc, conforme descrito no item 3.6. Injeções bilaterais de 8-OH-DPAT (1,0, 2,5 e 5,0 µg/ 0,2 µl) ou salina no NPV foram feitas antes do oferecimento de NaCl 1,8% e água aos animais.

Os experimentos foram realizados da mesma maneira conforme descrito no item 4.3 diferindo somente no método de indução de ingestão, sendo, neste caso, utilizada a depleção de sódio e foram medidas ingestão de água e NaCl 1,8%.

As buretas graduadas contendo água e NaCl 1,8% foram oferecidas aos ratos imediatamente após a injeção cerebral. A medida da ingestão de água foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

4.5 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF isoladas e seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Objetivos: Analisar o efeito do bloqueio do receptor 5-HT_{1A} do NPV na ingestão de água induzida por privação hídrica e verificar se os resultados obtidos nos experimentos anteriores com o agonista 8-OH-DPAT foram realmente provenientes da ativação do receptor 5-HT_{1A}.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água foi induzida por privação hídrica. A dose de pMPPF utilizada foi a maior que poderia ser dissolvida no volume utilizado – 0,2 µl - baseada na solubilidade máxima da droga. O pMPPF e o veículo (NaCl 0,9%) foram administrados isoladamente ou combinados com

injeções de 8-OH-DPAT. Quando combinados, as injeções de pMPPF (3,8 µg/ 0,2 µl) ou veículo foram feitas dez minutos antes das injeções de 8-OH-DPAT (2,5 µg/ 0,2 µl). As buretas de água foram oferecidas imediatamente após as injeções cerebrais. Nos experimentos com duas injeções associadas, as buretas foram oferecidas logo após as segundas injeções.

Os grupos foram submetidos a quatro experimentos com intervalos de, no mínimo, 48 horas. Primeiramente metade dos grupos de animais recebeu injeção de pMPPF e a outra metade recebeu injeção de veículo. No experimento seguinte foi feita a inversão entre os tratamentos, e a metade do grupo que foi tratada com pMPPF, recebeu injeção de veículo e vice-versa. No terceiro experimento metade do grupo recebeu injeção de salina + 8-OH-DPAT e a outra metade recebeu injeções de pMPPF + 8-OH-DPAT. No quarto e último experimento foi feita a inversão entre os tratamentos e a respectiva metade do grupo tratada.

A medida da ingestão de água foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

4.6 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF isoladas e seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Objetivos: Analisar o efeito do bloqueio do receptor 5-HT_{1A} do NPV na ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio e verificar se os resultados obtidos nos experimentos anteriores com o agonista 8-OH-DPAT foram realmente provenientes da ativação do receptor 5-HT_{1A}.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água e NaCl 1,8% foi induzida pelo tratamento com furosemida sc. A medida da ingestão de água e NaCl 1,8% foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento.

O delineamento experimental destes experimentos foi igual ao do item anterior (4.5) diferindo somente no método de indução de ingestão, sendo, neste caso, utilizada a depleção de sódio e foram feitas medidas da ingestão de água e NaCl 1,8%.

4.7 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Objetivo: Verificar o envolvimento de outros tipos de receptores serotoninérgicos, além do 5-HT_{1A}, do NPV do hipotálamo, no controle da ingestão de água induzida por privação hídrica.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água foi induzida por privação hídrica. Foram realizados três experimentos em cada grupo de animais. No primeiro experimento metade do grupo recebeu duas injeções de veículo e a outra metade recebeu uma injeção de veículo seguida por uma injeção de 5-HT (20 µg/ 0,2 µl). No segundo experimento foi feita a inversão entre os tratamentos e a metade do grupo tratada. No terceiro experimento todos os ratos do grupo foram tratados com injeções de pMPPF (3,8 µg/ 0,2 µl) seguidas de injeções de 5-HT (20 µg/ 0,2 µl).

As injeções de pMPPF ou veículo foram feitas dez minutos antes das injeções de 5-HT. As buretas de água foram oferecidas imediatamente após as injeções de 5-HT. A medida da ingestão de água foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento. Durante o experimento os ratos não tiveram acesso à ração.

4.8 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Objetivo: Verificar o envolvimento de outros tipos de receptores serotoninérgicos, além do 5-HT_{1A}, do NPV do hipotálamo, no controle da ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção.

Em ratos com cânulas bilaterais implantadas no NPV, a ingestão de água e NaCl 1,8% foi induzida pelo tratamento com furosemida sc. A medida da ingestão de água e NaCl 1,8% foi feita aos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos do experimento.

O delineamento experimental destes experimentos foi igual aos do item anterior (4.7) diferindo somente no método de indução de ingestão, sendo, neste caso, utilizada a depleção de sódio e foram feitas medidas da ingestão de água e NaCl 1,8%.

5 - RESULTADOS

5.1 – Análise histológica

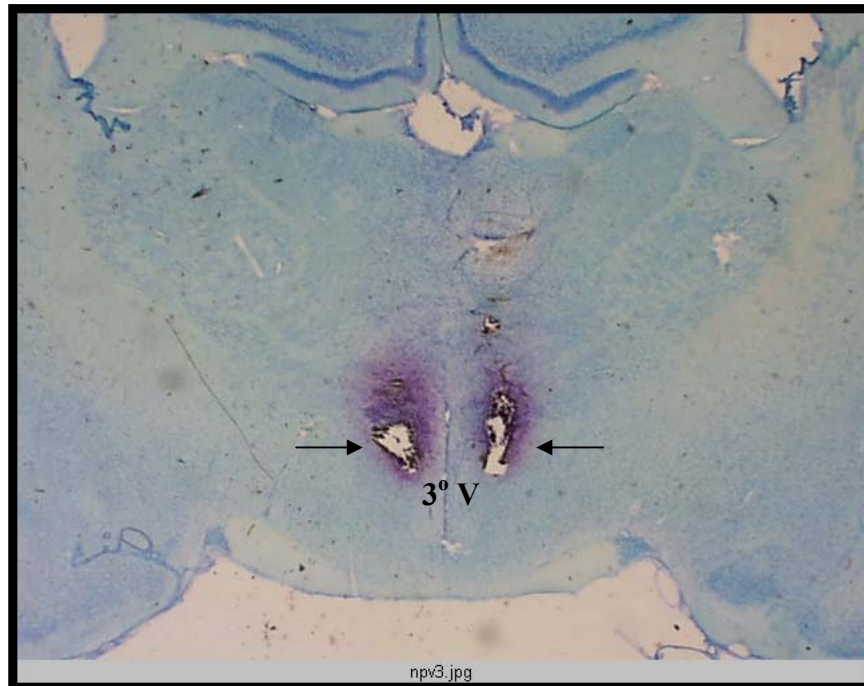


Figura 3: Fotomicrografia de um corte coronal do prosencéfalo de um animal representativo do grupo mostrando os locais de injeção nos NPVs (setas) . 3º V: terceiro ventrículo.

5.2 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

A 5-HT injetada bilateralmente no NPV nas doses de 10, 20, 40 e 50 μg produziu diminuição na ingestão de água induzida por 24 horas de privação hídrica nos primeiros trinta minutos de experimento, em comparação com a injeção do veículo no NPV (13,4 \pm 2,0; 12,6 \pm 1,3; 12,9 \pm 1,0; 9,0 \pm 2,9 ml/ 30 min respectivamente vs. sal: 18,4 \pm 0,8 ml/ 30 min, n = 6-8) [F(4,150) = 25,367; p<0,05], (Figura 4) (ver anexo – tabelas 1 a 5).

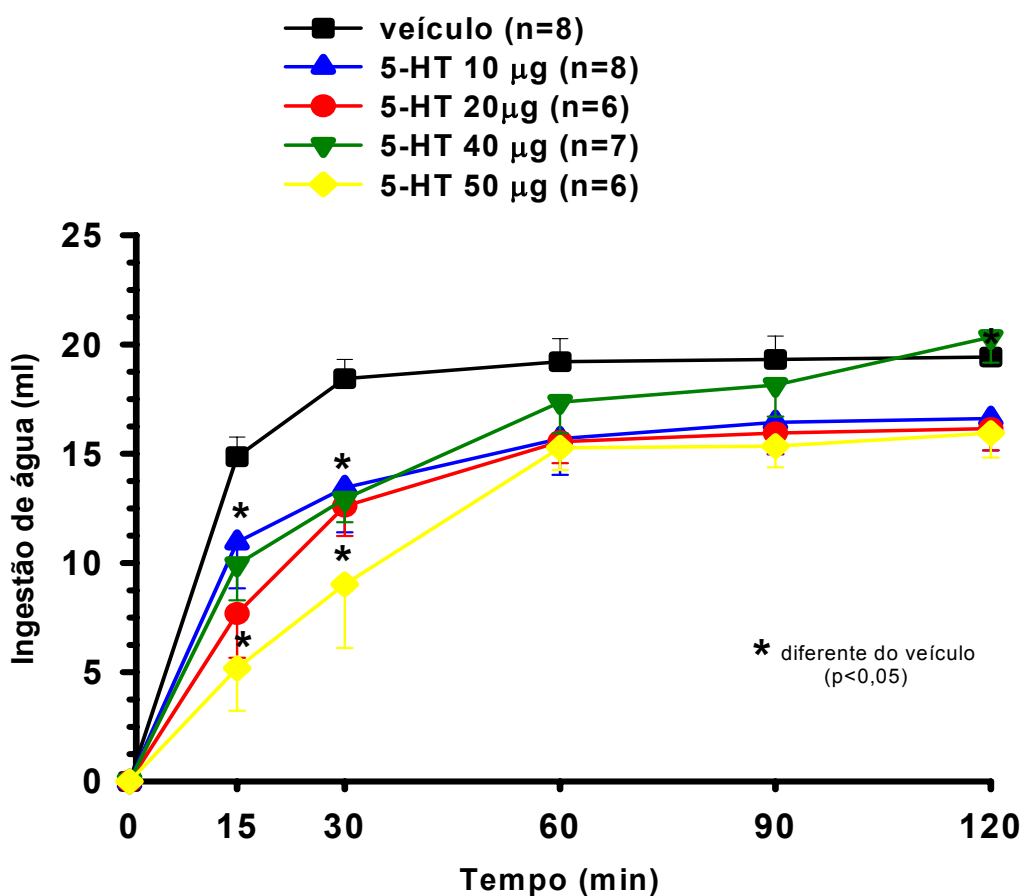


Figura 4: Ingestão cumulativa de água induzida por 24 horas de privação hídrica de ratos que receberam injeções bilaterais de 5-HT (10, 20, 40 e 50 $\mu\text{g}/ 0,2 \mu\text{l}$) ou veículo no NPV. Resultados expressos como média \pm EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.3 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

A 5-HT injetada bilateralmente no NPV nas doses de 10, 20 μ g, produziu redução na ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio nos primeiros trinta minutos do experimento, em comparação com a injeção do veículo no NPV ($7,9 \pm 3,0$ e $9,0 \pm 2,1$ ml/ 30 min, respectivamente, vs. sal: $17,7 \pm 1,8$ ml/ 30 min, n = 7) [$F(2,48) = 8,144$; $p < 0,05$], (Figura 5 A).

Quanto à ingestão de água não foi observada nenhuma alteração significativa em relação à injeção de veículo no NPV [$F(2,48) = 0,464$; $p > 0,05$], (Figura 5B) (ver anexo – tabelas 6 a 8).

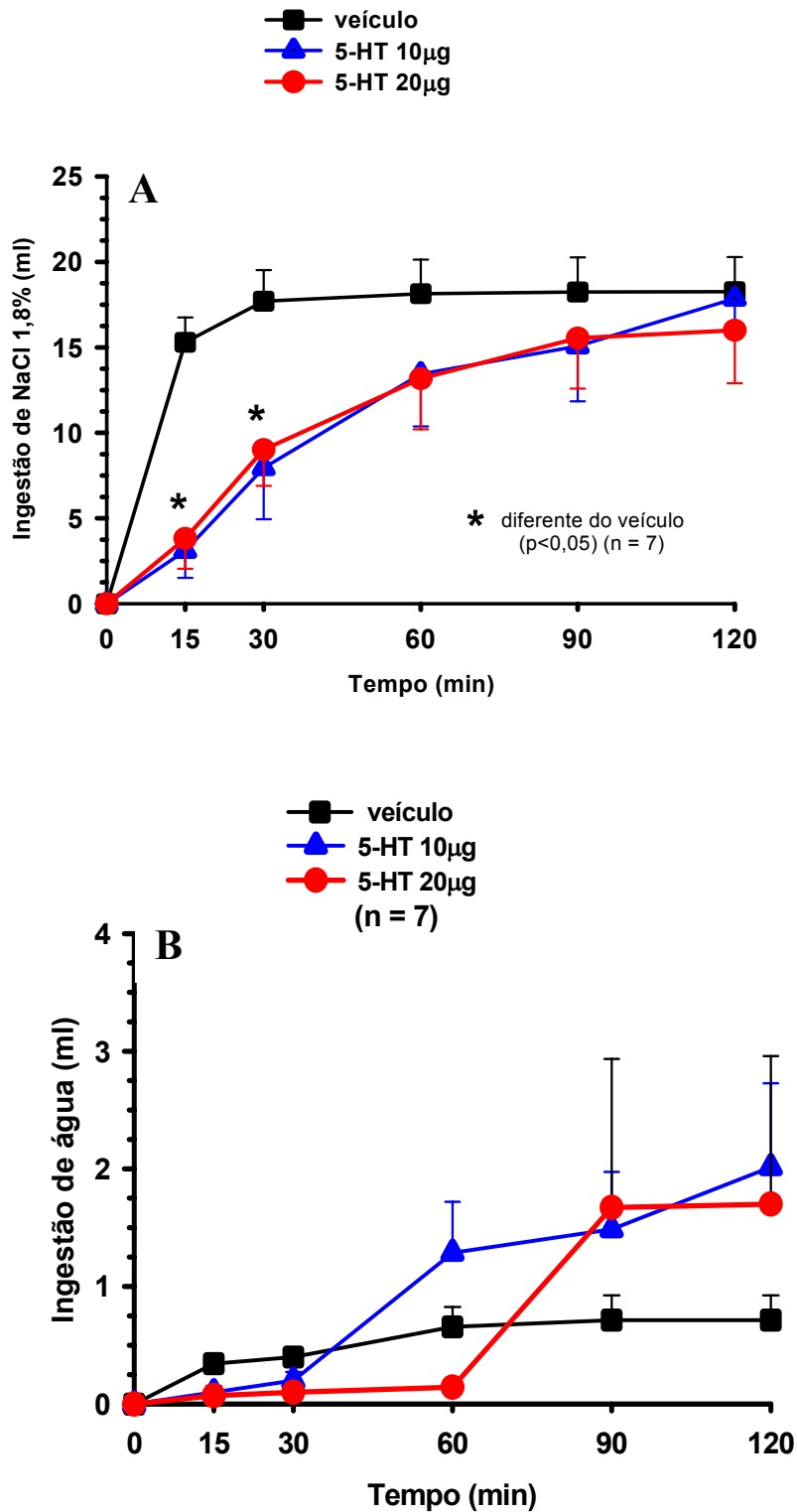


Figura 5: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 1,8% e (B) água induzida por 24 horas de depleção com furosemida de ratos que receberam injeções bilaterais de 5-HT (10, 20 µg/ 0,2 µl) ou veículo no NPV. Resultados expressos como média ± EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.4 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Injeções bilaterais de 8-OH-DPAT nas doses de 1,0; 2,5 e 5,0 μg no NPV reduziram a ingestão de água durante todo o período de experimento ($15,4 \pm 1,3$ ml/ 120 min, $14,8 \pm 1,2$ ml/ 120 min e $14,2 \pm 0,9$ ml/ 120 min vs. sal: $19,1 \pm 1,0$ ml/ 120 min, $n=10$), respectivamente, [$F(3,108) = 95,415$, $p < 0,05$] (Figura 6), quando comparadas às injeções de veículo (ver anexo – tabelas 12 a 15).

