

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**EFEITOS CRÔNICOS DO AUMENTO DA LIBERAÇÃO DE
SEROTONINA, DA INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO PRÉ-
SINÁPTICA DE SEROTONINA E DA ESTIMULAÇÃO DE
RECEPTOR 5-HT_{1A}, NA SEDE E NO APETITE POR SÓDIO EM
RATOS**

ANA PAULA DE MAGALHÃES NUNES

2009



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

**EFEITOS CRÔNICOS DO AUMENTO DA LIBERAÇÃO DE SEROTONINA,
DA INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO PRÉ-SINÁPTICA DE SEROTONINA E DA
ESTIMULAÇÃO DE RECEPTOR 5-HT_{1A}, NA SEDE E NO APETITE POR
SÓDIO EM RATOS**

ANA PAULA DE MAGALHÃES NUNES

Sob a orientação do Professor

LUIS CARLOS REIS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de pós-graduação em Medicina Veterinária na área de concentração de Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Março de 2009

636.93520896716
N972e
T

Nunes, Ana Paula de Magalhães, 1983-
Efeitos crônicos do aumento da
liberação de serotonina, da inibição da
recaptação pré-sináptica de serotonina
e da estimulação de receptor 5-HT_{1A}, da
sede e no apetite por sódio em ratos/
Ana Paula de Magalhães Nunes. 2009.
79f. : il.

Orientador: Luis Carlos Reis.
Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-graduação em
Medicina veterinária.
Bibliografia: f. 56-67.

1. Rato - Metabolismo - Teses. 2.
Serotonina - Antagonistas - Teses. 3.
Sódio - metabolismo - Teses. Sede -
Teses. 5. Distúrbios do apetite -
Teses. I. Reis, Luis Carlos, 1952-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-graduação em
Medicina veterinária. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

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

ANA PAULA DE MAGALHÃES NUNES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, na área de Concentração em Ciências Clínicas.

QUALIFICAÇÃO APROVADA EM ____/____/____.

Luís Carlos Reis, D. Sc. - UFRRJ

(Orientador)

Marcelo Alves Pinto, D. Sc. - FIOCRUZ

Membro

Wellington da Silva Côrtes, D. Sc - UFRRJ

Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais por todo exemplo de vida, apoio e amor incondicional, ao meu querido irmão, avós e tios por estarem sempre ao meu lado, e as pessoas importantes presentes em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me ajudar a ultrapassar mais uma etapa da minha vida e por sempre me proteger. Obrigada por estar presente em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis, me fornecendo energia, alegria, saúde e paz.

Aos meus maravilhosos pais, Natália e Jorge, pelo amor incondicional e carinho em todos os momentos, pela sólida formação e valores morais e por acreditarem sempre no meu potencial. As palavras nunca serão suficientes para expressar a gratidão e o respeito que tenho por vocês. Foi por vocês que cheguei até aqui! E é por vocês que seguirei em frente! Amo vocês incondicionalmente!

Ao meu querido irmão João Paulo, por todo amor, carinho, brigas, sorrisos e por estar sempre ao meu lado.

Aos meus tios (Neide, Meire, Manuel e Jorge), meus primos (Jorginho, Leandro e Nathália), minhas avós (Emília e Zita), e meus avôs (Alfredo e Armindo) por todo carinho e por acreditarem em mim! A presença de vocês é muito importante na minha vida. A meus avôs, mesmo que não estejam mais nesse plano, sei que sempre estarão ao meu lado! Amo vocês!

Ao meu querido Orientador Professor Doutor Luis Carlos Reis, por sempre me tratar como uma filha, pelo carinho e preocupação, por acreditar no meu potencial e ter compartilhado comigo um pouco da sua vasta sabedoria. Parabéns por ser esse pesquisador incrível e ter me aceitado como sua orientada por tantos anos! Obrigada por tudo!

A minha querida Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, Professora Doutora Rita de Cássia Campbell Machado Botteon. Obrigada por todas as palavras de carinho e até mesmo os esporros, e por acreditar sempre em mim, até mesmo quando eu não acreditava. Vou sempre ter você como um exemplo de mulher e profissional!

A minha querida Regina, ou melhor, Regininha! Quem dera todo Curso tivesse uma secretária como você! Obrigada por todo carinho e palavra amiga, e por ter me deixado ajudá-la e perturbar-la tantas vezes e sempre me avisar dos concursos e inscrições. Nunca me esquecerei de você!

Ao meu querido Marcelo Antunes, ou melhor, Marcelinho! O que seria de mim sem você! Obrigada por cada palavra de apoio, carinho e amizade, ainda mais nesses últimos períodos! Obrigada por estar sempre do meu lado, me ajudando seja nos momentos felizes (como nos churrascos da Pós), como também nos mais difíceis, e por ter perdido suas férias para ficar ao meu lado e me ajudar e incentivar! Obrigada por ser meu grande amigo e fazer parte da minha vida!

A minha querida e amada amiga, Ailin Lepletier. Amiga, obrigada por cada conversa, palavra, incentivo, carinho, risada, festa, praia e por ter me ajudado e estar sempre ao meu lado. Amiga, não tenho como agradecer a você por perder parte de suas férias para

ficar ao meu lado, me incentivando, ajudando e virando as madrugadas. Obrigada por fazer parte da minha vida!

As minhas maravilhosas amigas! Obrigada por compreenderem toda a minha ausência nesse período, por me proporcionarem alegrias, momentos de pura felicidade, e estarem sempre ao meu lado até nos momentos de tristeza. Obrigada por cada palavra, viagem, conversa, festa, tudo! Amo vocês eternamente e quero sempre que estejam ao meu lado!

As minhas queridas e amadas integrantes da República Antártica (Andressa, Raquel e Tatiana), por me albergarem durante esse período, e por me fazerem chorar de rir, pelo carinho, jantares, lanches, surpresa de aniversário, por tudo! Amo vocês!

As minhas amadas integrantes da República Mc Donalds por deixarem meus dias mais felizes morando com vocês!

A minha querida amiga e Professora Doutora Rosana Botelho, por todo carinho e conversas principalmente aquelas que adentravam a madrugada. Apesar de chegar cansada em casa, ainda tinha tempo de ficar nos escutando, aconselhando, brincando, conversando, enfim, obrigada pela presença na minha vida e ao longo dessa jornada!

Aos meus queridos amigos Biriguenses, por sempre me apoiarem, pela alegria, conversas, gargalhadas, festa de aniversário e por todo o carinho.

Ao Miguel e ao Anderson, meus queridos da Anatomia Animal, por todo carinho e ajuda ao longo dessa jornada.

Ao Professor Doutor Daniel Baduaê Passos Júnior, sem você nada disso teria sido possível! Obrigada pela presença constante, mesmo que tão longe, ajudando em todos os processos de execução deste trabalho! Você é brilhante! Muito obrigada!

Aos meus queridos Professores Doutores Marta Albuquerque, João Telhado, Magda Medeiros, Wellington Cortês, Emerson Olivares, Paulo Botteon, Aguinaldo da Silva, Paulo Scherer, Sérgio Reyes, Adriana da Rocha e Miliane Moreira por sempre terem me fornecido palavras de incentivo desde a graduação e acreditarem no meu potencial!

Ao meu querido amigo e técnico do Departamento de Ciências Fisiológicas, Vicente! Por todo o carinho e palavra amiga a mim dispensada! Você é um presente para todos!

Ao Sr. Ataíde por sempre estar com aquele sorriso grandioso e alegria na entrada do Instituto de Veterinária, e sempre vir com palavras de carinho, como o “Bom dia Paulinha!”. Obrigada por tudo seu Tatá!

A minha querida turma 2007-1, do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ! Foi incrível realizar esta etapa ao lado de vocês! Nunca me esquecerei das nossas aulas de estatística.

Aos funcionários Sidinei, Ipojucan, Dona Lenir, Manteiga, Ananias, por toda ajuda no desenvolvimento deste projeto!

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas por terem ajudado não só com o espaço físico, como também financeiramente na execução deste projeto.

Ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, por todo o conhecimento, valores e eventos que foram fornecidos!

Ao Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Aplicada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto pelo auxílio na execução deste projeto.

Ao laboratório de Patologia Clínica do Instituto de Veterinária da UFRRJ pelo auxílio na execução deste projeto.

A Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ, por ter financiado esse projeto.

EPÍGRAFE

"Procure ser uma pessoa de valor, em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso. O sucesso é consequência"
Albert Einstein.

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

LEC: Líquido extracelular
SRAA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
ANP: Peptídeo Natriurético Atrial
OT: Ocitocina
ADH: Hormônio Antidiurético
AJG: Aparato Justa Glomerular
NaCl: Cloreto de sódio
ANG I: Angiotensina I
ANG II: Angiotensina II
ECA: Enzima de conversão
NPV: Núcleo Para-ventricular
NSO: Núcleo Supra-Óptico
OVLT: Organum Vasculosum da Lamina Terminales
AV3V: Região antero-ventral do terceiro ventrículo
OSF: Órgão Subfornical
NPOM: Núcleo Pré-Óptico Mediano
5-HT: 5-hidroxi- triptamina, Serotonina
TP: Triptofano
HT: Triptofano Hidroxilase
8-OH-DPAT: 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina
MAO: Monoamina-oxidase
NDR: Núcleo Dorsal da Rafe
SNC: Sistema Nervoso Central
LT: Lamina Terminal
ICV: Intracerebroventricular
NPBL: Núcleo Parabraquial Lateral
DR: Rafe dorsal
FEN: Fenfluramina
SERT: Sertralina
SSRI: Inibidor da recaptação pré-sináptica de serotonina
TDM: Transtorno Depressivo Maior
PCA: Compostos halogenados
MDA: 3,4- metilendioxianfetamina
MDMA: 3,4- metilendioximetanfetamina
ARSD: dessensibilização de autorreceptores somatodendríticos da rafe mesencefálica
ARTN: dessensibilização de autorreceptores terminais neuronais da rafe mesencefálica

RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura química da 5-hidroxi-triptamina, serotonina.....7
- Figura 2.** Gaiola metabólica utilizada no experimento. A figura à esquerda representa a visão lateral, e à direita sua visão posterior (Figura gentilmente cedida por Luis Felipe Souza e Silva)..... 27
- Figura 3.** Escala temporal do protocolo de depleção de sódio, seguida de privação hídrica e de alimentos por 24 h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.....28
- Figura 4.** Escala temporal do protocolo de privação hídrica por 24h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%29
- Figura 5.** Escala temporal do protocolo de privação hídrica e de alimentos por 24h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.....29
- Figura 6.** Escala temporal do protocolo de estímulo osmótico com salina 2M com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.....30
- Figura 7.** Escala temporal do grupo 1, demonstrando seu período de tratamento com 8-OH - DPAT, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de depleção de volume..... 32
- Figura 8.** Escala temporal do grupo 2, demonstrando seu período de tratamento com fenfluramina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de depleção de volume.....32
- Figura 9.** Escala temporal do grupo 3, demonstrando seu período de tratamento com Sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de depleção de volume..... 33
- Figura 10.** Escala temporal do grupo 4, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de privação hídrica, e a interrupção do tratamento com sertralina.....34
- Figura 11.** Escala temporal do grupo 5, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de privação hídrica e de alimentos..... 35
- Figura 12.** Escala temporal do grupo 6, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de estímulo osmótico..... 35
- Figura 13.** Escala temporal do grupo 7, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos a avaliação dos níveis do hematócrito e da densidade urinária..... 36

Figura 14. Escala temporal do grupo 8, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo de avaliação dos níveis plasmáticos de ADH e OT pela técnica de radioimunoensaio.....	37
Figura 15. Ingestão cumulativa de NaCl 0,3M (gráfico A) e de água (gráfico B) após a apresentação de fluidos, em ratos tratados cronicamente com 8-OH-DAPT e depletados de volume, comparando-os com os controles. *P<0,05.....	38
Figura 16. Ingestão cumulativa de NaCl 0,3M (gráfico A) e de água (gráfico B) após a apresentação de fluidos, em ratos tratados cronicamente com FEN e submetidos à depleção de volume, comparando-os com os controles. *P<0,05.....	39
Figura 17. Ingestão cumulativa de água (gráfico A) e de NaCl 0,3 M (gráfico B) em ratos depletados de volume e tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controle, *P< 0,05.....	40
Figura 18. Ingestão cumulativa de água (mL) após privação hídrica de 24h em ratos tratados cronicamente com setralina, comparando-os com os controles, *P<0,05.....	41
Figura 19. Ingestão de água (mL) a partir do segundo dia pós-privação hídrica (gráfico A) e Ingestão de NaCl 0,3M (mL) a partir do segundo dia pós-privação hídrica (gráfico B) em ratos tratados cronicamente com setralina, comparando-os com os controles, *P<0,05.....	42
Figura 20. Ingestão cumulativa de água (gráfico A) e de NaCl 0,3 M (gráfico B) após privação de fluidos e alimentos em tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controle, *P< 0,05.....	43
Figura 21. Ingestão cumulativa de água após 24h da administração de NaCl 2M em tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controle, *P< 0,05.....	44
Figura 22. Avaliação do hematócrito (%) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controles, *P<0,05.....	45
Figura 23. Avaliação da densidade urinária (kg/L) em semanas, em ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.....	46
Figura 24. Avaliação dos níveis de ADH plasmático (pg/mL) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.....	47
Figura 25. Avaliação dos níveis plasmáticos de ocitocina (pg/mL) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.....	48

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Grupo experimentais constituídos, com sua respectiva droga de tratamento, e o protocolo experimental a qual cada grupo foi submetido.....	27
--	----

MAGALHÃES-NUNES, A.P. **Efeitos crônicos do aumento da liberação de serotonina, da inibição da recaptção pré-sináptica de serotonina e da estimulação de receptor 5-HT_{1A}, na sede e no apetite por sódio em ratos.** 2009. 79p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Para investigar a hipótese da influência do *status* do sistema serotoninérgico no controle da resposta dipsogênica e do apetite ao sódio, analisamos os efeitos de ratos tratados cronicamente com um liberador cerebral de serotonina, fenfluramina, um agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT e um inibidor da recaptção pré-sináptica de serotonina, sertralina (SERT). Animais tratados com agonista 5-HT_{1A} e com liberador cerebral de serotonina, foram submetidos a depleção de sódio e, posteriormente, a ingestão de fluidos foi aferida. O primeiro grupo diminuiu significativamente a ingestão de salina hipertônica, enquanto o segundo grupo intensificou o apetite ao sódio 2 semanas após o início do tratamento com fenfluramina. O consumo de água não foi alterado em nenhum dos grupos, quando comparados aos seus respectivos grupo controle. Os animais tratados cronicamente com SERT que sofreram depleção de sódio, obtiveram uma intensa resposta natriorexigênica. Por outro lado, a privação de água induziu uma menor ingestão de água em ratos tratados cronicamente com SERT quando comparado-os aos do grupo controle. O estímulo osmótico evocou uma resposta dipsogênica significativamente menor no grupo SERT. A privação de fluidos e de alimentos induziu uma baixa resposta dipsogênica em ratos tratados com SERT quando comparados aos controles, mas sem diferença significativa na ingestão de salina hipertônica. O aumento da densidade urinária em ratos tratados com SERT correlaciona-se com os maiores níveis plasmáticos do hormônio anti-diurético e ocitocina na 4ª semana pós-tratamento. Os resultados obtidos em ratos tratados cronicamente, com o agonista 5-HT_{1A} e com o liberador cerebral de serotonina, sugerem uma possível alteração da atividade cerebral serotoninérgica, influenciando assim a expressão do apetite ao sódio, pois possivelmente ocorreu uma dessensibilização de autoreceptores 5-HT_{1A} com o tratamento com 8-OH-DPAT, e depleção cerebral de serotonina, obtida com o tratamento com fenfluramina. Os resultados relativos aos animais tratados cronicamente com sertralina, constituem as primeiras evidências de alteração no limiar de sede e de apetite ao sódio. Essas alterações são possivelmente consequência da hiponatremia gerada pela secreção inapropriada de ADH e OT.

Palavras-chave: Tratamento crônico, sistema serotoninérgico, sede, apetite por sódio, ratos wistar.

MAGALHÃES-NUNES, A.P. Chronic effects of increased release of serotonin, inhibiting pre-synaptic reuptake of serotonin and the stimulation of 5-HT_{1A} receptor in the thirst and the appetite for sodium in rats. 2009. 79p. Dissertação (Master in Veterinary Medicine, Clinical Science). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

In order to investigate the hypothesis of the influence of serotonergic system on the control of dipsogenic and sodium appetite, we examined the effects of chronically-treated rats with the brain serotonin releaser, fenfluramine, the 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT and the selective serotonin re-uptake inhibitor, sertraline. Animals treated with 5-HT_{1A} agonist and brain serotonin releaser were sodium-depleted and then their fluids intake analyzed. The first group decreased significantly the salt intake response while the second group intensified the sodium appetite 2 weeks after the first administration of fenfluramine. The water consumption was not altered in none of the groups when compared to their respective controls. Sodium-depleted animals that were treated with sertraline showed a more intense natriorexigenic response. On the other hand, water deprivation induced a lower water intake in SERT-treated rats than the controls. Osmotic stimulation evoked a dipsogenic response significantly lower in SERT group. Fluids and food deprivation induced a weak dipsogenic response in SERT treated-rats compared to controls but without difference on saline intake. An increased urinary density and decreased plasma sodium levels in SERT-treated rats correlated with the highest plasma vasopressin and oxytocin levels at the 3rd week post-treatment. The obtained results in chronically-treated rats with the 5-HT_{1A} agonist and the brain serotonin releaser, suggest that the alteration on the brain serotonergic activity influences the sodium appetite expression, possibly after 5-HT_{1A} autoreceptor desensitization produced by 8-OH-DPAT or brain serotonin depletion achieved with fenfluramine treatment. The results of chronically-treated rats with sertraline, constitute the first evidence of alterations on the threshold for thirst and sodium appetite response in SERT-chronically-treated rats. These alterations possibly are consequence of the hyponatremia provided by inappropriate secretion of AVP and OT.

Keywords: Chronic treatment, serotonergic system, thirst, sodium appetite, wistar rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. MECANISMOS ENDÓCRINOS DA REGULAÇÃO HIDRO-ELETROLÍTICA	1
1.1.1. ÍON SÓDIO	1
1.1.2. OSMOREGULAÇÃO E REGULAÇÃO DE VOLUME	1
1.1.3. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA	2
1.1.3.1. Renina	2
1.1.3.2. Angiotensina II	3
1.1.3.3. Aldosterona	3
1.1.4. OCITOCINA	3
1.1.5. PEPTÍDEO NATRIURÉTICO ATRIAL	4
1.1.6. HORMÔNIO ANTI-DIURÉTICO	4
1.1.7. SEDE	5
1.1.8. APETITE AO SÓDIO	6
1.2. SEROTONINA	7
1.2.1. SÍNTESE, ESTOCAGEM, LIBERAÇÃO E INATIVAÇÃO	7
1.2.1.1. Síntese	8
1.2.1.2. Estocagem e liberação	8
1.2.1.3. Regulação da liberação de 5-HT por autoreceptores	9
1.2.1.4. Formas de inativação serotoninérgica	9
1.2.1.4.a. Recaptação serotoninérgica	9
1.2.1.4.b. Metabolização da serotonina	10
1.2.2. RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS	10
1.2.2.1. Receptores 5HT ₁	10
1.2.2.1.a. Subtipo 5HT _{1A}	10
1.2.2.1.b. Subtipos 5HT _{1B} e 5HT _{1D}	11
1.2.2.1.c. Subtipos 5HT _{1E} e 5HT _{1F}	11
1.2.2.2. Receptores 5HT ₂	11
1.2.3. FUNÇÕES DA SEROTONINA	12
1.2.3.1. Humor e Ansiedade	12
1.2.3.2. Sono	12
1.2.3.3. Appetite	12
1.2.3.4. Temperatura corporal	12
1.2.3.5. Dor	12
1.2.3.6. Ritmo circadiano	13
1.2.3.7. Antidepressivos	13
1.2.3.8. Antipsicóticos	13
1.2.3.9. Regulação hidroeletrolítica	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO NA SEDE E NO APETITE AO SÓDIO	14
2.2. DROGAS QUE INFLUENCIAM NO SISTEMA SEROTONINÉRGICO	17
2.2.1. FENFLURAMINA	17
2.2.2. 8-HIDROXI-2-(DI-N-PROPILAMINO) TRETALINA	18
2.2.3. CLORIDRATO DE SERTRALINA	20
3. OBJETIVOS	25

4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. ANIMAIS UTILIZADOS	26
4.2. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS	26
4.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	26
4.3.1. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	26
4.3.1.1. Depleção de sódio	28
4.3.1.2. Privação hídrica	28
4.3.1.3. Privação hídrica e de alimentos	29
4.3.1.4. Estímulo osmótico	30
4.3.1.5. Aferição de ingestão de água e/ou salina hipertônica	30
4.3.1.6. Avaliação dos níveis do hematócrito	30
4.3.1.7. Avaliação da densidade urinária	31
4.3.1.8. Avaliação dos níveis plasmáticos de ADH e OT	31
4.3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS	31
4.3.2.1. Efeitos da administração crônica de 8-OH-DPAT, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	31
4.3.2.2. Efeitos da administração crônica de Fenfluramina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	32
4.3.2.3. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	33
4.3.2.4. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação hídrica	33
4.3.2.5. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação hídrica e de alimentos	34
4.3.2.6. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos ao estímulo osmótico	35
4.3.2.7. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis do hematócrito e da densidade urinária em ratos	36
4.3.2.8. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis plasmáticos de ADH e OT em ratos	36
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
5. RESULTADOS	38
5.1. Efeitos da administração crônica de 8-OH-DPAT, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	38
5.2. Efeitos da administração crônica de Fenfluramina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	39
5.3. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio	40
5.4. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação hídrica	41
5.5. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação hídrica e de alimentos	43
5.6. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos ao estímulo osmótico	44
5.7. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis do hematócrito em ratos	45
5.8. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis da densidade urinária em ratos	46
5.9. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis plasmáticos de ADH em ratos	47
5.10. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre os níveis plasmáticos de OT em ratos	48

6. DISCUSSÃO	49
6.1. Efeitos da administração crônica de 8-OH-DPAT, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos	49
6.2. Efeitos da administração crônica de Fenfluramina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos	50
5.3. Efeitos da administração crônica de Sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos	52
7. CONCLUSÃO	55
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
9. ANEXOS	68
9.1. Anexo I	68
9.2. Anexo II	69

1. INTRODUÇÃO

1.1. MECANISMOS ENDÓCRINOS DA REGULAÇÃO HIDRO-ELETROLÍTICA

1.1.1. ÍON SÓDIO

O íon sódio é um componente essencial para a manutenção das funções fisiológicas em quase todos os mamíferos. Dado que ele é o principal eletrólito do fluido extracelular, e desempenha um papel fundamental na manutenção do volume do líquido extracelular (LEC) e na composição dos fluidos do organismo, influenciando assim na homeostase bioeletrogênica, cardiocirculatória e hidroeletrolítica. Desta forma a quantidade de sódio presente nos fluidos deve ser rigorosamente regulada para garantir o bom funcionamento de inúmeros processos fisiológicos, incluindo a permeabilidade iônica das membranas celulares, excitabilidade neuronal, filtração glomerular renal e excreção de outras substâncias hidrossolúveis, bem como na estabilidade da pressão arterial, trocas capilares e débito cardíaco.

Perturbações na homeostase do sódio podem levar a consequências graves, nos casos extremos, a mínima concentração de sódio, pode levar a um colapso circulatório, enquanto que os valores acima do nível normal podem ocasionar hipertensão.

Desta forma, quando há uma alteração neste equilíbrio, sendo por excesso ou diminuição deste íon, ou um aumento exagerado de volume, mecanismos especializados do organismo são ativados para restabelecer a homeostase. Os sistemas fisiológicos implicados nestes processos são o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), peptídeo natriurético atrial (ANP), ocitocina (OT), vasopressina ou hormônio antidiurético (AVP, ADH), sede e o desenvolvimento do apetite ao sódio, onde normalmente concentrações aversivas de sal são consumidas durante períodos de privação de sódio. Os substratos fisiológicos especificamente implicados na homeostase do sódio integram os sistemas SRAA, ANP, OT e o apetite ao sódio.

1.1.2. OSMOREGULAÇÃO E REGULAÇÃO DE VOLUME

Ambos os processos estão envolvidos na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico, porém funcionam de formas distintas. A manutenção da osmolalidade plasmática e a regulação de volume dos vários compartimentos do organismo são fundamentais para manutenção das condições fisiológicas em equilíbrio.

A osmolalidade é expressa pela razão entre a quantidade total de soluto dissolvido em uma massa de água. O sódio é o principal soluto extracelular e o mais efetivo em criar um gradiente osmótico que permite o movimento de água entre os compartimentos intra e extracelular. Assim, o conteúdo total de sódio e dos ânions que o acompanham (Cl^- e HCO_3^-) determinam, no organismo, a osmolalidade plasmática e o volume do líquido extracelular (LEC).

As alterações de volume sanguíneo e de pressão do LEC também constituem variáveis implicadas na regulação da ingestão de água, porém de menor sensibilidade. Dessa forma, uma redução de cerca de 10% do volume

sangüíneo ou da pressão arterial pode motivar a ingestão de água.

Quando há alteração no volume do líquido extracelular, alguns sistemas são ativados para sua correção, como o ANP e OT e outros são inibidos, como o SRAA.

Em condições de hiperosmolalidade, são ativados principalmente os mecanismos de secreção de ADH e sede, bem como são ativados mecanismos centrais de inibição do apetite ao sódio.

1.1.3. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA

O rim é o principal efetador dos mecanismos de regulação da taxa de excreção de sódio. O SRAA atua aumentando a taxa de reabsorção tubular de sódio, mediante condições em que a concentração de sódio esteja abaixo dos valores normais, contribuindo desta forma para o restabelecimento do volume do LEC.

Após uma redução na concentração plasmática de íon sódio, o rim identifica e afere a magnitude deste erro e aciona mecanismos relacionados com a retenção de íons sódio (e conseqüentemente de água) através de um aumento de sua reabsorção tubular.

A hiponatremia e as resultantes reduções no volume do LEC e na pressão arterial são reconhecidas pelo aparato justa-glomerular (AJG). O AJG representa uma unidade anatomo-funcional, constituída pelas células justa-glomerulares da arteríola aferente do néfron e pela mácula densa do túbulo contornado distal, as quais são responsáveis pelo balanço túbulo-glomerular e pela ativação do SRAA com subseqüente aumento da liberação da enzima renina. Assim, o angiotensinogênio, uma α 2-globulina produzida no fígado, é convertido em angiotensina I (ANG I), a partir da ação desta enzima. A ANG I é um decapeptídeo que posteriormente é convertido em um octapeptídeo por ação de uma enzima de conversão (ECA) existente nos pulmões, na membrana luminal das células endoteliais vasculares e em outros órgãos, levando a formação de angiotensina II (ANG II). A ANG II possui uma série de efeitos sistêmicos e centrais, entre eles o estímulo para secreção aumentada de aldosterona pelo córtex da adrenal e a ação dipsogênica e natriorexigênica em estruturas da lâmina terminal, no prosencéfalo.

A seguir serão especificados os principais integrantes do SRAA envolvidos na sede e no apetite ao sódio.

1.1.3.1. Renina

Secretada pelo AJG, a atividade desta enzima está relacionada à conversão sistêmica de angiotensinogênio em ANG I.

Os principais mecanismos responsáveis pela liberação de renina pelo AJG envolvem:

- Ativação de baroreceptores localizados na parede das arteríolas aferentes relacionada a uma queda da pressão de perfusão renal;
- Redução da concentração de NaCl nas células da mácula densa;
- Estímulos da inervação simpática das arteríolas aferentes do AJG.

1.1.3.2. Angiotensina II

A ANG II é proveniente da atuação da ECA sobre a ANG I e possui múltiplas ações no organismo. Os efeitos resultantes de tais ações englobam alterações de caráter sistêmico e central tais como:

- Aumento do volume do LEC e do débito cardíaco através da retenção de sódio e água no organismo, o qual se dá pelo:
 - Efeito direto no epitélio tubular proximal, levando ao aumento da reabsorção de sódio neste segmento;
 - Efeito indireto, através da ação da aldosterona, com conseqüente aumento da reabsorção de sódio no túbulo distal e ducto coletor.

- Aumento da resistência periférica total, devido à:
 - Ação vasoconstritora;
 - Ação sobre o tônus simpático e vagal e a sensibilidade barorreceptora;

- Aumento da ingestão de água e sódio, e retenção renal de água, através do (a):
 - Estímulo da sede (efeito dipsogênico);
 - Liberação do Hormônio Antidiurético, induzindo a retenção de água;
 - Apetite ao sódio.

1.1.3.3. Aldosterona

A aldosterona é um mineralocorticóide produzido a partir do colesterol pela zona glomerulosa do córtex da adrenal. Atua a nível renal, principalmente no túbulo coletor, estimulando a reabsorção de sódio e a secreção de potássio e hidrogênio.

Além disso, a aldosterona estimula o apetite ao sódio, principalmente quando atua de forma sinérgica com a ANG II.

1.1.4. OCITOCINA

A ocitocina (OT) é produzida no hipotálamo em pericários de neurônios magnocelulares pertencentes ao núcleo paraventricular (NPV) e supra-óptico (NSO). É transportada através de transporte anterógrado até o lobo posterior da hipófise onde fica armazenada, e será secretada após estímulo específico.

Além das ações fisiológicas da OT exercidas principalmente sobre a musculatura uterina e sobre a musculatura lisa que reveste os alvéolos das mamas, ela também participa da homeostase hidroeletrólítica.

Já está bem estabelecido que a OT aumenta a excreção renal de em várias espécies, possuindo efeitos natriuréticos e caliurético. A OT é secretada em resposta à hiperosmolalidade e hipervolemia. É considerado um hormônio

natriurético e seus efeitos podem ser explicados por uma ação direta sobre receptores específicos, os quais estão presentes nas células tubulares renais. Além desses efeitos periféricos, a OT exerce um papel inibitório no controle do apetite ao sódio.

1.1.5. PEPTÍDEO NATRIURÉTICO ATRIAL

Um dos mais importantes hormônios natriuréticos é o ANP, um polipeptídeo que contém 28 aminoácidos. Ele possui elevado efeito vasodilatador, natriurético e diurético, ações mais intensas que a dos outros inúmeros polipeptídeos que são sintetizados, armazenados e liberados pelos cardiomiócitos atriais. O estímulo para sua liberação se deve ao estiramento da parede atrial induzido pelo aumento do volume sanguíneo. Seu papel principal é normalizar a volemia e a pressão sanguínea através de alguns mecanismos:

- Vasodilatação generalizada, devido a sua ação direta;
- Aumento da permeabilidade vascular à água, favorecendo sua saída para o interstício;
- Aumento da filtração glomerular, devido à elevação do coeficiente de ultrafiltração ou da pressão hidrostática glomerular;
- Diurese e natriurese por:
 - Inibição do efeito estimulador da ANG II na reabsorção proximal de sódio;
 - Redução da liberação de renina, aldosterona e ADH;
 - Inibição direta da reabsorção de sódio no ducto coletor por um processo mediado pelo GMP cíclico, o que ocorre predominantemente na zona medular.
 - Vasodilatação medular com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo medular.

1.1.6. HORMÔNIO ANTIDIURÉTICO

O ADH é sintetizado no pericário de neurônios magnocelulares localizados nos núcleos paraventricular (NPV) e supra-óptico (NSO) do hipotálamo. Ambos possuem extensões axônicas para a hipófise posterior. Uma vez sintetizado, esse hormônio é transportado ao longo dos axônios dos neurônios até a glândula hipófise posterior. A secreção do ADH pela neurohipófise pode ser influenciada por múltiplos fatores, sendo os principais o aumento da osmolalidade plasmática e a queda do volume e da pressão sanguínea. Outros fatores também podem tanto estimular sua secreção como náuseas, dor, ANG II, nicotina, quanto inibir, através do ANP e etanol.

A modificação na osmolalidade plasmática é o principal fator na regulação do ADH. Osmorreceptores localizados no organum vasculosum da lamina terminalis (OVLT) sensíveis a hiperosmolalidade, enviam informações para células responsáveis pela síntese de ADH, estimulando a secreção do hormônio. Ao contrário, quando a osmolalidade do plasma é diminuída, a secreção de ADH é

inibida.

A queda do volume ou da pressão do sangue também estimulam a secreção de ADH. Os receptores responsáveis por esta resposta estão localizados tanto em locais de baixa pressão do sistema circulatório (átrio esquerdo e vasos pulmonares) como no de alta pressão (arco aórtico e seio carotídeo). Esses receptores sensíveis ao estiramento são denominados barorreceptores. Os sinais captados por esses receptores são conduzidos a células secretoras do ADH do NSO via fibras aferentes dos nervos vago e glossofaríngeo.

Os efeitos biológicos do ADH podem ser divididos em ações renais e ações na musculatura lisa dos vasos, como descrito a seguir:

- Estimula a reabsorção de NaCl pelo ramo ascendente espesso da alça de Henle;
- Aumenta a permeabilidade do duto coletor à água e uréia. Essa reabsorção de água no filtrado glomerular ocorre através da inserção de canais de água (aquaporina II) na membrana luminal das células do duto coletor;
- Realiza a vasoconstrição sistêmicas de arteríolas, portanto possui a capacidade de aumentar a pressão arterial.

Devido a esse potente efeito de vasoconstrição das arteríolas e por sua capacidade de elevar a pressão arterial, é que o ADH recebe outro nome, vasopressina.

1.1.7. SEDE

A sede é definida como o desejo consciente por água. A ingestão de líquidos é necessária para contrabalançar qualquer perda de líquido que ocorra durante processos fisiológicos e não fisiológicos do organismo. Essa ingestão é regulada pelo mecanismo de sede que, juntamente com o mecanismo osmoreceptor do ADH, mantém o controle preciso da osmolalidade do líquido extracelular e da concentração de sódio. O aumento de 2 a 3% da osmolalidade plasmática leva a sede, enquanto é necessária uma queda de 10 a 15% de volume ou pressão para produzir este mesmo efeito.

O córtex cerebral pode influenciar no comportamento de ingestão de líquidos, mas áreas hipotalâmicas específicas são críticas na regulação da ingestão de água. A região ao longo da parede ântero-ventral do terceiro ventrículo (AV3V) e uma área posicionada ântero-lateralmente ao núcleo pré-óptico mediano é denominada, centro da sede. Esta última área quando estimulada eletricamente gera uma ingestão de água imediata e contínua, enquanto durar a estimulação. A osmolalidade aumentada do líquido cefalorraquidiano no terceiro ventrículo promove o efeito de sede. O OVLT, que fica localizado imediatamente abaixo da superfície ventricular, na extremidade da região do AV3V, está intimamente implicado na mediação desta resposta. Com a descoberta de osmoreceptores centrais envolvidos no controle da secreção de ADH, verificou-se que injeção de soluções hipertônicas no hipotálamo desencadeava o aparecimento de sede, indicando o envolvimento destes osmoreceptores na ingestão de água.

Assim, dentre os estímulos que levam à deflagração da sede, pode-se citar:

- Osmolalidade aumentada do LEC, que ocasiona a desidratação intracelular, a qual é percebida no centro da sede;
- Diminuições do volume do líquido extracelular e da pressão arterial;
- ANG II, a qual é um potente agente dipsogênico. Esta atua sobre o órgão subfornicial (OSF) e o OVLT, os quais possuem receptores para ANG II. Essas áreas estão fora da barreira hematoencefálica, permitindo assim que a ANG II se difunda para estas áreas cerebrais;
- Secura da boca e das membranas mucosas do esôfago.

O desejo de ingerir água só é completamente satisfeito quando a osmolalidade do plasma e/ou volume sanguíneo volta aos seus valores normais. Assim, capacidade humana e dos animais de regular a ingestão de líquidos é importante porque impede a desidratação e a hiper-hidratação.

1.1.8. APETITE AO SÓDIO

O apetite ao sódio, assim como a sede, representam comportamentos inatos que se manifestam na vida de um animal, e são independentes de aprendizado. Este apetite é altamente seletivo ao íon sódio. O sódio ingerido é necessário para evitar hipotonicidade e para correção final da volemia após a ingestão de água. Animais com sede geralmente recorrem a soluções palatáveis, porém, ao desenvolverem o apetite ao sódio em resposta à hipovolemia, os animais têm uma palatabilidade aumentada para soluções que contenham sódio, rejeitando água, outros minerais e até soluções palatáveis, mas hipossódicas. Assim, normalmente concentrações aversivas de sódio são consumidas durante períodos de privação de sal.

As regiões direta ou indiretamente envolvidas com a mediação central do apetite por sódio incluem as estruturas da lâmina terminal, OSF, OVLT e núcleo pré-óptico mediano (NPOM) e do hipotálamo.

Vários mediadores estão implicados na gênese e na inibição do apetite ao sódio. Dentre estes se podem citar ANG II e aldosterona como estimuladores e OT, ANP e o sistema serotoninérgico como inibidores.

Alguns estudos comprovam a participação do sistema serotoninérgico na restauração do equilíbrio hidroelotrolítico, através da mediação da sede e o do apetite por sódio.

1.2. SEROTONINA

A serotonina é uma amina biogênica (indolamina) distribuída em diferentes locais do organismo e participa de diversas funções. É encontrada principalmente no sangue onde atua como agente vasoconstritor, sendo captada pelas plaquetas, no trato gastrointestinal, onde é secretada pelas células enterocromafins, e possui efeito local de controle da motilidade intestinal. No cérebro a serotonina atua como neurotransmissor sendo produzida principalmente por neurônios serotoninérgicos da rafe mesencefálica, pontina e bulbar participando de diversos circuitos cerebrais. Também já foi identificada serotonina no baço, fígado, pulmão e pele, embora a função exata nesses locais ainda não tenha sido bem estabelecida.

No organismo de seres humanos e animais, 90% da serotonina são encontrados nas membranas das mucosas do trato gastrointestinal, 8% a 10% nas plaquetas sanguíneas, enquanto somente 1 % a 2% é encontrada no sistema nervoso central. A glândula pineal também possui uma elevada concentração de serotonina, onde o composto serve como precursor do hormônio melatonina.

A denominação serotonina foi dada no início da década de 30, sendo sero referente a *serum*, devido a sua localização plasmática e tonina relacionada a *tone* por sua capacidade vasoconstritora. Posteriormente, na década de 40, identificaram uma substância na mucosa intestinal com função de controle do tônus muscular de vasos sanguíneos e outros músculos lisos, sendo denominada inicialmente de enteramina até que na década de 50 percebeu-se que ambas as substâncias eram a mesma coisa, permanecendo a denominação serotonina para as duas.

A confirmação da função neurotransmissora da serotonina veio quando foi demonstrado que a mesma está distribuída no cérebro, em populações específicas de células nervosas e em suas projeções. Além disso, já foram demonstradas as vias metabólicas para sua síntese e inativação.

O maior grupo de neurônios serotoninérgicos é encontrado no núcleo dorsal da rafe (NDR). É importante ressaltar que a maior parte dos neurônios localizados no NDR não são serotoninérgicos, embora já tenha sido demonstrado que o NDR e núcleo mediano da rafe (NMR) contribuem para aproximadamente 80% das fibras que se projetam para o prosencéfalo.

1.2.1. SÍNTESE, ESTOCAGEM, LIBERAÇÃO E INATIVAÇÃO

A serotonina é uma indolalquilamina que é quimicamente designada como 3-(2-aminoetil)-indol, mas classicamente é denominada como 5-hidroxi-triptamina (5-HT). A estrutura química da serotonina (Figura. 1) revela sua relação com o aminoácido triptofano (TP), que ao ser ingerido na dieta, funciona como um precursor do neurotransmissor.

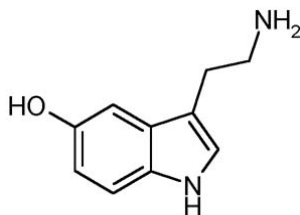


Figura 1. Estrutura química da 5-hidroxi-triptamina, serotonina.

1.2.1.1. Síntese

A síntese de serotonina cerebral depende da disponibilidade de aminoácido TP no plasma. Nesta via metabólica estão envolvidas a triptofano hidroxilase (HT) (triptofano + O₂ + tetra-hidro-biopterina → 5-hidroxi-triptofano + di-hidro-biopterina + H₂O) e uma descarboxilase (5-hidroxi-triptofano → 5-hidroxi-triptamina + CO₂).

A HT é uma enzima que, no sistema nervoso, está localizada somente em neurônios serotoninérgicos, sendo utilizada como marcador de atividade de tais células. São conhecidas muitas drogas capazes de inibir a atividade dessa enzima, dentre elas p-cloro-anfetamina e p-clorofenilalanina (PCPA), sendo a última considerada o inibidor clássico da HT. A inibição irreversível da enzima HT reduz o conteúdo neuronal de 5-HT até que novos estoques da enzima tenham sido sintetizados por neurônios serotoninérgicos.

O produto da atividade da HT, o 5HTP, sofre descarboxilação para formar a 5-HT, através da enzima aromática L-aminoácido descarboxilase (AADC), presente também em células catecolaminérgicas.

Existem consideráveis evidências de que a taxa de atividade de HT e a velocidade de formação de 5-HT estão de acordo com o nível de disparo de neurônios serotoninérgicos, através da ativação de vias intraneuronais cálcio dependentes. Além disso, já foi demonstrado que a enzima HT não é saturada *in vivo*, sendo a principal forma de regulação da produção de 5-HT a oferta de triptofano, presente em alimentos protéicos ingeridos na dieta de origem animal e vegetal. Para haver captação de triptofano por neurônios serotoninérgicos é necessário que esse aminoácido seja transportado na corrente sanguínea ligado à albumina e dessa forma possa atravessar a barreira hemato-encefálica.

1.2.1.2. Estocagem e liberação

A maior parte da 5-HT presente no citoplasma de neurônios serotoninérgicos está armazenada dentro de vesículas, embora uma parte esteja no citoplasma do corpo e terminais axônicos. O sistema de captação do triptofano para dentro dessas vesículas envolve transporte através da membrana e pode ser interrompido através do uso de reserpina e tetrabenazina, o que bloqueia a formação de estoque de 5-HT cerebral.

Estudos sugerem que dois diferentes *pools* de 5-HT estão presentes em neurônios serotoninérgicos. Um pequeno *pool* compreende entre 10% a 25% da serotonina cerebral e é considerado como o *pool* funcional, contendo o neurotransmissor recentemente produzido e primeiramente liberado. Os outros *pools* contêm de 75% a 90% do total de 5-HT neuronal e tem a função de estoque/reserva do neurotransmissor.

O mecanismo de liberação de 5-HT envolve um processo exocitótico e é sensível ao bloqueio de canais de sódio pela tetrodotoxina e à presença de íons cálcio.

Um grande número de drogas têm sido apontadas como estimuladoras da liberação de 5-HT, como a p-cloro anfetamina (PCA), p-fluor-anfetamina e a fenfluramina e de forma semelhante aos agonistas serotoninérgicos estimulam uma série de funções fisiológicas e comportamentais relacionadas às vias serotoninérgicas.

1.2.1.3. Regulação da liberação de 5-HT por autoreceptores

Da mesma forma que ocorre com outros neurotransmissores, a liberação de 5-HT é modulada pela ação inibitória de autoreceptores de localização somatodendrítica e pré-sináptica que exercem um efeito modulatório da atividade celular serotoninérgica através de um sistema de *feedback* negativo.

Os receptores somatodendríticos suprimem a taxa de disparo neuronal através da hiperpolarização celular, o que está relacionado a uma maior condutância dos canais de potássio e parecem exercer efeito inibitório colateral entre neurônios serotoninérgicos. Também atuam inibindo tanto a síntese quanto a liberação de 5-HT para as áreas cerebrais que recebem inervação serotoninérgica. Da mesma forma, os receptores pré-sinápticos inibem síntese e liberação de 5-HT, embora pareça não alterar a taxa de disparo celular.

Os autoreceptores parecem diferir não somente quanto a sua localização e ativação, mas também quanto as suas características farmacológicas. Nesse sentido, já foi demonstrado que autoreceptores de localização somatodendrítica são do subtipo 5-HT_{1A} ativados por 8-OH-DPAT, enquanto os pré-sinápticos são 5-HT_{1B} estão presentes no cérebro de humanos e roedores e são ativados por RU 24969, embora ocorra o subtipo 5-HT_{1D} em algumas espécies.

Os autoreceptores serotoninérgicos respondem a alterações da concentração de 5-HT extracelular. A exposição prolongada desses receptores ao neurotransmissor, o que ocorre, por exemplo em situações em que há uma redução na recaptção de 5-HT, gera mecanismos de dessensibilização de ambos os receptores pré-sinápticos e somatodendríticos.

1.2.1.4. Formas de inativação serotoninérgica

1.2.1.4.a. Recaptção serotoninérgica

O término do efeito da serotonina liberada sinápticamente ocorre principalmente por processos que envolvem sistemas de recaptção, o que possibilita que o neurotransmissor seja reutilizado posteriormente. Esse processo envolve a participação de uma proteína transportadora encontrada na membrana plasmática de neurônios serotoninérgicos e está sujeito à cinética de saturação, dependência de alta afinidade por 5-HT.

O processo de recaptção serotoninérgica é dependente de um gradiente eletroquímico de sódio através da membrana, o que está relacionado ao funcionamento da bomba Na⁺-K⁺-ATPase, responsável por manter tal gradiente.

Dentre as drogas inibidoras da recaptção, a sertralina tem tido bastante destaque, sendo amplamente utilizada como antidepressivo. A atuação desses fármacos está relacionada a um aumento das concentrações extracelulares de 5-HT, o que também desencadeia um sistema de *feedback* negativo nesses neurônios liberadores de serotonina, processo esse relacionado à ativação de autoreceptores.

1.2.1.4.b. Metabolização da serotonina

Em tecidos nervosos, a serotonina é metabolizada por um processo de desaminação oxidativa. Esse processo é catalizado por uma monamina oxidase (MAO) gerando um composto que é rapidamente oxidado a ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA), que é considerado o metabólico primário de 5-HT.

1.2.2. RECEPTORES SEROTONINÉGCOS

A função da serotonina é exercida graças a sua interação com receptores específicos. Vários receptores de serotonina já foram clonados e identificados como as famílias ou classes de receptores 5HT₁, 5HT₂, 5HT₃, 5HT₄, 5HT₅, 5HT₆, e 5HT₇. Dentro do grupo 5HT₁ existem os subtipos 5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5HT_{1D}, 5HT_{1E}, e 5HT_{1F}. Existem três subtipos 5HT₂, o 5HT_{2A}, o 5HT_{2B}, e 5HT_{2C} assim como dois subtipos 5HT₅, o 5HT_{5A} e o 5HT_{5B}. A maioria desses receptores está acoplada a proteínas G que afetam a atividade da adenilato ciclase ou da fosfolipase C. A classe dos receptores 5HT₃ constituem canais iônicos.

Os receptores 5HT₃ estão presentes no trato intestinal e estão relacionados ao vômito. Também presentes no trato gastrointestinal estão os receptores 5HT₄, onde funcionam na secreção e nos movimentos peristálticos. Os receptores 5HT₆ e 5HT₇ estão distribuídos por todo o sistema límbico cerebral e apresentam uma alta afinidade por drogas antidepressivas

1.2.2.1. Receptores 5HT₁

São divididos nos subtipos 5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5HT_{1D}, 5HT_{1E}, e 5HT_{1F} que diferem de acordo com as suas propriedades farmacológicas e moleculares. O subtipo 5HT_{1C} foi recentemente reclassificado como 5HT_{2C}.

1.2.2.1.a. Subtipo 5-HT_{1A}

Farmacologicamente esses receptores são os maiores representantes da família devido a sua afinidade com diversos tipos de agonistas, dentre eles 8-OH-DPAT e os derivados de azapirona como buspirona e gepirona. Estão localizados em regiões que incluem principalmente o hipocampo, córtex frontal, entorrinal, amígdala, NDR e NMR. São denominados autoreceptores somatodendríticos no corpo celular de neurônios serotoninérgicos.

A ativação aguda desses receptores esta relacionada à hiperfagia, hipotermia e ao efeito ansiolítico e antidepressivo em seres humanos, modelos experimentais e animais de companhia, mas apenas durante o tratamento crônico.

1.2.2.1.b. Subtipos 5HT_{1B} e 5HT_{1D}

A presença desses subtipos de receptores varia conforme a espécie em questão. Ratos expressam ambos os subtipos enquanto humanos não expressam o subtipo 5HT_{1B}. Embora sejam estruturalmente semelhantes, esses receptores variam de acordo com as suas propriedades farmacológicas.

Os subtipos 5HT_{1B} encontram-se localizados principalmente na substância negra, putâmen, caudado, globo pálido e colículo superior estando sua ativação relacionadas ao aumento da atividade locomotora, hipofagia e hipotermia, sendo os principais agonistas farmacológicos, RU 24969 e CP-94,253.

Já os receptores do tipo 5HT_{1D} estão presentes em baixos níveis no cérebro de ratos e são quantitativamente mais importantes em outras espécies, como humanos, que não expressam 5HT_{1B}. A localização desses receptores assemelha-se às do subtipo 5HT_{1D}.

1.2.2.1.c. Subtipo 5-HT_{1E} e 5-HT_{1F}

Esses receptores foram recentemente clonados e possuem propriedades farmacológicas características do tipo 5HT₁. Pouco se conhece sobre esses subtipos. Sabe-se que os pertencentes à 1F estão localizados no hipocampo, córtex e NDR. Nenhum agonista ou antagonista já foi desenvolvido para esses receptores.

1.2.2.2. Receptores 5HT₂

Dentro dessa família o subtipo 5HT_{2A} é o representante geral devido as suas características farmacológicas. Ainda não foi desenvolvido nenhum agonista que seja característico a um subtipo específico dessa família, embora o MK-212 e o m-CPP exibam alguma especificidade aos subtipos 5HT_{2B} e 5HT_{2C}, quando comparados ao 5HT_{2A}.

Agonistas gerais para essa família incluem fenilalquilaminas como DOM, DOI e DOB. O LSD também pode ser incluído dentre esses agonistas o que inclui essa família dentro de teorias de ações alucinógenas.

Muitos antagonistas gerais já foram desenvolvidos como a ketanserina, ritanserina e LY-53857.

Ensaio de auto-radiografia demonstraram a alta densidade desses receptores no núcleo accumbens, tubérculo olfatório, córtex piriforme e neocórtex.

Os receptores 5HT_{2A} são mediadores da agregação plaquetária e da contração dos músculos lisos. Foi demonstrado que os receptores 5HT_{2C} estão envolvidos no controle da ingestão alimentar.

1.2.3. FUNÇÕES DA SEROTONINA

1.2.3.1. Humor e Ansiedade

Os Transtornos da Ansiedade, principalmente o Transtorno Obsessivo-Compulsivo e o Transtorno do Pânico, estariam relacionados à 5-HT, tanto assim que o tratamento para ambos também é realizado através da administração de antidepressivos que aumentam a disponibilidade de 5-HT.

1.2.3.2. Sono

Os baixos níveis de 5-HT estão relacionados com alterações do sono, comuns em pacientes ansiosos e deprimidos. Essas alterações do sono, como a insônia, possivelmente envolvem o desequilíbrio entre os sistemas serotoninérgico e colinérgico. O sistema serotoninérgico participa da geração das fases III e IV do sono.

1.2.3.3. Appetite

A serotonina é um importante mediador inibitório do núcleo hipotálamico ventro-medial, o qual tem como uma das funções, regular a ingestão de comida e saciedade. Este efeito hipotálamico ventro-medial é altamente específico para os hidratos de carbono, necessitando de outros co-fatores centrais e periféricos para influenciar a ingestão de outros nutrientes, como as proteínas e lipídeos.

1.2.3.4. Temperatura Corporal

A serotonina produz um efeito duplo sobre a temperatura corporal, de acordo com o tipo de receptor estimulado. A ativação do receptor 5-HT₁ produz hipotermia e a do receptor 5-HT₂ hipertermia. A temperatura corporal controlada pelo sistema nervoso central (SNC) recebe uma influência muito grande dos níveis de 5-HT. Isso talvez possa explicar porque algumas pessoas e animais de companhia apresentam febre de origem emocional.

1.2.3.5. Dor

A serotonina é um importante modulador descendente (a partir do núcleo magno da rafe bulbar) da via nociceptiva no corno dorsal da medula espinhal. A depressão diminui o limiar de percepção à dor e a administração de agonistas da serotonina produz analgesia em animais de laboratório. É bem conhecido o efeito dos antidepressivos

tricíclicos, especialmente da amitriptilina, para controle dos casos de dor psicogênica ou de outros tipos, como por exemplo, a enxaqueca.

1.2.3.6. Ritmo circadiano

O sistema serotoninérgico é um dos principais circuitos neurais implicados na modulação do núcleo supraquiasmático hipotalâmico, regulador central dos ritmos circadianos endógenos.

1.2.3.7. Antidepressivos

O efeito da serotonina nos quadros depressivos é avaliado pela observação de respostas neuroendócrinas diminuídas mediante a administração de agonistas da transmissão serotoninérgica e por estudos de depleção de TP na dieta.

1.2.3.8. Antipsicóticos

Os antagonistas da serotonina podem atuar como antipsicóticos, como é o caso da ritanserina, ou como antidepressivos, como a clorgilina. As principais indicações desses antagonistas são: esquizofrenia, ansiedade, enxaqueca, hipertensão arterial, trombose e alterações circulatórias.

1.2.3.9. Regulação Hidroelectrolítica

Há evidências da participação do sistema serotoninérgico no controle da sede e no apetite ao sódio, que serão detalhadas adiante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO NA SEDE E NO APETITE AO SÓDIO

Evidências nos últimos 20 anos têm implicado a participação de vias serotoninérgicas ascendentes no controle do equilíbrio hidroeletrólítico. Ademais, estudos em nosso laboratório evidenciaram a participação do sistema serotoninérgico no apetite ao sódio (BADAUÊ-PASSOS et al., 2003; OLIVARES et al., 2003; LIMA et al., 2004; CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a,b; CEDRAZ-MERCEZ et al., 2005; REIS, 2007).

Estruturas da lâmina terminal (LT), incluindo o OSF (órgão circunventricular dotado de receptores para ANG II e ANP), a parede da região AV3V, OVLT e o NPOM constituem áreas relacionadas com o controle das alterações hidroeletrólíticas e cardiovasculares (BEALER, 1988; FITZSIMONS, 1998; DE LUCA JR, 2000).

As regiões direta ou indiretamente envolvidas com a mediação central do apetite ao sódio incluem as estruturas da LT, OSF, OVLT, NPOM e do hipotálamo (FITZSIMONS, 1998, MCCANN et al., 2003; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). Estas estruturas, ricas em receptores de 5-HT, são inervadas por neurônios serotoninérgicos e transmitem reciprocamente sinais ao NDR (AZMITIA & SEGAL, 1978; BOSLER & DESCARRIRES, 1988; SCROGIN et al., 1998; FITZSIMONS, 1998; REIS, 2007).

Os neurônios do OSF são responsivos a 5-HT por ativação de vias pós-sinápticas através de múltiplos subtipos de receptores, sendo as resposta excitatórias mediadas pelos receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}, e as respostas inibitórias mediadas pelos receptores 5-HT_{1A} (SCROGIN et al., 1998).

Dados recentes sugerem que durante a fase de saciedade do apetite ao sódio há uma rápida recuperação da osmolalidade plasmática, concentração de sódio e de volume extracelular. Estas mudanças são detectadas e integradas por neurônios da LT. Esta informação é então transmitida para o NDR através de uma conexão monossináptica. O NDR via 5-HT, modula o apetite ao sódio, por inibir a ingestão de sal (BADAUÊ-PASSOS et al., 2007; REIS, 2007). Isto sugere que, no processo de restabelecimento da homeostase do fluido corporal após depleção de sódio, neurônios do OSF, OVLT e área pré-óptica que se projetam para o NDR são significativamente ativadas e que essas células podem desempenhar um papel da saciedade ao sal mediada por serotonina.

O NDR recebe informações víscero-sensoriais relativas à depleção de volume do LEC (TANAKA et al. 1991; BADAUÊ-PASSOS et al., 2007; REIS, 2007). Desse relé neural informações integradas são transmitidas ao OSF (FITZSIMONS, 1998). Há evidências que neurônios do OSF dotados de receptores para ANG II são projetados para o NDR (TANAKA et al. 1998) o que suscitou a hipótese segundo a qual este circuito monitora os níveis circulantes de ANG II mediante oscilações na concentração de sódio e/ou do LEC. Ademais, uma porcentagem semelhante de neurônios serotoninérgicos com respostas excitatórias e inibitórias também são sensíveis a ANG II, apesar da relação funcional entre a serotonina e ANG II no OSF ainda não ter sido totalmente elucidada (SCROGIN et al., 1998).

Assim, circuitos como o NDR e o OSF podem desempenhar um importante papel na modulação cardiovascular e no equilíbrio do LEC (TANAKA et al., 2001).

O NDR constitui um grupamento de células que em sua maioria, pelo menos na região ventro-medial, é representada por neurônios serotoninérgicos os quais projetam-se rostralmente (AZMITIA & SEGAL, 1978; STEINBUSCH, 1981; AZMITIA, 1987; BOSLER & DESCARRIES, 1988). A atividade ascendente dos neurônios serotoninérgicos da rafe mesencefálica é modulada pela liberação local de 5-HT. Evidências experimentais revelaram que o NDR está envolvido com a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico e, demonstraram que a depleção de 5-HT cerebral e lesões eletrolíticas desse núcleo reduzem drasticamente a liberação de ANP em condições basais ou após expansão de volume do LEC e diminuem a excreção de sódio após hidratação por sonda oro-gástrica (REIS et al., 1994). Dados obtidos com depleção de 5-HT cerebral, através da administração de para-clorofenilalanina (LIMA et al., 2004) e de lesões excitotóxicas do NDR com ácido ibotênico confirmaram estas observações (CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a).

Lima et al., (2004), demonstraram que a depleção de serotonina cerebral com para-clorofenilalanina, exagera o apetite ao sódio em paradigmas de depleção de sódio e água ou após estimulação β -adrenérgica.

Em resumo, Olivares et al., (2003) e Cavalcante-Lima et al., (2005a,b), evidenciaram que lesões eletrolíticas e excitotóxicas no NDR induzem um intenso apetite por sódio em condições basais e após depleção de volume.

Além disso, Franchini et al., (2002) demonstraram que a expressão do c-Fos em neurônios serotoninérgicos do NDR fica diminuída após depleção de sódio induzida por diálise peritoneal e torna-se aumentada após a ingestão de sódio induzida e espontânea.

Desta forma, estabeleceu-se a hipótese de que vias serotoninérgicas ascendentes originadas na rafe mesencefálica são recrutadas para o processamento da saciedade ao sódio, exercendo uma inibição tônica sobre o apetite ao sódio (FRANCHINI et al., 2002; OLIVARES et al., 2003; CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a,b; REIS, 2007).

Esta observação correlaciona-se com trabalhos anteriores os quais demonstraram que, a administração sistêmica de liberador cerebral de serotonina ou de agonista de receptor 5HT_{2C} inibem o apetite ao sódio (BADAUÊ-PASSOS et al., 2003) e que a administração intracerebroventricular (icv) de agonistas serotoninérgicos de receptores da família 5-HT₂ provoca um aumento da excreção urinária de sódio (REIS et al., 1991; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004).

Em tratamento realizado com dexfenfluramina, uma droga anorexígena envolvida na neurotransmissão 5-HT, e metergolina, um antagonista 5-HT, observaram-se respectivamente uma diminuição e um aumento na ingestão de salina 1,8%, tanto no grupo de animais submetidos à depleção de sódio e água quanto nos animais que tiveram acesso *ad libitum*, confirmando assim o envolvimento do sistema serotoninérgico no apetite ao sódio (ROAUH-ROSILIO et al., 1994).

Animais submetidos a quatro testes de privação de água e depleção de sódio, com intervalos de sete dias entre eles e análise diária dos níveis de ingestão de água e salina 1,8%, aumentaram a ingestão de salina hipertônica, ao contrário do grupo controle, e não apresentaram alteração na ingestão de água durante os episódios de privação (PEREIRA et al., 2002). Da mesma forma, estudos indicam um elevado apetite ao sódio em ratos submetidos à prolongada privação de sódio (oito dias), porém foi observado que o estrogênio pode atenuar esse apetite ao sódio induzido (STRICKER et al., 1991).

Estudos também demonstraram que o NPV possui um importante papel na regulação do apetite ao sódio e na ingestão de água. Em um trabalho que investigou a participação de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} do NPV sobre a ingestão de sódio induzida por depleção, os animais que receberam injeções de 5-HT no NPV reduziram a

ingestão de salina 1,8%, assim como os que receberam injeção de agonista 5-HT_{1A}. Já a administração de antagonista 5-HT_{1A} específico, pMPPF, bloqueou o efeito inibitório do agonista 5-HT_{1A} sobre a ingestão de salina hipertônica. Com isso observa-se que o mecanismo serotoninérgico 5-HT_{1A} do NPV, modula a ingestão de sódio induzida por depleção de volume (VILLAS et al., 2007).

Outros estudos relataram que mecanismos serotoninérgicos no núcleo parabraquial lateral (NPBL) constituem o substrato de um sistema inibitório da ingestão de NaCl em vários paradigmas experimentais (MENANI et al., 1996). O bloqueio de receptores 5-HT_{2A/C} no NPBL eleva a ingestão de salina hipertônica induzida pela administração icv de ANG II ou por combinação de furosemida e baixa dose de captopril (MENANI et al., 1996).

Há evidências sugerindo a existência de um percurso serotoninérgico a partir de corpos celulares localizados no NDR e com terminais dentro do NPBL envolvidos no controle da ingestão de água e ingestão/excreção de sódio (MENANI et al., 1996; MARGATHO et al., 2007). Além disso, admitiu-se a possibilidade de uma participação integrada resultante da interação recíproca entre NDR e NPBL objetivando controlar o apetite ao sódio (REIS et al., 2007)

Adicionalmente Margatho et al., (2008) demonstraram que a expansão volêmica isotônica ativa neurônios do NDR que se projetam para o NPBL, suscitando a hipótese de que os neurônios serotoninérgicos do NDR que enviam mensagens colaterais para o NPBL e para o NPV, são singularmente posicionados para coordenar centralmente respostas autonômicas à expansão de volume isotônica. Isto sugere a existência de um mecanismo integrado entre NDR-NPBL, que pode controlar a resposta à expansão volêmica através da modulação da liberação de 5-HT.

Além disso, Margatho et al., (2007) demonstraram evidências de que mecanismos serotoninérgicos no NPBL estão envolvidos no controle da secreção do ANP e OT, bem como na excreção de sódio, potássio e água em resposta a expansão de volume isotônica.

A hipernatremia e a resultante elevação de volume do LEC tendem a inibir o apetite por sódio. Concorrem para estas respostas as aumentadas liberações de ANP e de OT (MCCANN et al., 2003; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). Receptores para estes dois peptídeos foram identificados na LT e hipotálamo.

Godino et al., (2007) demonstraram que com relação ao sistema ocitocinérgico, tanto a atividade neural da OT, quanto os seus níveis plasmáticos, um aumento de sua atividade após a ingestão de solução salina hipertônica, sugerindo que este sistema esteja envolvido com o processamento de sinais hiperosmóticos, sendo um marcador de hipertonicidade.

Nesse mesmo estudo demonstrou-se que os sistemas de inibição do apetite ao sódio, correlacionados aos sistemas 5-HT e OT, podem operar em diferentes níveis. Considerando que ambos os sistemas são ativados pela ingestão de salina hipertônica, apenas o sistema 5-HT é ativado por qualquer isotônico ou ingestão induzida de salina 1,8% e pode estar relacionado com a questão de saciedade (GODINO et al., 2007). Isto sugere, embora não se tenha provado ainda, que neurônios do NDR possuem um papel no controle inibitório do apetite ao sódio e especificamente com processo de saciedade. O papel do sistema ocitocinérgico é talvez mais restrito à inibição da ingestão de salina hipertônica.