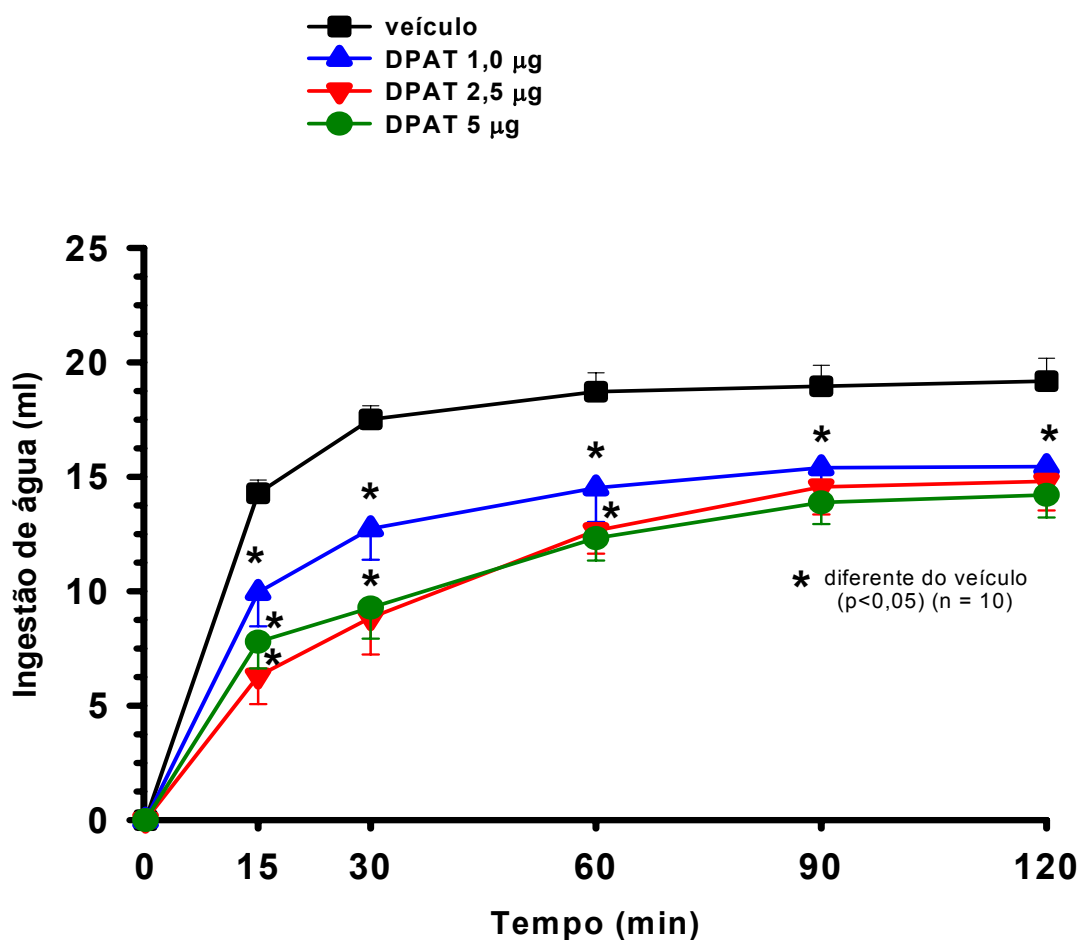


Figura 6: Ingestão cumulativa de água induzida por 24 horas de privação hídrica de ratos que receberam injeções bilaterais de 8-OH-DPAT (1,0; 2,5 e 5,0 μg / 0,2 μl) ou veículo no NPV. Resultados expressos como média \pm EPM; $p < 0,05$ (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.5 - Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

Injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV do hipotálamo reduziram a ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio. A dose de 2,5 µg produziu uma redução na primeira hora de experimento ($12,4 \pm 2,7$ ml/ 60 min vs. sal: $19,3 \pm 1,0$ ml/ 60 min, n=9) e a dose de 5 µg reduziu a ingestão durante todo o período de teste ($12,2 \pm 1,8$ ml/ 120 min vs. sal: $20,2 \pm 1,0$ ml/ 120 min, n=9) [$F(3,96) = 58,222$; $p < 0,05$] (figura 7A). Injeções de 8-OH-DPAT na dose de 1 µg não alteraram a ingestão de NaCl 1,8% quando comparado a injeções de veículo no NPV (figura 7A).

Quanto à ingestão de água, oferecida simultaneamente ao NaCl 1,8%, não se observou nenhuma alteração significativa em relação à injeção de veículo no NPV nas doses de 1 µg e 2,5 µg (figura 7B). A dose de 5,0 µg reduziu o volume ingerido de água no último período do experimento de 120 minutos (figura 6B) ($0,4 \pm 0,1$ ml/ 120 min vs. sal: $1,8 \pm 0,9$ / 120 min, n=9) [$F(3,96) = 3,904$; $p < 0,05$] (ver anexo – tabelas 16 a 19).

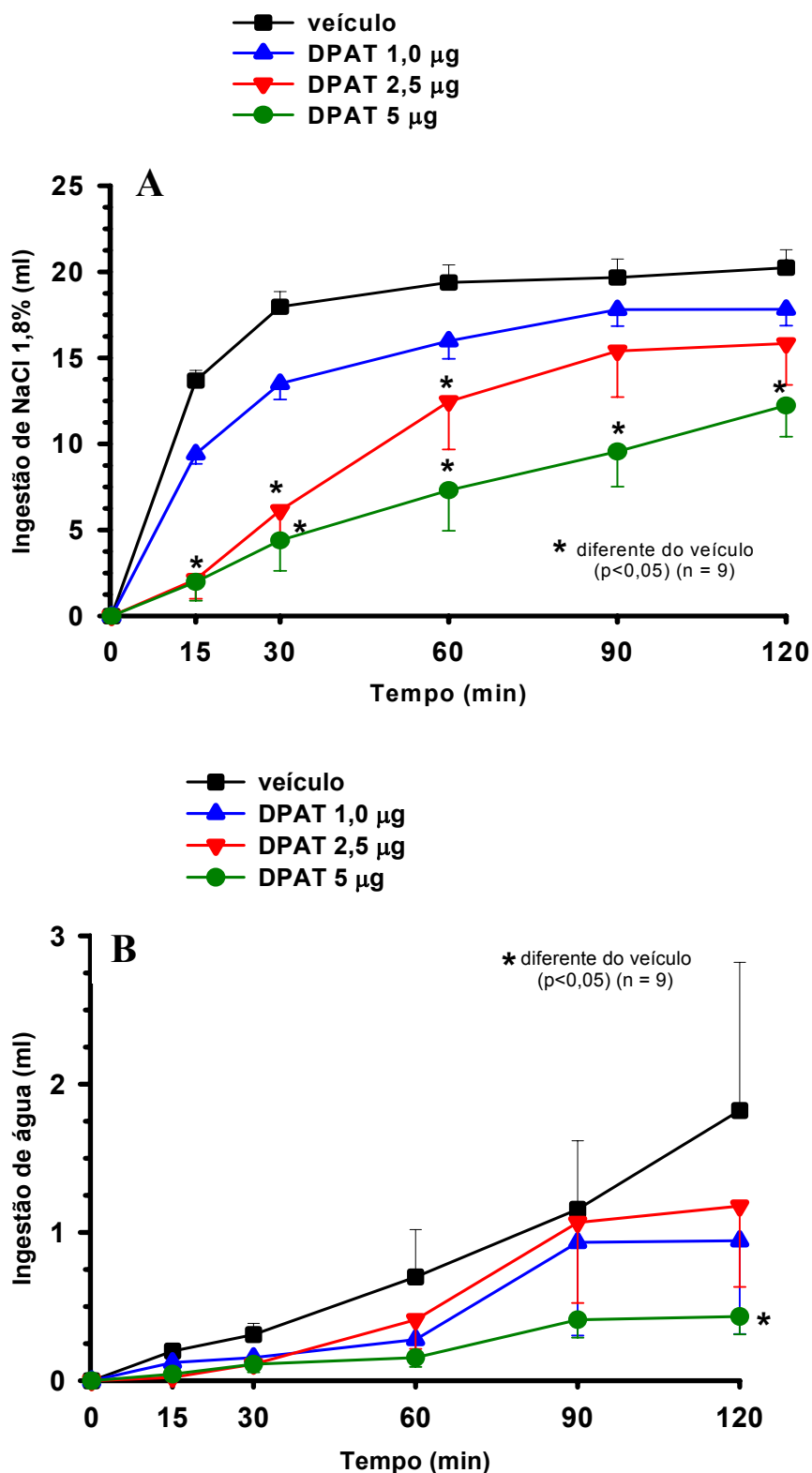


Figura 7: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 1,8% e (B) água induzida por 24 horas de depleção de sódio de ratos que receberam injeções bilaterais de 8-OH-DPAT (1,0; 2,5 e 5,0 µg/ 0,2 µl) ou veículo no NPV. Resultados expressos como média ± EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.6 Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Injeções bilaterais de pMPPF isoladamente não produziram nenhuma alteração no volume de água ingerido durante todo o experimento quando comparado ao grupo de ratos que recebeu injeções bilaterais de veículo ($18,2 \pm 1,2$ ml/ 120 min, vs. sal: $17,2 \pm 1,0$ / 120min, $n=12$) (figura 8). As injeções de veículo + 8-OH-DPAT na dose de $2,5 \mu\text{g}$ ($14,7 \pm 1,2$ ml/ 120 min vs. sal: $17,2 \pm 1,0$ / 120 min, $n=12$) [$F(3,132) = 38,954$; $p < 0,05$] reduziram o volume de água ingerido durante todo o experimento comparado ao grupo controle (figura 8).

O pMPPF quando administrado previamente ao 8-OH-DPAT bilateralmente no NPV aboliu o efeito deste, sendo, neste caso, o volume de água ingerido semelhante ao do grupo controle durante todo o experimento ($16,5 \pm 1,1$ ml/ 120 min vs. sal: $17,2 \pm 1,0$ ml/ 120 min, $n=12$) (figura 8) (ver anexo – tabelas 20 a 23).

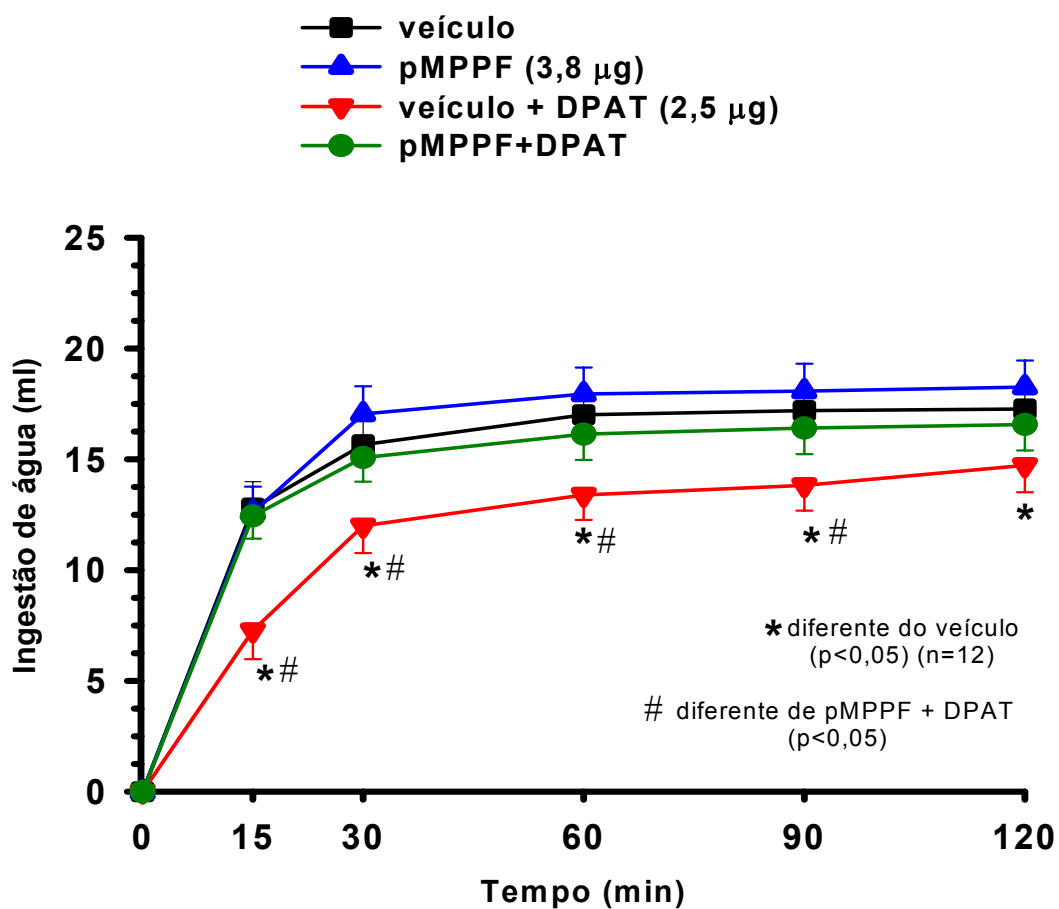


Figura 8: Ingestão cumulativa de água induzida por 24 horas de privação hídrica de ratos que receberam injeções bilaterais de pMPPF (3,8 µg/ 0,2 µl) ou veículo isoladamente ou seguidas por injeções de 8-OH-DPAT (2,5 µg/ 0,2 µl) no NPV. Resultados expressos como média ± EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.7- Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

As injeções bilaterais de pMPPF no NPV não alteraram o volume ingerido de NaCl 1,8% quando comparado ao grupo controle (figura 9A). Injeções de veículo + 8-OH-DPAT reduziram o volume de NaCl 1,8% ingerido durante os primeiros trinta minutos de teste ($11,4 \pm 2,9$ ml/ 30 min vs. sal: $16,2 \pm 0,4$ / 30 min, $n=8$) [$F(3,84) = 86,2$; $p < 0,05$] (figura 9A). A administração prévia do pMPPF aboliu o efeito das injeções de 8-OH-DPAT, sendo o volume de NaCl 1,8% ingerido por este grupo semelhante ao volume ingerido pelo grupo controle durante todo o experimento ($20,8 \pm 0,4$ / 120 min vs. sal: $18,2 \pm 0,9$ ml/ 120 min, $n=8$) (figura 9A).

Não foram observadas alterações na ingestão de água (figura 9B) (ver anexo – tabelas 24 a 27).