Estas observações permitiram postular outras possibilidades de modulação do apetite ao sódio, por intermédio de aumento da liberação de OT e da transmissão serotoninérgica para estruturas da LT, particularmente o OSF.

O sistema ocitocinérgico do NPV (FRANCHINI & VIVAS, 1999) seria ativado

a partir de projeções serotoninérgicas do NDR e, juntamente com o sistema ANPérgico (McCANN et al., 2003), inibiria o sistema angiotensinérgico, que estimula a ingestão de água e sódio.

No SNC a serotonina também participa de mecanismos inibidores da ingestão de água, pelo menos em ratos (REIS et al., 1990a,b; MENANI et al., 1996; CASTRO et al., 2002a,b). Os neurônios serotoninérgicos do NDR, também exercem um papel modulador na sede relacionada ao aumento da tonicidade do LEC, e na sede sinalizada pelo aumento dos níveis plasmáticos de ANG II (FITZSIMONS, 1998). Resultados obtidos a partir de lesões do NDR sugerem a participação de neurônios serotoninérgicos ascendentes na modulação da sede induzida por desidratação e estimulação angiotensinérgica cerebral (OLIVARES et al., 2003).

Quando o agonista 5-HT_{2B/2C}, mCPP, é administrado via icv, há uma inibição da ingestão de água após desafios dipsogênicos induzidos por privação de fluidos, sobrecarga de salina hipertônica ou por hipovolemia (CASTRO et al., 2002a). Estudos anteriores demonstraram que a administração icv do agonista 5-HT_{2C}, MK-212, modula a ingestão de água induzida pela privação de fluidos obtidos pela microinjeção central de ANG II ou carbacol, bem como pela administração sistêmica ou central de um β-agonista adrenérgico, isoproterenol (REIS et al., 1990a,b; 1992).

2.2. DROGAS QUE INFLUENCIAM NO SISTEMA SEROTONINÉRGICO

2.2.1. FENFLURAMINA

A fenfluramina (FEN) é um liberador de serotonina. Sua ação consiste no bloqueio da recaptação da 5-HT no neurônio pré-sináptico, aumentando e/ou provocando sua liberação através de sistemas de transporte de membranas, tornando-a mais disponível na fenda sináptica. Parece agir seletivamente sobre o sistema serotoninérgico, pois doses até 10 mg/kg não interferem no sistema dopaminérgico ou noradrenérgico (BLUNDELL, 1989).

Seus derivados são utilizados em fórmulas para inibição do apetite (ação anorexigênica) e redução de peso corporal (BLUNDELL, 1984). O efeito anorexígeno da FEN pode ser atribuído ao aumento da concentração de serotonina disponível ao nível dos receptores pós-sinápticos levando conseqüentemente a uma maior transmissão serotoninérgica (BLUNDELL, 1989).

Cedraz-Merchez et al., (2005), demonstraram que a FEN possui um papel modulador no controle do comportamento alimentar em codornas pois, quando administrada em aves em jejum, induz uma resposta hipofágica quando comparada aos animais controle.

Já foi reportado que pacientes humanos com diagnóstico de hipotireoidismo, que paralelamente realizaram tratamento crônico com este anorexígeno a longo e médio prazo, desenvolveram insuficiência aórtica e mitral (KATTAH et al., 1998).

O uso de FEN para perda de peso têm sido associado com o desenvolvimento de placas características nas válvulas cardíacas, causando regurgitação. A valvulopatia é comum em pacientes do sexo feminino, e está associada com a duração do tratamento. As cirurgias mais freqüentes realizadas nesses casos de valvopatia regurgitante associada a FEN, são de válvula mitral e aórtica. Evidências recentes parecem confirmar

a suspeita de que a estimulação excessiva da serotonina sobre o receptor 5-HT_{2B} pode causar danos e regurgitação valvular (ROTH, 2007). Esse efeito é decorrente da estimulação direta dos receptores 5-HT_{2B} por norfenfluramina, um metabólito da FEN que se liga avidamente aos receptores 5-HT_{2B} e pode persistir nos tecidos resultando na promoção da mitogênese dos fibroblastos valvulares (ROTHMAN et al., 2000; ROTH, 2007).

Com as evidências a respeito dos efeitos adversos significativos associados aos agentes anti-obesidade, como lesões nas válvulas cardíacas e problemas pulmonares, a fenfluramina e dexfenfluramina, a Food and Drug Administration, solicitou a sua retirada do mercado em 1997.

Além disso, apesar das controvérsias, especula-se que a FEN possa causar neurotoxicidade. Há evidências de que em tratamento crônico com fenfluramina, há uma redução nas concentrações 5-HT no prosencéfalo. Ainda é desconhecido se esses achados indicam danos reais aos neurônios serotoninérgicos ou uma depleção de longa duração de 5-HT sem danos estruturais. (ZACZEK et al., 1990; RICAURTE et al., 1991; ROWLAND et al., 1993).

Estudos comprovaram que a FEN aumenta seletivamente a liberação de 5-HT nos terminais do NDR, através de sondas de microdiálise implantadas na amígdala e no hipocampo dorsal. A FEN produz um aumento na liberação de 5-HT na amígdala, mas não no hipocampo dorsal. Isso justifica o aumento de sua liberação nos terminais do NDR, pois, a amígdala é inervada principalmente por fibras do NDR, enquanto o hipocampo dorsal recebe fibras 5-HT principalmente a partir do NMR, corroborando com o fato que a FEN aumenta liberação seletiva de 5-HT nos terminais do NDR (VIANA et al., 1996).

Já foi demonstrado que ratos hipotireóideos tratados agudamente com FEN e submetidos à depleção de sódio e à privação hídrica, reduzem significativamente o consumo de salina hipertônica, quando comparado aos controles. De modo similar a administração de FEN em ratos eutiróideos reduz a ingestão de salina hipertônica em animais submetidos à mesma condição experimental (BADAUE-PASSOS et al., 2003).

Similarmente, em um estudo realizado com dexfenfluramina, a qual age de forma semelhante a FEN, e com metergolina, um antagonista 5-HT, houve respectivamente uma diminuição e um aumento na ingestão de salina hipertônica. A dexfenfluramina reduziu de 75% para 90% a ingestão de salina hipertônica induzida pela depleção de sódio, e pelo consumo espontâneo, sem haver alteração na ingestão de água. Esses dados confirmam o envolvimento do sistema serotoninérgico sobre o apetite ao sódio, e estendem o envolvimento dessas drogas a partir de condições de depleção de sódio e livre necessidade (consumo espontâneo) (ROUAH-ROSILIO et al., 1994).

2.2.2. 8 – HIDROXI – 2 – (DI – N – PROPILAMINO) TETRALINA

O 8 – hidroxí – 2 – (di – n – propilamino) tetralina (8-OH DPAT) é um agonista 5-HT_{1A} de alta eficácia, e é considerado um protótipo de ansiolíticos e antidepressivos.

Essa classe de fármacos exerce suas ações clínicas através da neurotransmissão serotoninérgica, devido à sua habilidade em ativar a retro-alimentação negativa em neurônios da rafe mesencefálica. Por outro lado, a sua administração crônica provoca uma dessensibilização dos autorreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} (ALBERT et al., 1996; BLIER et al., 1998; BLIER & WARD, 2003). Esses autorreceptores exercem

papel crítico na modulação da transmissão serotoninérgica (ALBERT et al., 1996; BLIER et al., 1998).

Estudos sugerem que a dessensibilização desses autoreceptores é resultante da internalização do autoreceptor, levando ao aumento da transmissão de 5-HT e sua liberação em áreas de atuação. Assim, esses autoreceptores desempenham um papel fundamental na eficácia terapêutica dos antidepressivos (RIAD et al., 2001; ALBERT & LEMONDE, 2004). Essa dessensibilização pode ocorrer depois de duas a três semanas de tratamento com agonistas 5-HT_{1A} (RIAD et al., 2001).

Entre os receptores 5-HT_{1A} cerebrais, há dois subtipos que podem ser distinguidos, o autoreceptor somatodendrítico 5-HT_{1A} e o receptor pós-sináptico (BLIER et al., 1998; MULLER et al., 2007).

Devido à alta afinidade por 5-HT e a localização dos autoreceptores somatodendríticos e dos receptores pós-sinápticos nas regiões terminais das projeções 5-HT, não é surpreendente que os receptores 5-HT_{1A} possam estar envolvidos na modulação comportamental, na emoção e memória. Estudos nessa área constituem a base da contribuição dos receptores 5-HT_{1A} em diversas desordens afetivas e doenças mentais como ansiedade, depressão, esquizofrenia e dependência de drogas, sendo esses receptores um importante alvo para intervenções farmacológicas (MULLER et al., 2007).

Uma alta densidade de receptor 5-HT_{1A} foi encontrada no NDR e NMR, em áreas límbicas do cérebro, tais como hipocampo, septo lateral e amígdala, e em áreas límbicas corticais (MULLER et al., 2007). Foi demonstrado que os autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A}, quando ativados pela 5-HT extracelular, acionam um efeito inibitório sobre os neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe (RIAD et al., 2001). O status funcional dos autoreceptores 5-HT_{1A} nos núcleos da rafe parece ter um papel fundamental na regulação da atividade pós-sináptica nas regiões terminais de projeção serotoninérgica (STAMFORD et al., 2000). A estimulação a longo prazo do receptor 5-HT_{1A} do NDR leva a uma dessensibilização e internalização dos autoreceptores, o que resulta em uma inibição do *feed-back* negativo exercido pela 5-HT sobre a frequência de disparos dos neurônios serotoninérgicos (BLIER et al., 1998; RIAD et al., 2001).

A administração de uma única dose de buspirona, um agonista 5-HT_{1A}, leva a diminuição significativa da síntese de 5-HT na maior parte do cérebro, ao contrário do que ocorre em tratamento crônico, o qual induz a diferenças significativas em termos de síntese de 5-HT, o que provavelmente ocorre devido a esta dessensibilização de autoreceptores 5-HT sobre neurônios serotoninérgicos (OKAZAWA et al., 1999).

Em um estudo realizado para determinar o efeito de diferentes tipos de antagonistas de receptores 5-HT (propranolol, metiltepina, mianserina, indorenato e espiperona) sobre o efeito do LSD e 8-OH-DPAT, apenas a espiperona reduziu significativamente o efeito de ambos, enquanto que os demais não bloquearam seus efeitos sobre a atividade dos neurônios serotoninérgicos do NDR (BLIER et al., 1989). O WAY100135 é um antagonista altamente seletivo de ambos receptores 5-HT_{1A}, somatodendríticos e pós-sinápticos. Este induziu um máximo de 30% da inibição do disparo de neurônios da rafe antagonizando a inibição induzida pelo 8-OH DAPT em ratos anestesiados (FLETCHER et al., 1993).

Ao contrário, em estudo realizado por Casanovas et al., (1999), foi demonstrado que em tratamento contínuo por duas semanas com 8-OH-DPT e com alnespirona, um agonista 5-HT_{1A}, apenas observou-se dessensibilização funcional dos autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} que controlam a liberação de 5-HT no NDR e no córtex frontal, em animais tratados com alnespirona.

Em estudo realizado para avaliar a capacidade de alta eficácia de um agonista 5-HT_{1A}, observou-se que quando administrado agudamente, o agonista diminuiu as concentrações extracelulares de 5-HT. Quando o antagonista 5-HT_{1A} WAY100635 foi administrado previamente, houve inibição do efeito do composto (ASSIÉ et al., 2006).

A administração do agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, inibe de modo dose-dependente a ingestão de alimento em codornas normoalimentadas e submetidas ao jejum alimentar, ao contrário do que ocorre em mamíferos, demonstrando assim um possível papel dos receptores 5-HT_{1A} na modulação do comportamento alimentar em codornas (REIS & MARINHO, 2005).

A injeção bilateral do agonista 5-HT_{1A}, 8-OH-DAPT no NPV do hipotálamo, reduz significativamente a ingestão de sódio em animais depletados. Quando realizada a administração prévia do antagonista específico 5-HT_{1A}, pMPPF, há o bloqueio inibitório do 8-OH-DAPT, indicando que os efeitos observados sobre o apetite ao sódio, é resultante da ativação de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos. Tais dados sugerem que os efeitos do tratamento com 5-HT_{1A} estão relacionados a mecanismos específicos que induzem uma diminuição no consumo de sódio (VILLA et al., 2007).

Cooper et al., (1988) investigaram os efeitos do 8-OH-DAPT e gepirona sobre o consumo de água e de salina em diferentes concentrações (0,45% - 2,8%) em um teste de ingestão de 30 minutos. Os dois agonistas 5-HT_{1A}, de forma dose-dependente, aumentaram a ingestão de duas soluções de salina hipertônica nos animais tratados, mas produziram pouco ou nenhum aumento com relação à ingestão de água, salina isotônica ou hipotônica.

Em outro estudo, após 22 horas de privação hídrica, os animais foram divididos em dois grupos. O primeiro teve acesso à salina 1,8% e água em um teste de dupla escolha por 30 minutos e o segundo à salina 0,9% e água, seguindo o mesmo modelo do primeiro grupo. Os animais que foram testados após a administração de agonistas 5-HT_{1A} (isaspirona, gepirona e 8-OH DAPT), aumentaram a ingestão de salina hipertônica e não obtiveram qualquer diferença sobre a ingestão de salina isotônica ou água. Assim observou-se que os agonistas 5-HT_{1A} que possivelmente por atuação em autoreceptores somatodentríticos 5-HT_{1A}, promovem uma ação inibitória com conseqüente diminuição da atividade serotoninérgica central (COOPER & CICCOCIOPPO, 1993) tendendo desta forma a aumentar o apetite ao sódio.

2.2.3. CLORIDRATO DE SERTRALINA

A Sertralina (SERT) é um inibidor da recaptação pré-sináptica de serotonina (SSRI), pertencente a um grupo de fármacos que são amplamente prescritos para o tratamento de transtornos depressivos em seres humanos e animais (ANGULO et al., 2003). Esses fármacos são tão efetivos quanto os antidepressivos clássicos, porém, possuem menos efeitos adversos, por sua ausência de atividade colinérgica, anti-histaminérgica e anti α 1-adrenérgica (GASTONI et al., 2000). Todos os SSRI parecem ser mais eficazes do que o placebo para o tratamento agudo de transtorno depressivo maior (TDM). Outras indicações potenciais para o uso de SSRI incluem transtorno obsessivo-compulsivo, síndrome do pânico, bulimia, síndromes dolorosas crônicas, agitação ou inibição psicomotora, transtorno do sono, ansiedade, entre outros (FINLEY, 1994; BASTOS et al., 1996).

Pesquisa recente mostra resultados positivos associados ao uso de SSRI para pacientes com depressão pós-síndrome coronariana ativa (REGAN, 2008).

Em casos extremamente raros, a SERT pode causar hepatotoxicidade (TABAK et al., 2008).

A atividade terapêutica dos SSRI faz-se, sobretudo através da inibição da recaptação de serotonina (TELLES-CORREIA et al., 2007). Os efeitos imediatos destes antidepressivos fazem-se sentir através de um aumento dos níveis de 5-HT disponíveis para atuar ao nível dos auto-receptores 5-HT_{1A}. O efeito mais retardado corresponde a uma dessensibilização destes receptores, com conseqüente aumento da liberação de 5-HT para a fenda sináptica. A serotonina fica assim disponível para atuar nos receptores pós-sinápticos serotoninérgicos (ALBERT et al., 1996; BLIER et al., 1998; VASWANIM et al., 2003; STAHL et al., 2004). Segundo vários autores esta dessensibilização está na origem do desaparecimento dos efeitos secundários (VASWANIM et al., 2003; STAHL et al., 2004; TELLES-CORREIA et al., 2007).

Assim, os efeitos terapêuticos da SERT resultantes do tratamento crônico são, atribuídos à dessensibilização de autorreceptores somatodendríticos (ARSD) e dos terminais neuronais (ARTN) da rafe mesencefálica. Uma conseqüência da ativação aumentada dos ARSD e ARTN é a redução nas descargas dos neurônios serotoninérgicos, associada a uma redução da síntese e liberação de 5-HT.

Os SSRI podem levar a quadros graves de hiponatremia induzida (BURKE & FANKER, 1996; BRADLEY et al., 1996; ROSNER, 2004; WIJNEN et al., 2004; SEIDERER et al., 2006). O risco de hiponatremia torna-se particularmente mais evidente durante as primeiras semanas de tratamento, com maior predisposição em mulheres, idosos e doentes que fazem concomitantemente tratamento com diuréticos (LIU et al., 1996; LANE, 1997; WOO & SMYTHE, 1997; SPIGSET et al., 1998; WILKINSON et al., 1999; JACOB & SPINLER, 2006). Mas apesar de possuir uma maior incidência em pessoas idosas, pode ocorrer em pacientes de qualquer idade (TWARDOWSCHY et al., 2006). A hiponatremia é um efeito colateral causado pelo tratamento com antidepressivos SSRI, e está associado com a síndrome da secreção inadequada do ADH (SIADH) na maioria dos casos (SPIGSET et al., 1998; KOELKEBECK et al., 2007; AGRAWAL et al., 2007). A SIADH é caracterizada por um estado euvolêmico, com baixa osmolalidade plasmática e uma elevada osmolalidade urinária. Várias condições implicam na gênese deste distúrbio osmorregulatório. Muitas doenças podem causar a SIADH, entre elas: neoplasias, perturbações do sistema nervoso central, doenças pulmonares, hipotireoidismo, insuficiência adrenal, intervenções cirúrgicas e uso de diuréticos associados a SSRI (PEREZ et al., 2004; CURY et al., 2006).

Com o aumento do uso dos SSRI, tem ocorrido um maior número de relatos de SIADH. Estima-se que a cada 200 pacientes humanos, pelo menos 1 desenvolva SIADH, sendo a idade e o baixo peso corporal, os fatores de risco. Não há nenhum efeito claro que correlacione com o peso corporal, mas a susceptibilidade à hiponatremia relativa à idade pode ser explicada, por mudanças fisiológicas endócrinas e renais. A elevada prevalência de polimedicação e pluriênfermidades em idosos pode ser um fator contribuinte (FONZO-CHRISTE & VOGT, 2000).

Os diuréticos e os SSRI, estão entre as medicamentos que são mais comumente prescritos. Cada uma destas medicações está associada com o desenvolvimento de hiponatremia grave, sendo os mecanismos envolvidos nestas, diferentes para cada medicamento. Casos de hiponatremia grave em doentes que fazem uso de diuréticos tiazídicos e SSRI destacam a possibilidade de um efeito sinérgico na diminuição da função renal e no *clearance* de água quando os dois medicamentos são prescritos. Pacientes que fazem uso de SSRI e diurético tiazídico, devem receber cuidadosa monitorização (ROSNER, 2004).

Em um estudo realizado de 1992 a 2002 através de relatórios da The Netherlands Pharmacovigilance Centre Lareb e do The Inspectorate for Health Care, houve notificação de 42 casos, sendo destes 38 mulheres com idade média 74 anos, e dentre estas 21 faziam o uso concomitante de SSRI e diurético. A concentração sérica média de sódio foi de 115nmol/L, e os sintomas mais importantes foram quedas, náuseas, redução da consciência, confusão e vômitos. Destes casos notificados, três foram a óbito no período das reações adversas ao medicamento, 27 foram hospitalizados, sendo quatro na Unidade de Tratamento Intensivo. Há uma real incidência e gravidade na hiponatremia induzida pelo uso de SSRI (WIJNEN et al, 2004).

Idosos possuem uma tendência a ter um decréscimo total de água corporal, do fluxo sanguíneo renal, da taxa de filtração glomerular, e capacidade de concentração e diluição tubular renal. Estas alterações relacionadas com a idade sobre o metabolismo da água podem tornar o paciente idoso mais susceptível a esta complicação causada pelos SSRI. Neste grupo, a máxima capacidade de concentração e diluição renal possui imparidade e a secreção de ADH pode ser ligeiramente aumentada. Além disso, a resposta do ADH ao estímulo osmolar, tem se mostrado maior em pessoas idosas. Este aumento osmossensitivo pode aumentar o risco de SIADH (LIU et al., 1996).

Uma paciente de 78 anos de idade desenvolveu hiponatremia três dias após o tratamento com SERT sendo posteriormente diagnosticada a SIADH. Apesar de sintomática, houve uma rápida resolução das anormalidades clínicas e laboratoriais suprimindo o tratamento com SERT, recebendo restrição hídrica, salina hipertônica (BRADLEY et al., 1996). No Japão, alguns pacientes que fizeram uso de SSRI para depressão por três meses, chegaram ao coma profundo e revelaram grave hiponatremia. Os níveis séricos de sódio foram 103-112 mEq/L, osmolalidade foram 227-241 mmol/kg, nível de sódio na urina foi de 38-107 mEq /L, e osmolalidade urinária de 352-781 mmol/kg. Além disso, foram observados elevados níveis plasmáticos de ADH. O diagnóstico nesses pacientes foi realizado com base na hiponatremia, na osmolalidade baixa no soro e elevada na urina. Com a retirada do SSRI, e com a infusão de salina hipertônica, os níveis séricos de sódio e a osmolalidade, posteriormente, voltaram aos seus valores normais (INAGUMA et al., 2000).

Pacientes que fazem uso de SSRI podem apresentar-se com hiponatremia, concentrações plasmáticas de sódio menor que 130 mmol/L, podendo ser assintomáticos ou apresentar-se associada a náuseas, vômitos, diarreia, letargia, anorexia, câimbras musculares, fraqueza, fadiga, confusão e desorientação. A hiponatremia grave pode resultar em graves seqüelas neurológicas, tais como convulsões, coma e morte. Tanto a magnitude e taxa de desenvolvimento da hiponatremia são importantes determinantes da gravidade dos sintomas clínicos (LIU et al., 1996; WOO & SMYTHE, 1997; BELTON & THOMAS, 1999; AGRAWAL et al., 2007). Em exames complementares, os hormônios tireoidianos e o cortisol geralmente estão inalterados, e na tomografia computadorizada cranial, não há nenhuma alteração morfológica (ANGULO et al., 2003). A hiponatremia geralmente desenvolve-se durante os primeiros meses de terapia (3-120 dias) e a sua reversão pode ocorrer de 2 a 28 dias após a suspensão do SSRI (LIU et al., 1996).

O critério para o diagnóstico de SIADH inclui, o baixo nível de sódio sérico, baixa osmolalidade (osmolalidade plasmáticas <275 mOsm/kg), hipertocinidade urinária quando comparada ao sangue (osmolalidade urinária >100 mOsm/kg, com função renal normal), ausência de desidratação e de doenças concomitantes, como o hipotireoidismo e hipocorticismos (SCHRIER, 2001; CURY et al., 2006)

O tratamento de hiponatremia associada ao uso de SIADH é realizado com a interrupção da medicação, restrição hídrica, aplicação de soro hipertônico, e uso de

diuréticos. Com a retirada da SERT, os níveis de sódio voltam progressivamente aos seus valores normais (DOSHI & BORISON, 1994; WOO & SMYTHE, 1997; CURY et al., 2006; SEIDERER et al., 2006; JACOB & SPINLER, 2006). A infusão de sódio é controversa, e só deve ser considerada em casos de severa hiponatremia (BELTON & THOMAS, 1999; JACOB & SPINLER, 2006).

O balanço hidroeletrólítico nesses pacientes deve ser cuidadosamente monitorado durante a terapia com SSRI (INAGUMA et al., 2000).

O excesso de ADH, paralelamente a uma elevada ingestão hídrica, corrobora para a hiponatremia (MARAR & AMICO, 1998).

Os fármacos SSRI podem causar a SIADH por estimular direta ou indiretamente a liberação de ADH pela neurohipófise, apesar de seu mecanismo ser desconhecido (BLUTT & OJI, 1995; LIU et al., 1996; BELTON & THOMAS, 1999; KIRBY & AMES, 2001). Além disso, em tratamento agudo realizado com SSRI, foi observado que há um aumento nos níveis plasmáticos de OT, e a administração deste medicamento por 14 dias, não afeta o mecanismo de liberação da mesma, persistindo seus níveis elevados. Assim, pode-se sugerir que a liberação de OT é um importante aspecto farmacológico dos SSRI (UVNÄS-MOBERG et al., 1999).

Terminais serotoninérgicos foram identificados em áreas vasopressinérgicas e ocitocinérgicas, tais como no NPV e NSO (SAWCHENKO et al., 1983; LARSEN et al., 1996). Tal fato corrobora com estudos que mostram consistentemente que a 5-HT aumenta os níveis plasmáticos de ADH e OT (MOOS & RICHARD, 1983; STEARDO & IOVINO, 1986; SAYDOFF et al., 1991; CHAN et al., 1997; MIKKELSEN et al., 1999; UVNÄS-MOBERG et al., 1999; AGRAWAL et al., 2007). Um dos possíveis mecanismos que podem estar associados à indução de SIADH por antidepressivos é a estimulação serotoninérgica sobre a liberação do ADH, o qual pode ser mediado pelos receptores 5HT_{1A} e 5HT₂ (CHAN et al., 1997; AGRAWAL et al., 2007). A ocorrência de hiponatremia 7 dias após o início da terapia com SERT, e a reversão desta anormalidade bioquímica e melhora no quadro clínico após a descontinuação da droga, apóiam este contexto (AGRAWAL et al., 2007).

Por outro lado, Marar & Amico, (1998), observaram que a administração crônica de SSRI, fluoxetina na dose diária de 10m g/kg, não afetou significativamente os valores de VP e OT. Nesse estudo realizado por 10 dias, o peso, a diurese e a ingestão hídrica e alimentar foram aferidas diariamente. Após esse período, foram analisadas a concentração plasmática de ADH e OT, sódio, uréia, creatinina e glicose. A ingestão hídrica foi maior no grupo de animais mantidos com dieta líquida, assim como sua diurese. Com relação ao peso, os animais que receberam fluoxetina, perderam peso, quando comparado aos animais tratados com placebo. Não foram encontradas alterações significativas em ambos os grupos, sobre os níveis de Na, ADH ou OT plasmática.

Ambos os hormônios, ADH e OT, estão envolvidos com o equilíbrio hidromineral. Desta forma, mudanças em seus níveis plasmáticos, poderiam modificar a regulação do volume plasmático e tonicidade (FITZSIMONS, 1998; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004), o que é confirmado pela hiponatremia causada pelo uso prolongado de SSRI.

A OT é considerada um estímulo inibitório para o apetite ao sódio, baseada na relação inversa entre a ingestão de sódio e os níveis plasmáticos de OT observados constantemente em uma variedade de condições fisiológicas (STRICKER et al., 1987; BLACKBURN et al., 1992). Camundongos com ausência do gene para OT ingerem em média sete vezes mais salina hipertônica após privação de líquidos, do que animais sem alteração genética (AMICO et al., 2001).

A administração aguda de SSRI em animais eutireóideos e hipotireóideos submetidos ao protocolo experimental de depleção de volume diminui a ingestão de salina hipertônica (BADAUÊ-PASSOS et al., 2003).

3. OBJETIVOS

- Avaliar a participação do sistema serotoninérgico na regulação da ingestão de água e do apetite ao sódio em ratos.
- Avaliar os efeitos do tratamento crônico com drogas que influenciam a neurotransmissão serotoninérgica, como liberador de serotonina, agonista de receptores 5-HT_{1A} e inibidor da recaptação pré-sináptica de serotonina, avaliando seus efeitos sobre a sede e o apetite ao sódio.
- Avaliar os níveis plasmáticos de ADH e OT, hematócrito e densidade urinária de ratos tratados cronicamente com inibidor da recaptação pré-sináptica de serotonina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados ratos Wistar, albinos, machos, com peso corporal de 250-300 g, adquiridos pelo Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os animais foram criados em condições padronizadas, em sala com sistemas de controle do ciclo claro/escuro (12 horas claro: 12 horas escuro) e temperatura ambiental controlada (25 °C).

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, três animais cada, com água e alimento oferecido *ad libitum* durante todo o período que antecedia o protocolo experimental.

Os procedimentos aos quais os animais utilizados neste trabalho foram submetidos, estavam de acordo com as normas e princípios éticos preconizados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, que segue o Guide for the Care and Use of Laboratory animals (NIH Publicação Nº 85-23, revisado 1996), desta forma tendo sido aprovada a execução deste trabalho.

4.2. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

- 8-OH-DAPT - 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina - agonista de receptores 5-HT_{1A} (adquirido da Sigma-Aldrich).
- Fenfluramina – liberador de serotonina (adquirido da Sigma-Aldrich)
- Sertralina – Cloridrato de sertralina (adquirido da MEPHA).
- Furosemida – Lasix (adquirido da Sanofi-Aventis).

4.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Após o período de administração da droga, todos os animais de cada grupo tratado e seu respectivo grupo controle, foram submetidos a um determinado protocolo experimental (Tabela 1). Porém, 48 h antes, os animais de ambos os grupos eram colocados em gaiolas metabólicas (Figura 2) para prévia adaptação. Nesta, eles receberam água e alimento *ad libitum*, até a execução do protocolo experimental.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	DROGA DE TRATAMENTO	PROTOCOLO EXPERIMENTAL
Grupo 1	8-OH-DAPT	Depleção de sódio
Grupo 2	Fenfluramina	Depleção de sódio
Grupo 3	Sertralina	Depleção de sódio
Grupo 4	Sertralina	Privação hídrica
Grupo 5	Sertralina	Privação de água e alimentos
Grupo 6	Sertralina	Estímulo osmótico
Grupo 7	Sertralina	Avaliação dos níveis do hematócrito e da densidade urinária
Grupo 8	Sertralina	Avaliação dos níveis plasmáticos de ADH e OT

Tabela 1. Tabela contendo os grupos experimentais constituídos, com sua respectiva droga de tratamento, o protocolo experimental a qual cada grupo foi submetido.

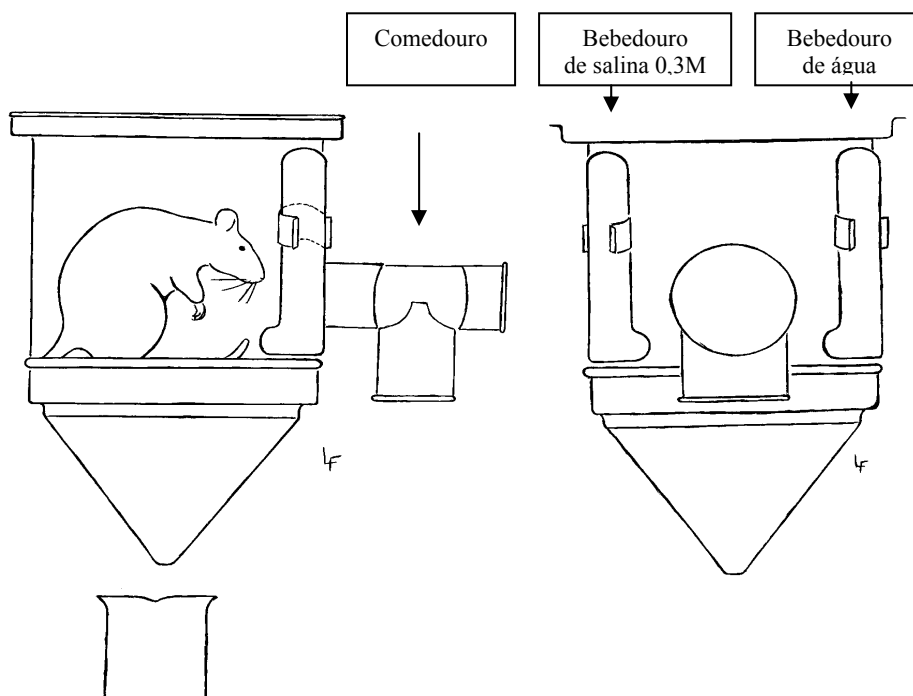


Figura 2. Gaiola metabólica utilizada no experimento. A figura à esquerda representa a visão lateral, e à direita sua visão posterior (Figura gentilmente cedida por Luis Felipe Souza e Silva).

4.3.1.1. Depleção de sódio

Os animais foram submetidos à depleção de sódio e água, a partir da administração de um inibidor do co-transporte 1-Na^+ , 1-K^+ , 2-Cl^- , no ramo ascendente espesso da alça de Henle, furosemida (20 mg/kg, sc) a fim de induzir hiponatremia e depleção de volume, pois esse fármaco determina uma grande diurese e natriurese. Administração deste fármaco foi seguida de privação hídrica por um período de 24 horas e dieta carente em sódio, com acesso apenas a fubá. A execução deste protocolo segue como descrito por Jalowiec, (1974); Badauê-Passos et al., (2003) e Cavalcante-Lima et al., (2005b).

Posteriormente, água e salina 0,3M (salina hipertônica, NaCl 1,8%) foram oferecidos simultaneamente em bebedouros volumétricos e foi realizada a aferição da ingestão cumulativa de água e salina hipertônica por um período de 24 horas. O protocolo experimental segue esquematizado na figura 3.

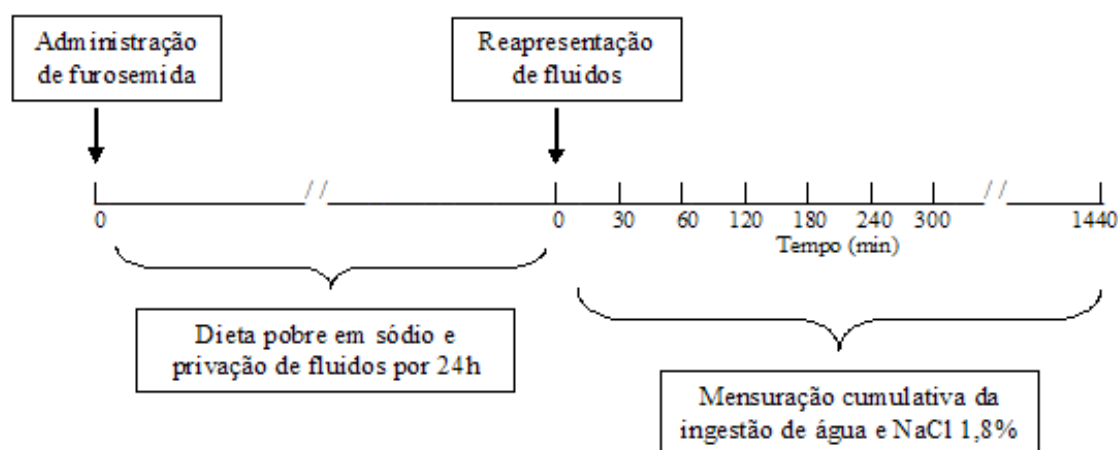


Figura 3. Escala temporal do protocolo de depleção de sódio, seguida de privação hídrica e de alimentos por 24 h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.

4.3.1.2. Privação hídrica

Animais submetidos a este protocolo experimental sofreram privação hídrica por um período de 24 horas. Posteriormente, água e NaCl 0,3M foram oferecidos simultaneamente em bebedouros volumétricos e foi realizada a aferição da ingestão cumulativa de água e salina hipertônica por um período de 24 horas. Este modelo leva o animal a uma condição de desidratação que resulta em redução do volume e aumento da osmolalidade dos líquidos corporais. Assim, além de alterar o balanço hídrico, afeta também o balanço de eletrólitos. Nesse sentido, a desidratação pode levar à deficiência

de sódio. Esse protocolo segue como descrito por Weisinger et al., (1985) e De Luca Jr et al., (2002). O modelo experimental segue esquematizado na figura 4.

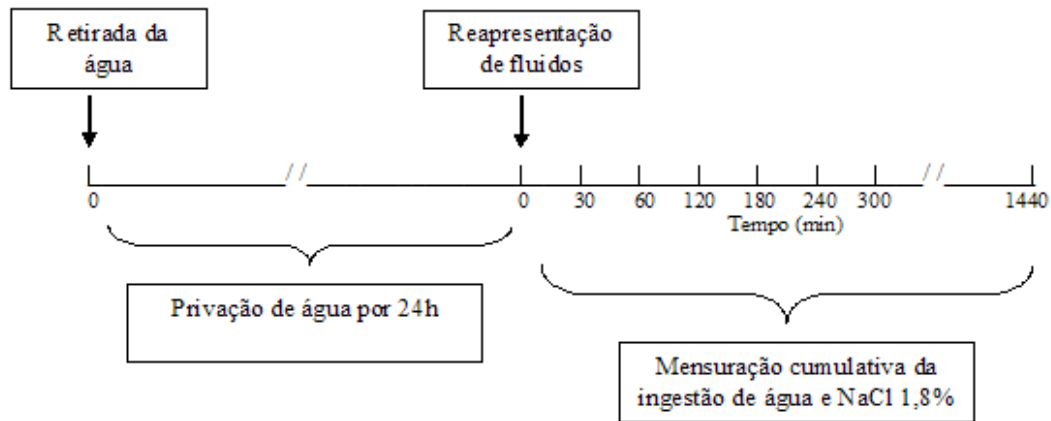


Figura 4. Escala temporal do protocolo de privação hídrica por 24h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.

4.3.1.3. Privação de água, sódio e alimentos

Animais submetidos à privação de fluidos e alimentos, foram submetidos a privação hídrica e de alimentos por um período de 24 horas. Posteriormente, água e NaCl 0,3M foram oferecidos simultaneamente em bebedouros volumétricos e foi realizada a aferição da ingestão cumulativa de água e salina hipertônica por um período de 24 horas. O protocolo experimental segue esquematizado na figura 5.

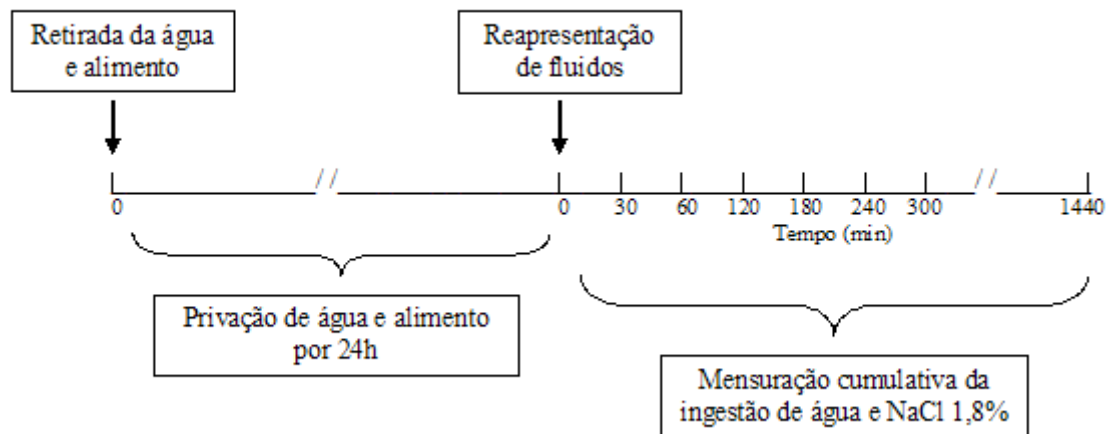


Figura 5. Escala temporal do protocolo de privação hídrica e de alimentos por 24h, com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 1,8%.

4.3.1.4. Estímulo osmótico

Com o objetivo de avaliar a ingestão de água, os animais receberam administração subcutânea de solução salina hipertônica (NaCl 2M, 2mL/kg, sc) a fim de induzir uma hipertonicidade plasmática. Posteriormente, foi oferecida água (a qual não tinha a presença do fármaco, e foi realizada a aferição da ingestão de água até as 24 horas posteriores. O protocolo experimental segue esquematizado na figura 6.

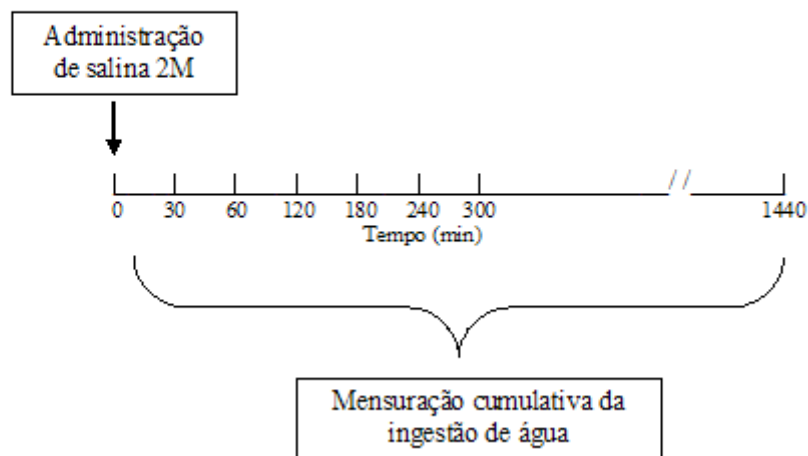


Figura 6. Escala temporal do protocolo de estímulo osmótico com salina 2M com posterior aferição da ingestão cumulativa de água e salina 0,3M.

4.3.1.5. Aferição da ingestão de água e/ou salina hipertônica

A aferição da ingestão cumulativa de água e NaCl 0,3M (salina hipertônica, NaCl 1,8%) foi realizada em gaiolas metabólicas dotadas de bebedouros volumétricos. A ingestão de fluidos foi expressa em mL. A leitura foi realizada aos 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 1440 minutos após a apresentação de água e/ou salina hipertônica.

4.3.1.6. Avaliação dos níveis do hematócrito

A cada dia 7 dias após o início do tratamento, durante 1 mês, os animais eram submetidos à coleta de sangue. O sangue era coletado diretamente da veia femoral por capilaridade através de tubo de micro-hematócrito heparinizados. Esses tubos foram submetidos ao fechamento, centrifugação e posterior análise como descrita por Jaim (1986).

4.3.1.7. Avaliação dos níveis de densidade urinária

A urina era coletada individualmente, e logo após a sua coleta era submetida à análise de seu nível de densidade para evitar qualquer contaminação da mesma. A avaliação da densidade urinária foi determinada por método refractométrico, através de um refratômetro clínico, previamente calibrado com água destilada. A cada análise ele era submetido à nova calibração.

4.3.1.8. Avaliação dos níveis plasmáticos do Hormônio Antidiurético e Ocitocina

Após o período de administração da droga, os animais de ambos os grupos foram decapitados. O sangue foi coletado a partir do tronco cervical em tubos heparinizados refrigerados. Depois de colhidas as amostras de sangue, tais foram centrifugadas a 4 ° C, 3000 rpm por 20 min e o plasma foi armazenado a -70 ° C para determinação dos níveis de ADH e OT.

Os níveis plasmáticos de OT e ADH foram dosados por meio de técnica específica de radioimunoensaio. Após prévia extração do plasma utilizando-se acetona e éter de petróleo. As taxas de recuperação foram superiores a 87%. Essa análise foi realizada seguindo o modelo de Elias et al., (1997) e Ventura et al., 2005.

4.3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

4.3.2.1. Grupo 1 - Efeitos da administração crônica de 8-OH-DPAT, sobre a ingestão de água e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

Os animais foram divididos em grupo tratado com 8-OH-DAPT e grupo controle, ambos com N=9. O 8-OH-DPAT foi administrado por via intraperitoneal (ip) na dose de 500µg/kg, durante 21 dias. Aos animais do grupo controle foi administrada solução de salina isotônica (1mL/kg, ip).

No décimo quarto dia de tratamento, os animais do grupo tratado com 8-OH-DPAT, foram submetidos ao protocolo experimental de depleção de volume. Porém não houve interrupção do tratamento com 8-OH-DAPT, e no vigésimo primeiro dia de tratamento, os animais de ambos os grupos foram novamente submetidos a este protocolo experimental (Figura 7).

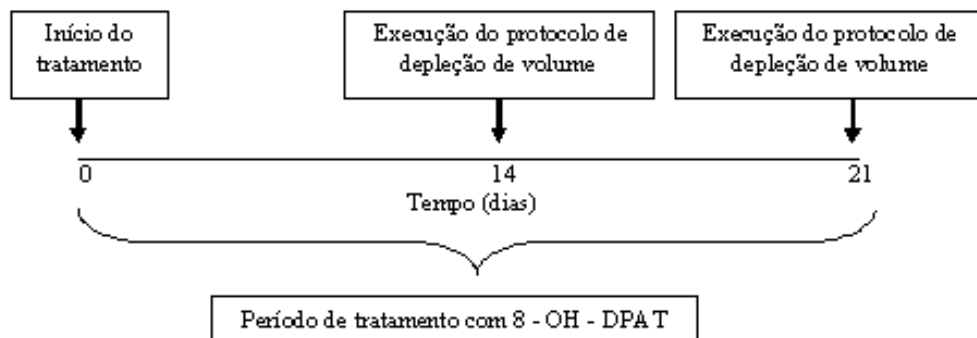


Figura 7. Escala temporal do grupo 1, demonstrando seu período de tratamento com 8-OH - DPAT, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de depleção de volume.

4.3.2.2. Grupo 2 - Efeitos da administração crônica de Fenfluramina sobre a ingestão de água e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

Os animais foram divididos em dois grupos, tratado com FEN e controle, ambos com N=9. A FEN, foi administrada na dose de 1 mg/kg, ip, durante 21 dias. Os animais do grupo controle receberam administração de solução salina isotônica (1 mL/kg, ip).

No décimo quarto dia de tratamento, os animais do grupo tratado com FEN, foram submetidos ao protocolo experimental de depleção de volume. Porém não houve interrupção do tratamento com FEN, e no vigésimo primeiro dia de tratamento, os animais de ambos os grupos foram novamente submetidos a este protocolo experimental (Figura 8).

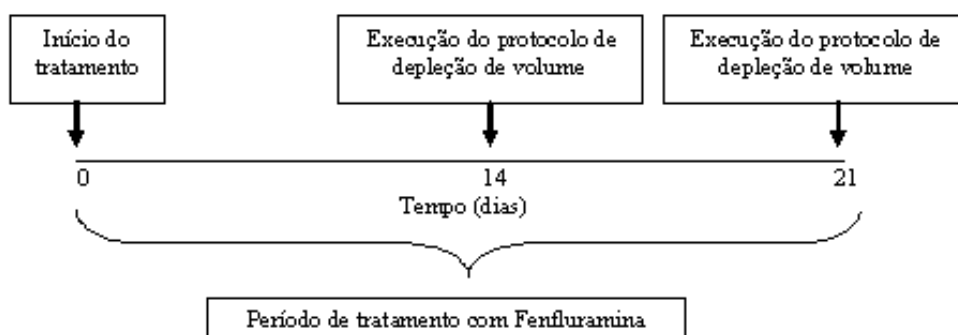


Figura 8. Escala temporal do grupo 2, demonstrando seu período de tratamento com fenfluramina, e quando os animais foram submetidos à execução dos protocolos experimentais de depleção de volume.

4.3.2.3. Grupo 3 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

Os animais foram divididos em grupo tratado com SERT e grupo controle, ambos com N=9. A sertralina, foi administrada por via oral, na água de beber, na concentração de 180 mg/L, durante 21 dias. Aos animais do grupo controle foi oferecida água sem a presença da droga.

Após o período de administração da droga, os animais do grupo de tratado e seu respectivo grupo controle, foram submetidos ao protocolo experimental de depleção de sódio (Figura 9).



Figura 9. Escala temporal do grupo 3, demonstrando seu período de tratamento com Sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de depleção de volume.

4.3.2.4. Grupo 4 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação de hídrica.

Os animais foram divididos em dois grupos, tratado com SERT e controle, ambos com N=9. A sertralina foi administrada por via oral na concentração de 180 mg/L, durante 32 dias. Aos animais do grupo controle, foi oferecida água sem a presença do fármaco.

Passados 22 dias, os animais do grupo de tratamento e seu respectivo grupo controle, foram submetidos ao protocolo experimental de privação hídrica. Posteriormente a execução deste protocolo, o tratamento com SERT foi continuado e bebedouros com água e salina 0,3M foram oferecidos. No sexto dia após a execução do protocolo de privação hídrica por 24 horas, o tratamento com SERT foi interrompido. Sendo a ingestão de água e salina 0,3M aferida pelos 9 dias subseqüentes (Figura 10).

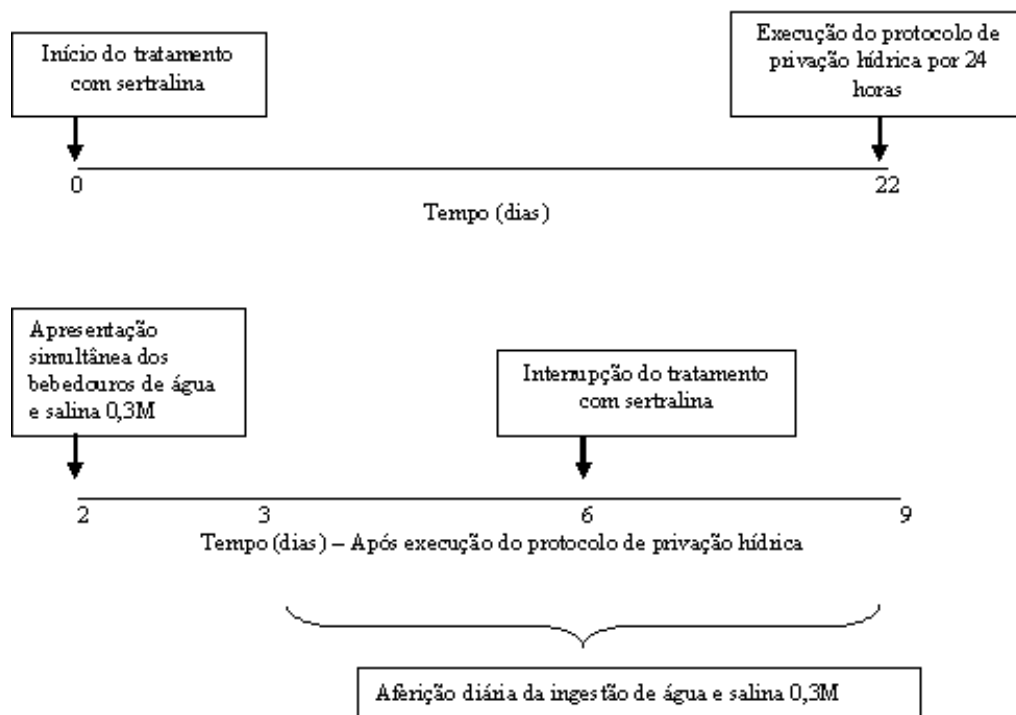


Figura 10. Escala temporal do grupo 4, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de privação hídrica, e a interrupção do tratamento com sertralina.

4.3.2.5. Grupo 5 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação de hídrica e de alimentos.

Os animais foram divididos em grupo tratado com sertralina e grupo controle, ambos com N=9. O SSRI, foi administrado por via oral na concentração de 180 mg/L, durante 21 dias.

Após o período de administração da droga, os animais do grupo de tratado e seu respectivo grupo controle, foram submetidos ao protocolo experimental de privação hídrica e de alimentos (Figura 11).

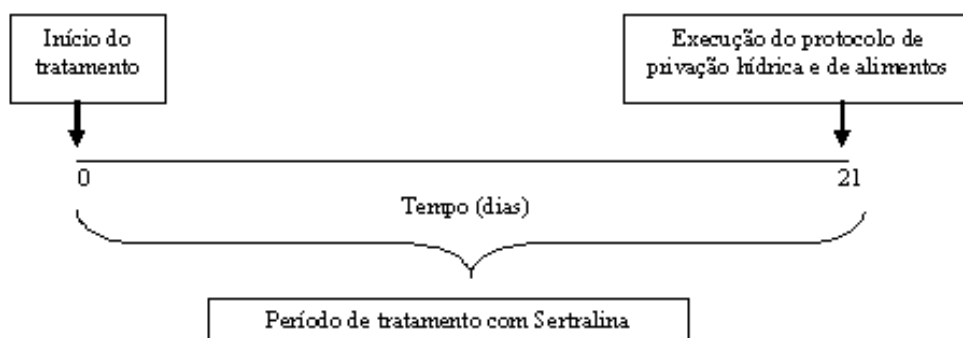


Figura 11. Escala temporal do grupo 5, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos a execução do protocolo experimental de privação hídrica e de alimentos.

4.3.2.6. Grupo 6 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos ao estímulo osmótico.

Os animais foram divididos em grupo tratado com sertralina e grupo controle, ambos com N=9. O SSRI, foi administrado por via oral na concentração de 180 mg/L, durante 21 dias.

Após o período de administração da droga, os animais do grupo de tratado e seu respectivo grupo controle, foram submetidos ao protocolo experimental de estímulo osmótico.



Figura 12. Escala temporal do grupo 6, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo experimental de estímulo osmótico.

4.3.2.7. Grupo 7 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre o hematócrito e a densidade urinária em ratos.

Os animais foram divididos em dois grupos, tratado com sertralina e grupo controle, ambos com N=9. O SSRI, foi administrado por via oral na concentração de 180 mg/L, durante 30 dias.

Durante este período de tratamento, semanalmente os animais de ambos os grupos eram submetidos à avaliação dos seus níveis de hematócrito. E na primeira e na última semana de tratamento houve aferição da densidade urinária dos animais de ambos os grupos (Figura 13).

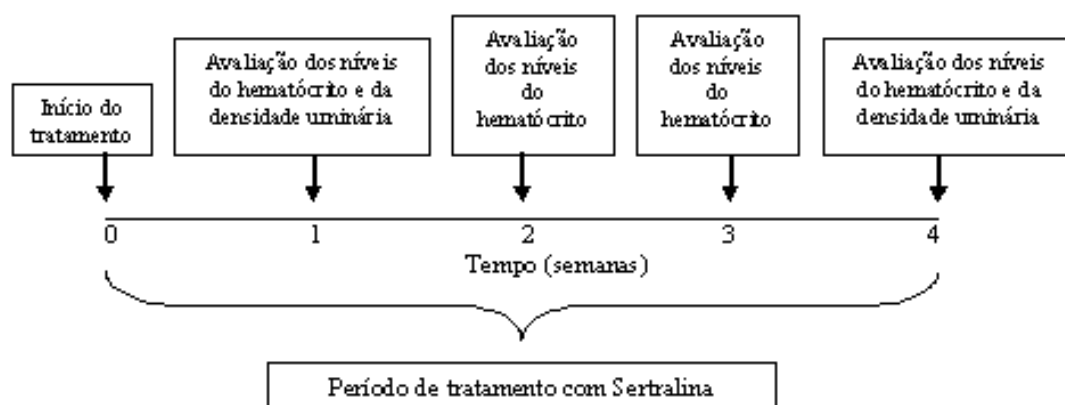


Figura 13. Escala temporal do grupo 7, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à avaliação dos níveis do hematócrito e da densidade urinária.

4.3.2.8. Grupo 8 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre os níveis plasmáticos de ADH e OT.

Os animais foram divididos em grupo tratado com sertralina e grupo controle, ambos com N=9. O SSRI, foi administrado por via oral na concentração de 180 mg/L, durante 21 dias.

Ao final do período de tratamento foi realizada a determinação radioimunológica dos níveis plasmáticos de ADH e OT pela técnica de radioimunoensaio (Figura 14), no Laboratório de Neuroendocrinologia Básica e Aplicada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

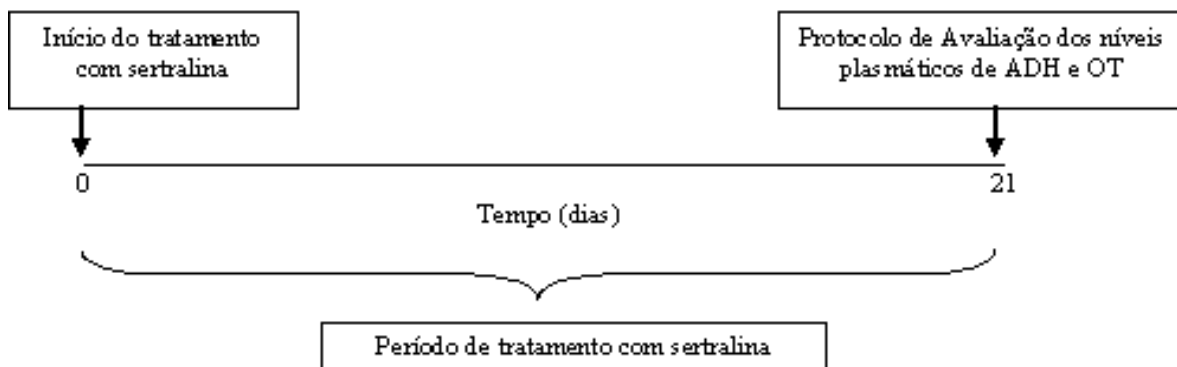


Figura 14. Escala temporal do grupo 8, demonstrando seu período de tratamento com sertralina, e quando os animais foram submetidos à execução do protocolo de avaliação dos níveis plasmáticos de ADH e OT pela técnica de radioimunoensaio.

4.4. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente por meio de ANOVA e posteriormente pelo teste *t* de Student ou Newman-Keuls. Os valores médios dos volumes de fluidos ingeridos assim como os demais resultados, foram comparados nos diferentes tratamentos e condições experimentais, com o nível de significância estabelecido em 5%.

As diferenças nos níveis plasmáticos de AVP, OT, dados hematológicos e densidade urinária, foram determinadas pelo teste *t* de Student.

Os cálculos foram realizados utilizando-se o programa informacional GraphPad Prism (versão 4.0, EUA). Os valores foram representados como média \pm erro padrão da média.

5. RESULTADOS

5.1. Grupo 1 - Efeitos da administração crônica de 8-OH-DAPT, sobre a ingestão de água e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

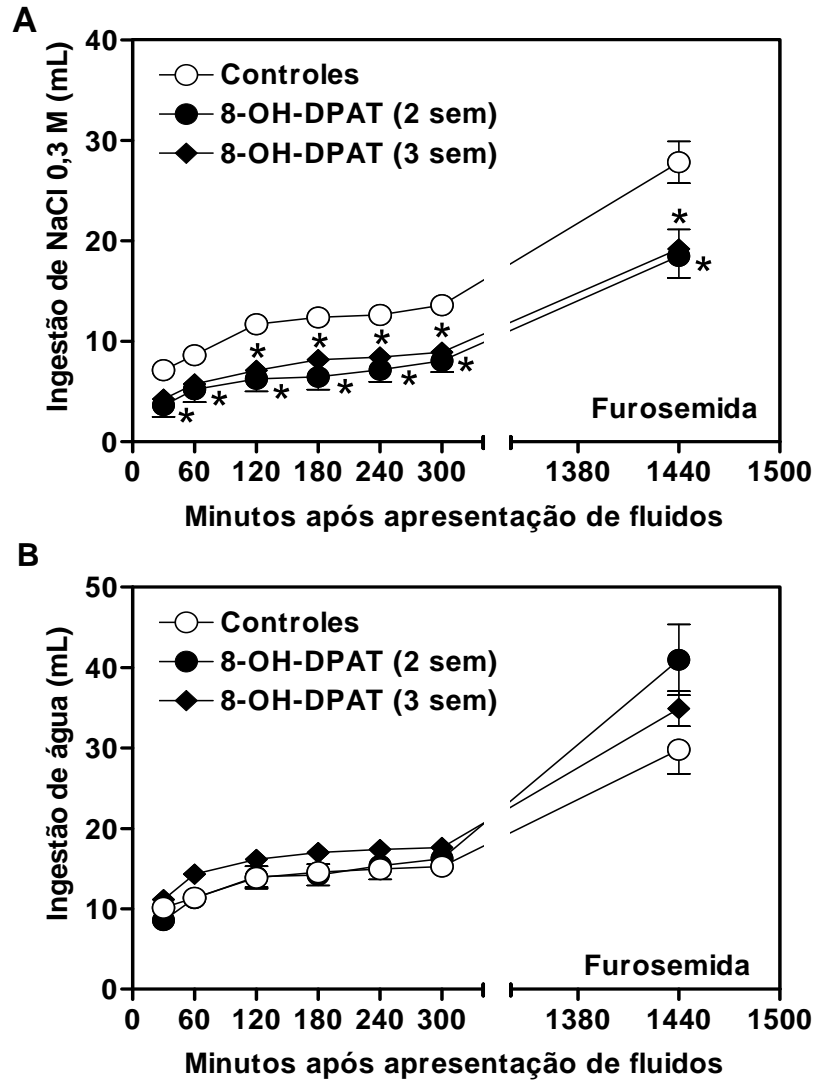


Figura 15. Ingestão cumulativa de NaCl 0,3M (gráfico A) e de água (gráfico B) após a apresentação de fluidos, em ratos tratados cronicamente com 8-OH-DAPT e depletados de volume, comparando-os com os controles. *P<0,05.

A figura 15 mostra que os ratos tratados cronicamente com 8-OH-DAPT submetidos à depleção de volume, reduziram a ingestão de NaCl 0,3M apresentando na segunda semana uma ingestão $6,3 \pm 1,2$ mL e na terceira semana $7,1 \pm 0,4$ mL comparativamente aos controles que apresentaram $11,7 \pm 0,9$ mL aos 120 minutos tendo $P < 0,05$ (Figura 15A), não tendo havido alteração em ambos os grupos na ingestão de água (Figura 15B).

Assim, pode-se notar que o grupo 8-OH-DAPT, reduziu a ingestão de salina hipertônica na segunda e na terceira semana quando comparado aos controles, em quase

todo o período de aferição da ingestão cumulativa de água e salina hipertônica, tendo $P < 0,05$ (Figura 15A).

5.2. Grupo 2 - Efeitos da administração crônica de Fenfluramina, sobre a ingestão de água e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

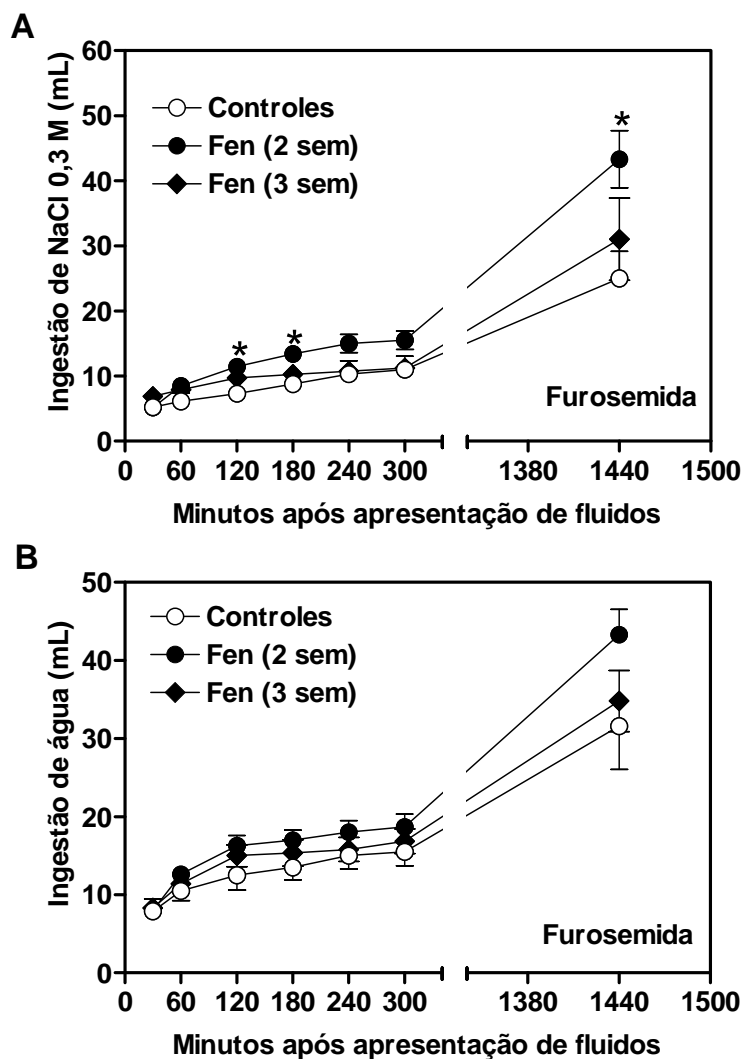


Figura 16. Ingestão cumulativa de NaCl 0,3M (gráfico A) e de água (gráfico B) após a apresentação de fluidos, em ratos tratados cronicamente com FEN e submetidos à depleção de volume, comparando-os com os controles. * $P < 0,05$.