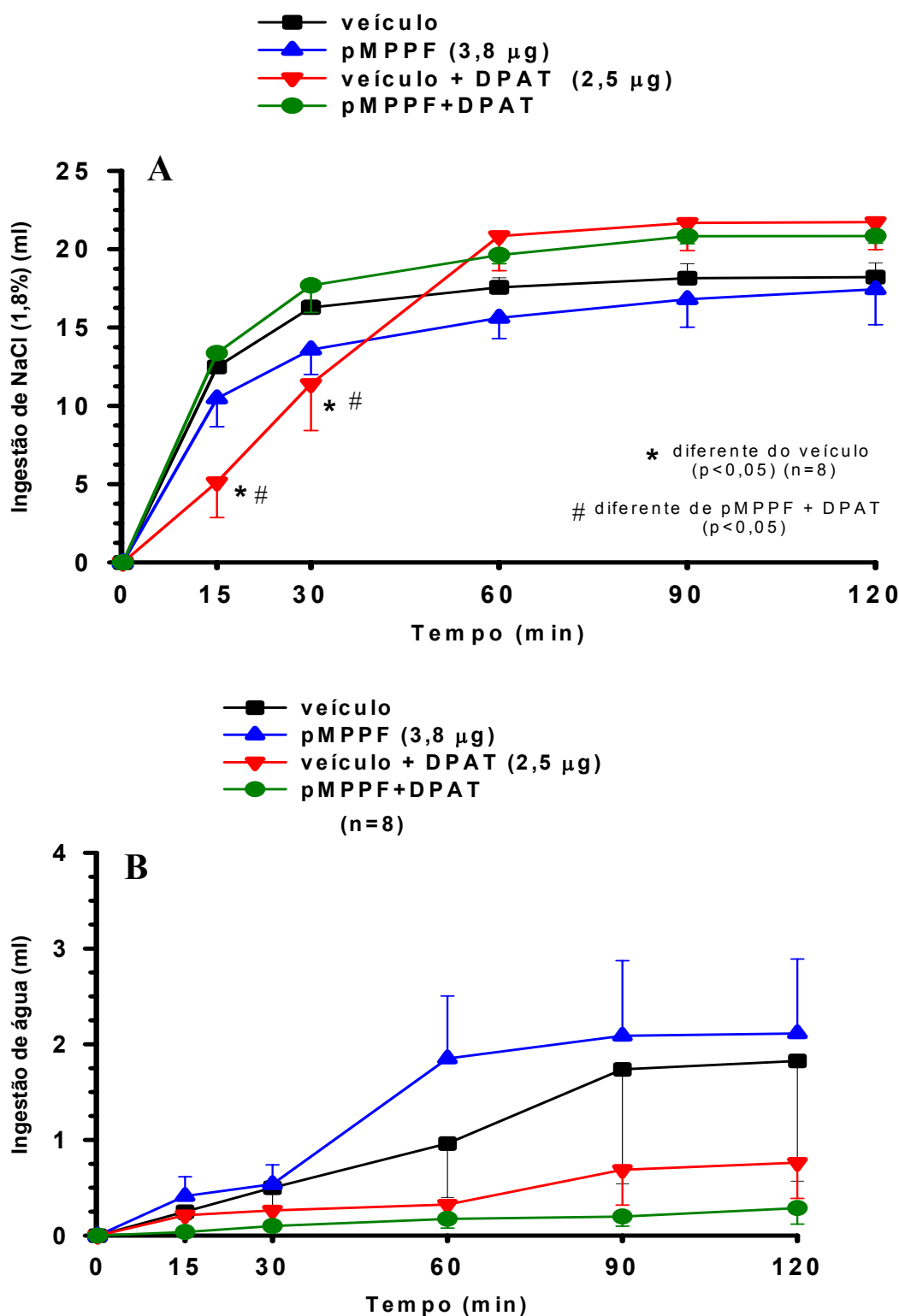


Figura 9: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 1,8% e (B) água induzida por 24 horas de depleção de sódio de ratos que receberam injeções bilaterais de pMPPF (3,8 µg/ 0,2µl) ou veículo isoladamente ou seguidas por injeções de 8-OH-DPAT (2,5 µg/ 0,2 µl) no NPV. Resultados expressos como média ± EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.8 -Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

As injeções de pMPPF (3,8 μ g) reduziram o tempo e a potência do efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de água induzida por privação hídrica quando comparado ao volume ingerido de água pelo grupo de ratos que recebeu veículo + 5-HT (pMPPF+5-HT: 12,3 \pm 1,1 ml/ 30 min vs. veículo+5-HT: 5,9 \pm 1,6 ml/ 30 min, n=12) [F(2,88) = 77,0; p<0,05] (Figura 10). O efeito inibitório da 5-HT, quando antecedida pelo pMPPF, sobre a ingestão de água foi significativa somente nos primeiros quinze minutos de experimento (pMPPF+5-HT: 8,9 \pm 1,7 ml/ 15 min vs. veículo+veículo: 12,2 \pm 0,4 ml/ 15 min), sendo que, a 5-HT antecedida por injeções de veículo reduziu o volume ingerido durante a primeira hora de experimento comparado ao grupo que recebeu duas injeções de veículo (veículo+5-HT: 10,9 \pm 1,4 ml/ 60 min vs. veículo+veículo: 15,7 \pm 1,1 ml/ 60 min) (Figura 10) (ver anexo – tabelas 28 a 30).

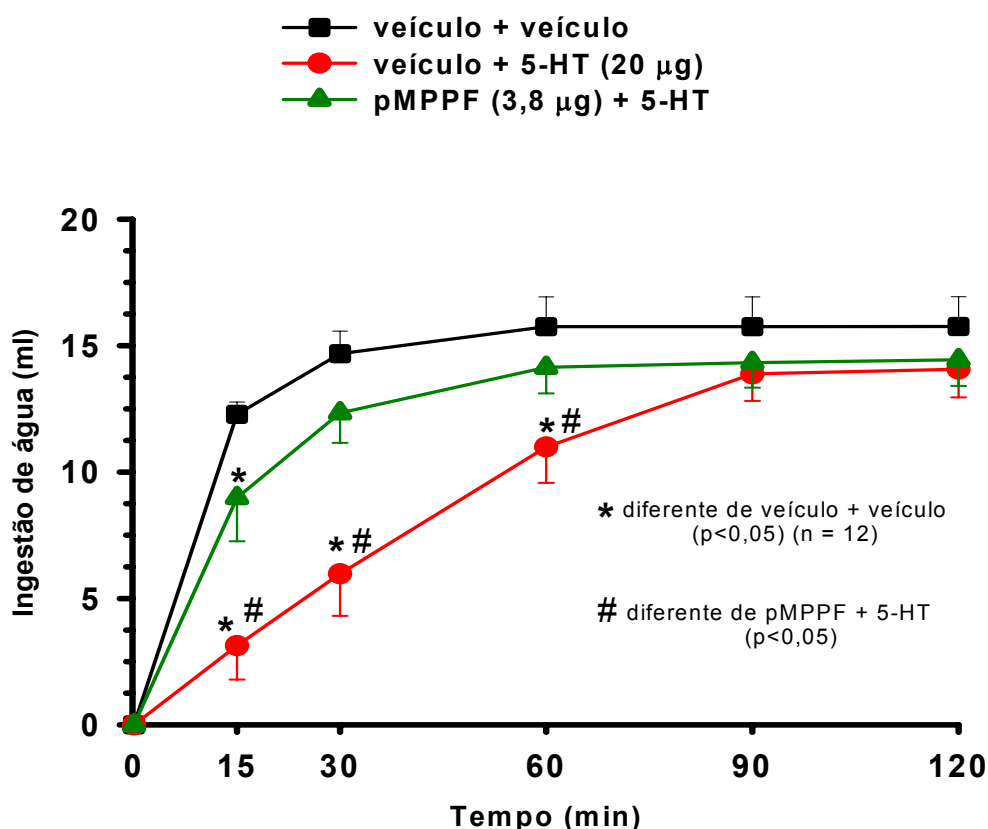


Figura 10: Ingestão cumulativa de água induzida por 24 horas de privação hídrica de ratos que receberam injeções bilaterais de pMPPF (3,8 μ g/ 0,2 μ l) ou veículo seguidas por injeções de 5-HT (20 μ g/ 0,2 μ l) no NPV. Resultados expressos como média \pm EPM; p<0,05 (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

5.9 - Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF seguidas de injeções de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio.

As injeções de pMPPF (3,8 µg) também reduziram o tempo e a potência do efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio quando comparado ao volume ingerido de NaCl 1,8% pelo grupo de ratos que recebeu veículo+5-HT (pMPPF+5-HT: 12,3±1,9 ml/ 30 min vs. veículo+5-HT: 2,8±1,3 ml/ 30 min, n=15) [F(2,112) = 61,5; p<0,05) (Figura 11A). O efeito inibitório da 5-HT, quando antecedida pelo pMPPF, sobre a ingestão de NaCl 1,8% foi significativa somente nos primeiros quinze minutos de experimento (pMPPF+5-HT: 7,3±1,6 ml/ 15 min vs. veículo+veículo: 11,5±0,7 ml/ 15 min), sendo que, a 5-HT antecedida por injeções de veículo reduziu o volume ingerido durante todo o experimento comparado ao grupo que recebeu duas injeções de veículo (veículo+5-HT: 11,3±2,0 ml/ 120 min vs. veículo+veículo: 16,5±0,9 ml/ 120 min) (Figura 11A). Não ocorreram alterações significantes no volume ingerido de água nestes tratamentos (Figura 11B) (ver anexo – tabelas 31 a 33).

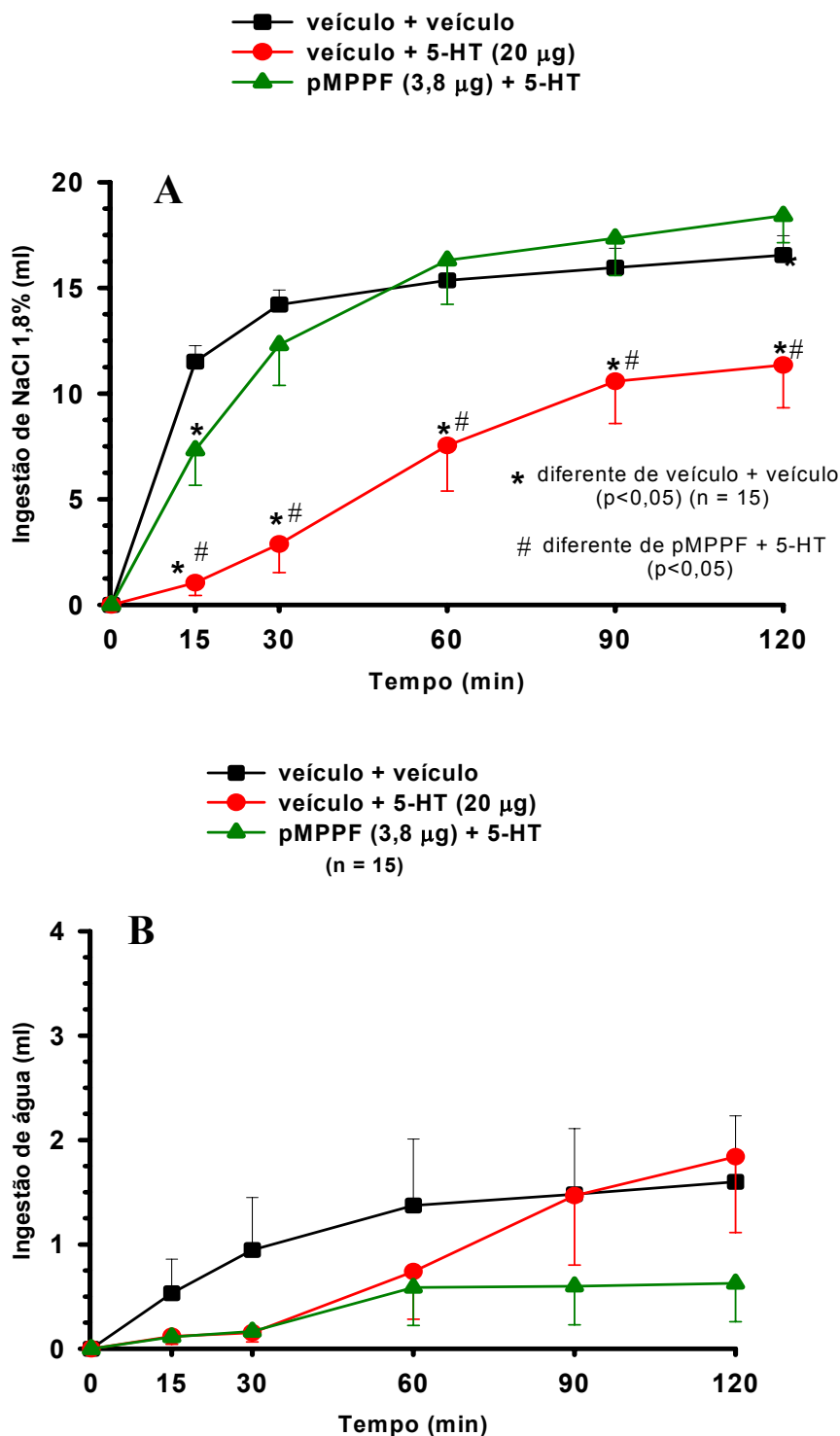


Figura 11: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 1,8% e (B) água induzida por 24 horas de depleção de sódio de ratos que receberam injeções bilaterais de pMPPF (3,8 µg/ 0,2µl) ou veículo seguidas por injeções de 5-HT (20 µg/ 0,2 µl) no NPV. Resultados expressos como média ± EPM; $p < 0,05$ (ANOVA associado ao Newman Keuls) ($n =$ número de animais).

5. 10 - Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT e 8-OH-DPAT em áreas diversas adjacentes ao NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzidas por privação hídrica e por depleção de sódio, respectivamente, vinte e quatro horas antes do experimento.

As tabelas 1 e 2 apresentam os volumes ingeridos de água e NaCl 1,8%, respectivamente, de ratos que receberam injeções em outras áreas, diferentes do NPV (região periventricular, hipotálamo anterior, lateral, ventromedial e dorsomedial). Pode-se observar que os volumes ingeridos de água foram semelhantes entre os grupos tratados e controles, não havendo diferença significativa entre eles, demonstrando assim, a especificidade dos efeitos obtidos à ativação do NPV do hipotálamo.

Injeções de 5-HT reduziram o volume ingerido de NaCl 1,8% dos ratos que receberam doses de 10 e 20 μ g ($10,8 \pm 3,3$; $11,4 \pm 3,2$ ml/ 30 min, respectivamente vs. sal: $18,8 \pm 1,2$ ml/30 min, n=6) [F (2,40) = 16,755; $p < 0,05$]. Isto pode ter ocorrido devido à presença de receptores serotoninérgicos nas regiões atingidas pelas microinjeções (hipotálamo anterior, lateral, ventromedial e dorsomedial – fig. 12 A e B) e estas, de alguma maneira, participam da regulação da ingestão de sódio. As injeções de 5-HT não são específicas, isto é, ativam todos os tipos de receptores serotoninérgicos, assim há maiores possibilidades de algum receptor ser ativado, diferentemente das injeções de 8-OH-DPAT, que é um agonista específico, e age somente em receptores 5-HT_{1A}. As injeções de 8-OH-DPAT não alteraram o volume ingerido de NaCl 1,8% quando comparado as injeções de veículo.