A figura 16 mostra que ratos tratados cronicamente com FEN aumentaram a ingestão de solução salina hipertônica (NaCl 0,3M), apresentando na segunda semana ingestão de $43,3 \pm 4,4$ mL e na terceira semana $31,0 \pm 6,31$ mL, enquanto os controles apresentaram ingestão de $25 \pm 4,1$ mL ao final de 24 horas (Figura 16A), tendo $P < 0,05$, sem alteração na ingestão hídrica (Figura 16B).

Apesar de na segunda semana os animais do grupo FEN terem aumentado os níveis ingestão de salina hipertônica, $43,3 \pm 4,4$ mL, quando comparada aos controles, $25 \pm 4,1$ mL, ao final de 1440 minutos ($P < 0,05$) (Figura 16A) na terceira semana houve

uma diminuição do consumo da mesma $31,0 \pm 6,31\text{mL}$, desta forma, apesar de ainda ser elevada quando comparada ao controle, $25 \pm 4,1\text{mL}$, não houve diferença significativa entre eles aos 1440 minutos.

5.3. Grupo 3 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à depleção de sódio.

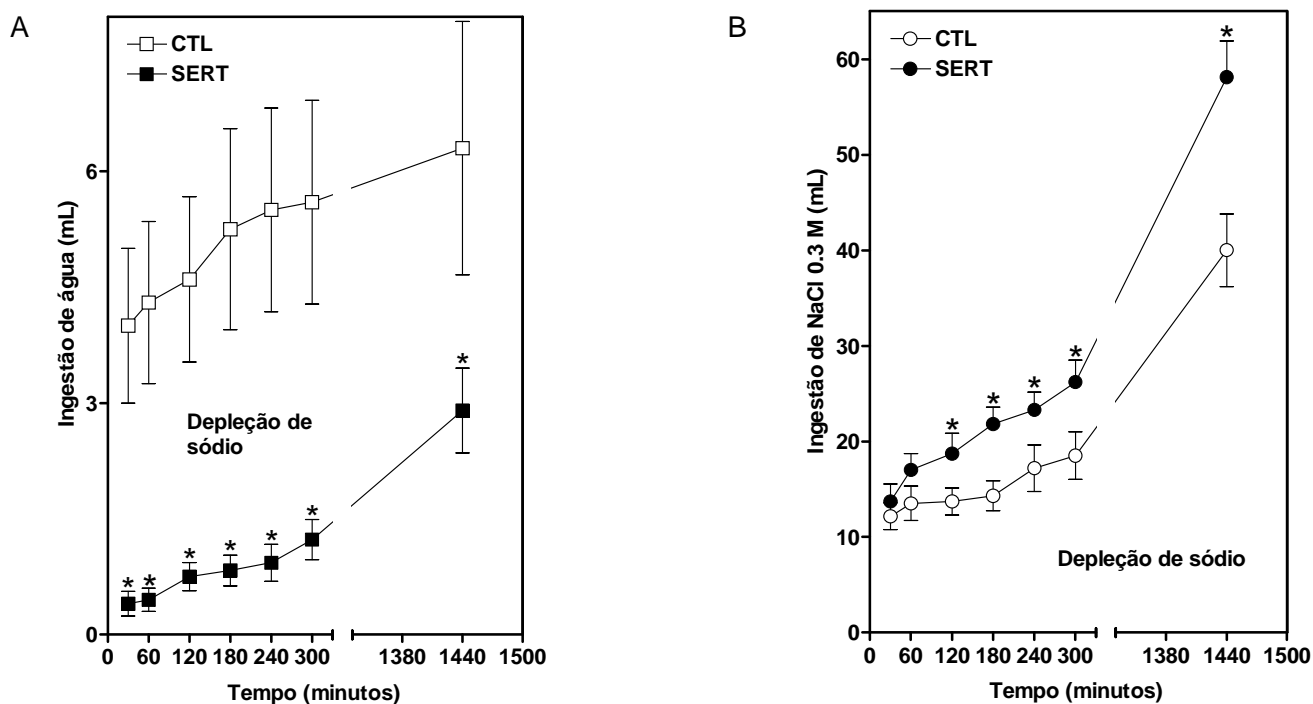


Figura 17. Ingestão cumulativa de água (gráfico A) e de NaCl 0,3 M (gráfico B) em ratos depletados de volume e tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controle, *P<0,05.

A depleção de sódio evocou uma resposta natriorexigênica maior no grupo SERT quando comparada ao controle. Ratos tratados cronicamente com SERT submetidos à depleção de volume obtiveram uma maior ingestão de salina hipertônica, $26,6 \pm 2,3\text{ mL}$, quando comparada a do grupo controle $18,5 \pm 2,5\text{ mL}$ aos 300 min (Figura 17B), e em todo o período de aferição da ingestão de água e salina hipertônica, tendo $P<0,05$.

Além disso, os animais do grupo SERT ingeriram uma menor quantidade de água quando comparados ao controle em todo o período de análise (Figura 17A), tendo $P<0,05$.

5.4. Grupo 4 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação hídrica.

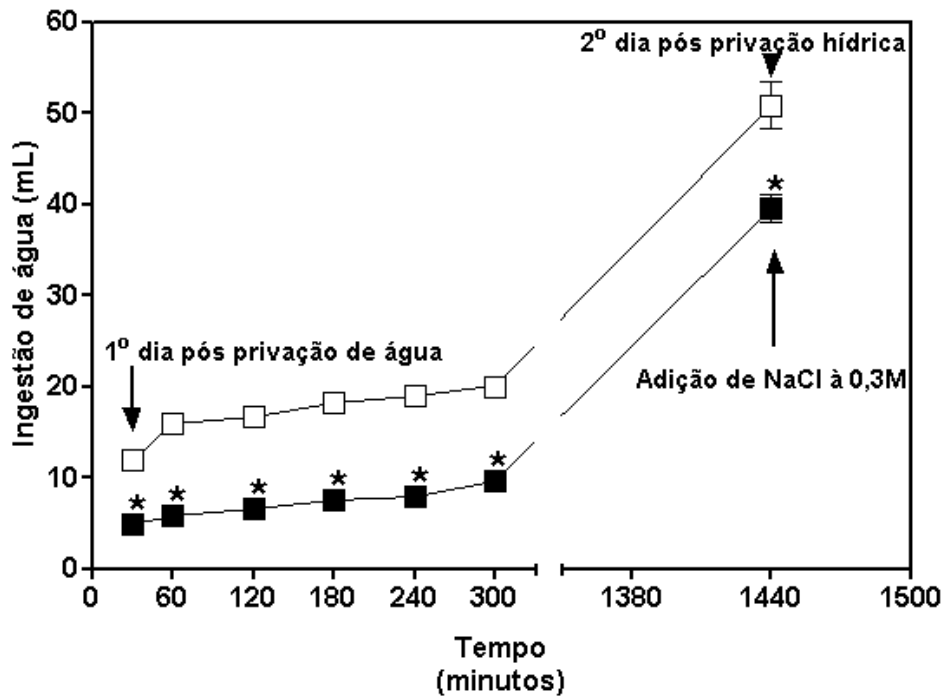


Figura 18. Ingestão cumulativa de água (mL) após privação hídrica de 24h em ratos tratados cronicamente com setralina, comparando-os com os controles, *P<0,05.

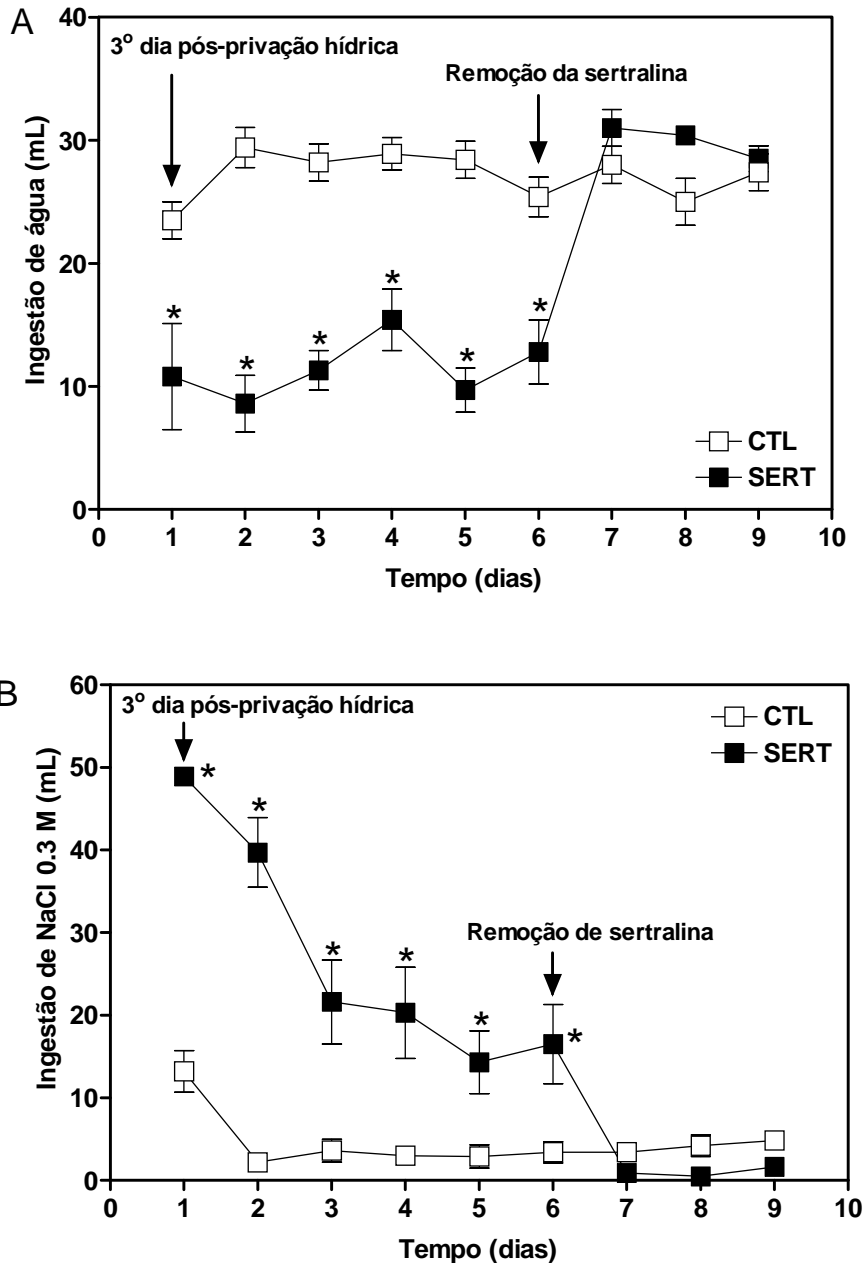


Figura 19. Ingestão de água (mL) a partir do segundo dia pós-privação hídrica (gráfico A) e Ingestão de NaCl 0,3M (mL) a partir do segundo dia pós-privação hídrica (gráfico B) em ratos tratados cronicamente com setralina, comparando-os com os controles, *P<0,05.

A privação de água em ratos do grupo SERT evocou ingestão de água muito inferior, $9,7 \pm 0,5$ mL, em relação ao grupo controle $20,0 \pm 0,9$ mL, aos 300 min (Figura 18), e em todo o período de aferição da ingestão cumulativa de água, tendo *P<0,05. Porém, no terceiro dia pós-privação hídrica (agora com apresentação simultânea de água e NaCl 0,3M) a ingestão de salina foi muito maior no grupo SERT, $48,9 \pm 0,7$ mL, quando comparado ao grupo controle $13,2 \pm 2,5$ mL, aos 300 min (Figura 19B) e foi decaindo até o sexto dia mas, ainda acima dos níveis do grupo controle. A remoção da SERT provocou uma redução da ingestão de salina $12,8 \pm 2,6$ mL para níveis inferiores

aos do grupo controle $25,4 \pm 1,5$ mL, aos 300 min (Figura 19B). Concomitantemente, a ingestão de água no grupo SERT $12,8 \pm 2,6$ mL foi significativamente menor que a do grupo controle $25,4 \pm 1,5$ mL, no sexto dia (Figura 19A). Todavia, com a remoção da SERT a resposta dipsogênica equiparou-se aos níveis do grupo controle (Figura 19A).

5.5. Grupo 5 - Efeitos da administração crônica de sertralina sobre a sede e o apetite ao sódio em ratos submetidos à privação de fluidos e alimentos.

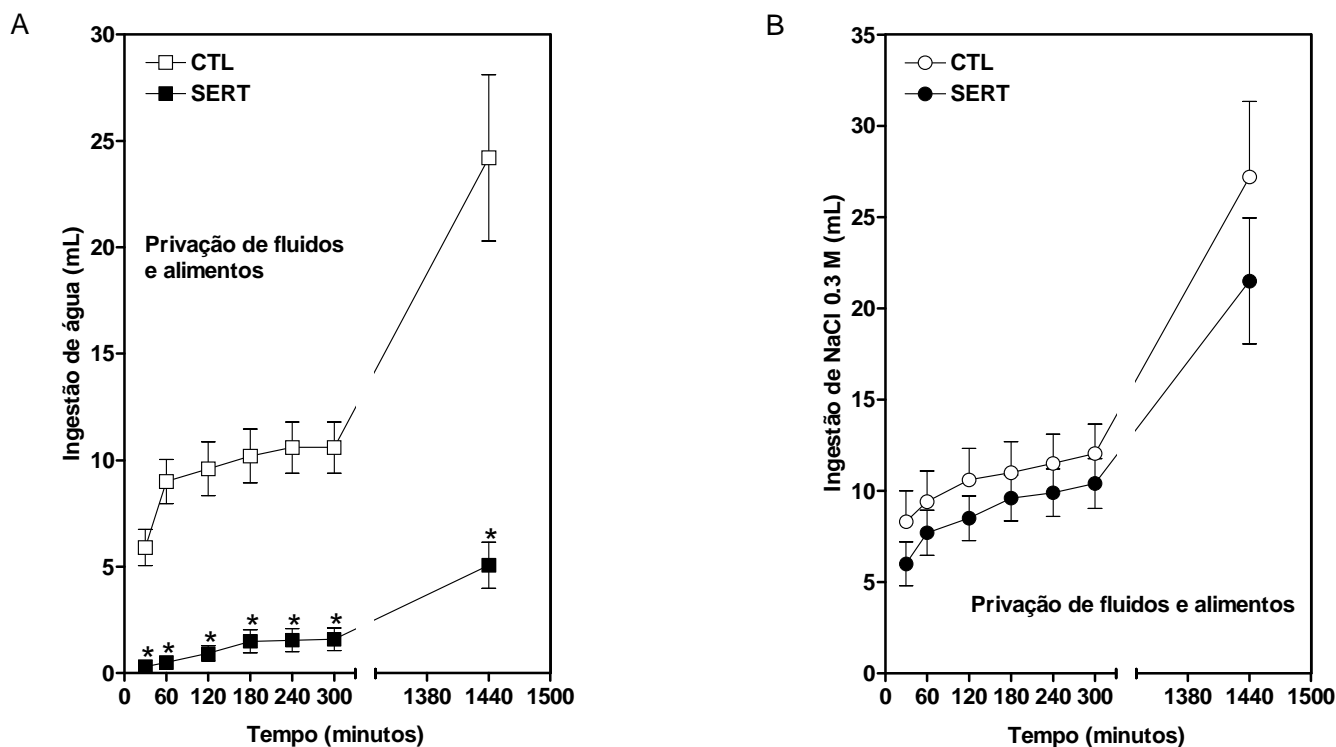


Figura 20. Ingestão cumulativa de água (gráfico A) e de NaCl 0,3 M (gráfico B) após privação de fluidos e alimentos em tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controle, *P< 0,05.

A privação de fluidos e alimentos igualmente induziu a uma resposta dipsiogênica muito menor no grupo SERT $1,6 \pm 0,5$ mL do que a do grupo controle $10,2 \pm 1,2$ mL, aos 300 min (Figura 20A), e em todo o período de aferição de ingestão de água e salina hipertônica, sem diferença na ingestão de NaCl 0,3M (Figura 20B)

5.6. Grupo 6 - Efeitos da administração crônica de Sertralina, inibidor da recaptação pré-sináptica de serotonina, sobre a sede em ratos submetidos a estímulo osmótico.

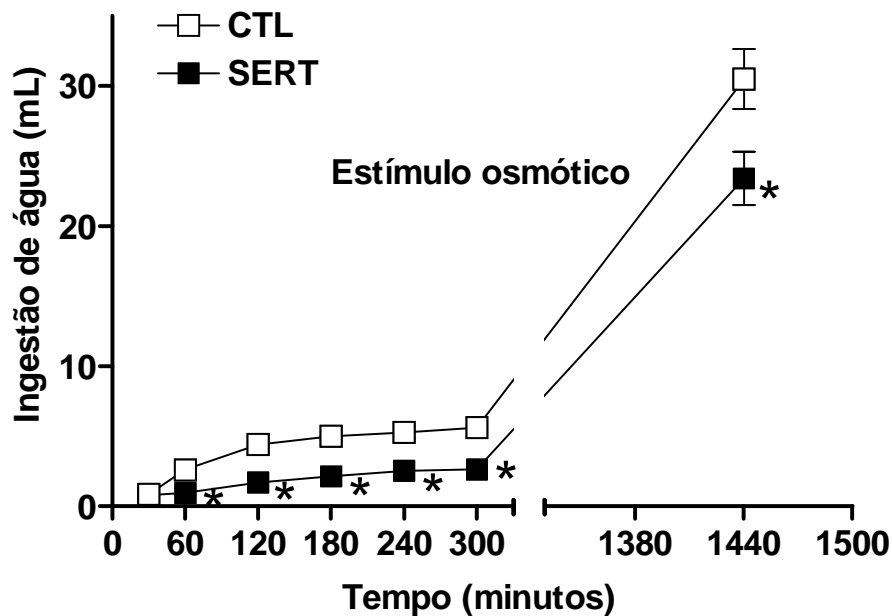


Figura 21. Ingestão cumulativa de água após 24h da administração de NaCl 2M em tratados cronicamente com sertralina, comparando-os com os controles, *P<0,05.

A estimulação osmótica com salina hipertônica (2M) evocou uma resposta dipsiogênica significativamente menor no grupo SERT $2,6 \pm 0,7$ mL quando comparada aos controles $5,6 \pm 0,45$ mL, aos 300 min (Figura 21), e em todo o período de aferição da ingestão de água, tendo $P < 0,05$.

5.7. Grupo 7 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre os níveis de hematócrito.

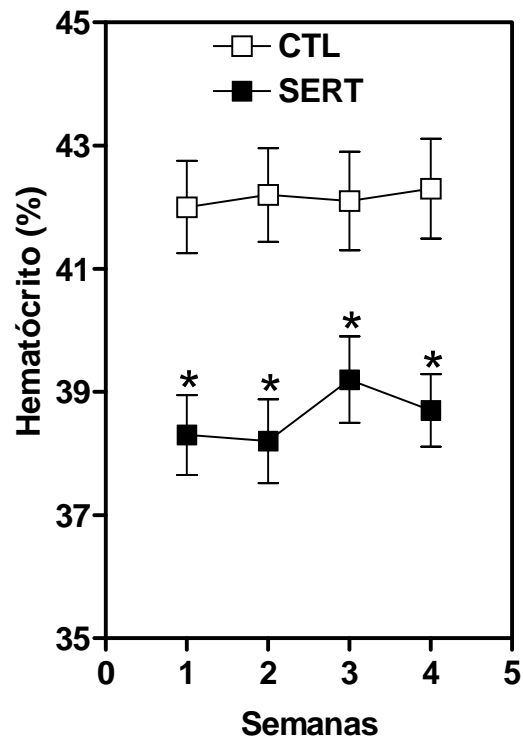


Figura 22. Avaliação do hematócrito (%) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controles, * $P < 0,05$.

Com relação aos valores do hematócrito, o do grupo tratado cronicamente com SERT se manteve sempre abaixo do nível do controle, quando comparados (Figura 22), tendo * $P < 0,05$.

5.8. Grupo 7 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre os níveis de densidade urinária.

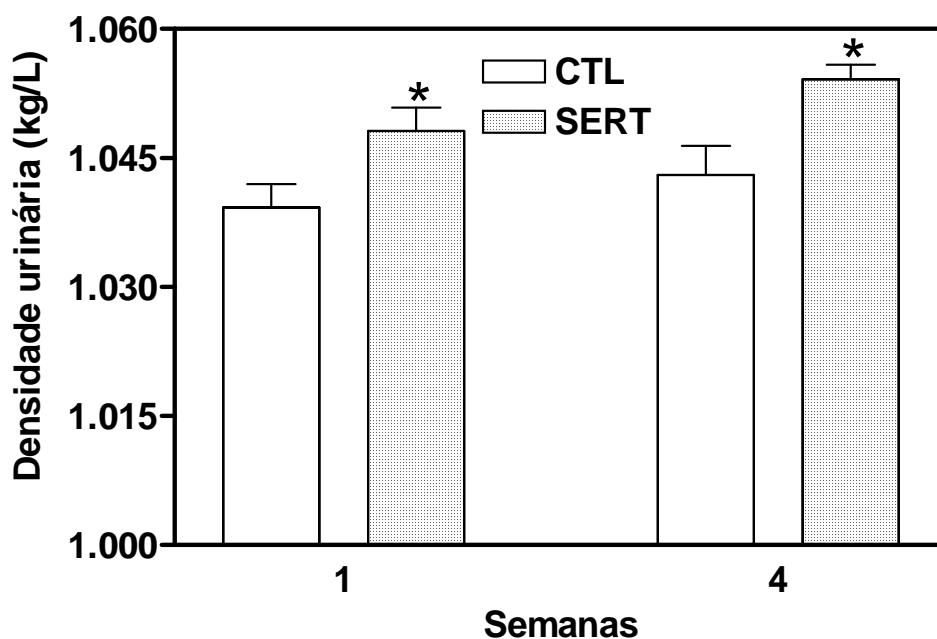


Figura 23. Avaliação da densidade urinária (kg/L) em semanas, em ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.

A densidade urinária dos ratos tratados cronicamente com SERT foi sempre superior ($P < 0,05$) a do grupo controle, tanto na primeira semana de tratamento, quanto na quarta semana de tratamento (Figura 23), apresentando diferença significativa entre os grupos.

5.9. Grupo 8 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre os níveis plasmáticos de ADH.

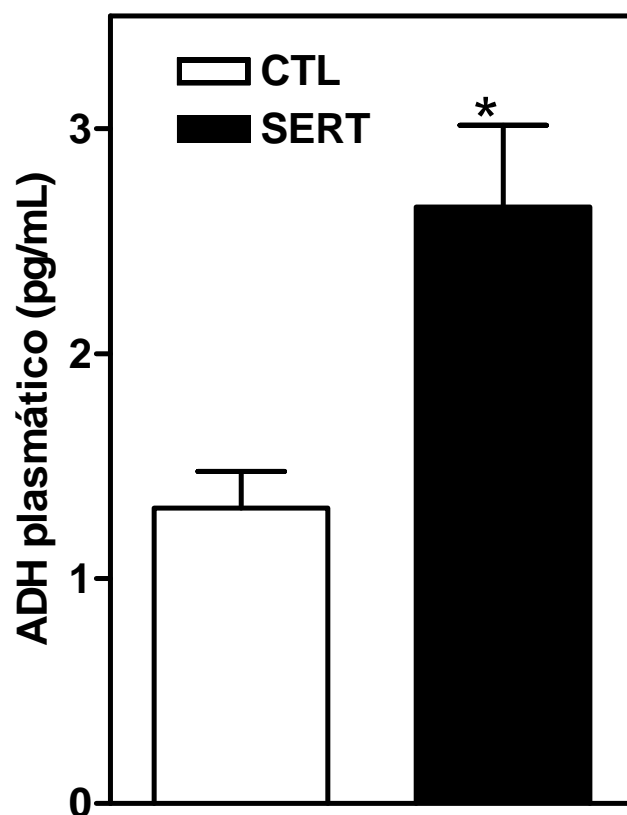


Figura 24. Avaliação dos níveis plasmáticos de ADH (pg/mL) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.

Com relação aos níveis plasmáticos do hormônio antidiurético, estes se mantiveram mais elevados no grupo tratado cronicamente com SERT, $2,36 \pm 0,3$ pg/mL, do que no grupo controle $1,3 \pm 0,16$ pg/mL, $P<0,05$ (Figura 24).

5.10. Grupo 8 - Efeitos da administração crônica de sertralina, sobre os níveis de OT plasmática.

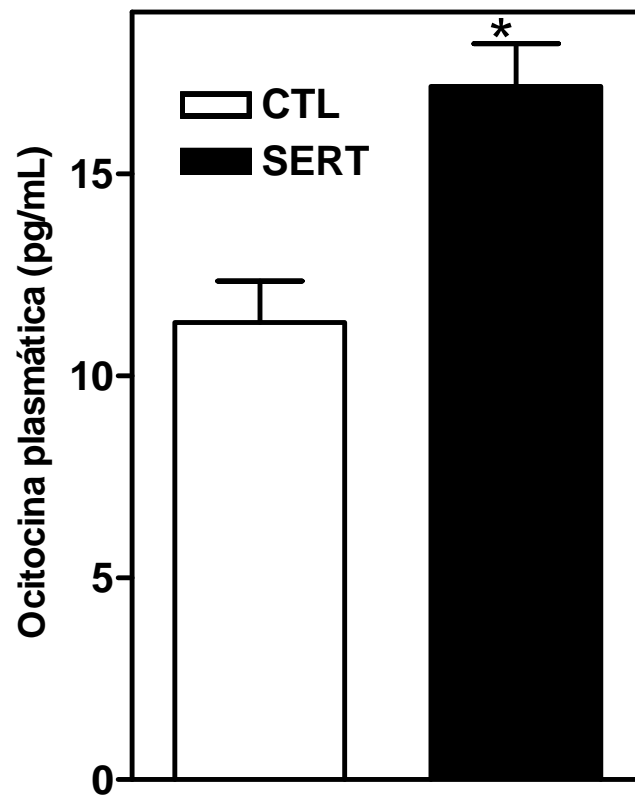


Figura 25. Avaliação dos níveis plasmáticos de ocitocina (pg/mL) de ratos tratados cronicamente com SERT comparando-os com os controle, *P<0,05.

Os níveis plasmáticos de ocitocina nos animais tratados cronicamente com SERT, se mantiveram mais elevados do que no grupo controle, P<0,05 (Figura 25).

6. DISCUSSÃO

6.1. EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE FENFLURAMINA, SOBRE A SEDE E O APETITE AO SÓDIO EM RATOS

Com relação ao tratamento crônico com FEN e posterior depleção de volume, pode-se observar que o grupo tratado apresentou na segunda semana um aumento nos níveis de ingestão de NaCl 0,3M quanto comparado ao controle. Na terceira semana, entretanto, pode-se observar que os animais apresentaram uma redução no consumo de salina hipertônica, sem diferença significativa do grupo controle. Em ambos os grupos não houve alteração na ingestão de água.

Tais dados divergem quando se realiza tratamento agudo. Animais eutireóides tratados agudamente com FEN e submetidos à depleção de volume e a privação hídrica, reduzem o consumo de salina hipertônica, quando comparado aos controles (BADAUÊ-PASSOS et al., 2003). De modo similar, a administração de FEN em ratos hipotiróides, reduz a ingestão de salina hipertônica em animais submetidos à mesma condição experimental. Em outro estudo realizado com dexfenfluramina, um derivado anfetamínico que possui o mesmo modo de ação da FEN, houve redução na ingestão de salina hipertônica. A dexfenfluramina reduziu de 75% para 90% a ingestão de salina hipertônica induzida pela depleção de sódio, e pelo consumo espontâneo. Não tendo ocorrido alteração na ingestão de água. Esses dados confirmam o envolvimento do sistema serotoninérgico sobre o apetite ao sódio, e estendem o envolvimento dessas drogas a partir de condições de depleção de sódio e livre necessidade (consumo espontâneo) (ROUAH-ROSILIO et al., 1994).

Provavelmente esse aumento dos níveis de ingestão de salina hipertônica, com posterior diminuição, se deve a uma depleção central transitória desta indolamina.

Diversos derivados anfetamínicos podem causar toxicidade, apesar de diferirem totalmente do grupo das neurotoxinas serotoninérgicas. O tratamento com essas neurotoxinas leva a uma menor liberação de 5-HT em áreas prosencefálicas que recebem inervação serotoninérgica.

As anfetaminas incluem os compostos halogenados, para-cloro-anfetamina (PCA) e fenfluramina, bem como drogas como metanfetamina, 3,4-metileno-di-oxi-anfetamina (MDA), e 3,4-metileno-di-oxi-metanfetamina (MDMA). Todas essas drogas possuem pelo menos algum grau de atividade na liberação de 5-HT, porém a MDA e a MDMA exercem um complexo espectro de ações comportamentais. Em altas doses, são alucinógenos, porém em baixas doses, induzem um estado subjetivo de bem-estar (LIESTER et al., 1992). O uso terapêutico do MDA e MDMA têm sido desencorajado não só devido ao seu potencial de neurotoxicidade, mas devido ao seu elevado potencial de abuso.

A neurotoxicidade serotoninérgica do MDA, MDMA e PCA têm sido demonstrada através de métodos bioquímicos (GIBB et al., 1990; INSEL et al., 1989) e histológicos (MOLLIVER et al., 1990). Apesar disto, as provas de neurotoxicidade para fenfluramina são controversas.

Estudos sugerem que em tratamento crônico com FEN há uma redução nas concentrações de 5-HT no prosencéfalo em fibras imunoreativas para 5-HT (ZACZEK et al., 1990; RICAURTE et al., 1991; ROWLAND et al., 1993; McCANN et al., 1994). Porém ainda é desconhecido se esses achados indicam danos reais aos neurônios serotoninérgicos ou uma depleção de longa duração de 5-HT sem danos estruturais.

Levando em consideração que estudos em nosso laboratório evidenciaram a participação do sistema serotoninérgico na modulação do apetite ao sódio (BADAUÊ PASSOS et al., 2003; OLIVARES et al., 2003; LIMA et al., 2004; CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a,b; CEDRAZ-MERCEZ et al., 2007; REIS, 2007) pode-se supor que neste caso, devido à diminuição da neurotransmissão serotoninérgica, houve um aumento do apetite ao sódio.

Dados obtidos com a depleção de serotonina cerebral, através da administração de para-clorofenilalanina (LIMA et al., 2004) e de lesões excitotóxicas e eletrolíticas do DRN com o ácido ibotênico (OLIVARES et al., 2003; CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a,b), confirmam estas observações, já que demonstraram um intenso apetite ao sódio em animais com déficit de neurotransmissão serotoninérgica.

Desta forma, pode-se avaliar que provavelmente ocorreu uma depleção cerebral da indolamina referida, com conseqüente déficit na neurotransmissão serotoninérgica, o que levou ao aumento do apetite ao sódio observado na segunda semana. Dados obtidos na terceira semana sugerem que a depleção serotoninérgica foi transitória, visto que os valores de ingestão de salina foram reduzidos em relação aos da segunda semana, mas sem apresentar diferenças significativas em relação ao grupo controle.

Embora ainda não se tenha obtido nenhuma confirmação, os resultados obtidos na segunda e terceira semana sugerem que houve uma depleção cerebral transitória de 5-HT, sem danos estruturais aos neurônios serotoninérgicos, o que enfraquece a possibilidade de neurotoxicidade.

6.2. EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE 8-OH-DPAT, SOBRE A SEDE E O APETITE AO SÓDIO EM RATOS

Nossos resultados demonstraram que o tratamento crônico com 8-OH-DPAT em ratos depletados de volume diminuiu os níveis de ingestão de NaCl 0,3M, tanto na segunda semana, quanto na terceira comparativamente aos controles. Não houve alteração na ingestão hídrica.