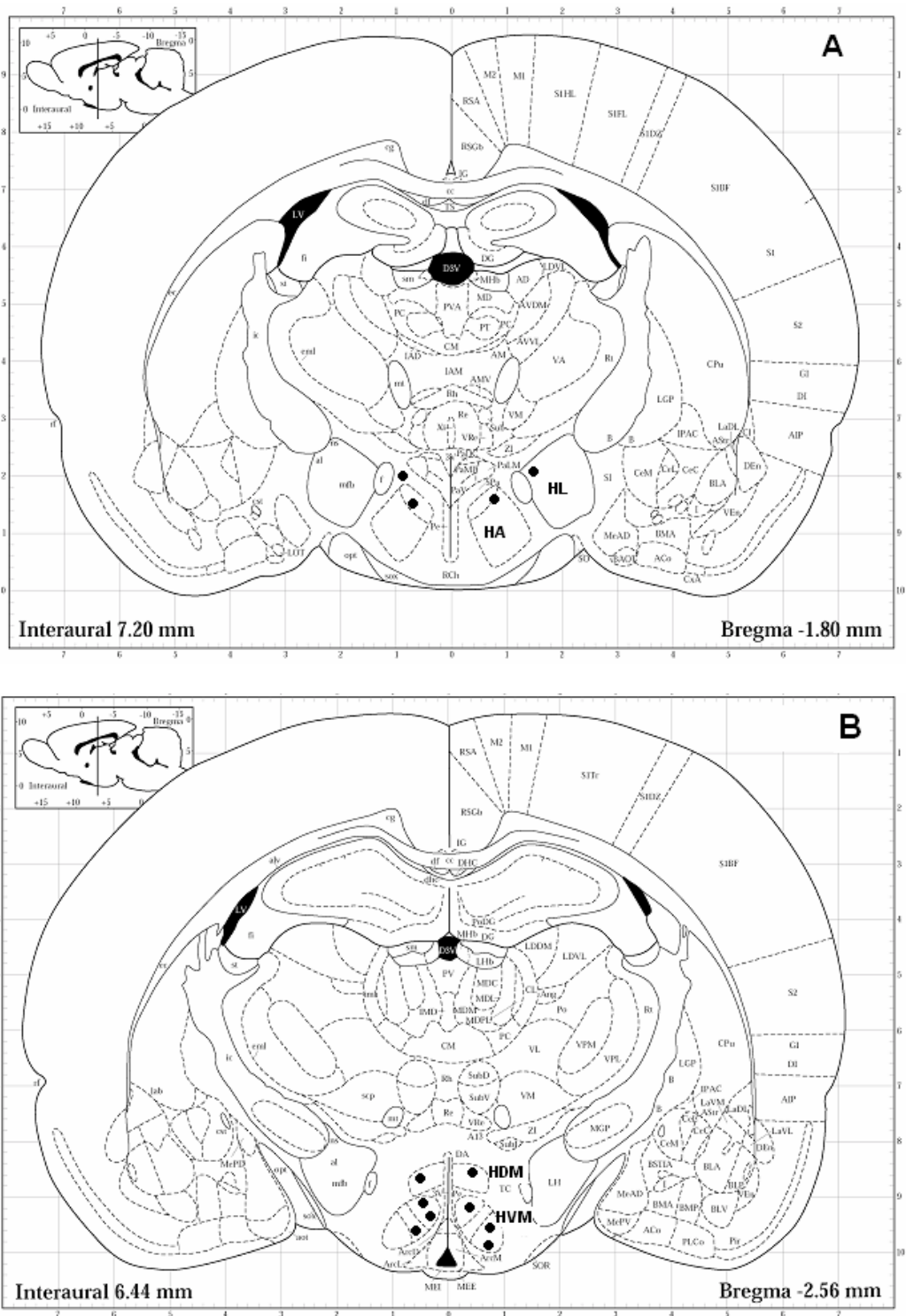


Figura 12: Ilustração dos pontos de injeção de 5-HT no grupo de ratos submetido ao experimento de ingestão de NaCl 1,8%. A - HL: hipotálamo lateral; HA: hipotálamo anterior; B - HDM: hipotálamo dorsomedial; HVM: hipotálamo ventromedial (adaptado de PAXINOS e WATSON, 1986).

Negativos (histologia)	n	Ingestão de água (ml/ 30 min)
5-HT 10μg	5	14,5 \pm 2,0
5-HT 20μg	10	17,7 \pm 1,9
5-HT 40μg	6	13,1 \pm 2,3
5-HT 50μg	5	9,2 \pm 1,8
Controle (5-HT)	8	13,7 \pm 0,2
8-OH-DPAT 1,0 μg	11	15,0 \pm 1,2
8-OH-DPAT 2,5 μg	11	11,6 \pm 1,3
8-OH-DPAT 5,0 μg	11	15,0 \pm 1,3
Controle (DPAT)	11	15,0 \pm 0,9

Tabela 1: Ingestão cumulativa de água induzida por 24 horas de privação hídrica de ratos que receberam injeções bilaterais de 0,2 μ l de 5-HT e 8-OH-DPAT ou veículo em áreas adjacentes ao NPV. Resultados expressos como média \pm EPM; $p < 0,05$ (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais).

Negativos (histologia)	n	Ingestão de NaCl 1,8% (ml/ 30 min)
5-HT 10μg	6	10,8 \pm 3,3*
5-HT 20μg	6	11,4 \pm 3,2*
Controle (5-HT)	6	18,8 \pm 1,2
8-OH-DPAT 1,0 μg	14	12,0 \pm 1,1
8-OH-DPAT 2,5 μg	14	12,8 \pm 1,6
8-OH-DPAT 5,0 μg	14	11,9 \pm 1,6
Controle (DPAT)	14	13,2 \pm 0,9

Tabela 2: Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio de ratos que receberam injeções bilaterais de 0,2 μ l de 5-HT e 8-OH-DPAT ou veículo em áreas adjacentes ao NPV. Resultados expressos como média \pm EPM; $p < 0,05$ (ANOVA associado ao Newman Keuls) (n = número de animais); * diferente do respectivo controle.

6 – DISCUSSÃO

Os resultados da presente dissertação demonstraram que injeções bilaterais de 5-HT no NPV do hipotálamo reduzem significativamente a ingestão de água induzida por privação hídrica e a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio. Foi observado também que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} do NPV através do agonista específico 8-OH-DPAT reduziu significativamente o volume ingerido de água e sódio induzidos por privação hídrica e depleção de sódio, respectivamente. A administração do antagonista específico 5-HT_{1A}, pMPPF, bloqueou o efeito inibitório do 8-OH-DPAT. Foi observado também que injeções bilaterais de pMPPF previamente a injeções bilaterais de 5-HT no NPV alteraram parcialmente o efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de água e sódio, reduzindo o seu tempo de atuação somente aos primeiros quinze minutos. O antagonista pMPPF, quando administrado isoladamente, não provocou nenhuma alteração na ingestão de água e sódio.

Recentemente progressos significantes foram feitos em relação ao conhecimento do sistema serotoninérgico central, verificando-se que esta importante rede neurotransmissora regula várias funções fisiológicas e comportamentais. Vários subtipos de receptores são descritos na literatura, e novos subtipos estão sendo descobertos através de técnicas de clonagem molecular que são utilizadas para produzir e expressar vários clones de receptores serotoninérgicos. Os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} tem uma importante função como autoreceptor somatodendrítico no núcleo dorsal da rafe (NDR), e como um receptor pós-sináptico de 5-HT em outras áreas centrais, como, por exemplo, no hipocampo (GLENNON e DUKAT, 1991; PUCADYIL et al, 2005). A distribuição heterogênea dos receptores 5-HT_{1A} tem sido associada com a diversidade de características farmacológicas do receptor (PUCADYIL et al, 2005).

Os presentes resultados demonstraram que a administração do 8-OH-DPAT no NPV reduziu a ingestão de água induzida por privação hídrica e a ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio, assim como a injeção de 5-HT no NPV, sugerindo que a localização dos receptores 5-HT_{1A} no NPV do hipotálamo é pós-sináptica. Estudos autorradiográficos e imunohistoquímicos têm demonstrado que estes receptores estão localizados pós-sinápticamente ou se apresentam na forma somatodendrítica (HAMON et al, 1990). Diversos experimentos mostraram que os autorreceptores 5-HT_{1A} apresentam algumas propriedades farmacológicas diferentes dos receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos, e podem representar um subtipo distinto (FELDMAN et al., 1997).

Estudo recente, realizado por De Gobbi et al. (2005) demonstrou que injeções bilaterais de 8-OH-DPAT (0,1; 1,25 e 2,5 µg/ 0,2 µl) no NPBL aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e de água de ratos induzida pelo tratamento com furo-cap, este aumento na ingestão de NaCl foi reduzido de maneira dose-dependente pelo pré-tratamento com o antagonista seletivo 5-HT_{1A}, WAY-100635. Em contraste, este antagonista não afetou a ingestão de água produzida pelo 8-OH-DPAT. O WAY-100635 administrado isolado no NPBL não afetou a ingestão de NaCl. Estes resultados sugerem que os receptores 5-HT_{1A} ativados no NPBL são receptores somatodendríticos. Estes dados contrastam com os nossos, visto que, a injeção de 8-OH-DPAT no NPV provocou uma redução na ingestão de água e sódio, assim como a injeção de 5-HT, sugerindo a ativação de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos.

Estudo realizado por Pan e Gilbert (1992) mostrou que injeções unilaterais de 8-OH-DPAT diretamente no NPV de ratos provocaram uma elevação significativa no ACTH plasmático que foi bloqueada pela administração sistêmica do antagonista β-adrenérgico e serotoninérgico 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, pindolol, indicando que receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos medeiam respostas neuroendócrinas no NPV.

Populações distintas de neurônios serotoninérgicos no NDR e núcleo mediano da rafe (NMR) emitem informações para estruturas prosencefálicas, influenciando a liberação de vasopressina e estabelecendo níveis de saciedade hídrica através de uma regulação fina da transdução dos sinais sensoriais que incidem sobre os neurônios dos núcleos supra-óptico e paraventricular e regiões AV3V/ pré-óptica hipotalâmica/ OSF (Reis, 1993). Cavalcante-Lima et al. (2005) demonstraram que a lesão do NDR aumentou a ingestão espontânea de NaCl 0,3 M e também a ingestão de ratos depletados de sódio sugerindo que possivelmente vias serotoninérgicas ascendentes, originadas no NDR, integram sinais sensoriais viscerais e encefálicos anteriores para a regulação do apetite ao sódio.

Através do método analítico acoplado a uma coluna multifuncional (HPLC) detectou-se que a estimulação elétrica do NDR e NMR provocou um aumento na secreção de 5-HT no NPV (PETERSEN et al., 1989). Esta pode ser a via fisiológica para ativação serotoninérgica do NPV, uma via inibitória para dipsogênese e natriorexigênese, provavelmente ativada em situações onde a ingestão de água e sódio deve ser inibida, como por exemplo, em crises hipertensivas.

A privação hídrica induz uma desidratação mista, isto é, desidratação intra e extra-celular. A ingestão de água em animais privados é induzida por uma combinação de sinais derivados tanto da desidratação intracelular como da extracelular, as quais ativam duas

vias separadas dependentes de osmorreceptores e da ANG II respectivamente. A via osmótica é provavelmente dependente da acetilcolina central (FITZSIMONS, 1985). Portanto, a sede em animais privados de água é principalmente devida a ANG II circulante ao nível das estruturas circunventriculares e pela ativação das estruturas colinérgicas centrais. Assim, o bloqueio dos sistemas angiotensinérgicos e colinérgicos é necessário para inibir a ingestão de água em animais desidratados (MCKINLEY e JOHNSON, 2004). É possível que com a ativação simultânea de dois circuitos diferentes que induzem à sede, a motivação para a ingestão de água seja muito maior em animais privados.

Nossos resultados mostram que a inibição proporcionada pela administração de 5-HT no NPV na ingestão de sódio induzida por depleção de sódio foi maior do que a inibição observada na ingestão de água de ratos privados por 24 horas. Isto pode ser devido ao estímulo à sede ser maior, por ser proveniente de uma privação hídrica que resulta em uma desidratação dupla, isto é, intra e extracelular, enquanto que a depleção de sódio provoca somente uma desidratação extracelular.

A depleção de sódio induzida por furosemida sc tem sido empregada por muitos anos (JALOWIEC, 1974; WOLF, et al., 1974) para induzir o apetite ao sódio. O procedimento com furosemida sc combinado com 24 horas de dieta hipossódica é o protocolo mais convencional e largamente usado (LIMA et al., 2004; CASTRO et al., 2003; MENANI et al., 1998; WOLF, et al., 1974).

A furosemida é um diurético/ natriurético que reduz a reabsorção renal de sódio e água. Atua no ramo ascendente espesso da alça de Henle levando a uma situação hipovolêmica, que resulta na ativação do sistema endócrino e do sistema nervoso autônomo com o objetivo de corrigir a sobrecarga cardíaca e a queda da pressão arterial. A ativação do sistema nervoso simpático contribui para o aumento do tônus vascular, retorno venoso, frequência e contratilidade cardíaca, e reabsorção renal de sódio e água. A elevação da vasopressina plasmática, renina-angiotensina, aldosterona, epinefrina/ norepinefrina, ACTH, e glucocorticóides agem direta ou indiretamente na retenção de sódio e água ou na redistribuição sanguínea e de fluidos intersticiais na intenção de manter o fluxo sanguíneo em regiões críticas. Entretanto, é necessário corrigir déficits absolutos na água e nos solutos extracelulares. Isto envolve comportamentos associados com a aquisição e ingestão de sódio em adição a sede, iniciando o apetite ao sódio (MCKINLEY e JOHNSON, 2004).

A maioria das situações que induzem apetite ao sódio precisa de um longo período (usualmente na ordem de horas a dias) para aumentar a ingestão de sódio. Este fato está em contraste com as latências curtas para o começo da ingestão de água (STRICKER e

VERBALIS, 1990). Tem sido hipotetizado que a relativa latência longa para o apetite ao sódio tornar-se aparente é devido a algumas formas de inibição tônica, as quais precisam ser reduzidas antes que a solução hipertônica de NaCl seja consumida. Os mecanismos hipotetizados a estarem envolvidos na redução de tal inibição incluem: a) reduções posteriores do volume sanguíneo; b) diluição osmótica do sangue como uma consequência da ingestão de água; e, c) reduções moderadas na pressão arterial sanguínea (diminuição de aproximadamente 20 mmHg abaixo do normal) (JOHNSON e THUNHORST, 1997; STRICKER e VERBALIS, 1990). Portanto, pode-se sugerir que a 5-HT atuando no NPV pode estar associada com um ou mais mecanismos hipotetizados como sendo inibitórios.

Vários estudos têm demonstrado a participação do NPV do hipotálamo no controle do comportamento ingestivo e pressão arterial (GUTMAN et al., 1988; STANLEY e LEIBOWITZ, 1984; LEIBOWITZ, 1978). Gutman et al. (1988) demonstraram que lesões bilaterais no NPV pela administração do ácido cáinico resultaram na abolição da ingestão de água e atenuação da resposta pressora induzida pela administração de ANG II no OSF, sugerindo que um importante componente do NPV no circuito neural medeia a ingestão de água e a resposta pressora da ANG II agindo no OSF. Foi demonstrado também que a administração do neuropeptídeo Y (NPY) no NPV do hipotálamo provocou um aumento dose-dependente da ingestão de alimento e de água, sugerindo um importante papel do NPY e do NPV na regulação do comportamento alimentar e ingestivo (STANLEY e LEIBOWITZ, 1984). Segundo Leibowitz (1978), na área hipotalâmica medial, o NPV é o sítio onde tem início a ativação noradrenérgica em animais saciados tanto para alimento quanto para água, esta área é a chave no processo de aumento do consumo de alimento e água associado ao aumento da atividade noradrenérgica.