Ao contrário, em tratamento agudo em teste de duas escolhas, há um aumento desses níveis (COOPER & CICCOCIOPPO, 1993). Nesse estudo os autores realizaram uma privação hídrica de 22 horas nos animais, os quais posteriormente foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo teve livre acesso à salina 1,8% e a água em um teste de dupla escolha, por um período de 30 minutos. No segundo grupo, foram ofertados salina 0,9% e água, seguindo o mesmo modelo do primeiro. Os animais que foram testados após a administração de 8-OH-DPAT, aumentaram a ingestão de salina hipertônica e não obtiveram qualquer diferença sobre a ingestão de salina isotônica ou água.

Resultados similares foram encontrados anteriormente por Cooper et al., (1988) os quais avaliaram os efeitos do 8-OH-DAPT sobre o consumo de água e salina em diferentes concentrações (0,45% - 2,8%), em um teste de ingestão de 30 minutos, sendo observado que o agonista 5-HT_{1A}, aumentou a ingestão de duas soluções de salina hipertônica nos animais tratados, mas produziu pouco ou nenhum aumento com relação a ingestão de água, salina isotônica ou hipotônica.

Quando 8-OH-DAPT foi injetado bilateralmente no PVN do hipotálamo, obteve-se uma redução significativa da ingestão de sódio em animais depletados. Quando previamente foi realizada a administração do antagonista específico 5-HT_{1A}, pMPPF,

ocorreu um bloqueio da resposta indicando que os efeitos observados sobre o apetite ao sódio, é devido a ativação de autoreceptores 5-HT_{1A} (VILLA et al., 2007).

Caras et al., (2008) demonstraram que ratos tratados com 8-OH-DPAT de forma dose-dependente, aumentam o consumo de salina hipertônica (0,45M NaCl) em teste de única opção.

Desta forma, observou-se que quando administrados agudamente, os agonistas 5-HT_{1A}, promovem uma ação inibitória provavelmente por atuar em autoreceptores, o que tem como consequência uma diminuição da atividade serotoninérgica central (COOPER & CICCOCIOPPO, 1993) e conseqüente aumento do apetite por sódio, o que difere do tratamento crônico, onde um longo período de exposição à droga leva à dessensibilização dos autoreceptores 5-HT_{1A}.

As respostas clínicas dos agentes antidepressivos, no caso os agonistas 5-HT_{1A}, se dá através do aumento da neurotransmissão serotoninérgica, devido à dessensibilização de autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} que ocorre no tratamento crônico. Esse receptor desempenha um papel crucial nas ações terapêuticas desses agentes (ALBERT et al., 1996; RIAD et al., 2001; ALBERT & LEMONDE, 2004).

A dessensibilização de autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} é resultante do processo de internalização, o que tem como consequência o aumento da transmissão serotoninérgica e da liberação de 5-HT nas suas áreas de atuação.

Essa dessensibilização causada pela estimulação repetida dos autoreceptores 5-HT_{1A}, pode ocorrer depois de 2 a 3 semanas de tratamento (RIAD et al., 2001). Entretanto, há resultados controversos. Em um tratamento contínuo por duas semanas com agonistas 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT e com alnespirona, observou-se que somente com alnespirona ocorria dessensibilização dos autoreceptores somatodendríticos 5-HT_{1A} que controlam a liberação de 5-HT no DRN e no córtex frontal (CASANOVAS et al., 1999).

Em resumo, a maior parte dos dados disponíveis na literatura revela que a estimulação repetida por longo prazo do receptor 5HT_{1A} do DRN, leva a uma dessensibilização e internalização dos autoreceptores, o que resulta em uma redução da frequência de disparos dos neurônios 5-HT (BLIER et al., 1998; RIAD et al., 2001).

Tais informações corroboram com o fato de que a administração de uma única dose de buspirona, um agonista 5HT_{1A}, leva à diminuição significativa da síntese de 5-HT na maior parte do cérebro, ao contrário do que ocorre em tratamento crônico, o qual induz a diferenças significativas em termos de síntese de 5-HT (OKAZAWA et al., 1999).

Assié et al., (2006) demonstraram que os autoreceptores somatodendríticos 5HT_{1A}, são rapidamente dessensibilizados pela ativação crônica de agonistas de alta eficácia, mas não pela ativação crônica de um agonista parcial.

Desta forma, levando-se em consideração as evidências que correlacionam a participação do sistema serotoninérgico sobre a inibição tônica do apetite ao sódio (BADAUÊ-PASSOS et al., 2003; OLIVARES et al., 2003; LIMA et al., 2004; CAVALCANTE-LIMA et al., 2005a,b; CEDRAZ-MERCEZ et al., 2007; REIS, 2007) pode-se supor que a ação de agonistas 5-HT_{1A}, no caso 8-OH-DPAT (um agonista de alta eficácia) em autorreceptores somatodendríticos, diminui a atividade central serotoninérgica, tendendo desta forma a aumentar o apetite por sódio (COOPER & CICCOCIOPPO, 1993). Assim, em tratamento crônico, provavelmente tais receptores sofrem uma dessensibilização (tal como sugerido para a resposta antidepressiva) o que levaria a um aumento da neurotransmissão serotoninérgica, explicando assim a diminuição do apetite por sódio.

6.3. EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE SERTRALINA, SOBRE A SEDE, APETITE AO SÓDIO E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ADH E OT EM RATOS

Com os dados apresentados nota-se que a limiar da sede e do apetite por sódio foram as primeiras alterações observadas em ratos tratados cronicamente com SERT, após desafios osmóticos ou hipovolêmicos. A intolerância à ingestão hídrica em todos os paradigmas experimentais realizados pode ser sugestiva de uma aumentada retenção renal de água. Esta resposta hipodipsética também poderia ser decorrente de uma elevada atividade serotoninérgica ascendente a partir da rafe mesencefálica, concomitantemente ao aumento da atividade pós-sináptica durante o tratamento com sertralina.

O recrutamento de neurônios serotoninérgicos do NDR poderia ser responsável por essa resposta hipodipsética. Estudos anteriores demonstraram que animais tratados com microinjeções icv de agonista 5-HT_{2C}, apresentaram redução da ingestão de água induzida por estimulação colinérgica, angiotensinérgica e β-adrenérgica (REIS et al., 1990a,b, 1992). Em outro estudo, foi demonstrado que a lesão eletrolítica no NDR induz uma intensa resposta hiperdipsética em ratos com acesso livre a água (REIS et al., 1994).

Por outro lado, o aumento da densidade urinária, valores mais baixos de hematócrito e elevados níveis plasmáticos de ADH e OT associados à concomitante hiponatremia, descartam a hipótese de possível modulação serotoninérgica na resposta dipsogênica.

Os resultados deste estudo confirmam dados de outros autores (BRADLEY et al., 1996; GIRAULT et al., 1997; KIRBY & AMES, 2001; RAFAEL & TOKESHI, 2002), em que o tratamento crônico com SSRI pode levar a síndrome da secreção inadequada de ADH (SIADH) e conseqüentemente a hiponatremia.

Provavelmente a intolerância à resposta dipsogênica ocorreu devido ao estabelecimento de um limiar mais elevado para ingestão hídrica. Desta forma, uma aumentada reabsorção renal de água, confirmada pela elevada densidade urinária, suscitada por altos níveis plasmáticos de ADH, o qual é um efeito adverso dos fármacos SSRI, proporciona uma redução da tonicidade do LEC que favorece a um elevado limiar para resposta hipodipsética.

A maior resposta a ingestão de sal observada após o período de privação hídrica e depleção de volume pode ser imputada à hiponatremia, que parece ser resultado dos efeitos da SIADH em ratos tratados com SERT.

Assim, observa-se que o tratamento crônico com os SSRI pode levar a quadros graves de hiponatremia (BURKE & FANKER, 1996; BRADLEY et al., 1996; ROSNER, 2004; WIJNEN et al., 2004; SEIDERER et al., 2006) a qual é um efeito colateral causado pelo tratamento com este tipo de medicamento, e está associado com a SIADH na maioria dos casos (SPIGSET et al., 1998; KOELKEBECK et al., 2007; AGRAWAL et al., 2007). Os fármacos SSRI podem causar a SIADH por estimular direta ou indiretamente a liberação de ADH pela neurohipófise, apesar de seu mecanismo ser desconhecido (LIU et al., 1996; BELTON & THOMAS, 1999). A SIADH representa uma desordem de retenção renal de água, que é caracterizada por um estado euvolêmico, com baixa osmolalidade plasmática e uma elevada osmolalidade urinária. Várias condições são implicadas na gênese deste distúrbio osmorregulatório (PEREZ et al., 2004; CURY et al., 2006). O excesso do ADH e uma elevada ingestão

hídrica corroboram para a hiponatremia (MARAR & AMICO, 1998). A resposta hipodipsética e a elevada ingestão de salina hipertônica confirmam esses dados.

Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado que antagonista de receptores V2 de ADH pode corrigir a hiponatremia observada na SIADH e na insuficiência cardíaca congestiva (PALM et al., 2001, 2006; WONG & VERBALIS, 2001). Com base nestes resultados, o aumento da excreção de água livre obtida após o bloqueio de receptores V2 poderia atenuar em parte a redução da ingestão da água e a maior ingestão de salina hipertônica observada em ratos tratados com SERT.

Os ratos tratados com SERT consumiram elevados níveis de salina hipertônica, provavelmente devido à hiponatremia causada pela SIADH, mas com a remoção da SERT observou-se que a ingestão de água e salina hipertônica tanto dos animais controle quanto dos animais tratados passaram a não ter diferenças significativas.

A hiponatremia geralmente desenvolve-se durante os primeiros meses de terapia com SSRI em seres humanos (3-120 dias) e a sua reversão pode ocorrer de 2 a 28 dias após a suspensão do SSRI (LIU et al., 1996). Este dado explicaria os níveis de ingestão de água e salina sem alteração significativa em ambos os grupos experimentais após a retirada da SERT.

Resultados comparáveis possivelmente se desenvolvem em animais de companhia submetidos ao tratamento crônico com SSRI, entretanto, não há relatos clínicos publicados em periódicos nacionais. Fármacos deste grupo são prescritos no (i) tratamento da ansiedade da separação (ii) no controle das manifestações comportamentais da síndrome da dermatite de extremidades e (ii) sugeridos no tratamento da dominância agressiva, em cães (DODMAN et al., 1996; WYNCHANK & BERK, 1996a; 1996b; LANDSBERG et al., 2008).

O tratamento de hiponatremia associada ao uso de SIADH consiste em interrupção da medicação, restrição hídrica, aplicação de soro hipertônico e uso de diuréticos. Com a retirada do SSRI, os níveis de sódio voltam progressivamente aos seus valores normais (DOSHI & BORISON, 1994; WOO & SMYTHE, 1997; CURY et al., 2006; SEIDERER et al., 2006; JACOB & SPINLER, 2006).

Considerando que a hiponatremia reduz a síntese de ADH (ROBINSON et al., 1990), nossos resultados sugerem que o efeito excitatório do SSRI sobre a secreção de ADH esgota a ação inibidora da hiposmolalidade. Assim, a interrupção do tratamento com SERT normalizou o comportamento ingestivo de água e sódio. Ambas as observações são correlacionados com dados obtidos por Verbalis & Gullans (1993) que mostraram que a hiponatremia induzida pela infusão crônica de 1-deamino-[8-D-arginina]-vasopressina é revertida 24 horas após a remoção do agonista. Neste contexto, a expansão de volume com solução hipertônica estimula tanto a liberação de ADH quanto de OT (VENTURA et al., 2002). Além disso, vários tratamentos com agonista serotoninérgico ou liberador de serotonina têm sugerido que a 5-HT exerce um papel estimulatório central na liberação de OT (MOOS & RICHARD, 1983; MIKKELSEN et al., 1999; UVNÅS-MOBERG et al., 1999; JORGENSEN et al., 2003). No tratamento agudo com SSRI realizado por Uvnås-Mober et al., (1999), foi observado que há um aumento nos níveis plasmáticos de OT. A administração deste medicamento por 14 dias afetou o mecanismo de liberação da mesma, persistindo seus níveis elevados. Assim, pode-se sugerir que a liberação de OT é um importante aspecto farmacológico dos SSRI (UVNÅS-MOBERG et al., 1999). Isto pode ser explicado pelo fato de que terminais serotoninérgicos foram identificados em áreas vasopressinérgicas e ocitocinérgicas, tais como no PVN e NSO (SAWCHENKO et al., 1983; LARSEN et al., 1996). Tal fato corrobora com estudos que mostram consistentemente que a 5-HT aumenta os níveis

plasmáticos de ADH e OT (MOOS & RICHARD, 1983; STEARDO & IOVINO, 1986; SAYDOFF et al., 1991; CHAN et al., 1997; MIKKELSEN et al., 1999; UVNÄS-MOBERG et al., 1999; AGRAWAL et al., 2007).

A OT é secretada na circulação sanguínea durante expansão de volume, particularmente durante expansão hipertônica, e possui ação natriurética, um mecanismo importante para compensar ou, pelo menos, atenuar essa expansão (VENTURA et al., 2002; McCANN et al., 2003). Complementando a ação renal, esse hormônio também inibe o apetite ao sódio.

Vários estudos têm relatado o envolvimento da OT central na modulação da ingestão de sódio (BLACKBURN et al., 1995; STRICKER & VERBALIS, 1996; FITZSIMONS, 1998; FRANCHINI et al., 2002; FITTS et al., 2003; WEISINGER et al., 2004). Além disso, baseado em poucas evidências, acredita-se que o efeito inibitório exercido por neurônios ocitocinérgicos sobre a ingestão de sódio pode ser regulado, pelo menos em parte, por ativação de neurônios serotoninérgicos.

Neste estudo, observou-se um aumento da concentração plasmática de OT em animais tratados com SERT e paradoxalmente uma elevada ingestão de sódio induzida por diferentes desafios. Apesar de não ter sido medida a atividade da OT central, estudos sugerem que os níveis circulantes da OT plasmática são marcadores da atividade da OT central (VERBALIS et al. 1995a, b; STRICKER & VERBALIS, 1996). A OT plasmática aumenta em resposta a uma sobrecarga osmótica, e esse aumento é revertido em resposta à diluição do líquido extracelular durante a ingestão de água que precede o apetite ao sódio em animais hipovolêmicos (BLACKBURN et al., 1995; VERBALIS et al., 1995a,b).

Sugere-se então que a elevada ingestão de salina hipertônica observada em ratos tratados com SERT seja causada pela hiponatremia, efeito esse determinado pelos elevados níveis de ADH, o qual levou a retenção renal de água, associada à natriurese relacionada com OT, especialmente após expansão hipertônica do LEC (SOARES et al., 1999; VENTURA et al., 2002; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). Além disso, Verbalis et al., (1991) demonstraram que o tratamento com antagonista de OT bloqueia o efeito natriurético de concentrações fisiológicas de OT.

Com base nas informações presentes, o tratamento crônico com SERT e/ou a expansão do volume plasmático poderia primariamente explicar os elevados níveis plasmáticos de OT observados neste experimento. Isto ocorreria, pois a OT poderia estar elevada devido à estimulação serotoninérgica em áreas ocitocinérgicas. Por outro lado, poderíamos descartar uma possível influência da expansão de volume, particularmente porque esta foi obviamente hipotônica, o que contrariaria hipótese mencionada acima.

Desta forma pode-se sugerir que, em contraste com os reconhecidos efeitos inibitórios da OT central, bem como os mecanismos centrais serotoninérgicos de controle do apetite ao sódio, a redução da ingestão de água e aumento da ingestão de sódio em ratos tratados cronicamente com SERT é resultante da hiponatremia causada pela secreção inadequada de ADH.

7. CONCLUSÕES

Face ao exposto em nosso trabalho, e considerando evidências de outros autores, pode-se concluir que,

- O tratamento crônico realizado com o liberador de serotonina, possivelmente induziu a uma depleção central transitória da indolamina com resultante aumento do apetite por sódio.
- Tratamento crônico com 8-OH-DPAT dessensibiliza autorreceptores somatodendríticos relacionados com a modulação da transmissão serotoninérgica. Nesta condição, um aumento do recrutamento das vias serotoninérgicas ascendentes constituir-se-ia em um mecanismo de modulação do apetite por sódio após a depleção de volume.
- As alterações na sede osmótica e na resposta natriorexigênica em ratos tratados cronicamente com SERT, provavelmente estão relacionadas com a retenção renal de água e hiponatremia, possivelmente relacionada com a secreção aumentada de ADH. Tal fato é compatível com a SIADH. Desta forma, o conhecido efeito inibitório decorrente da estimulação serotoninérgica e ocitocinérgica sobre o apetite ao sódio, não foi observado.
- O sistema serotoninérgico possivelmente atua na modulação do apetite por sódio, sobre a qual exerce um papel inibitório.
- De acordo com os resultados obtidos observa-se uma possível participação de circuitos serotoninérgicos mesencefálicos envolvidos na modulação do apetite por sódio, o qual dependeria muito mais da ativação destes circuitos do que o estímulo para a ingestão de água.
- O presente estudo chama atenção para os efeitos adversos da terapia crônica com SSRI provavelmente levar a uma severa hiponatremia especialmente durante a associação de SSRI com diuréticos em pacientes animais e humanos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, N.K.; RASTOGI, A.; GOYAL, R.; SINGH, S.K. Sertraline-induced hyponatremia in the elderly. **Canadian Journal of Emergency Medicine – CJEM**. v.9, n.6, p. 415. 2007.

ALBERT, P.R.; LEMBO, P.; STORRING, J.M.; CHAREST, A.; SAUCIER, C. The 5-HT1A receptor: signaling, desensitization, and gene transcription. **Neuropsychopharmacology**. V.14, n.1, p. 19-25, 1996.

ALBERT, P.R.; & LEMONDE, S. 5-HT1A Receptors, Gene Repression, and Depression: Guilt by Association. **The Neuroscientist**, v. 10, p.575–593, 2004.

AMICO, J.A.; MORRIS, M & VOLLMER, R.R. Mice deficient in oxytocin manifest increased saline consumption following overnight fluid deprivation. **American Journal of Physiology**, v. 281, p. R1368-1373, 2001.

ANGULO, A.H.; ÁLVAREZ, J.S.; ANCÍN, L.A.; DOMEÑO, M.A.A. Síndrome de secreción inadecuada de ADH (SIADH) asociado a sertalina. **Aten Primaria**, v. 32, p.605 - 606, 2003.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; CASTRO, M.; ELIAS, L.L.K.; VALENÇA, M.M.; MCCANN, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiological Reviews**, v.84, p.169-208, 2004.

ASSIÉ, M.B.; LOMENECH, H.; RAVAILHE, V.; FAUCILLON, V.; NEWMAN-TANCREDI, A. Rapid desensitization of somatodendritic 5-HT1A receptors by chronic administration of the high-efficacy 5-HT1A agonist, F13714: a microdialysis study in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 149, n.2, p. 170-180, 2006.

AZMITIA E.C. & SEGAL M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of dorsal and median raphe nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v.179, p.641-668, 1978.

AZMITIA E.C. The CNS serotonergic system: Progression toward a collaborative organization. **Psychopharmacology: The Third Generation of Progress** (editor, Herbert Y. Meltzer). Raven Press, New York, p.61-73, 1987.

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

BADAUÊ-PASSOS JR, D.; GODINO, A.; JOHNSON, A.K.; VIVAS, L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Dorsal raphe nuclei integrate allostatic information evoked by depletion-induced sodium ingestion. **Experimental Neurology**, v. 206, n.1, p.86-94, 2007.

BASTOS, O.; BUSNELLO, E.; CALIL, J. A; DUNNINGHAM, W.; GRABOWSKI, H.; GUZ, M.; RUSCHEL, S.; SCHESTATSKY, S.; SHIRAKAWA, I.; VERSIANI, M.

Evaluation of effectiveness, tolerance and safety of sertraline (50 mg to 200 mg) during 8 weeks in the treatment of 150 patients outpatients with major depression. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v.45, n.2, p.105-109, 1996.

BEALER, S.L. Acute hypertensive and natriuretic responses following preoptic hypothalamic lesions. **American Journal of the Medical Sciences**, v.295, p.346-351, 1988.

BELTON, K. & THOMAS, S.H.L Drug-induced syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. **Postgraduate Medical Journal**, v. 75, p. 509-510, 1999.

BLACKBURN, R.E.; DEMKO, A.D.; HOFFMAN, G.E.; STRICKER, E.M.; VERBALIS, J.G. Central oxytocin inhibition of angiotensin-induced salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, v.263, p.1347-1353, 1992.

BLACKBURN, R.E.; SAMSON, W.K.; FULTON, R.J.; STRICKER, E.M.; VERBALIS, J.G. Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.269, p.R245-R251, 1995.

BLIER, P.; STEINBERG, S.; CHAPUT, Y.; DE MONTIGNY, C. Electrophysiological assessment of putative antagonists of 5-hydroxytryptamine receptors: a single-cell study in the rat dorsal raphe nucleus. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.67, n.2, p. 98-105, 1989.

BLIER, P.; PIÑEYRO, G.; EL MANSARI, M.; BERGERON, R.; DE MONTIGNY, C. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.15, n.861, p. 204-216, 1998.

BLIER, P. & WARD, N.M. Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? **Biological Psychiatry**, v. 53, n.3, p. 193-203, 2003.

BLUNDELL, J.E. Serotonin and appetite, **Neuropharmacology**, v.23, n.12B, p.1537-1551, 1984.

BLUTT, D.D. & OJI, N. SIADH in a patient receiving sertraline. **Annals of Internal Medicine**, v. 123, p.811, 1995

BOSLER O. & DESCARRIES L. Monoamines innervation of the organum vasculosum laminae terminalis (OVLT): a high resolution radioautographic study in the rat. **Journal Comparative Neurology**, v.272, p. 545-561, 1988.

BRADLEY, M.E.; FOOTE, E.F.; LEE, E.N.; MERKLE, L. Sertraline-associated syndrome of inappropriate antidiuretic hormone: case report and review of the literature. **Pharmacotherapy**, v.16, n.4, p.680-683, 1996.

BURKE, D. & FANKER, S. Fluoxetine and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH). **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**. v.30, n.2 , p.295-298, 1996.

CASTRO, L.; MALDONADO, I.; CAMPOS, I.; VARJÃO, B.; ANGELO, A.L.; ATHANAZIO, R.A.; BARBETTA, M.C.; RAMOS, A.C.; FREGONEZE, J.B.; DE CASTRO E SILVA, E. Central administration of mCPP, a serotonin 5-HT(2B/2C) agonist, decreases water intake in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.72, p.891-898, 2002a.

CASTRO, L.; VARJÃO, B.; MALDONATO, I.; CAMPOS, I.; DUQUE, B.; FREGONEZE, J.B.; REIS DE OLIVEIRA, I. Central 5-HT₃ receptor and drinking behavior. **Physiology & Behavior**, v.77, p. 349-359, 2002b.

CAVALCANTE-LIMA, H.R.; LIMA, H.R.C.; COSTA-E-SOUSA, R.H.; OLIVARES, E.L.; CEDRAZ-MERCEZ, P.L.; REIS, R.O.; BADAUÊ-PASSOS, JR. D.; DE LUCCA JR, W.; MEDEIROS, M.A.; CÔRTEZ, W.S.; REIS, L.C. Dipsogenic stimulation in ibotenic DRN-lesioned rats induces concomitant sodium appetite. **Neuroscience Letters**, v.374, p.5-10, 2005a.

CAVALCANTE-LIMA, H.R.; BADAUÊ-PASSOS, JR D.; DE LUCCA JR, W.; LIMA, H.R.C.; COSTA-E-SOUSA, 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 dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2005b, v. 38, p.1669- 1675, 2005b.

CHAN, T.Y.K. Drug-induced syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. Causes, diagnosis and management. **Drugs & Aging**, v.11, p. 27-44, 1997.

CEDRAZ-MERCEZ, P. L; ALMEIDA, A. C; COSTA-E-SOUSA, R. H; BADAUÊ-PASSOS JÚNIOR, D; CASTILHOS, L. R; OLIVARES, E. L; MARINHO JÚNIOR, A; MEDEIROS, M. A; REIS, L. C. Influence of serotonergic transmission and postsynaptic 5-HT_{2C} action on the feeding behavior of *Coturnix japonica* (Galliformes: Aves). **Brazilian Journal of Biology**, v.55, n.4, p.589-595, 2005.

COOPER, S.J.; FRYER, M.J.; NEILL, J.C. Specific effect of putative 5-HT_{1A} agonists, 8-OH-DPAT and gepirone, to increase hypertonic saline consumption in the rat: evidence against a general hyperdipsic action. **Physiology & Behavior**, v.43, n.4, p. 533-537, 1988.

COOPER, S.J. & CICCOCIOPPO, R. Effects of selective 5-HT₁ receptor agonists in water-deprived rats on salt intake in two-choice tests. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.45, n.3, p.513-518, 1993.

CARAS, M.L.; MACKENZIE, K.; RODWIN, B.; KATZ, D.B. Investigating the Motivational Mechanism of Altered Saline Consumption Following 5-HT_{1A} Manipulation. **Behavioral Neuroscience**, v. 122, n.2, p. 407–415, 2008.

CASANOVAS, J.M.; VILARO, M.T.; MENGOD, G.; ARTIGAS, F. Differential Regulation of Somatodendritic Serotonin 5-HT_{1A} Receptors by 2-Week Treatments with the Selective Agonists Alnespirone (S-20499) and 8-Hydroxy-2-(Di-n-Propylamino)tetralin: Microdialysis and Autoradiographic Studies in Rat Brain. **Journal of Neurochemistry**, v.72, p.262–272, 1999.

CURY, L.H.; KITADAI, F.T.; HELOU, C.M.B. Antidepressant-induced hyponatremia. **Clinics**, v. 61, n.5, p.579-580, 2006.

DE LUCA JR, L.A.; SUGAWARA, A.M.; MENANI, J.V. Brain versus peripheral angiotensin II receptors in hypovolemia: behavioural and cardiovascular implications. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.27, p.437-442, 2000.

DE LUCA JR, L.A.; XU, Z.; SCHOORLEMMER, G.H.; THUNHORST, R.L.; BELTZ, T.G.; MENANI, J.V.; JOHNSON, A.K. Water deprivation-induced sodium appetite: humoral and cardiovascular mediators and immediate early genes. **American Journal of Physiology**, v.282, p.R552-559, 2002.

DODMAN, N.H.; DONNELLY, R.; SHUSTER, L.; MERTENS, P.; RAND, W.; MICZEK, K. Use of fluoxetine to treat dominance aggression in dogs. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.209, n.9, p.1585-1587, 1996.

DOSHI, D. & BORISON, R. Association of Transient SIADH With Sentraline. **The American Journal of Psychiatry**, v.151, p.5, p. 779-780, 1994.

ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; ELIAS, P.C.; MOREIRA, A.C. Effect of plasma osmolality on pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide changes in central diabetes insipidus. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.82, p. 1243–1247, 1997.

FINLEY, P.R. Selective serotonin reuptake inhibitors: pharmacologic profiles and potential therapeutic distinctions. **Annals of Pharmacotherapy**, v.28, n.12, p.1359-1369, 1994.

FITZSIMONS J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiological Reviews**, v.78, p.583-686, 1998.

FITTS, D.A.; THORNTON, S.N.; RUHF, A.A.; ZIERATH, D.K.; JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. Effects of central oxytocin receptor blockade on water and saline intake, mean arterial pressure, and c-fos expression in rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.285, p.R1331–R1339, 2003.

FLETCHER, A.; BILL, D.J.; BILL, S.J.; CLIFFE, I.A.; DOVER, G.M.; FORSTER, E.A.; HASKINS, J.T.; JONES, D.; MANSELL, H.L.; REILLY, Y. WAY100135: a novel, selective antagonist at presynaptic and postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. **European Journal of Pharmacology**, v.24, p. 283-291, 1993.

FONZO-CHRISTE, C. & VOGT, N. Susceptibility of the elderly patient to hyponatremia induced by selective serotonin reuptake inhibitors. **Therapie**, v.55, n.5, p.597-604, 2000.

FRANCHINI, L.F. & VIVAS, L. Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. **American Journal of Physiology**, v.276, p.R1180–R1187, 1999.

FRANCHINI, L.F.; JOHNSON, A.K.; VIVAS, L. Sodium appetite and Fos activation in serotonergic neurons. **American Journal of Physiology**, v.282, p.235-243, 2002.

GASTONI, O.D.L.; WIERZBINSKY, S.; GASTONI, R.S.L.; RESNIK, S.; PARDOMENICO, S.; JORGE, M. Sertralina. Efectos adversos por superposicion de manifestaciones de sindromes serotoninico y neuroléptico maligno. **Medicina (Buenos Aires)**, v.60, p. 241-244, 2000.

GIBB, J.W.; JOHNSON, M.; STONE, D.; HANSON, G.R. MDMA: Historical perspectives. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.600, p.601-612, 1990.

GIRAULT, C.; RICHARD, J.C.; CHEVRON, V.; GOULL'E, J.P.; DROY, J.M.; BONMARCHAND, G.; LEROY, J. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone in two elderly women with elevated serum fluoxetine. **Journal of Toxicology - Clinical Toxicology**, v.35, p.93-95, 1997.

GODINO, A.; DE LUCA JR, L.A.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; VIVAS, L. Oxytocinergic and serotonergic systems involvement in sodium intake regulation: satiety or hypertonicity markers? **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.293, n.3, p.R1027-36, 2007.

INAGUMA, D.; KITAGAWA, W.; HAYASHI, H.; KANO, T.; KURATA, K.; KUMON, S. Three cases of severe hyponatremia under taking selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI). **Nippon Jinzo Gakkai Shi Journal**, v.42, n.8, p.644-648, 2000.

INSEL, T.R.; BATTAGLIA, G.; JOHANNESSEM, J.N.; MARRA, S.; DE SOUZA, E.B. 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") selectively destroys brain serotonin terminals in rhesus monkeys. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.249, p.713-720, 1989.

JACOB, S. & SPINLER, S.A. Hyponatremia Associated with Selective Serotonin-Reuptake Inhibitors in Older Adults. **The Annals of Pharmacotherapy**. v. 40, n.9, p. 1618-1622. DOI 10.1345/aph.1G293, 2006.

JALOWIEC, J.E.; Sodium appetite elicited by furosemide: effects of differential dietary maintenance. **Behavioral biology**, v.10, p.313-327, 1974.

JORGENSEN, H.; RIIS, M.; KNIGGE, U.; KJAER, A.; WARBERG, J. Serotonin receptors involved in vasopressin and oxytocin secretion. **Journal of Neuroendocrinology**, v.15, p.242-249, 2003.

KATTAH, W.; ANDRADE, R.; BERNAL, M.; VARGAS, F.; GUZMÁN, F. Daño valvular aórtico, mitral y tricuspídeo asociado con el uso crónico de fenfluramina y dexfenfluramina. **Acta Médica Colombiana**, v.23, n.1, p.30-37, 1998.

KIRBY, D. & AMES, D. Hyponatraemia and selective serotonin re-uptake inhibitors in elderly patients. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 16, p.484 - 493, 2001.

KOELKEBECK, K.; DOMSCHKE, K.; ZWANZGER, P.; HETZEL, G.; LANG, D.; AROLT, V. A case of non-SIADH-induced hyponatremia in depression after treatment with reboxetine. **World Journal of Biological Psychiatry**, v.26, p.1-3, 2007.

LANDSBERG, G.M.; MELESE, P.; SHERMAN, B.L.; NEILSON, J.C.; CLARKE, T.P. Effectiveness of fluoxetine chewable tablets in the treatment of canine separation anxiety. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research** v.3, n.1, p.12-19, 2008.

LANE, R.M. SSRIs and hyponatraemia. **British Journal of Clinical Practice**, v.51, n.3, p.144-146, 1997.

LARSEN, P.J.; HAY-SCHMIDT, A.; VRANG, N.; MIKKELSEN, J.D. Origin of projections from the midbrain raphe nuclei to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat: a combined retrograde and anterograde tracing study. **Neuroscience**, v.70, p.963-988, 1996.

LIESTER, M.B.; GROB, C.S.; BRAVO, G.L.; WALSH, R.N. Phenomenology and sequelae of 3,4-ethylenedioxymethamphetamine use. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v.180, p.345-352, 1992.