Os efeitos da 5-HT central na ingestão de água parecem ser mais inibitórios que estimulatórios, embora isto possa depender da via serotoninérgica ativada (CASTRO et al., 2000). Entretanto, quando administrada sistemicamente, a 5-HT causa um aumento na ingestão de água de ratos (FITZSIMONS, 1998). A relação entre os efeitos sistêmicos e centrais da 5-HT na ingestão de água é desconhecida, mas, sabe-se que a 5-HT não atravessa a barreira hemato-encefálica. A injeção sistêmica de 5-HT provoca aumento na renina plasmática e ANG II, e a ingestão de água é abolida pela nefrectomia bilateral (MEYER et al., 1974).

Os efeitos estimulatórios ou inibitórios da 5-HT sobre a ingestão de água dependem do subtipo de receptor serotoninérgico central ativado e o mesmo subtipo de

receptor serotoninérgico pode promover respostas distintas dependendo da área do cérebro onde está localizado (CASTRO et al., 2002).

Portanto, somente uma cuidadosa procura dos efeitos de cada subtipo central da 5-HT nas principais áreas que regulam a ingestão de água pode revelar como o complexo circuito da 5-HT regula a sede. Atualmente, os dados disponíveis na literatura e os resultados obtidos no presente estudo apresentam um cenário uniforme, no qual a inibição da ingestão de água é o efeito mais observado na ativação dos receptores da 5-HT, tanto na administração de drogas farmacológicas específicas no NPV quanto em outras áreas encefálicas. Foi observado um aumento na ingestão de água após a destruição seletiva de vias serotoninérgicas centrais por agentes neurotóxicos como a PCPA (SHISHEVA et al., 1987). Injeções do agonista 5-HT_{1C/2}, MK-212, icv inibem a ingestão de água em ratos privados por 16 horas (REIS et al., 1990).

O antagonista da 5-HT_{1/2}, metisergida, aumenta a ingestão de água e de sódio induzida por ANG II icv quando injetado no NPBL (MENANI et al., 1996). Em adição, a 5-HT ou o DOI, um agonista do receptor 5-HT₂, diminui a ingestão de água induzida por ANG II icv quando injetado no NPBL (MENANI e JOHNSON, 1995). Foi demonstrado também que injeções de L-694-247, um agonista do receptor 5-HT_{1D}, no terceiro ventrículo reduz a ingestão de água de ratos, induzida pela administração icv de carbacol, ANG II e isoproterenol (DE-CASTRO-E-SILVA et al., 1997), enquanto que receptores centrais 5-HT₄ parecem promover um efeito duplo, potencializando a ingestão de água após estimulação central angiotensinérgica e inibindo a ingestão de água após estimulação central colinérgica (CASTRO et al., 2000). Assim, através da interação com diferentes receptores, as vias centrais da 5-HT possuem um sistema complexo capaz de influenciar o SNC na ingestão de água e sódio.

O presente estudo demonstrou que a administração do agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, no NPV reduziu a ingestão de água de ratos privados e a ingestão de sódio de ratos depletados. Destaca-se que as doses de 8-OH-DPAT utilizadas foram aproximadamente dez vezes menores do que as doses efetivas de 5-HT, explicitando o envolvimento e a potente ação dos receptores 5-HT_{1A} do NPV neste controle. A ativação dos receptores 5-HT_{1A} foi ainda mais efetiva na redução da ingestão de água comparada com a ingestão de sódio. O volume de água ingerido foi reduzido com a menor dose empregada (10 µg) de 8-OH-DPAT. Esta diferença pode ter ocorrido devido a utilização de diferentes protocolos como mecanismo de indução da ingestão de água e sódio. A ingestão de água foi induzida por privação hídrica, que causa desidratação intra e extracelular e a depleção de sódio provoca somente uma desidratação extracelular. O receptor 5-HT_{1A} pode estar mais potentemente relacionado com as vias intracelulares de ingestão ou ter uma influência maior sobre o controle da ingestão de água.

A eficiência do antagonista 5-HT_{1A}, pMPPF, utilizado no presente estudo, foi demonstrada por Thielen & Frazer (1995) que administraram este antagonista intraperitonealmente (ip) em ratos e este antagonizou a hipotermia induzida pelo 8-OH-DPAT sc. Kung et al. (1996) atestaram a alta afinidade e seletividade do pMPPF pelos receptores 5-HT_{1A}, colocando este antagonista como uma poderosa ferramenta para estudos farmacológicos do receptor 5-HT_{1A} no SNC. Após diversos estudos, Thielen et al. (1996) concluíram que o p-MPPF comporta-se, in vivo, como um antagonista competitivo tanto de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos como de autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A}.

Os resultados apresentados neste estudo demonstraram que a administração do antagonista 5-HT_{1A}, pMPPF, administrado isoladamente no NPV do hipotálamo não provocou alteração na ingestão de água induzida por privação hídrica e na ingestão de NaCl induzida por depleção de sódio. Este fato sugere que não há uma inibição tônica exercida por estes receptores serotoninérgicos sobre a ingestão de água e sódio. Os receptores 5-HT_{1A} do NPV exercem sua atividade somente quando ativados. Assim como nos dados apresentados por De Gobbi et al. (2005), que demonstraram que injeções bilaterais do antagonista 5-HT_{1A}, WAY-100635, no NPBL também não alteraram a ingestão de NaCl induzida pelo tratamento com furo-cap.

O pMPPF bloqueou completamente o efeito inibitório do 8-OH-DPAT na ingestão de água e sódio, mostrando a especificidade dos resultados obtidos quanto à ativação do receptor 5-HT_{1A}. Quando administrado previamente a 5-HT, o pMPPF, reduziu os seus efeitos parcialmente, diminuindo o tempo e a potência do efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de água e sódio. A redução da ingestão de água e sódio ocorreu durante os primeiros quinze minutos de experimento quando comparado ao grupo controle, demonstrando o provável envolvimento de outros tipos de receptores serotoninérgicos do NPV, além do 5-HT_{1A}, no controle deste comportamento. Provavelmente a inibição verificada nos primeiros quinze minutos é resultante da atuação da 5-HT também em outros tipos de receptores serotoninérgicos e o restante do tempo de inibição da ingestão, verificado no tratamento com injeções isoladas de 5-HT, é devido a ativação dos receptores 5-HT_{1A}.

O presente trabalho também demonstrou que injeções de 5-HT em outras áreas hipotalâmicas (hipotálamo anterior, lateral, ventromedial e dorsomedial) reduziram o volume ingerido de NaCl 1,8% por ratos depletados de sódio. Diversos estudos demonstram o envolvimento destas áreas no controle de comportamentos ingestivos (SAAD et al., 2004; MORI et al., 1999; DO VALE et al., 1997; CLARK et al., 1991; COVIAN e ANTUNES-RODRIGUES, 1963). Lesões no hipotálamo anterior resultaram em uma grande queda na

ingestão de NaCl (COVIAN e ANTUNES-RODRIGUES, 1963). Clark et al. (1991) demonstraram que lesões no hipotálamo lateral de ratos resultaram em moderada hipofagia e hipodipsia após injeção ip de salina hipertônica. Ratos submetidos a lesões do hipotálamo lateral apresentaram redução da ingestão de água e sódio induzida pela administração de ANG II no núcleo pré-óptico mediano (DA SILVA et al., 1995). Foi demonstrado também que o sistema serotoninérgico do hipotálamo lateral está envolvido com ingestão de alimento e metabolismo energético (MORI, et al., 1999). Por meio de microdiálise foi examinada a liberação de 5-HT no hipotálamo lateral durante a ingestão de alimento e verificou-se que ocorre um aumento nesta liberação (MORI, et al., 1999). Lesões no hipotálamo medial de ratos aumentaram a ingestão de sódio induzida pela administração de ANG II no núcleo pré-óptico mediano, em relação à ingestão do grupo com lesão fictícia (DO VALE et al., 1997). Assim, observamos que estas áreas atingidas apresentam alguma função no controle dos comportamentos ingestivos, com destaque para a ingestão de NaCl, e provavelmente vias serotoninérgicas destas áreas estão envolvidas neste controle.

Os resultados da presente dissertação demonstraram que injeções bilaterais de 5-HT no NPV do hipotálamo reduzem significativamente a ingestão de água induzida por privação hídrica e a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio. Foi observado também que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} do NPV através do agonista específico 8-OH-DPAT reduziu significativamente o volume ingerido de água e sódio induzidos por privação hídrica e depleção de sódio, respectivamente. A administração do antagonista específico 5-HT_{1A}, pMPPF, bloqueou o efeito inibitório do 8-OH-DPAT, demonstrando que os efeitos observados na ingestão de água e sódio se devem a ativação dos receptores 5-HT_{1A}. Foi observado também que injeções bilaterais de pMPPF previamente a injeções bilaterais de 5-HT no NPV alteraram parcialmente o efeito inibitório da 5-HT sobre a ingestão de água e sódio, reduzindo o seu tempo de atuação somente aos primeiros quinze minutos, indicando que possivelmente outros receptores serotoninérgicos do NPV estão também envolvidos no controle da dipsogênese e natriorexigênese. Já o antagonista pMPPF, quando administrado isoladamente, não provocou nenhuma alteração na ingestão de água e sódio, mostrando a ausência de alguma inibição tônica do receptor 5-HT_{1A} sobre estes comportamentos.

Em suma, de acordo com os resultados apresentados e discutidos, conclui-se que o NPV do hipotálamo participa do controle do equilíbrio hidroeletrólítico através de comportamentos como a ingestão de água e sódio. Parte deste controle é feito através de receptores serotoninérgicos, dentre eles, foi demonstrada a participação do receptor 5-HT_{1A}, e sugere a participação de outros subtipos de receptores serotoninérgicos. A atuação da 5-HT e

do receptor 5-HT_{1A} ocorre de maneira a inibir a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida pela privação hídrica e pela depleção de sódio, respectivamente. Os resultados sugerem também que esta ativação não é tônica e ocorre através de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos.

7 - BIBLIOGRAFIA

1. ASE, A.R.; READER T. A.; HEN R.; RIAD M.; DESCARRIES, L. Altered serotonin and dopamine metabolism in the CNS of serotonin 5-HT_{1A} or 5-HT_{1B} receptor knockout mice. **J. Neurochem.**, 75, p. 2415-2426, 2000.
2. BADOER, E. Cardiovascular role of paraventricular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **News Physiol. Sci.**, 11, p. 43-47, 1996.
3. BAGDY, G.; MAKARA G. B. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions differentially affect serotonin-1A (5-HT_{1A}) and 5-HT₂ receptor agonist-induced oxytocin, prolactin, and corticosterone responses. **Endocrinology**, 134, p.1127-1131, 1994.
4. BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, 38, p. 1083-1152, 1999.
5. BENDOTTI, C.; SAMANIN, R. 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) elicits eating in free-feeding rats by acting on central serotonin neurons. **European J. Pharmacol.**, 121, p.147-150, 1986.
6. CAMARGO, L. A. A.; SAAD, W. A. Renal effects of angiotensin II receptors subtype 1 and 2-selective ligands injected into the paraventricular nucleus of rats. **Regul. Pept.**, 84 91-96, 1999.
7. 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 Res. Bull.**, 54, p. 595-602, 2001.
8. CAMARGO, L. A. A.; SAAD, W. A.; CERRI, P. Effects of v_1 and angiotensin. receptors of the paraventricular nucleus on the water intake induced by vasopressin injected into the lateral septal area. **Brain Res. Bull.** 61, p. 481-487, 2003.
9. CASTRO, L.; ATHANAZIO, R.; BARBETTA, M.; RAMOS, A. C.; ANGELO, A. L.; CAMPOS, I.; VARJÃO, B.; FERREIRA, H.; FREGONEZE, J.; DE-CASTRO-E-SILVA, E. central 5-HT_{2B/2C} and 5-HT₃ receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. **Brain Res**, 981, p.151-159, 2003.
10. CASTRO, L.; DE-CASTRO-E-SILVA, E.; LIMA, A. K. S.; SOUZA, F. S.; MALDONADO, I.; MACEDO, D. F.; FERREIRA, M. G.; SANTAMARIA, G. F.; BANDEIRA, I. P. V.; AMOR, A. L. M.; CARVALHO, F. L. Q.; ROCHA JR, M. A.; OLIVEIRA, I. R.; FREGONEZE, J. B. Central 5-HT₄ receptors and drinking behavior. **Pharmacol Biochem Behav**, 66, [2]: p. 443-448, 2000.
11. CASTRO, L.; VARJÃO, B.; MALDONADO, I.; CAMPOS, I.; DUQUE, B.; FREGONEZE, J.; OLIVEIRA, I. R.; DE-CASTRO-E-SILVA, E. Central 5-HT₃ receptors and water intake in rats. **Physiol. & Behav.**, 77, p. 349-59, 2002.

12. CAVALCANTI-LIMA, H. R.; BADAUÊ-PASSOS JR, D.; DE-LUCA JR., D.; LIMA, H. R. C.; COSTA-E-SOUZA, R. H.; OLIVARES, E. L.; CEDRAZ-MERCEZ, P. L.; REIS, R. O.; MEDEIROS, M. A.; CÔRTEZ, W. S.; REIS, L. C. Chronic excitotoxic lesion of the dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. **Braz. J. Mad. Biol. Res.**, 38, [11]: p.1669-1975, 2005.
13. CLARK, J. M.; CLARK, A. J.; BARTLE, A.; WINN, P. The regulation of feeding and drinking in rats with lesions of the lateral hypothalamus made by N-methyl-D-aspartate. **Neuroscience**, 45, [3], p. 631-40, 1991.
14. COLOMBARI, D. A. S.; MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. **Am. J. Physiol.**, 271, p.1470-1476, 1996.
15. COVIAN, M. R.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Specific alterations in sodium chloride intake after hypothalamic lesions in the rat. **Am. J. Physiol.**, 205, p.922-926, 1963.
16. CURRIE, P. J.; FLETCHER, P. J.; COSCINA, D. V. Administration of 8-OH-DPAT into the midbrain raphe nuclei: effects on medial hypothalamic NE-induced feeding. **Am.J.Physiol**, 266, [Regulatory Integrative Comp. Physiol. 35]: p.R1645-R1651, 1994.
17. DA SILVA, R. K.; SAAD, W. A.; RENZI, A.; MENANI, J. V.; CAMARGO, L. A. A. Effect of lateral hypothalamus lesions on the water and salt intake, and sodium end urine excretion induced by activation of the median preoptic nucleus in conscious rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, 53, [2-3], p. 195-204, 1995.
18. DE-CASTRO-E-SILVA, E.; SARMENTO, C. N.; NASCIMENTO, T. A.; LUZ, C. P.; SOARES, T.; MARINHO, C. A.; CUNHA, M.; BULCÃO, C.; DE OLIVEIRA, I. R.; FREGONEZE, J. B. Effect of third ventricle administration of L-694,247, a selective 5-HT_{1D} receptor agonist on water intake in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 57, p.749-54, 1997.
19. DE GOBBI, J. I. F.; DE LUCA, L. A.; MENANI, J. V. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. **Brain Res.**, 880, p.131-138, 2000.
20. DE GOBBI, J. I. F.; BARBOSA, S. P.; DE LUCA, L. A.; THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K.; MENANI, J. V. Activation of serotonergic 5-HT_{1A} receptors in the lateral parabrachial nucleus increases NaCl intake. **Brain Research**, 1066 [1-2]: p. 1-9, 2005.
21. DOURISH C. T.; HUTSON, P. H; CURZON, G. Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(Di-n-Propylamino) Tetralin (8-OH-DPAT). **Brain Res Bull** 15, [4]: p.377-384, 1985.
22. DO VALE, C. F.; CAMARGO, G. M.; RENZI, A.; LUIZ, A. C.; SAAD, W. A.; HETEM, S.; CAMARGO, L. A. **J Physiol Paris.**, 91, [1], p.31-7, 1997.
23. FELDMAN, R. S.; MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. **Principles of Neuropsychopharmacology**. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts, 1997. V. 1.