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

LIU, B.A.; MITTMANN, N.; KNOWLES, S.R.; SHEAR, N.H. Hyponatremia and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone associated with the use of selective serotonin reuptake inhibitors: a review of spontaneous reports. **Canadian Medical Association Journal**, v.155, n.5, p. 519-527, 1996.

MARGATHO, L.O.; GIUSTI-PAIVA, A.; MENANI, J.V.; ELIAS, L.L.; VIVAS, L.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus in renal and hormonal responses to isotonic blood volume expansion. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.292, p.R1190-R1197, 2007.

MARGATHO, L.O.; GODINO, A.; OLIVEIRA, F.R.T.; VIVAS, L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Lateral Parabrachial Afferent Areas and Serotonin Mechanisms Activated by Volume Expansion. **Journal of Neuroscience Research**, v.86, p.3613-3621, 2008.

MARAR, I.E. & AMICO, J.A. Vasopressin, oxytocin, corticotrophin-releasing factor, and sodium responses during fluoxetine administration in the rat. **Endocrine**, v.8, n.1, p. 13-18, 1998.

MCCANN, S.M.; GUTKOWSKA, J; ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.165-181, 2003.

MCCANN, U.; HATZIDIMITRIOU, G.; RIDENOUR, A.; FISCHER, C.; YUAN, J.; KATZ, J.; RICAURTE, G. Dexfenfluramine and serotonin neurotoxicity: Further preclinical evidence that clinical caution is indicated. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.269, p.129-138, 1994.

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

MIKKELSEN, J.D.; JENSEN, J.B.; ENGELBRECHT, T.; MORK, A. d-Fenfluramine activates rat oxytocinergic and vasopressinergic neurons through different mechanisms. **Brain Research**, v.851, p.247–251, 1999.

MOLLIVER, M.E.; BERGER, U.V.; MAMOUNAS, L.A.; MOLLIVER, D.C.; O'HEARN, E.; WILSON, M.A. Neurotoxicity of MDMA and related compounds: Anatomic studies. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.600, p.640-664, 1990.

MOOS, F. & RICHARD, P. Serotonergic control of oxytocin release during suckling in the rat: opposite effects in conscious and anesthetized rats. **Neuroendocrinology**, v.36, p.300–306, 1983.

MULLER, C.P.; CAREY, R.J.; HUSTON, J.P.; SOUZA SILVA, M.A. Serotonin and psychostimulant addiction: Focus on 5-HT_{1A}-receptors. **Progress in Neurobiology**, v.81, p. 133–178, 2007.

OKAZAWA, H.; YAMANE, F.; BLIER, P.; and DIKSIC, M. Effects of Acute and Chronic Administration of the Serotonin, Agonist Buspirone on Serotonin Synthesis in the Rat Brain. **Journal of Neurochemistry**, v.72, p.2022-2031, 1999.

OLIVARES, E.L.; COSTA-E-SOUSA, R.H.; CAVALCANTE-LIMA, H.R.; LIMA, H.R.C.; CEDRAZ-MERCEZ, P.L.; REIS L.C. Effect of electrolytic lesion of the dorsal raphe nucleus on water intake and sodium appetite. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.1709-1716, 2003.

PALM, C.; PISTROSCH, F.; HERBRIG, K.; GROSS, P. Vasopressin antagonists as aquaretic agents for the treatment of hyponatremia. **American Journal of Medicine**, v.119, p.S87–S92, 2006.

PALM, C.; REIMANN, D.; GROSS, P. The role of V₂ vasopressin antagonists in hyponatremia. **Cardiovascular Research**, v.51, p.403–408, 2001.

PEREIRA, D.T.B.; DAVID, R.B.; MENANI, J.V.; DE LUCA JR, L.A. Episodes of water deprivation enhance daily hypertonic NaCl intake in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, p.465-468, 2002.

PEREZ, P.A.; NAZÁBAL, E.R.; LÓPEZ, J.M.; FACAL, S.L.; CORRAL, P.R. Secreción inadecuada de hormona antidiurética secundaria a paroxetina. **Anales de Medicina Interna**, v. 21, n.10, p.65, 2004.

RAPHAEL, K. & TOKESHI, J. Hyponatremia associated with sertraline and fluoxetine: a case report. **Hawaii Medical Journal**, v.61, p.46–47, 2002.

REGAN, K.L. Depression treatment with selective serotonin reuptake inhibitors for the postacute coronary syndrome population: a literature review. **Journal of Cardiovascular Nursing**, v.23, n.6, p. 489-496, 2008.

REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by water deprivation. Effect of serotonergic agonist (MK-212) administered intracerebroventricularly. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.23, p.1335-1338, 1990,a.

REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by angiotensin II and carbachol in normally hydrated rats: effect of Intracerebroventricular injection of MK-212. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.23, P.1339–1342, 1990,b.

REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Effect of central administration of serotonergic agonists on electrolyte excretion control. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.24, p.633-641, 1991.

REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Brain serotonergic stimulation reduces the water intake induced by systemic and central beta-adrenergic administration. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.25, p.529-536, 1992.

REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J.; McCANN, S.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Participation of the ascending serotonergic system in the stimulation of atrial natriuretic peptide release. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.91, p.12022-12026, 1994.

REIS, L.C. Role of the serotonergic system in the sodium appetite control. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.79, n.2, p. 261-283, 2007.

REIS, L. C. & MARINHO, V. R. Influence of 5-ht1a agonist on the feeding behavior of *Coturnix japonica* (Galliformes: Aves). **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, n. 4, p. 675-681, 2005.

RIAD, M.; WATKINS, K.C.; DOUCET, E.; HAMON, M. and DESCARRIES, L. Agonist-induced internalization of serotonin-1A receptors in the dorsal raphe nucleus (autoreceptors) but not hippocampus (heteroreceptors). **Journal of Neuroscience**, v.21, n. 21, p. 8378–8386, 2001.

RICAURTE, G.A.; MOLLIVER, M.E.; MARTELLO, M.B.; KATZ, J.L.; WILSON, M.A.; MARTELLO, A.A. Dexfenfluramine neurotoxicity in brains of non-human primates. **Lancet**, v.338, p.1487-1488, 1991.

ROBINSON, A.G.; ROBERTS, M.M.; EVRON, W.A.; VERBALIS, J.G.; SHERMAN, T.G. Hyponatremia in rats induces downregulation of vasopressin synthesis. **The Journal of Clinical Investigation**, v.86, p.1023–1029, 1990.

ROSNER, M.H. Severe hyponatremia associated with the combined use of thiazide diuretics and selective serotonin reuptake inhibitors. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 327, n.2, p.109-111, 2004.

ROTH, B.L. Drugs valvular heart disease. **New England Journal of Medicine**, v.356, p.6-9, 2007.

ROTHMAN, R.B.; BAUMANN, M.H.; SAVAGE, J.E.; RAUSER, L.; MCBRIDE, A.; HUFSEIN, S.J.; ROTH, B.L. Evidence for possible involvement of 5-HT (2B) receptors in the cardiac valvulopathy associated with fenfluramine and other serotonergic medications, **Circulation – Journal of the American Heart Association**, v.102, p.2836-2841, 2000.

ROUAH-ROSILIO, M.; OROSCO, M.; NICOLAIDIS, S. Serotonergic modulation of sodium appetite in the rat. **Physiology & Behavior**, v.55, n.5, p.811-816, 1994.

ROWLAND, N.E.; KALEHUA, A.N.; LI, B.H.; SEMPLE-ROWLAND, S.L.; STREIT, W.J. Loss of serotonin uptake sites and immunoreactivity in rat cortex after dexfenfluramine occur without parallel glial reactions. **Brain Research**, v.624, p.35-43, 1993.

SAYDOFF, J.A.; RITTENHOUSE, P.A.; VAN DE KAR, L.D.; BROWNFIELD, M.S. Enhanced serotonergic transmission stimulates oxytocin secretion in conscious male rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.257, p.95–99, 1991.

SAWCHENKO, P.E.; SWANSON, L.W.; STEINBUSCH, H.W.; VERHOFSTAD, A.A. The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **Brain Research**, v.277, p.355–360, 1983.

SCHRIER, R.W. **Diseases of the kidney and urinary tract**. 7th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.2519-2527, 2001.

SCROGIN, K.E.; JOHNSON, A.K.; SCHMID, H.A. Multiple receptor subtypes mediate the effects of serotonin on rat subfornical organ neurons. **American Journal of Physiology**, v. 275, p. 2035-2042, 1998.

SEIDERER, J.; RUST, C.; MENTH, M.; PUSL, T.; JUNG, M. A 67 year old patient with somnolence and severe hyponatremia. **Internist (Berlin)**v.47, n.6, p.626-628, 2006.

SOARES, T.J.; COIMBRA, T.M.; MARTINS, A.R.; PEREIRA, A.G.; CARNIO, E.C.; BRANCO, L.G.; ALBUQUERQUE-ARAÚJO, W.I.; DE NUCCI, G.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J.; MCCANN, S.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. **Proceedings of**

the National Academy of Sciences of the United States of America, v.96, p.278–283, 1999.

SPIGSET, O.; HEDENMALM, K.; MORTIMER, O. Hyponatremia as a side effect of serotonin uptake inhibitors. **Lakartidningen**. v.19, n.95, p.3537-3539, 1998.

STAHL, S.M. Selectivity of SSRIs: individualising patient care through rational treatment choices. **International Journal of Psychiatry in Clinical Practice**, v.8, p.3-10, 2004.

STAMFORD, J.A.; DAVIDSON, C.; McLAUGHLIN, D. and HOPWOOD, S.E. Control of dorsal raphé 5-HT function by multiple 5-HT₁ autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality? **Trends Neurosciences**, v.23, p.459-465, 2000.

STEARDO, L. & IOVINO, M. Vasopressin release after enhanced serotonergic transmission is not due to activation of the peripheral renin-angiotensin system. **Brain Research** v. 382, p.145–148, 1996.

STRICKER, E.M.; HOSUTT, J.A.; VERBALIS, J.G. Neurohypophyseal secretion in hypovolemic rats: inverse relation to sodium appetite. **American Journal of Physiology**, v.252, p.889-896, 1987.

STRICKER, E.M.; THIELS, E.; VERBALIS, J.G. Sodium appetite in rats after prolonged dietary sodium deprivation: a sexually dimorphic phenomenon. **American Journal of Physiology**, v.260, p.R1082-R1088, 1991.

STRICKER, E.M. & VERBALIS, J.G. Central inhibition of salt appetite by oxytocin in rats. **Regulatory Peptides**, v.66, p.83–85. 1996.

STEINBUSCH, H.W. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. **Neuroscience**, v.6, n.4, p.557-618, 1981.

TABAK, F.; GUNDUZ, F.; TAHAN, V.; TABAK, O.; OZARAS, R. Sertraline hepatotoxicity: Report of a case and review of the literature. **Digestive Diseases Sciences**, DOI 10.1007/s10620-008-0524-3, 2008.

TANAKA J.; OKUMURA T.; SAKAMATI, K.; MIYAKUBO H. Activation of serotonergic pathways from the midbrain raphe system to the subfornical organ by hemorrhage in the rat. **Experimental Neurology**, v.169, p.156-162, 1991.

TANAKA, J.; USHIGOME, A.; HORI, K.; NOMURA, M.. Responses of raphe nucleus projecting subfornical organ neurons to angiotensin II in rats. **Brain Research Bulletin**, v.45, p.315-318, 1998.

TANAKA, J.; OKUMURA, T.; SAKAMATI, K.; MIYAKUBO, H.. Activation of serotonergic pathways from the midbrain raphe system to the subfornical organ by hemorrhage in the rat. **Experimental Neurology**, v.169, p.156-162, 2001.

TELLES-CORREIA, D.; GUERREIRO, D.F.; OLIVEIRA, O.; FIGUEIRA, M.L. Diferenças farmacodinâmicas e farmacocinéticas entre os SSRI, implicações na prática clínica. **Acta Médica Portuguesa**, v.20, p.167-174, 2007.

TWARDOWSCHY, C.A.; BERTOLUCCI, C.B.; GRACIA, C.M.; BRANDÃO, M.A.S. Severe hyponatremia and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic Hormone (SIADH) associated with fluoxetine. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.64, n.1, p. 142-145, 2006.

UVNÄS-MOBERG, K.; BJÖKSTRAND, E.; HILLEGART, V.; AHLENIUS, S. Oxitocin as a possible mediator of SSRI-induced antidepressant effects. **Psychopharmacology (Berl)**, v.142, n.1, p. 95-101, 1999.

VASWANI, M.; LINDA, F.K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.27, n.1, p.85-102, 2003.

VENTURA, R.R.; GOMES, D.A.; REIS, W.L.; ELIAS, L.L.; CASTRO, M.; VALENÇA, M.M.; CARNIO, E.C.; RETTORI, V.; MCCANN, S.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Nitergic modulation of vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide secretion in response to sodium intake and hypertonic blood volume expansion. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, n.9, p. 1101-1109, 2002.

VENTURA, R.R.; GIUSTI-PAIVA, A.; GOMES, D.A.; ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuronal nitric oxide synthase inhibition differentially affects oxytocin and vasopressin secretion in salt loaded rats. **Neuroscience Letter**, v. 379, p.75–80, 2005.

VERBALIS, J.G. & GULLANS, S.R. Rapid correction of hyponatremia produces differential effects on brain osmolyte and electrolyte reaccumulation in rats. **Brain Research**, v.606, p.19–27, 1993.

VERBALIS, J.G.; ADLER, S.; HOFFMAN, G.E.; MARTINEZ, A.J. Brain adaptation to hyponatremia: physiological mechanisms and clinical implications. In **Neurohypophysis**, ed. Saito T Kurokawa K & Yoshida S, pp. 615–626. Elsevier, Amsterdam, 1995a.

VERBALIS, J.G.; BLACKBURN, R.E.; HOFFMAN, G.E.; STRICKER, E.M. Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.395, p.209–225, 1995b.

VERBALIS, J.G.; MANGIONE, M.P.; STRICKER, E.M. Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. **Endocrinology**, v.128, p.1317–1322, 1991.

VIANA, M.B.; SILVEIRA, R.; GRAEFF, F.G. D-Fenfluramine selectively releases 5-HT from dorsal raphe terminals. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.29, n.5, p.639-642, 1996.

VILLA, P.S.; CAMARGO, G.M.; CAMARGO, L.A.; SAAD, W.A. Activation of paraventricular nucleus of hypothalamus 5-HT_{1A} receptor on sodium intake. **Regulatory Peptides**, v.140, n.3, p. 142-147, 2007.

WEISINGER, R.S.; DENTON, D.A.; MCKINLEY, M.J.; NELSON, J.F. Dehydration-induced sodium appetite in rats. **Physiology & Behavior**, v.34, p.45-50, 1985.

WIJNEN, H.H.; VAN SCHENDEL, F.M.; OLDE RIKKERT, M.G.; VAN DER HOOFT, C.S.; VAN PUIJENBROEK, E.P. Hyponatraemia during the use of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs): reports from 1992-2002. **Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde**, v.148, n.39, p.1921-1924, 2004.

WILKINSON, T.J.; BEGG, E.J.; WINTER, A.C.; SAINSBURY, R. Incidence and risk factors for hyponatraemia following treatment with fluoxetine or paroxetine in elderly people. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.47, p.211-217, 1999.

WONG, L.L. & VERBALIS, J.G. Vasopressin V₂ receptor antagonists. **Cardiovascular Research**, v.51, p.391-402, 2001.

WOO, M.H. & SMYTHE, M.A. Association of SIADH with selective serotonin reuptake inhibitors. **The Annals of Pharmacotherapy**, v.31, n.1, p.108-110, 1997.

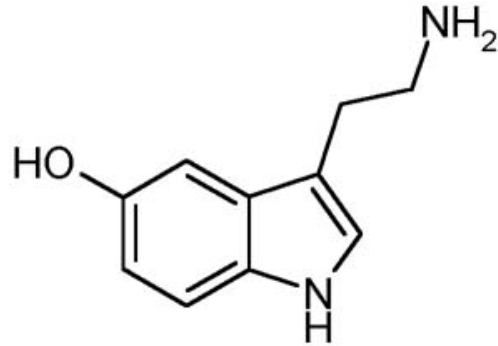
WYNCHANK D. & BERK, M. Fluoxetine Treatment of Acral Lick Dermatitis in Dogs: A Placebo Controlled Randomised Double Blind Trial. **Depression and Anxiety**, v.8, n.1, p.21-23, 1998a.

WYNCHANK D. & BERK, M. Behavioural changes in dogs with acral lick dermatitis during a 2 month extension phase of fluoxetine treatment. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v.13, n.6, p.435-437, 1998b.

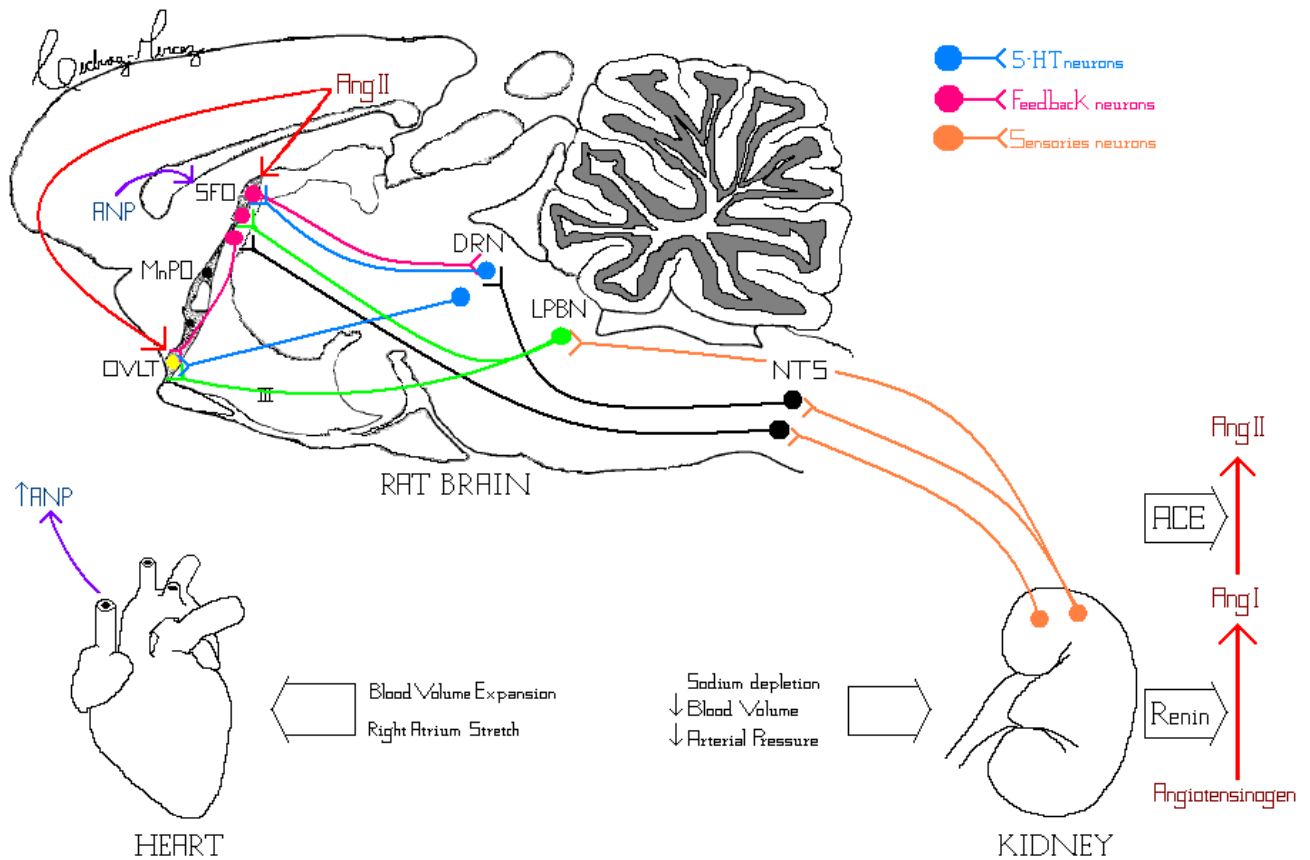
ZACZEK, R.; BATTAGLIA, G.; CULP, S.; APPEL, N.M.; CONTRERA, J.F.; DE SOUZA, E.B. Effects of repeated fenfluramine administration on indices of monoamine function in rat brain: Pharmacokinetic, dose response, regional specificity, and time course data. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.253, p.104-253, 1990.

ANEXO 1

Serotonina. Conexões serotoninérgicas com a lâmina terminal, Participação do sistema serotoninérgico no controle central da sede e do apetite por sódio.



5-Hidroxitriptamina (serotonina)



Representação esquemática de corte sagital do encéfalo de *Rattus norvegicus*, mostrando circuito serotoninérgico do núcleo dorsal da rafe mesencefálica (DRN) e suas conexões com a lâmina terminal (reprodução e arte de P. L. Cedraz-Mercez, bolsista FAPERJ, a partir de evidências experimentais obtidas na área de Fisiologia Animal/IB/UFRuralRJ).

ANEXO 2

Segue em anexo, o trabalho publicado na revista *Experimental Physiology* a partir de alguns resultados obtidos nesta dissertação.

Experimental Physiology, v.92 (5), p. 913–922

Sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor, affects thirst, salt appetite and plasma levels of oxytocin and vasopressin in rats

Ana Paula de Magalhães-Nunes, Daniel Badauê-Passos, Jr, Renato Rizo Ventura, Daniel da Silva Guedes Jr, Jacqueline Pereira Araújo, Priscila Camargo Granadeiro, Hevellyn Katarine Milanez-Barbosa, Ricardo Henrique da Costa-e-Sousa, Magda Alves de Medeiros, José Antunes-Rodrigues and Luís Carlos Reis.

Experimental Physiology

Sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor, affects thirst, salt appetite and plasma levels of oxytocin and vasopressin in rats

Ana Paula de Magalhães-Nunes¹, Daniel Badauê-Passos, Jr.^{2,3}, Renato Rizo Ventura², Daniel da Silva Guedes Jr.⁴, Jacqueline Pereira Araújo¹, Priscila Camargo Granadeiro¹, Hevellyn Katarine Milanez-Barbosa¹, Ricardo Henrique da Costa-e-Sousa¹, Magda Alves de Medeiros¹, José Antunes-Rodrigues² and Luís Carlos Reis¹

¹Department of Physiological Sciences, Institute of Biology, UFRuralRJ, Seropédica, RJ, Brazil

²Department of Physiology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP, Brazil

³Department of Psychology, University of Iowa, Iowa City, IA, USA

⁴Department of Medicine and Surgery, Institute of Veterinary, UFRuralRJ, Seropédica, RJ, Brazil

We investigated the effects of chronic administration of sertraline (SERT; $\sim 20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ in drinking water), a selective serotonin reuptake inhibitor, on water and sodium intake and on plasma levels of oxytocin (OT) and vasopressin (AVP) in basal and stimulated conditions. Basal water intake was reduced in SERT-treated rats. After 24 h of water deprivation, rats treated with SERT for 21 days ingested less water than the control rats (9.7 ± 0.5 versus 20.0 ± 0.9 ml, respectively, at 300 min after water presentation, $P < 0.0001$). Subcutaneous injection of 2 M NaCl or isoproterenol evoked a lower dipsogenic response in rats treated with SERT for 21 days. Fluid and food deprivation also induced a weaker dipsogenic response in SERT-treated rats (1.6 ± 0.5 versus 10.2 ± 1.2 ml, at 300 min, $P < 0.0001$) but had no effect on saline intake. Sodium depletion induced a higher natriorexigenic response in the SERT group (5.6 ± 1.3 versus 1.2 ± 0.3 ml, at 300 min, $P < 0.0002$). Higher urinary density and lower plasma sodium levels were observed after SERT treatment. Sertraline also increased plasma levels of vasopressin and oxytocin (AVP, 2.65 ± 0.36 versus $1.31 \pm 0.16 \text{ pg ml}^{-1}$, $P < 0.005$; OT, 17.16 ± 1.06 versus $11.3 \pm 1.03 \text{ pg ml}^{-1}$, $P < 0.0009$, at the third week post-treatment). These data constitute the first evidence that chronic SERT treatment affects water and sodium intake in rats. These effects seem to be related to the hyponatraemia caused by the higher plasma levels of AVP and OT.

(Received 20 February 2007; accepted after revision 14 June 2007; first published online 15 June 2007)

Corresponding author D. Badauê-Passos, Jr: 11 Seashore Hall E, Department of Psychology, University of Iowa, Iowa City, IA 52242, USA. Email: daniel-passosjunior@uiowa.edu

Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI; e.g. sertraline (SERT)) are widely prescribed to treat several affective disorders (e.g. depression). In depression, hypofunction of the brain serotonergic system is the most accepted neurobiological causal factor (Blier & Ward, 2003; Hensler, 2003). In this regard, chronic administration of SSRI promotes downregulation of somatodendritic 5-HT_{1A} receptors (SDR), mainly those located in serotonergic neurones from the midbrain raphe. These SDR, when acutely activated, inhibit the firing rate of serotonergic neurones. However, the SDR downregulation related to chronic treatment with SSRI

increases serotonergic activity and serotonin release (see Le Poul *et al.* 1995*a,b*; Gourion *et al.* 2004).

Acute central or peripheral administration of serotonin 5-HT_{2C} receptor agonists, SSRI or serotonin releaser inhibits sodium appetite (Neill & Cooper, 1989; Rouah-Rosilio *et al.* 1994; Badaue-Passos *et al.* 2003). An increasing number of reports have established that the central serotonergic system regulates sodium appetite by directly acting on brainstem structures, such as the lateral parabrachial nuclei (LPBN) (Menani *et al.* 1996, 1998*a,b*, 2002). Intracerebroventricular (i.c.v.) injections of serotonergic 5-HT_{2B/2C} and 5-HT₃ receptor agonists

inhibit sodium intake (Castro *et al.* 2003). In addition, a nicely conducted *in vitro* study showed that 5-HT_{2A/2C} agonist activates whereas 5-HT_{1A} agonist inhibits the electrical activity of neurones in the subfornical organ (SFO; Scrogin *et al.* 1998). Taken together, this evidence suggests that the serotonergic system may interfere with sodium intake by acting in forebrain structures (e.g. SFO) involved in this control.

In a recent report, it was demonstrated that serotonergic neurones from dorsal raphe nuclei (DRN) are recruited during sodium satiety. It was achieved through the co-immunodetection of Fos and serotonin (5-HT) in cells from the DRN. The authors observed an increase in the number of Fos/5-HT double-labelled cells in the DRN after depletion-induced sodium intake (Franchini *et al.* 2002). Additionally, previous data from our group demonstrated the involvement of the DRN in the control of sodium appetite. Electrolytic or excitotoxic lesion of the DRN increased the basal salt intake in several experimental models (Olivares *et al.* 2003; Cavalcante-Lima *et al.* 2005*a,b*). Analogous responses were obtained in serotonin-depleted rats (Lima *et al.* 2004).

Serotonergic terminals were identified in vasopressinergic and oxytocinergic areas, such as the hypothalamic paraventricular (PVN) and supraoptic nuclei (SON; Sawchenko *et al.* 1983; Larsen *et al.* 1996). Several studies consistently show that serotonin increases plasma levels of vasopressin (AVP) and oxytocin (OT; Moos & Richard, 1983; Steardo & Iovino, 1986; Saydoff *et al.* 1991; Marar & Amico, 1998; Mikkelsen *et al.* 1999). Since AVP and OT are both involved in hydromineral balance, changes in their plasma levels could modify the regulation of plasma volume and tonicity (Fitzsimons, 1998; Antunes-Rodrigues *et al.* 2004; Weisinger *et al.* 2004) and, in turn, affect the expected inhibitory effect of sertraline on water and sodium intake.

Therefore, in this study we aimed to investigate the involvement of chronic SERT administration in thirst and sodium appetite, together with plasma levels of OT and AVP, in basal and stimulated conditions.

Methods

Animals and drugs

Male Wistar rats weighing 250–300 g were maintained in a room with lights on from 07.00 to 19.00 h, in which the temperature was automatically controlled ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), and had *ad libitum* access to chow (Purina[®]) and water. All of the experimental protocols and animal procedures were carried out in agreement with current Brazilian legislation on animal welfare. Sertraline (sertraline hydrochloride, MEPHA, Rio de Janeiro, Brazil) was administered *ad libitum* to rats in drinking bottles (180 mg l^{-1} , in distilled water) for 3 or 4 weeks. For the duration of all experiments,

the animals were housed in metabolic cages with *ad libitum* chow, water or water plus sertraline, except during the deprivation periods when the water and/or food were/was removed.

Haematological indices and urinary density

Plasma sodium concentration was determined by flame photometry and haematocrit index (%) by micromethod using a sample from cervical trunk blood. Urinary density (UD) was determined by refractometry method.

Plasma levels of vasopressin and oxytocin

Briefly, AVP and OT plasma levels were determined by radioimmunoassay after previous extraction from plasma using acetone and petroleum ether (Elias *et al.* 1997; Ventura *et al.* 2005) with recovery rates higher than 87%. The assay sensitivity was 0.9 pg ml^{-1} and intra- and interassay coefficients of variation were 7.7 and 11.9%, respectively, for AVP and 12.6 and 7%, respectively, for OT. All samples from a single experiment were assayed in duplicate in the same assay.

Experimental procedures

The rats were chronically treated with SERT (180 mg l^{-1}) in drinking water, for 3 or 4 weeks, depending on the protocol used. Based on the average of daily water intake observed in SERT-treated animals, the estimated dose range was $15\text{--}20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. Control groups received distilled water. The water intake response was evaluated using the following protocols.

Protocol 1. To evaluate the effect of SERT treatment on thirst, cumulative daily water intake was measured during 4 weeks of SERT treatment (SERT group, $n = 11$; control group, $n = 12$). The results are expressed as weekly means. Haematocrit indices were evaluated weekly; however, UD was determined only in the first and fourth weeks. In order to evaluate the contribution of the taste of SERT dissolved in drinking water to the drinking behaviour, prior pilot tests were performed.

Protocol 2. Water and sodium intake induced by dehydration were also investigated in rats treated for 3 weeks with SERT or vehicle ($n = 10$ for each group) that were submitted to 24 h of water deprivation (WD). On the first day following 24 h of water deprivation (day 23), only burettes containing water were presented to the rats, whereas only burettes containing 0.3 M NaCl were offered on the second day (day 24). Sertraline was continuously administered to the SERT group until day 29, except on

day 22, when water deprivation was performed. Fluid intake measurements were performed daily until day 32.

Protocol 3. Water intake induced by subcutaneous injection of hypertonic sodium solution (2 M NaCl, 2 ml kg⁻¹) was evaluated in rats treated for 3 weeks with SERT or vehicle ($n=8$ and $n=9$, respectively). Cumulative water intake was measured for 300 min. During the acute drinking test, SERT was not present in the distilled water.

Protocol 4. The well-known dipsogenic approach based on β -adrenergic stimulation by the administration of isoproterenol (100 g kg⁻¹, s.c., immediately before water presentation) was used in rats treated for 3 weeks with SERT or vehicle ($n=7$ for each group). Thereafter, cumulative water intake was measured every 60 min for 300 min. During the acute drinking test, SERT was not present in the distilled water.

Protocol 5. Food deprivation for 24 h was used in rats treated for 21 days with SERT or vehicle ($n=6$ for each group). Water intake and urinary volume were measured daily before and after the challenge. Daily measurements were performed until day 25.

Protocol 6. Combined fluid and food deprivation was used in rats treated for 21 days with SERT or vehicle ($n=10$ for each group). The animals were maintained for 24 h with no access to water and food. On the next day, after fluid presentation, cumulative intakes of water and 0.3 M NaCl were determined for the first 300 min and 24 h after presentation.

Protocol 7. The effect of sodium depletion was evaluated in rats treated with SERT ($n=10$) or vehicle ($n=10$) for 21 days. Frusemide (20 mg kg⁻¹, s.c.) was injected 24 h before the measurements, and the animals were kept on a low-sodium diet and had access to distilled water during this period. On the day of the experiment (day 23), cumulative intakes of water and 0.3 M NaCl were determined acutely over 300 minutes.