24. FITZSIMONS, J.T. **The Kidney: Physiology and Pathophysiology**: Physiology and pathology of thirst and sodium appetite. New York : Raven Press, 1985. 16 p.
25. FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, Thirst, and Sodium Appetite. **Physiological Reviews** 78 [3]: p. 583-686, 1998.
26. GLENNON, R. A.; DUKAT, M. Serotonin receptors and their ligands – a lack of selective agents. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 40, p. 1009-1017, 1991.
27. GUTMAN, M. B.; JONES, D. L.; CIRIELLO, J. Effect of paraventricular nucleus lesions on drinking and pressor responses to ANG II. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 255, p. 882-887, 1988.
28. GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Coogan S.A., 1996. 1014 p.
29. HAMON, M.; GOZLAN, H.; EL MESTIKAWY, S.; EMERIT, M. B.; BOLAÑOS, F.; SCHECHTER, L. The central 5-HT_{1A} receptors: Pharmacological, biochemical, functional, and regulatory properties. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 600, p.114-131, 1990.
30. HUTSON, P. H.; DONOHOE, T. P.; CURZON, G. Infusion of the 5-hydroxytryptamine agonists RU24969 and TFMPP into the paraventricular nucleus of the hypothalamus causes hypophagia. **Psychopharmacol.**, 95, p. 550-552, 1988.
31. JALOWIEC, J. Sodium appetite elicited by furosemide: effects of differential dietary maintenance. **Behav. Biol.**, 10, p. 313-327, 1974.
32. JENSEN, L.; HARDING, J. N. Role of paraventricular nucleus in control of blood pressure and drinking in rats. **Am. J. Physiol.**, 262, p.1068-1075, 1992.
33. JOHNSON, A. K.; EDWARDS, G. E.; WRIGHT, J. W. **Central projections of osmotic and hypovolaemic signal homeostasis thirst**. In: Ramsay, D.; Booth, A. O., eds. Thirst, London, Springer Verlag, 1991.
34. JOHNSON, A. K.; THUNHORST, R. L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front. Neuroendocrinol.**, 18, p. 292-353, 1997.
35. KAWAKO, Y.; SUDO, R. T.; FERRARO, C. M. Effects of cronic intraventricular sodium on blood pressure and fluid balance. **Hypertension** 17, p.28-35,1992.
36. KISS, J. Z. Dynamism of chemoarchitecture in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Brain Res. Bull.**, 20, p. 699-708, 1988.
37. KUNG, H. F.; STEVENSON, A.; ZHUANG, Z.; KUNG, M.; FREDERICK, D.; HURT, S. D. New 5-HT_{1A} receptor antagonist. **Synapse**, 23, p. 344-346, 1996.
38. LEIBOWITZ, S. F. Paraventricular nucleus: a primary site mediating adrenergic stimulation of feeding and drinking. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 8[2], p.163-75, 1978.

39. LIMA, H. R. C.; CAVALCANTE-LIMA, H. R.; CEDRAZ-MERCEZ, P. L.; COSTA-E-SOUZA, 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. **Na. Acad. Bras. Ciênc.**, 76 [1]: p. 85-92, 2004.
40. LIPOSITS, Z.; PHELIX, C.; PAULL, W. K. Synaptic interaction of serotonergic axons and corticotropin releasing factor (CRF) synthesizing neurons in the hypothalamus paraventricular nucleus of the rat. **Histochemistry**, 86, p. 541-549, 1987.
41. MARCILLA-DIAZ, J. M.; ESCARTIN-PEREZ, R. E.; LOPEZ-ALONSO, V. E.; FLORAN-GARDUÑO, B.; ROMANO-CAMACHO, J. B. Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the hypophagic effect of 5-HT on the structure of feeding behavior. **Med. Sci. Monit.**, 11, [3]: p.BR74-79, 2005.
42. MARGATHO, L. O.; BARBOSA, S. P.; DE LUCA, L. A.; MENANI, J. V. Central serotonergic and adrenergic/imidazoline inhibitory mechanisms on sodium and water intake. **Brain Res.**, 956, p.103-109, 2002.
43. MCKINLEY, M. J.; JOHNSON, A. K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **News Physiol Sci**, 19, p. 1-6, 2004.
44. MCKINLEY, M. J.; MCALLEN, R. M.; MENDELSON, F. A. O.; ALLEN, A. M.; CHAI, S. Y.; OLDFIELD, B. J. Circunventricular organ: neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. **Front. Neuroendocrinol.**, 11, p.91-127, 1990.
45. MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. **Am. J. Physiol.**, 26, p.1044-9, 1995.
46. 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.**, 274 [Regulatory Integrative Comp. Physiol. 43]: p. R555-R560, 1998.
47. 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.**, 270, p. 162-8, 1996.
48. MEYER, D. K.; ABELE, M.; HERTTING, G. Influence of serotonin on water intake and the rennin-angiotensin system in the rat. **Arch. Int. Pharmacodyn.** 212, p. 130-140, 1974.
49. MORI, R. C.; GUIMARAES, R. B.; NASCIMENTO, C. M.; RIBEIRO, E. B. Lateral hypothalamic serotonergic responsiveness to food intake in rat obesity as measured by microdialysis. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 77, [4]: p.286-92, 1999.
50. PAN, L.; GILBERT, F. Activation of 5-HT_{1A} receptor subtype in the paraventricular nuclei of the hypothalamus induces CRH and ACTH release in the rat. **Neuroendocrinology** 56, p.797-802, 1992.

51. PASOS, A.; HOYER, D.; DIETL, M. M.; PALACIOS, J. M. **Autoradiography of serotonin receptors.** In Osborne, N. N.; Hamon, M eds. *Neuronal Serotonin*, Chichester, Wiley, p. 57-92, 1988.
52. PAXINOS G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates.** Sydney, Academic Press, 1986.
53. PETERSEN, S. L.; HARTMAN, R. D.; BARRALOUGH, C. A. An Analysis of serotonin secretion in hypothalamic regions based on 5-hydroxytryptophan accumulation or push-pull perfusion. Effects of mesencephalic raphe or locus coeruleus stimulation and correlated changes in plasma luteinizing hormone. **Brain Res.** 495, p. 9-19, 1989.
54. PUCADYIL, T. J.; KALIPATNAPU, S.; CHATTOPADHYAY, A. The serotonin_{1A} receptor: A representative member of the serotonin receptor family. **Cell. Mol. Neurobiol.** 25, [3,4]: p. 553-75, 2005.
55. RAYMOND, J. R.; MUKHIN, Y. V.; GETTYS, T. W.; GARNOVSKAYA, M. N. The recombinant 5-HT_{1A} receptor: G protein coupling and signalling pathways. **Br. J. Pharmacol.** 127, p. 1751-1764, 1999.
56. REIS, L. C.; RAMALHO, M. J. P.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by water deprivation: effect of a serotonergic agonist, (MK-212) administered intracerebroventricularly. **Braz. J. Med. Res.** 23, p. 1335-1338, 1990.
57. REIS, L. C. **Participação do sistema serotoninérgico central na regulação do equilíbrio hidro-eletrolítico.** Tese (Doutorado em Fisiologia) - Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1993.
58. ROUAH-ROSILIO, M.; OROSCO, M.; NICOLAIDS, S. Serotonergic modulation of sodium appetite in the rat. **Physiol. Behav.** 55, p. 811-816, 1994.
59. ROWLAND, N. E.; LI, B. H.; FREGLY, M. J.; SMITH, G. C. Involvement of angiotensin in water intake induced by peripheral administration of a serotonin agonist, 5-carboxymidotryptane. **Brain. Res.** 664, p. 148-154, 1994.
60. SAAD, W. A.; GUARDA, I. F. M. S.; CAMARGO, L. A. A.; GARCIA, G. GUTIERREZ, L. I.; SAAD, W. A.; SIMÕES, S.; GUARDA, R. S. Lateral hypothalamus lesions influences water and salt intake, and sodium and urine excretion, and arterial blood pressure induced by L-NAME and FK 409 injections into median preoptic nucleus in conscious rats. **Life Sciences**, 75, [6]: p.685-697, 2004.
61. SAUDOU, F.; HEN, R. 5-Hydroxytryptane in vertebrates and invertebrates. **Neurochem. Int.** 25, p. 503-522, 1994.
62. SAWCHENKO, P. E.; SWANSON, L. W. The organization and biochemical specificity of afferent projections to the paraventricular and supraoptic nuclei. **Prog. Brain Res.**, 60, p. 19-29, 1983.

63. SAWCHENKO, P. E.; SWANSON, L. W.; STEINBUSCH, H. W. M.; VERHOFSTAD, A. J. The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **Brain Res.**, 277, p. 355-360, 1983.
64. SILVERMAN, A. J.; HOFFMAN, D. L.; ZIMMERMAN, E. A. The descending afferent connections of the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). **Brain Res. Bull.**, 6, p. 47-61, 1981.
65. SIMANSKY, K. J. Peripheral 5-carboxamidotryptamine (5-CT) elicits drinking by stimulating 5-HT₁-like serotonergic receptors in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 38, p. 459-462, 1995.
66. SIMANSKY, K. J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. **Behav. Brain Res.**, 73, p. 37-42, 1996.
67. SHISHEVA, A. C.; IKOMOV, O. C.; STOYNEV, A. G.; POPOVA, J. Renin release and water salt balance after central serotonin depletion by p-chlorophenylalanine in Brattleboro and Wistar rats: possible role of ADH. **Endocrinol. Exp.** 21, p. 219-228, 1987.
68. SHOR-POSNER, G.; GRINKER, J. A.; MARINESCU, C.; BROWN, O.; LEIBOWITZ, S. F. Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. **Brain Res. Bull.**, 17, p. 663-671, 1986.
69. STADLER, T.; VELMAR, A.; QUADRI, F. UNGER, T. Angiotensin II evokes noradrenaline release from the paraventricular nucleus in conscious rats. **Brain Res.** 569, p. 117-122, 1992.
70. STANLEY, B. G.; LEIBOWITZ, S. F. Neuropeptide Y: stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. **Life Sci.** 35[26]: p. 2635-42, 1984.
71. STRICKER, E. M.; VERBALIS, J. G. Sodium appetite. In: **Handbook of behavioral neurobiology**. Neurobiology of food and fluid intake, edited by Stricker, E. M. New York, 10, p. 389-93, 1990.
72. SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Paraventricular nucleus: a site for integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. **Neuroendocrinology**, 31, p. 410-417, 1980.
73. TANAKA, J.; KARIYA, K.; MIYAKUBO, H.; SAKAMAKI, K.; NOMURA, M. Attenuated drinking response induced by angiotensinergic activation of subfornical organ projections to the paraventricular nucleus in strogen-treated rats. **Neuroscience Letters**, 324, p. 242-246, 2002.
74. TANAKA, J.; HAYASHI, Y.; NOMURA, S.; MIYAKUBO, H.; OKUMURA, T. SAKAMAKI, K. Angiotensinergic and noradrenergic mechanisms in the hypothalamic paraventricular nucleus participate in the drinking response induced by activation of the subfornical organ in rats. **Behav. Brain Res.** 118, p. 117-122, 2001.

75. TANGAPRÉGASSON, M. J.; TANGARPRÉGASSON, A. M.; SOULAIRAC, A. Contrôle mesencephalique du comportement de soif. **J. Physiol. (Paris)**, 67, p. 314 A, 1973.
76. TANGAPRÉGASSON, M. J.; TANGARPRÉGASSON, A. M.; SOULAIRAC, A. Effets des lésions de la région du raphé mesencephalique sur le comportement de soif et de la neurosécrétion hypothalamique antérieure du rat. **Ann. Endocrinol. (Paris)**, 35, p. 667-8, 1974.
77. THIELEN, R. J.; FRAZER, A. Effects of novel 5-HT_{1A} receptor antagonists on measures of post-synaptic 5-HT_{1A} receptor activation in vivo. **Life Sciences** 56 [7], p. 163 -168, 1995.
78. THIELEN, R. J.; FANGON, N. B.; FRAZER, A. 4-(2'-Methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2"-pyridinyl)-p-iodobenzamido]ethyl]piperazine and 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2"-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]ethyl]piperazine, two new antagonists at pre- and postsynaptic serotonin-1A receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 277 [2]: p. 661-70, 1996.
79. THUNHORST, R. L.; FITTS, D. A. Peripheral angiotensin causes salt-appetite in rats. **Am. J. Physiol.** 264, p. 171-177, 1994.
80. THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Renin-angiotensin, arterial pressure, and salt appetite in rats. **Am. J. Physiol.** 266, p. 458-465, 1994.
81. WOLF, G.; MCGOVERN, J. F.; DI CARA, L. V. Sodium appetite: some conceptual and methodologic aspects of a model drive system. **Behav. Biol.** 10, p. 27-42, 1974.

ANEXOS**I) Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.**Tabela 1 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos privados de água por 24 horas.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
125	15,4	19,8	20	20,1	20,1
127	16,3	19,8	22,3	22,7	23,1
61	13,2	20	20,4	20,4	20,6
101	13,5	16,8	16,8	16,9	16,9
67	20,4	22,5	23,9	24	24,1
68	12,8	15,2	15,8	15,9	16,1
69	13,4	16	16	16	16
90	13,9	17,4	18,5	18,5	18,5
Média	14,863	18,438	19,213	19,313	19,425
Erro	0,896	0,8746	1,0508	1,072	1,0956
Desvio	2,5343	2,4738	2,972	3,0319	3,0987
n	8	8	8	8	8

Tabela 2 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **5-HT (10 µg)** no NPV de ratos privados de água por 24 horas.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
101	0	3,8	13,2	13,2	13,4
102	8,9	12	13,2	13,3	13,5
105	12,9	15,9	19,6	19,6	19,9
118	10,9	11,2	11,2	11,3	11,3
119	20,9	20,9	21,1	21,1	21,1
125	15,1	21	22,5	22,6	22,6
126	10	13,3	14,2	14,3	14,3
127	8,9	9,5	10,5	16,1	16,8
Média	10,95	13,45	15,688	16,438	16,613
Erro	2,1097	2,046	1,651	1,4707	1,4663
Desvio	5,9671	5,7869	4,6698	4,1596	4,1474
n	8	8	8	8	8

Tabela 3 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (20 µg) no NPV de ratos privados de água por 24 horas.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
31	5,5	9,6	14,1	16,3	17,5
33	11,3	14,1	15,8	15,8	15,8
61	12,5	16,6	17,2	17,2	17,2
101	5,1	13,4	17,4	17,6	17,6
102	0	7,6	11,4	11,4	11,4
105	11,7	14,3	17,4	17,4	17,4
Média	7,6833	12,6	15,55	15,95	16,15
Erro	2,0239	1,3636	0,9824	0,9528	0,9878
Desvio	4,9576	3,3401	2,4064	2,3339	2,4197
n	6	6	6	6	6

Tabela 4 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (40 µg) no NPV de ratos privados de água por 24 horas.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
65	13,5	16,6	16,6	16,6	16,8
67	8,7	14,8	18,9	18,9	19,5
68	10,2	11,3	15,9	17	18,5
69	1,6	9,7	15,1	16,5	17,8
20	8,5	9,3	11,4	12,3	22,2
23	14,2	14,2	21,9	21,9	21,9
29	12,8	14,6	21,7	23,8	25,6
Média	9,9286	12,929	17,357	18,143	20,329
Erro	1,6347	1,065	1,4239	1,441	1,1612
Desvio	4,325	2,8176	3,7673	3,8126	3,0723
n	7	7	7	7	7

Tabela 5 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (50 µg) no NPV de ratos privados de água por 24 horas.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
65	9,4	10,9	12,4	12,4	12,4
68	0	0	18,5	18,5	18,5
69	9,5	14	16,1	16,1	18,9
85	0	0	12,5	13	13,4
88	9,4	14,9	14,9	14,9	14,9
90	2,8	14,3	17,2	17,2	17,6
Média	5,1833	9,0167	15,267	15,35	15,95
Erro	1,946	2,9069	1,0148	0,9719	1,1275
Desvio	4,7667	7,1205	2,4857	2,3805	2,7617
n	6	6	6	6	6

II) Efeitos das injeções bilaterais de 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida pelo tratamento com furosemida vinte e quatro horas antes do experimento.

Tabela 6A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	12,1	13,3	13,3	13,3	13,3
129	20,4	22,7	24,6	24,6	24,6
131	18,8	21,1	21,2	21,2	21,2
149	17,8	22,2	22,2	22,2	22,2
150	10,5	11,5	11,5	11,5	11,5
153	12,1	13,2	13,2	13,2	13,2
154	15,4	19,9	21	21,7	21,8
Média	15,3	17,7	18,143	18,243	18,257
Erro	1,4478	1,8238	1,9981	2,0242	2,0284
Desvio	3,8306	4,8253	5,2864	5,3556	5,3665
n	7	7	7	7	7

Tabela 6B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
129	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5
131	0,2	0,2	1	1,1	1,1
149	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
150	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
153	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6
154	0,4	0,6	1,5	1,8	1,8
Média	0,3429	0,4	0,6571	0,7143	0,7143
Erro	0,0369	0,0617	0,1688	0,2098	0,2098
Desvio	0,0976	0,1633	0,4467	0,5551	0,5551
n	7	7	7	7	7

Tabela 7A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (10µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	0	4,4	9,8	10,1	10,1
129	5,2	18,3	22,2	22,2	22,2
131	0	0	14,5	21,2	21,3
149	3,3	10,7	13,8	16,9	22,2
150	0	0	0	0	14
153	1,7	3,9	9,8	11,1	11,2
154	11,5	18,3	24	24	24
Média	3,1	7,9429	13,443	15,071	17,857
Erro	1,5872	2,9969	3,0731	3,2333	2,2183
Desvio	4,1992	7,929	8,1306	8,5545	5,8691
n	7	7	7	7	7

Tabela 7B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (10µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	0	0,4	0,6	0,6	0,6
129	0,4	0,5	1,7	1,7	1,7
131	0	0	1,7	1,7	2
149	0,1	0,2	3,4	3,6	4,5
150	0	0	0	0	0,3
153	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
154	0,1	0,1	1,3	2,5	4,7
Média	0,1	0,2	1,2857	1,4857	2,0143
Erro	0,0535	0,0724	0,4339	0,4877	0,7133
Desvio	0,1414	0,1915	1,1481	1,2903	1,8872
n	7	7	7	7	7

Tabela 8A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (20µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	10,3	13,8	15,3	18	18,1
129	0,1	9,1	19,2	23,3	24,9
131	10,5	15,9	16,5	16,7	16,7
149	0	7,8	17,2	18,8	20,3
150	2,2	4,1	4,1	11,2	11,2
153	0	0	0	0	0
154	3,6	12,4	19,9	20,8	20,8
Média	3,8143	9,0143	13,171	15,543	16
Erro	1,7749	2,1195	2,965	2,953	3,1041
Desvio	4,6959	5,6076	7,8447	7,8128	8,2126
n	7	7	7	7	7

Tabela 8B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 5-HT (20µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
128	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
129	0	0	0	9,2	9,2
131	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4
149	0	0	0,1	0,2	0,4
150	0	0,1	0,1	0,5	0,5
153	0	0	0	0	0
154	0	0,1	0,2	1,2	1,2
Média	0,0714	0,1	0,1429	1,6714	1,7
Erro	0,0474	0,0436	0,0528	1,2632	1,2579
Desvio	0,1254	0,1155	0,1397	3,342	3,3282
n	7	7	7	7	7

III) Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Tabela 9 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
246	11,8	18,1	18,3	18,3	18,4
249	15,2	19,1	21,7	22,1	22,3
250	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
253	12,3	14,4	14,4	14,4	14,4
267	15,1	17,8	21,4	23,1	24,7
269	16,5	16,7	16,7	16,7	16,7
271	13,7	18,7	21	21,1	21,1
273	14,5	15,3	16,5	16,7	17
274	14,2	20,9	21,9	21,9	21,9
275	12,2	16,8	18	18	18
Média	14,28	17,51	18,72	18,96	19,18
Erro	0,5808	0,5928	0,8284	0,915	1,0032
Desvio	1,8365	1,8747	2,6195	2,8934	3,1724
n	10	10	10	10	10

Tabela 10 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (1 µg)** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
246	17,1	17,6	17,9	18	18,1
249	15,7	17,7	18,1	18,1	18,1
250	9,5	9,5	13,2	15	15
253	4,3	14,1	15,6	15,8	15,8
267	12,9	13,7	18,9	18,9	19
269	12,6	14,3	15,4	16,7	16,8
271	9,9	14,4	17,5	20,1	20,1
273	8,5	14,3	16,3	16,3	16,3
274	6,1	6,6	7,1	7,1	7,2
275	2,9	5,1	5,2	8	8,1
Média	9,95	12,73	14,52	15,4	15,45
Erro	1,4857	1,3547	1,4947	1,3939	1,3873
Desvio	4,6983	4,2841	4,7267	4,4078	4,3872
n	10	10	10	10	10

Tabela 11 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
246	0	0	12,2	12,5	12,6
249	0	0,5	14	14,9	15,1
250	7	12,4	14,8	17,4	19,3
253	8,3	12	14,4	14,4	14,7
267	9,3	12,9	15,3	15,3	15,3
269	7,5	7,5	7,5	14,7	14,7
271	10,5	13,3	16,3	21,3	21,3
273	3,8	12,6	13,9	16,9	16,8
274	6,2	6,3	7,1	7,1	7,1
275	10,3	11	11	11,1	11,1
Média	6,29	8,85	12,65	14,56	14,8
Erro	1,2212	1,6117	1,0092	1,209	1,2679
Desvio	3,8616	5,0967	3,1914	3,8231	4,0094
n	10	10	10	10	10

Tabela 12 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (5,0 µg)** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
246	9,1	9,6	11,6	14,1	14,4
249	10,5	10,5	10,5	15,5	15,5
250	2,7	3,5	4,6	5,8	5,8
253	12,3	12,3	13	14,4	16,1
267	8,1	12,9	14,6	14,7	14,7
269	0,1	0,1	12,4	14,6	14,8
271	8	8	12,5	12,7	12,8
273	8,2	11,2	14,9	15,5	16,1
274	9,9	12,1	14,7	15,6	15,7
275	9	12,6	14,4	15,9	16,2
Média	7,79	9,28	12,32	13,88	14,21
Erro	1,1579	1,3573	0,9763	0,9456	0,9907
Desvio	3,6616	4,2921	3,0872	2,9903	3,1328
n	10	10	10	10	10

IV) Efeitos das injeções bilaterais de 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida pelo tratamento com furosemida vinte e quatro horas antes do experimento.

Tabela 13A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	10	15,3	16,8	16,9	21,8
237	13,5	14,6	16,1	16,3	16,3
238	12,1	14,8	16,3	16,4	16,6
257	15	18,5	18,7	18,7	18,7
201	16,2	20,7	22,4	22,4	22,4
205	14,3	17,2	17,2	17,2	17,2
227	14,4	20,9	21,4	21,4	21,4
228	13,5	21,3	24,7	24,7	24,7
234	14,1	18,4	20,8	23	23,1
Média	13,678	17,967	19,378	19,667	20,244
Erro	0,5925	0,8876	1,0249	1,0775	1,0335
Desvio	1,7775	2,6627	3,0748	3,2326	3,1004
n	9	9	9	9	9

Tabela 13B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	0	0,1	0,1	0,2	0,2
237	0	0,1	0,1	0,2	0,2
238	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5
257	0,2	0,2	3,1	3,2	9,2
201	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
205	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
227	0,4	0,8	1,1	2,1	2,1
228	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
234	0,2	0,5	0,7	3,5	3,5
Média	0,2	0,3111	0,7	1,1556	1,8222
Erro	0,05	0,0754	0,3193	0,4622	0,9994
Desvio	0,15	0,2261	0,9579	1,3866	2,9982
n	9	9	9	9	9

Tabela 14A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (1,0 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
238	9,5	16,1	17,6	17,7	17,8
240	8,7	11,4	17,3	17,3	17,3
242	9,9	14,8	15,5	15,5	15,6
245	9,7	9,9	10,3	17,7	17,7
261	10,5	15,9	20,8	20,8	20,8
279	11,3	17,3	19	19	19
281	11,6	13,6	15	15	15
283	6,7	13	14,2	23,1	23,1
285	6,9	9,6	14,1	14,1	14,1
Média	9,4222	13,511	15,978	17,8	17,822
Erro	0,5778	0,9241	1,0333	0,9547	0,9513
Desvio	1,7333	2,7724	3,0999	2,864	2,8538
n	9	9	9	9	9

Tabela 14B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (1,0 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
238	0,1	0,1	1,2	1,4	1,5
240	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
242	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
245	0	0	0	0	0
261	0	0	0	0	0
279	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8
281	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
283	0	0	0	0	0
285	0	0,1	0,1	5,8	5,8
Média	0,1222	0,1556	0,2778	0,9333	0,9444
Erro	0,0741	0,0835	0,1422	0,6287	0,6298
Desvio	0,2224	0,2506	0,4265	1,8861	1,8895
n	9	9	9	9	9

Tabela 15A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	0	0	9,1	13,9	13,9
237	0	0	0	9,9	10
238	0	0	0	0	3,7
240	0	7	17,1	17,2	17,2
242	0	11,6	19,4	19,5	19,6
279	0	5,3	13,6	15	15
281	4	6,8	10,2	12,1	12,1
283	8,4	13,1	20,6	28	28
285	6,8	11,4	22,1	23	23
Média	2,1333	6,1333	12,456	15,4	15,833
Erro	1,1294	1,7516	2,7816	2,6804	2,401
Desvio	3,3882	5,2548	8,3448	8,0411	7,203
n	9	9	9	9	9

Tabela 15B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	0	0	0,5	0,5	1,2
237	0	0	0	0,2	0,2
238	0	0	0	0,1	0,1
240	0	0,2	1,9	2	2,3
242	0	0,3	0,4	0,5	0,5
279	0	0,2	0,4	0,9	0,9
281	0	0,1	0,1	0,2	0,2
283	0	0	0,1	0,1	0,1
285	0,2	0,2	0,3	5,1	5,1
Média	0,0222	0,1111	0,4111	1,0667	1,1778
Erro	0,0222	0,0389	0,1961	0,5424	0,5454
Desvio	0,0667	0,1167	0,5883	1,6271	1,6361
n	9	9	9	9	9

Tabela 16A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de 8-OH-DPAT (5,0 µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	7	10,8	15,6	16,6	16,6
237	8	11,7	13,1	13,1	13,1
238	2,8	8,6	11,1	11,4	11,4
256	0	0	0	0,1	0,1
259	0	0	11,5	14,9	15
260	0	0	0	8,9	13,4
279	0	8,4	14,5	14,6	14,6
228	0	0	0	5,4	18,1
230	0	0	0	1	7,8
Média	1,9778	4,3889	7,3111	9,5556	12,233
Erro	1,0906	1,7665	2,3559	2,0409	1,8121
Desvio	3,2718	5,2996	7,0676	6,1227	5,4362
n	9	9	9	9	9

Tabela 16B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de 8-OH-DPAT (5,0 µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
236	0	0	0	0,1	0,1
237	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
238	0,2	0,2	0,2	1,2	1,2
256	0	0	0	0	0
259	0	0,5	0,5	0,5	0,5
260	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4
279	0	0,1	0,2	0,3	0,3
228	0	0	0	0,5	0,5
230	0	0	0	0,6	0,7
Média	0,0444	0,1111	0,1556	0,4111	0,4333
Erro	0,0242	0,0539	0,0626	0,1207	0,1202
Desvio	0,0726	0,1616	0,1878	0,3621	0,3606
n	9	9	9	9	9

V) Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF e 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Tabela 17 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
293	18,5	21,5	22,3	22,3	22,3
294	12,5	15,1	16,1	16,1	16,2
295	16,7	19,8	19,8	19,8	20
306	8,1	9,5	9,9	10,1	10,1
310	10,2	12,8	13,5	13,8	14
312	12,4	14,3	14,7	14,8	14,9
313	15,6	19,2	19,2	19,2	19,2
315	4,8	10,4	15,8	17,4	17,4
317	18	20,5	20,8	20,8	20,9
318	9,8	9,8	14,1	14,1	14,2
319	14,6	17,2	19,1	19,2	19,2
324	12,4	17,8	18,8	18,8	18,8
Média	12,8	15,658	17,008	17,2	17,267
Erro	1,1937	1,2445	1,0352	1,0109	1,0076
Desvio	4,135	4,3112	3,5862	3,5017	3,4906
n	12	12	12	12	12

Tabela 18 - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de pMPPF (3,8 µg) no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
293	20,2	24,6	26	27	27
294	12	15,2	15,3	15,6	15,6
295	14	21,8	22,1	22,1	22,1
306	4,7	9,2	10,6	10,6	10,7
310	12,1	14,8	15	15	16,3
312	14,9	18,9	19,1	19,1	19,1
313	14,4	18,7	18,7	18,7	18,9
315	11,7	15,1	15,4	15,5	16
317	14	20,3	21,5	21,5	21,5
318	9,1	14,1	16,4	16,4	16,4
319	8,1	12,4	15,4	15,4	15,4
324	16	19,4	19,9	20	20,1
Média	12,6	17,042	17,95	18,075	18,258
Erro	1,1616	1,2493	1,1854	1,2333	1,2027
Desvio	4,0238	4,3278	4,1062	4,2723	4,1664
n	12	12	12	12	12

Tabela 19 - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de veículo + 8-OH-DPAT (2,5 µg) no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
293	13,1	13,1	13,1	13,1	14,4
294	11,6	12,2	12,7	12,9	13,5
295	13,4	16,1	16,1	16,2	16,8
306	4,2	4,9	5,2	5,2	5,2
310	4,3	4,3	11,3	13,3	13,3
312	11	12	12	12	12,2
313	8,9	12	12	12,4	13,2
315	9,8	12,8	14,3	16,4	16,4
317	3,6	20,3	21,8	21,8	22,5
318	1,7	12,2	12,2	12,2	18,1
319	3,8	13	13,2	13,2	13,2
324	1,8	11,1	16,8	17,1	17,9
Média	7,2667	12	13,392	13,817	14,725
Erro	1,2851	1,2283	1,1276	1,1383	1,2136
Desvio	4,4516	4,2548	3,9063	3,9432	4,2041
n	12	12	12	12	12

Tabela 20 - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de pMPPF (3,8 mg) + 8-OH-DPAT (2,5 µg) no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
293	15,5	16,4	16,4	16,5	16,6
294	12,9	15,7	15,8	15,9	16
295	11,3	17,8	18,1	18,2	18,4
306	6,1	6,3	6,3	6,4	6,5
310	10,9	12,7	14,5	14,5	14,6
312	15,7	15,7	15,7	15,8	15,8
313	19,2	20,7	20,7	20,7	20,7
315	14,8	15,5	19,9	20,4	20,4
317	9,2	19,9	21,6	21,7	21,7
318	9,3	13,8	15,7	17,8	17,9
319	11,2	13,1	13,1	13,2	13,3
324	13,2	13,3	15,8	15,8	16,9
Média	12,442	15,075	16,133	16,408	16,567
Erro	1,0218	1,0884	1,1613	1,1762	1,1683
Desvio	3,5395	3,7705	4,023	4,0744	4,0471
n	12	12	12	12	12

VI) Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF e 8-OH-DPAT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8% induzida pelo tratamento com furosemida vinte e quatro horas antes do experimento.

Tabela 21A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	13,3	16,1	16,1	17,6	18,1
304	10,8	16	20,9	24	24
326	10,5	17,2	17,3	17,3	17,3
327	10,5	15	15,6	15,6	15,6
328	12,7	14,1	18,7	18,7	18,7
330	11,9	16,3	16,4	16,4	16,4
334	13,6	17	17	17	17
341	16,6	18,5	18,5	18,6	18,6
Média	12,488	16,275	17,563	18,15	18,213
Erro	0,7313	0,478	0,6129	0,9126	0,9094
Desvio	2,0684	1,352	1,7336	2,5813	2,5721
n	8	8	8	8	8

Tabela 21B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	0,5	0,6	0,6	0,6	0,8
304	0,2	0,3	0,3	1,2	1,2
326	0	0	0	0	0
327	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
328	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
330	0,1	0,7	1,6	1,6	1,6
334	0,7	1,9	4,7	10	10,5
341	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Média	0,25	0,5	0,9625	1,7375	1,825
Erro	0,0845	0,2179	0,5638	1,1976	1,2561
Desvio	0,239	0,6164	1,5946	3,3873	3,5528
n	8	8	8	8	8

Tabela 22A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeção bilateral de 0,2 µl de pMPPF (3,8 µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	5,9	9,8	12,1	12,1	12,1
304	19,1	19,2	19,2	26,2	31
326	10	12,2	12,7	12,8	12,8
327	9,8	9,9	12,8	15	15,1
328	3,4	10,2	14,5	14,5	14,5
330	11,5	13,1	15,2	15,2	15,2
334	15,8	21,8	23	23	23
341	8,2	12,5	15,4	15,6	15,8
Média	10,463	13,588	15,613	16,8	17,438
Erro	1,796	1,5908	1,3204	1,7799	2,2625
Desvio	5,0799	4,4993	3,7346	5,0345	6,3993
n	8	8	8	8	8

Tabela 22B - Ingestão cumulativa de água após injeção bilateral de 0,2 µl de pMPPF (3,8 µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	0,3	0,8	4,1	4,1	4,1
304	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4
326	1,7	1,7	3,9	4	4
327	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
328	0	0,2	1,9	1,9	1,9
330	0,4	0,7	3,9	5,7	5,7
334	0	0	0,1	0,1	0,1
341	0	0	0	0	0
Média	0,4125	0,5375	1,85	2,0875	2,1125
Erro	0,203	0,2017	0,6547	0,7859	0,7777
Desvio	0,5743	0,5706	1,8516	2,2229	2,1996
n	8	8	8	8	8

Tabela 23A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo + 8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	12,6	20,3	22,4	22,4	22,4
304	17,4	20,4	25,7	27	27
326	1,3	8,2	19,3	19,3	19,3
327	3,9	9,9	24,9	25	25,1
328	2,5	12,5	21,2	21,2	21,3
330	0	0	17,3	17,3	17,5
334	3,2	19,7	27,9	27,9	27,9
341	0,1	0,2	8	13,3	13,3
Média	5,125	11,4	20,838	21,675	21,725
Erro	2,2551	2,9827	2,205	1,7619	1,7561
Desvio	6,3785	8,4363	6,2367	4,9833	4,967
n	8	8	8	8	8

Tabela 23B - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo + 8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4
304	0,1	0,1	0,1	2,1	2,2
326	0	0	0	0	0,1
327	0	0,1	0,1	0,1	0,3
328	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
330	0	0,2	0,2	0,2	0,2
334	0	0	0	0	0
341	1,3	1,3	1,7	2,6	2,7
Média	0,2125	0,2625	0,325	0,6875	0,7625
Erro	0,1575	0,1511	0,1998	0,3676	0,3737
Desvio	0,4454	0,4274	0,5651	1,0398	1,0569
n	8	8	8	8	8

Tabela 24A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeções bilaterais de 0,2 µl de **pMPPF (3,8 µg) + 8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	15,8	13,5	18,2	18,5	18,6
304	14,8	20,4	20,4	20,4	20,4
326	11,1	15	15,4	15,5	15,5
327	13,6	17,4	17,5	21,1	21,1
328	12,7	17,7	21,6	21,6	21,6
330	12,9	16,3	21,3	21,3	21,3
334	16,3	26,1	27,5	27,5	27,5
341	9,7	15,1	15,1	20,7	20,7
Média	13,363	17,688	19,625	20,825	20,838
Erro	0,25	1,725	0,55	0,475	0,45
Desvio	0,7071	4,879	1,5556	1,3435	1,2728
n	8	8	8	8	8

Tabela 24B - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de **pMPPF (3,8 µg) + 8-OH-DPAT (2,5 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
299	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
304	0,2	0,3	0,6	0,6	1,3
326	0	0	0	0	0
327	0	0	0	0	0
328	0	0	0	0,1	0,1
330	0	0	0	0	0
334	0	0	0	0	0
341	0	0,4	0,6	0,7	0,7
Média	0,0375	0,1	0,175	0,2	0,2875
Erro	0,0263	0,0567	0,0959	0,1018	0,1674
Desvio	0,0744	0,1604	0,2712	0,2878	0,4734
n	8	8	8	8	8

VII) Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF e 5-HT no NPV sobre a ingestão de água induzida por vinte e quatro horas de privação hídrica.

Tabela 25 - Ingestão cumulativa de água após duas injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
347	12,9	16,1	16,2	16,2	16,2
348	14,6	15,5	18,8	18,8	18,8
349	13,7	17	18,1	18,1	18,1
350	11,2	14,8	14,8	14,8	14,8
353	12,3	19,4	23,1	23,1	23,1
355	12,2	15	17,1	17,1	17,2
357	14,3	15,5	15,5	15,5	15,5
361	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6
362	10,5	10,5	10,8	10,8	10,8
363	11,9	14,6	14,7	14,7	14,7
364	14	17,9	20	20	20
365	10,2	10,3	10,3	10,3	10,3
Média	12,283	14,683	15,75	15,75	15,758
Erro	0,4832	0,8875	1,1775	1,1775	1,1784
Desvio	1,6738	3,0745	4,0791	4,0791	4,0822
n	12	12	12	12	12

Tabela 26 - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo + 5-HT (20 µg)** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
347	0	0	9,6	13,3	13,3
348	7,6	11,4	17,1	17,9	19,6
349	6,5	9,5	13	16,2	16,2
350	0	7,8	12,7	12,7	12,8
353	0	0	0	16,6	16,6
355	0	9,8	14,6	14,6	14,6
357	0	0	9,8	14,8	14,8
361	5,2	7,2	10,2	10,2	10,6
362	0	3,5	8	9,5	9,5
363	3	3	10,8	11,2	11,2
364	14,8	18,5	18,8	21	21
365	0,5	1	7,3	8,6	8,6
Média	3,1333	5,975	10,992	13,883	14,067
Erro	1,3414	1,6629	1,4187	1,0678	1,1134
Desvio	4,6469	5,7605	4,9144	3,6991	3,8571
n	12	12	12	12	12

Tabela 27 - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de **pMPPF (3,8 µg) + 5-HT (20 µg)** no NPV de ratos privados de água.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
347	6,7	11,5	13,2	13,2	13,3
348	17,3	20,3	20,3	20,3	20,4
349	0	9,2	10,4	10,7	10,7
350	6,1	10	12,9	12,9	12,9
353	16,2	16,4	16,9	16,9	17,6
355	11,6	14,3	15,8	15,8	15,8
357	0	9,3	11,2	11,9	11,9
361	7,2	7,7	12,2	12,7	12,7
362	9	10,4	12,2	12,5	12,5
363	5,4	9,1	11,5	11,7	11,7
364	17,1	18,7	21	21	21,5
365	11,2	11,2	12,1	12,3	12,3
Média	8,9833	12,342	14,142	14,325	14,442
Erro	1,7185	1,1887	1,0265	0,986	1,0306
Desvio	5,9531	4,1177	3,5559	3,4158	3,5699
n	12	12	12	12	12

VIII) Efeitos das injeções bilaterais de pMPPF e 5-HT no NPV sobre a ingestão de água e NaCl 1,8 % induzida pelo tratamento com furosemida vinte e quatro horas antes do experimento.

Tabela 28A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após duas injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	12	16,6	22	23,1	23,1
380	6,9	13,9	15	17,2	17,2
382	12,3	12,4	12,4	12,6	18,8
384	12,9	17,1	17,7	17,8	17,8
386	16,8	17,6	17,6	17,7	18,1
387	14,8	14,8	14,8	14,9	15,2
389	13,5	15,8	16,9	20,1	20,8
391	6	8,4	12,1	12,4	12,4
393	7,9	9,6	9,8	9,9	9,9
395	9,5	13,5	13,6	13,8	13,8
396	13,1	14,6	17,1	17,5	17,8
397	12,6	13,4	13,4	13,7	13,9
398	11,2	13	13	13,2	13,5
399	11,2	17,4	19,9	20,2	20,5
400	12	15,1	15,1	15,3	15,5
Média	11,513	14,213	15,36	15,96	16,553
Erro	0,7509	0,692	0,8278	0,9156	0,9151
Desvio	2,9081	2,68	3,2062	3,5462	3,544
n	15	15	15	15	15

Tabela 28B - Ingestão cumulativa de água após duas injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4
380	0,3	0,4	2,8	2,8	2,9
382	0,2	0,2	0,2	1	2,5
384	0	0	0,1	0,1	0,1
386	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
387	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
389	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
391	0,1	3,2	6,9	7	7
393	5	7,3	7,4	7,4	7,4
395	0,7	1,4	1,5	1,6	1,6
396	0	0	0	0,2	0,2
397	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4
398	0	0	0	0,2	0,3
399	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0
Média	11,513	14,213	15,36	15,96	16,553
Erro	0,7509	0,692	0,8278	0,9156	0,9151
Desvio	2,9081	2,68	3,2062	3,5462	3,544
n	15	15	15	15	15

Tabela 29A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo + 5-HT (20 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	7,9	16,6	20,9	21	21
380	0,1	0,1	5	10,3	10,4
382	5	10,8	19,1	19,2	19,3
384	0	0	0,1	0,2	0,2
386	0	0	0	5,8	5,9
387	0	3,4	8,4	8,5	8,5
389	0	0,5	8,7	12,3	12,4
391	0,5	1,7	21,2	22,3	22,4
393	2,2	10,1	18,9	19,1	19,4
395	0	0	0	0	0
396	0	0	0	0	0
397	0	0	3,2	5,9	5,9
398	0	0	5,4	8	15,7
399	0	0	2,2	17,8	17,8
400	0	0	0	8,3	11,3
Média	1,0467	2,88	7,54	10,58	11,347
Erro	0,6019	1,3531	2,1503	2,0006	2,0181
Desvio	2,3311	5,2407	8,3281	7,7485	7,816
n	15	15	15	15	15

Tabela 29B - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de **veículo + 5-HT (20 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	0,8	0,8	0,9	1,6	3,6
380	0	0	0,1	0,1	0,1
382	0	0	7	9,3	9,3
384	0	0	0	0,1	0,1
386	0	0	0,2	0,5	0,5
387	0	0,3	0,4	0,4	0,4
389	0	0	0,5	5,3	6
391	0	0	0,3	0,3	0,3
393	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
395	0	0	0	0	0
396	0	0	0,2	0,3	0,3
397	0	0	0,1	0,2	0,2
398	0,9	1,1	1,2	1,2	1,6
399	0	0	0	2,4	4,8
400	0	0	0	0,1	0,2
Média	0,12	0,1533	0,74	1,4667	1,84
Erro	0,077	0,0872	0,456	0,6647	0,727
Desvio	0,2981	0,3378	1,7663	2,5742	2,8157
n	15	15	15	15	15

Tabela 30A - Ingestão cumulativa de NaCl 1,8% após injeções bilaterais de 0,2 µl de **pMPPF (3,8 µg) + 5-HT (20 µg)** no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	12,6	16,1	22,8	23,7	23,7
380	16,4	19,9	20	20	20
382	12	18,4	22,8	22,8	22,8
384	0,1	0,1	0,1	0,1	15,8
386	1,2	1,2	8,8	14	14
387	13,3	16,4	20,9	20,9	20,9
389	13,5	20,3	23,7	23,8	23,8
391	14,6	22,2	26,8	26,9	27
393	6,2	12	13,6	13,7	13,7
395	12,4	16	19,2	19,3	19,4
396	0,1	5,3	13,1	13,7	13,7
397	0,1	12,6	14,4	14,4	14,4
398	7,5	11,3	19,4	19,4	19,4
399	0	12,8	19	19	19,1
400	0	0	0	8,6	8,6
Média	7,3333	12,307	16,307	17,353	18,42
Erro	1,6723	1,9219	2,0876	1,7646	1,2803
Desvio	6,4767	7,4435	8,0852	6,8341	4,9584
n	15	15	15	15	15

Tabela 30B - Ingestão cumulativa de água após injeções bilaterais de 0,2 µl de pMPPF (3,8 µg) + 5-HT (20 µg) no NPV de ratos depletados de sódio.

RATO	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
379	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
380	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
382	0,2	0,7	1,4	1,5	1,5
384	0	0	0	0	0,3
386	0	0	0	0	0
387	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
389	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5
391	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
393	0,2	0,2	5,5	5,6	5,6
395	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
396	0	0	0	0	0
397	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
398	0	0	0,2	0,2	0,2
399	0	0,2	0,2	0,2	0,2
400	0	0	0	0	0
Média	0,1133	0,1667	0,5867	0,6	0,6267
Erro	0,0307	0,0513	0,3623	0,3698	0,3675
Desvio	0,1187	0,1988	1,403	1,4323	1,4235
n	15	15	15	15	15