Protocol 8. Representative groups of rats treated for 3 weeks with SERT or vehicle were decapitated. Trunk blood samples were taken, centrifuged, and plasma was collected for later determination of sodium, AVP and OT levels (SERT group, $n=10$; control group, $n=12$). At the time of collection, neither group had access to 0.3 M NaCl.

Statistical analysis

The differences in AVP and OT plasma levels, haematological data and urinary density between the

groups were determined by Student's unpaired t test. For multiple comparison, two-way analysis of variance for repeated measures (ANOVA), followed by Student–Newman–Keuls *post hoc* test was used. In all comparisons, the level of significance was set at $P \leq 0.05$.

Results

Water intake in basal conditions, haematological indices and urinary density

The basal consumption of water in SERT-treated rats was significantly lower than in the control group during the entire experimental period (e.g. 27.9 \pm 1.9 versus 42.6 \pm 2.2 ml, at the fourth week of treatment, $P < 0.0001$; Fig. 1). In the same period, the haematocrit indices in SERT-treated rats were always lower than in the control rats (e.g. 38.7 \pm 0.59 versus 42.3 \pm 0.81%, at day 28, $P < 0.0001$), as were the plasma sodium concentrations (132.9 \pm 1.5 versus 141.0 \pm 1.1 mEq l⁻¹, at day 21, $P < 0.0001$). Urinary density in the SERT-treated rats was greater than in the control rats (1.048 \pm 0.003 versus 1.004 \pm 0.003 kg l⁻¹ and 1.054 \pm 0.002 versus 1.043 \pm 0.003 kg l⁻¹, at the first and fourth week, respectively, $P < 0.05$). Body weight was slightly reduced, but not statistically lower in SERT-treated rats (372.3 \pm 5.6 versus 362.4 \pm 5.1 g at day 28).

Prior pilot tests indicate that aversion is not solely responsible for the lack of water intake in animals receiving SERT in drinking water (data not shown).

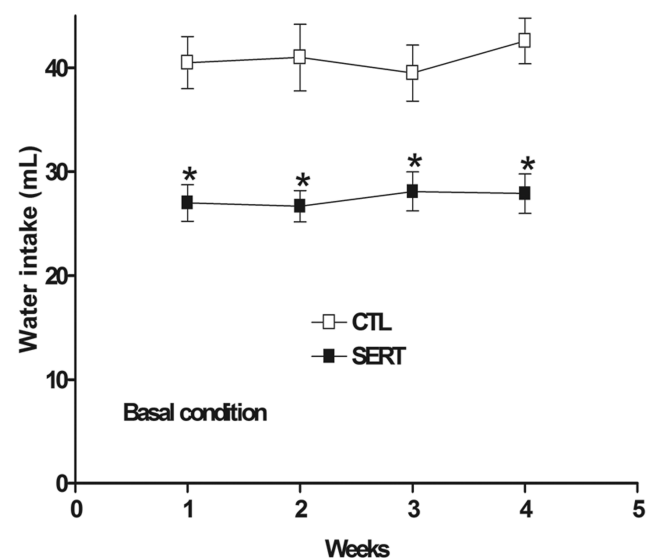
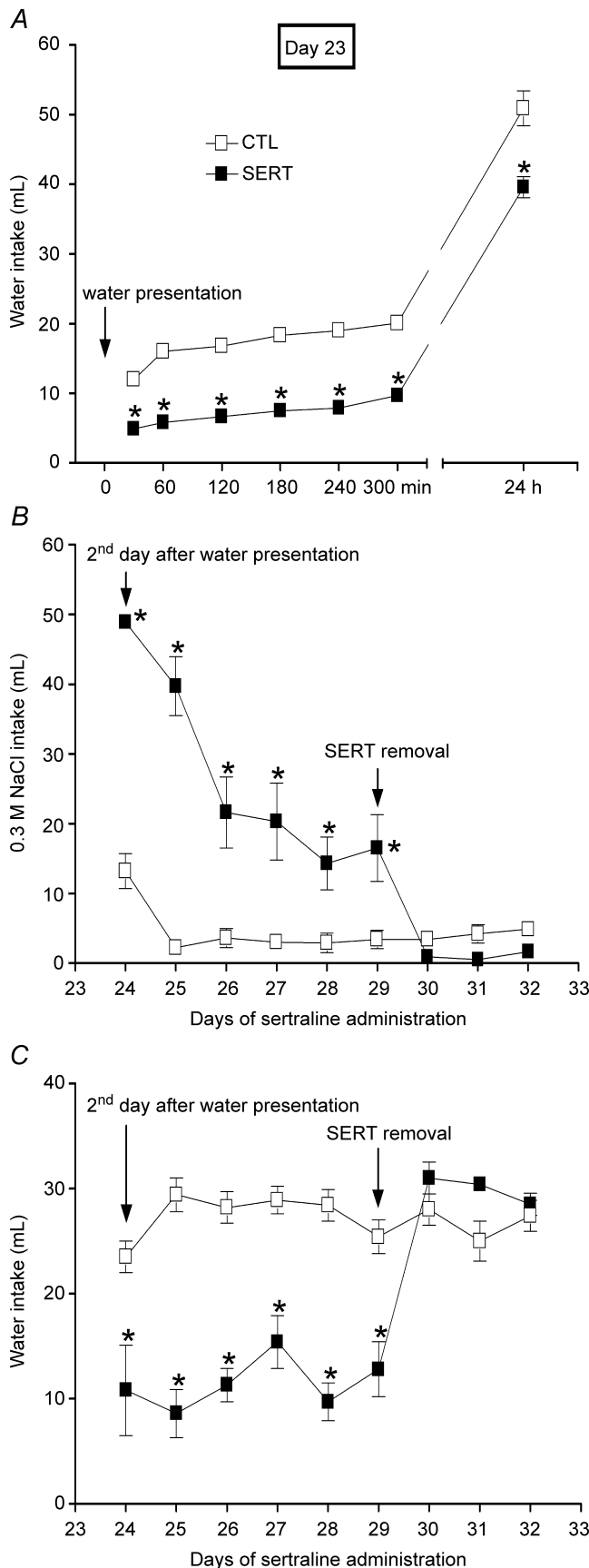


Figure 1. Basal ingestion of water in sertraline-treated rats (SERT)

Data are reported as means \pm s.e.m. * $P < 0.05$, in comparison with controls (CTL).



Water intake induced by water deprivation and subsequent natriorexigenic response

Water deprivation induced a lower dipsogenic response after 21 days of SERT treatment compared with vehicle (9.7 ± 0.5 versus 20.0 ± 0.9 ml, at 300 min, $P < 0.0001$; Fig. 2A). Nevertheless, SERT-treated rats exhibited a greater intake of 0.3 M NaCl than control animals (48.9 ± 0.7 versus 13.2 ± 2.5 ml, $P < 0.0001$) on day 24. A gradual reduction, but still higher sodium intake, was seen in SERT-treated animals until day 29, when SERT was removed from drinking water (Fig. 2B). Removal of SERT induced a decrease in saline intake to the same levels as the control animals (Fig. 2B). In the same way, water intake was decreased until day 29 in SERT-treated rats compared with control animals (12.8 ± 2.6 versus 25.4 ± 1.5 ml, $P < 0.0001$), and then returned to control values (Fig. 2C).

Water intake osmotically induced by 2 M NaCl administration

Osmotic stimulation by subcutaneous injection of hypertonic saline (2 ml kg^{-1}) induced a weaker dipsogenic response in the SERT group, which was lower than control values (2.6 ± 0.7 versus 5.6 ± 0.45 ml, at 300 min, $P < 0.0001$; Fig. 3A).

Water intake induced by β -adrenergic stimulation

β -Adrenergic stimulation produced by subcutaneous injection of isoproterenol failed to produce a dipsogenic response in SERT-treated rats, but induced a significantly higher water intake in the control group (0.8 ± 0.16 versus 6.5 ± 0.45 ml, at 300 min, $P < 0.0001$; Fig. 3B).

Water intake and water excretion during food deprivation

Food deprivation induced a reduction in water intake in both groups, but it was more powerful in the SERT group than in control rats (SERT group, day 21, 20.3 ± 2.8 ml versus day 22, 4.8 ± 0.93 ml, reduction of 76.3%, $P < 0.0004$; control group, day 21, 31.7 ± 2.44 ml versus day 22, 22.2 ± 2.96 ml, reduction of 30%, $P < 0.04$;

Figure 2. Acute water intake (A), chronic 0.3 M NaCl intake (B) and chronic water intake (C) after 24 h of water deprivation in sertraline-treated rats (SERT)

Sertraline treatment was performed for 21 days before water deprivation, and concluded on day 29. SERT was not given on the day of WD (day 22). Chronic 0.3 M NaCl and water intakes were measured daily after 0.3 M NaCl presentation (day 24). Data are reported as means \pm s.e.m. * $P < 0.05$, in comparison with controls (CTL).

Fig. 4A). On the day immediately after refeeding, water intake showed similar values in both groups; however, the SERT group returned to lower levels, which were similar to those before food deprivation. Urinary volume was always lower (antidiuretic response) in the SERT group (5.7 ± 1.3 versus 10.5 ± 1.3 ml, 24 h after food deprivation, $P < 0.05$; Fig. 4B), but it was not significantly altered by either food deprivation or refeeding.

Water and 0.3 M NaCl intake induced by deprivation of fluids and food

Twenty-four hours deprivation of fluids and food induced a lower dipsogenic response in SERT-treated rats than in controls (1.6 ± 0.5 versus 10.2 ± 1.2 ml, at 300 min, $P < 0.001$). No difference was observed in saline intake (Fig. 5A and B). Sodium preference, calculated as the ratio between the ingested volume of 0.3 M NaCl and the total fluid ingested (saline intake + water intake) was, however, higher in SERT-treated than in control rats (SERT group, 0.95 ± 0.08 ; control, 0.58 ± 0.06 , at 300 min, $P < 0.05$; data not shown).

Water and 0.3 M NaCl intake induced by sodium depletion

Sodium depletion induced a higher natriorexigenic response in SERT-treated animals (26.2 ± 2.3 versus 18.5 ± 2.5 ml of 0.3 M NaCl, at 300 min, $P < 0.03$) and a lower dipsogenic response when compared with the control group (1.2 ± 0.3 versus 5.6 ± 1.3 ml, at 300 min, $P < 0.0002$; data not shown). Although saline intake was only slightly higher in SERT-treated animals, the preference for sodium, represented by the ratio between the ingestion of 0.3 M NaCl and the total fluid ingested, was significantly higher in SERT-treated animals (SERT group, 0.97 ± 0.07 ; controls, 0.73 ± 0.06 , at 300 min, $P < 0.05$).

Plasma levels of AVP and OT

Chronic administration of SERT increased plasma levels of AVP (Fig. 6A) and OT (Fig. 6B).

Discussion

These data report, for the first time, changes in thirst and sodium appetite in SERT-treated rats in basal conditions and after osmotic/volaemic challenges. An abnormal reduction in water intake was observed in SERT-treated rats during the basal measurements. Additionally, different dipsogenic challenges produced a lower water intake in SERT-treated rats. In contrast, salt intake was higher in SERT-treated rats after most of the challenges, but most notably after water replenishment following 24 h of

water deprivation. Taken together with the hyponatraemia observed after SERT treatment, the responses observed after osmotic/volaemic challenges support the idea that SERT-treated rats are over-retaining water and/or over-excreting sodium. This may explain, at least in part, the lower basal and induced water intake and the higher induced saline intake observed in this study.

Our understanding is that the hyponatraemia observed in SERT-treated rats somehow attenuates the genesis of thirst induced by different strategies. Changes in

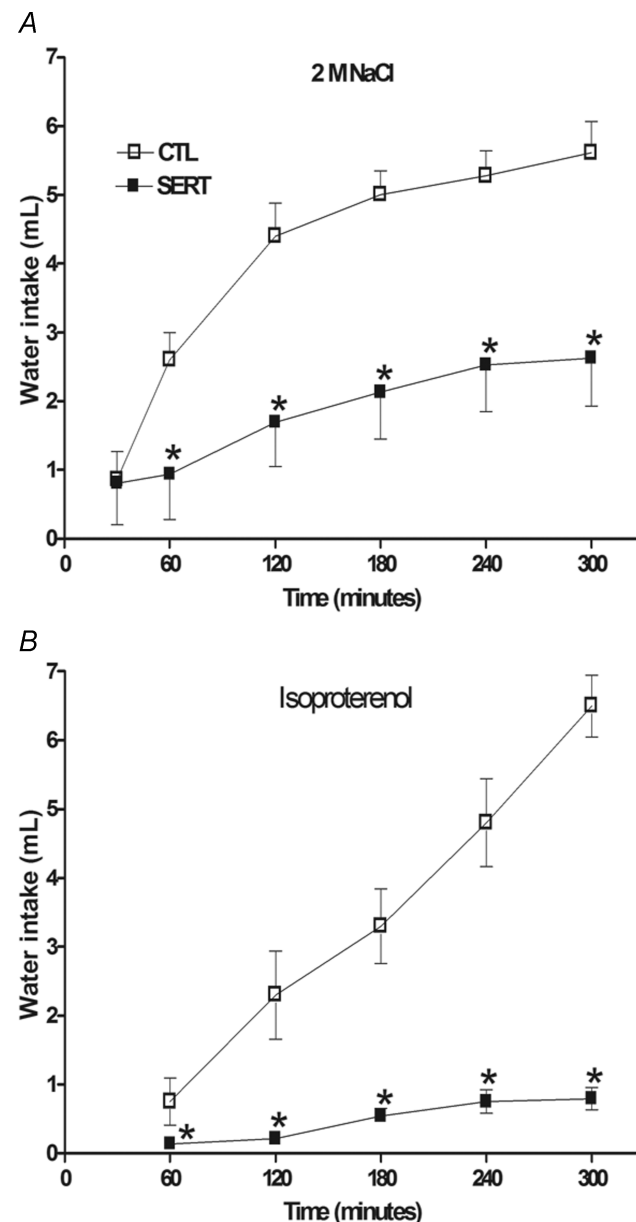


Figure 3. Ingestion of water in rats treated with sertraline for 21 days (SERT) after injection of hypertonic saline (2 M NaCl, s.c.; A) or β -adrenergic stimulation (isoproterenol, $100.0 \mu\text{g kg}^{-1}$, s.c.; B)

Data are reported as means \pm S.E.M. * $P < 0.05$, in comparison with controls (CTL).

the sensitivity of sodium-sensor neurones, as conceived elsewhere, may be hypothesized. For example, a Na^+ -sensing role has been attributed to Na_x channels present in neurones from the median preoptic nucleus (MnPO) and SFO (Voisin *et al.* 1999; Hiyama *et al.* 2002, 2004; Grob *et al.* 2004). These osmo-/sodium-sensing mechanisms initiate neuroendocrine responses, by changing the plasma levels of AVP and OT, in order to trigger a corrective water/sodium ingestive behaviour. Evidence from Hiyama *et al.* (2004) has clearly shown that SFO is at the core of the control of salt intake behaviour. Therefore, hyponatraemic

rats would express an augmented salt preference in parallel with an increased avoidance of water intake.

The recruitment of serotonergic neurones from the raphe nuclei would *per se* minimize the expression of hypodipsogenic response. Prior evidence has revealed that i.c.v. microinjections of MK212, an 5-HT_{2C} agonist, inhibit water intake induced by cholinergic, angiotensinergic and β -adrenergic stimulation (Reis *et al.* 1990*a,b*, 1992, 1994). In accord, in another study, it was demonstrated that electrolytic lesion of DRN, a serotonergic nucleus of the midbrain raphe, induced an intense dipsogenic response in rats with free access to water (Reis *et al.* 1994).

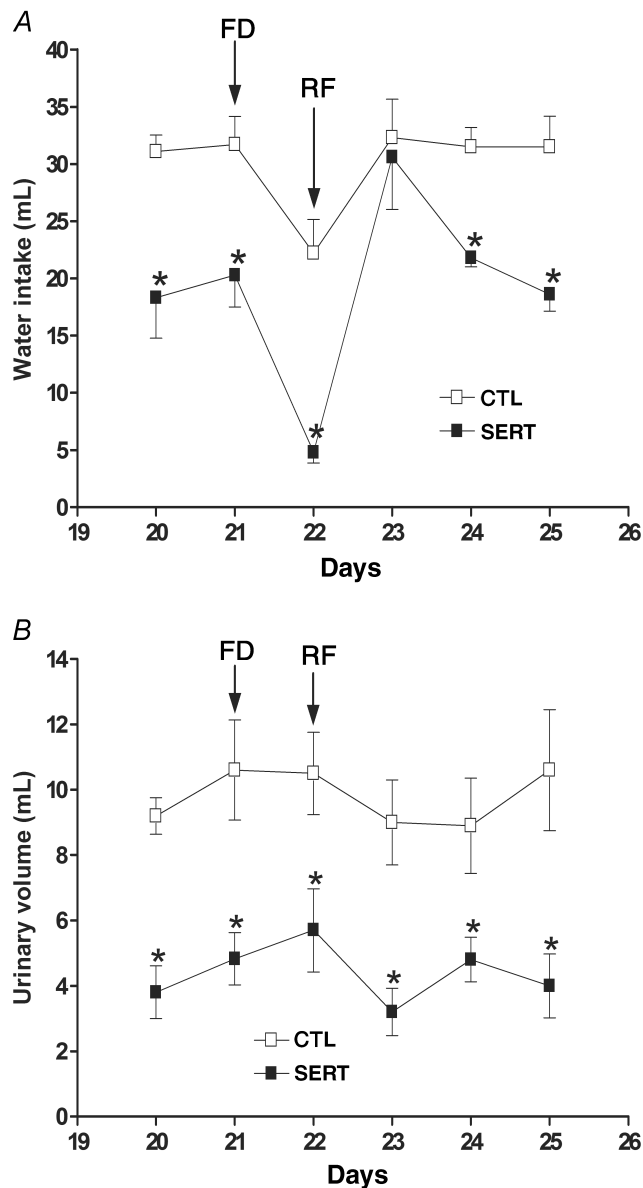


Figure 4. Ingestion of water (A) and urinary volume (B) in chronic sertraline-treated rats (SERT) after food deprivation (FD) and refeeding (RF)

Data are reported as means \pm S.E.M. * P < 0.05, in comparison with controls (CTL).

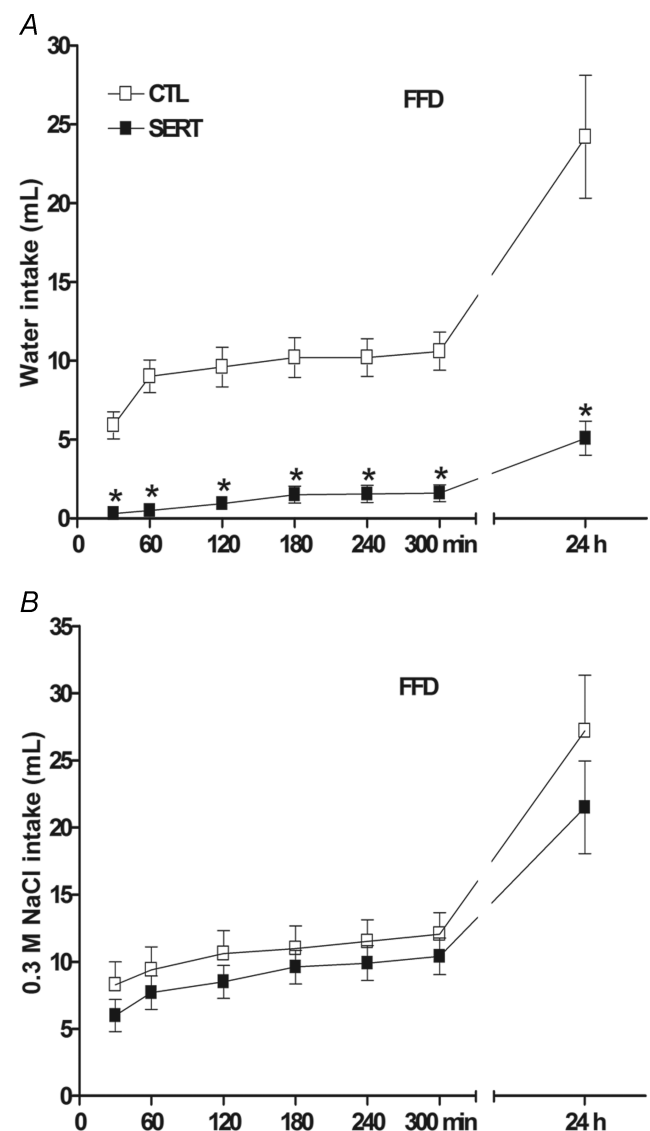


Figure 5. Ingestion of water (A) and 0.3 M NaCl (B) in rats treated with sertraline for 21 days (SERT) after 24 h deprivation of fluids and food (FFD)

Data are reported as means \pm S.E.M. * P < 0.05, in comparison with controls (CTL).

An inhibitory influence of the serotonergic system on water intake, as observed in the present study, cannot be discarded. It may be acting simultaneously with the hyponatraemia, higher plasma volume and higher AVP plasma levels observed in SERT-treated rats. Our results support data from other authors (Bradley *et al.* 1996; Girault *et al.* 1997; Kirby & Ames, 2001; Raphael & Tokeshi, 2002) in which an association between the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH) and hyponatraemia in patients under chronic SSRI treatment was observed. Only one study has shown that sertraline treatment did not cause any changes in plasma sodium levels in humans (Catalano *et al.* 2000).

The lower water intake observed in SERT-treated rats after 24 h of water deprivation may be associated with the differential efficacy of this challenge in producing equivalent dehydration in animals that have different

amounts of water in the body. However, the remarkably higher salt intake observed after water intake following 24 h of water deprivation seems to result from the effects of AVP-/SERT-related hyponatraemia and is somehow enhanced by water intake induced by water deprivation.

The SIADH represents a disorder of water retention that is characterized by hyponatraemia and inappropriate urine concentration (Verbalis, 1984; Verbalis & Gullans, 1993; Verbalis *et al.* 1995). Experimental and clinical studies have demonstrated that vasopressin V₂ receptor antagonists can correct hypervolaemic hyponatraemia observed in SIADH and congestive heart failure (Palm *et al.* 2001, 2006; Wong & Verbalis, 2001). Based on these findings, the increased free water excretion obtained after the blockade of V₂ receptors could partly attenuate the reduced water intake and the higher salt intake observed in SERT-treated rats.

Considering that hyponatraemia reduces AVP synthesis (Robinson *et al.* 1990), our results suggest that the excitatory effect of SSRI on the AVP secretion overwhelms the inhibitory action of hyposmolality. Thus, the interruption of sertraline treatment reinstated water and sodium ingestive behaviour. Both observations are correlated to data obtained by Verbalis & Gullans (1993) who have shown that hyponatraemia induced by chronic infusion of 1-deamino-[8-D-arginine]-vasopressin was reversed 24 h after agonist removal.

Acute treatments with serotonin agonist or serotonin releaser have suggested that central serotonin exerts a stimulatory role on the control of OT release (Moos & Richard, 1983; Mikkelsen *et al.* 1999; Uvnas-Moberg *et al.* 1999; Jorgensen *et al.* 2003).

Several studies have reported the involvement of central OT in the modulation of sodium intake (Blackburn *et al.* 1995; Stricker & Verbalis, 1996; Fitzsimons, 1998; Franchini *et al.* 2002; Fitts *et al.* 2003; Weisinger *et al.* 2004). In this context, it has been shown that neural OT release in SFO alters the excitability of angiotensin II-sensitive neurones. There may be a way by which OT plays a modulatory role in the control of sodium appetite (Hosono *et al.* 1999; Daniels & Fluharty, 2004). Moreover, admittedly based on little evidence, we believe that this inhibitory effect exerted by oxytocinergic neurones on sodium intake may be regulated, at least in part, by serotonergic neurones. Data obtained by Franchini *et al.* (2002), in which they showed the activation of midbrain serotonergic and PVN oxytocinergic neurones after depletion-induced sodium intake, reinforces this hypothesis.

In this study, we observed that SERT treatment increases OT plasma concentration and ‘paradoxically’ enhances sodium intake induced by different challenges. We did not measure central OT activity, but studies performed by Stricker, Verbalis and colleagues have suggested that circulating levels of OT are markers for central OT activity. The authors suggest that peripheral and central OT act in

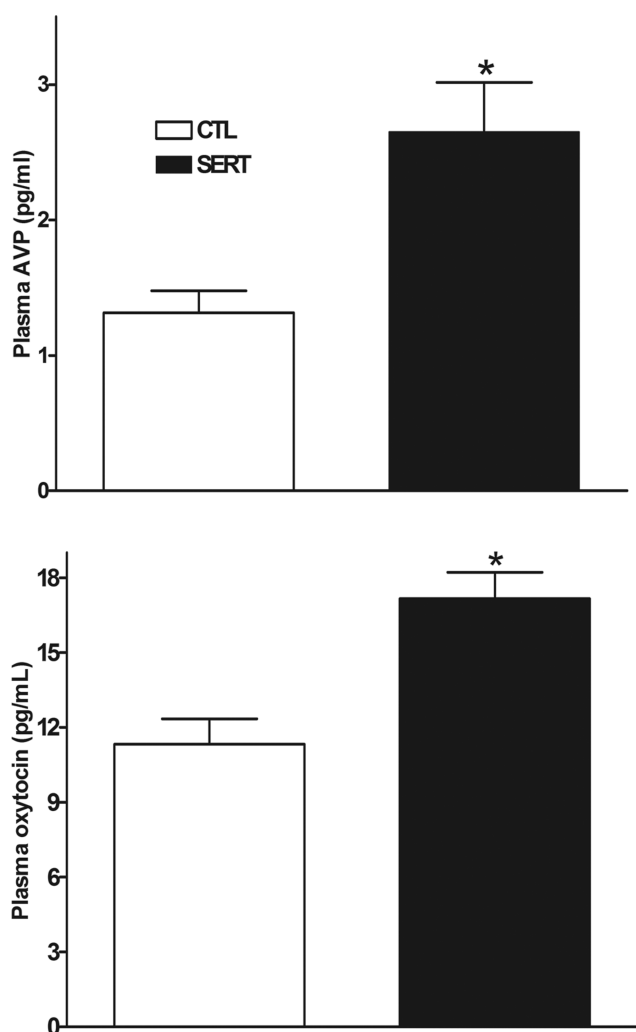


Figure 6. Plasma levels of vasopressin (A) and oxytocin (B) in rats treated with sertraline for 21 days (SERT) with free access to drinking water

Data are reported as means ± S.E.M. * $P < 0.05$, in comparison with controls (CTL).

concert to produce a negative sodium balance (see Verbalis *et al.* 1995*a,b*; Stricker & Verbalis, 1996). Although we agree with this concept, we suggest that the higher sodium intake observed in SERT-treated rats is caused by the hyponatraemic effects determined by AVP-related water retention together with OT-related natriuresis, which is a recognized effect of peripheral OT, especially after hypertonic expansion of the extracellular fluid (Soares *et al.* 1999; Antunes-Rodrigues *et al.* 2004). Moreover, a study performed by Verbalis *et al.* (1991) demonstrated that OT antagonist treatment blocked the natriuretic effect of physiological concentrations of OT.

Our understanding, based on the present information obtained here, is that the chronic sertraline treatment and/or the expanded plasma volume could primarily explain the elevated OT plasma level observed in this experiment. Increased plasma levels of OT, associated with increased water retention elicited by high plasma levels of AVP, can work together in order to intensify the hyponatraemic status and subsequent natriorexigenic response. This peripheral signal may somehow be triggering stimulatory mechanisms that overwhelm the recognized inhibitory role of central OT and serotonin in the control of sodium intake, in order to restore the plasma sodium concentration.

In conclusion, we suggest that, in contrast to the recognized inhibitory effects of central OT as well as central serotonergic mechanisms in the control of sodium intake, the reduced water intake and increased sodium intake observed in SERT-treated rats are result from the hyponatraemia generated by the inappropriate secretion of AVP and OT. Additionally, the present data alert us to be aware of the risk of iatrogenic induction of a severe hyponatraemia in patients submitted to chronic treatment with SSRI, particularly when combined with diuretic therapy.

References

- Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL, Valenca MM & McCann SM (2004). Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiol Rev* **84**, 169–208.
- Badaue-Passos D Jr, Ventura RR, Silva LF, Olivares EL & Reis LC (2003). Effect of brain serotonergic stimulation on sodium appetite of euthyroid and hypothyroid rats. *Exp Physiol* **88**, 251–260.
- Blackburn RE, Samson WK, Fulton RJ, Stricker EM & Verbalis JG (1995). Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **269**, R245–R251.
- Blier P & Ward NM (2003). Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry* **53**, 193–203.
- Bradley ME, Foote EF, Lee EN & Merkle L (1996). Sertraline-associated syndrome of inappropriate antidiuretic hormone: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* **16**, 680–683.
- Castro L, Athanazio R, Barbeta M, Ramos AC, Angelo AL, Campos I, Varjao B, Ferreira H, Fregoneze J & de Castro e Silva E (2003). Central 5-HT_{2B/2C} and 5-HT₃ receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. *Brain Res* **981**, 151–159.
- Catalano MC, Catalano G, Kanfer SN, Toner LC, Stock SL & Taylor WD (2000). The effect of sertraline on routine blood chemistry values. *Clin Neuropharmacol* **23**, 267–270.
- Cavalcante-Lima HR, Badaue-Passos D Jr, de-Lucca W Jr, Lima HR, Costa-e-Sousa RH, Olivares EL, Cedraz-Mercez PL, Reis RO, Medeiros MA, Cortes WS & Reis LC (2005*a*). Chronic excitotoxic lesion of the dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. *Braz J Med Biol Res* **38**, 1669–1675.
- Cavalcante-Lima HR, Lima HR, Costa-e-Sousa RH, Olivares EL, Cedraz-Mercez PL, Reis RO, Badaue-Passos D Jr, De-Lucca W Jr, de Medeiros MA, Côrtes Wda S & Reis LC (2005*b*). Dipsogenic stimulation in ibotenic DRN-lesioned rats induces concomitant sodium appetite. *Neurosci Lett* **374**, 5–10.
- Daniels D & Fluharty SJ (2004). Salt appetite: a neurohormonal viewpoint. *Physiol Behav* **81**, 319–337.
- Elias LL, Antunes-Rodrigues J, Elias PC & Moreira AC (1997). Effect of plasma osmolality on pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide changes in central diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* **82**, 1243–1247.
- Fitts DA, Thornton SN, Ruhf AA, Zierath DK, Johnson AK & Thunhorst RL (2003). Effects of central oxytocin receptor blockade on water and saline intake, mean arterial pressure, and c-fos expression in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **285**, R1331–R1339.
- Fitzsimons JT (1998). Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev* **78**, 583–686.
- Franchini LF, Johnson AK, de Olmos J & Vivas L (2002). Sodium appetite and Fos activation in serotonergic neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **282**, R235–R243.
- Girault C, Richard JC, Chevron V, Goullé JP, Droy JM, Bonmarchand G & Leroy J (1997). Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone in two elderly women with elevated serum fluoxetine. *J Toxicol Clin Toxicol* **35**, 93–95.
- Gourion D, Perrin E & Quintin P (2004). Fluoxetine: An update of its use in major depressive disorder in adults [in French]. *Encephale* **30**, 392–399.
- Grob M, Drolet G & Mouginot D (2004). Specific Na⁺ sensors are functionally expressed in a neuronal population of the median preoptic nucleus of the rat. *J Neurosci* **24**, 3974–3984.
- Hensler JG (2003). Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Sci* **72**, 1665–1682.
- Hiyama TY, Watanabe E, Okado H & Noda M (2004). The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Na_x sodium channels for the control of salt-intake behavior. *J Neurosci* **24**, 9276–9281.
- Hiyama TY, Watanabe E, Ono K, Inenaga K, Tamkun MM, Yoshida S & Noda M (2002). Na_x channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nat Neurosci* **5**, 511–512.

- Hosono T, Schmid HA, Kanosue K & Simon E (1999). Neuronal actions of oxytocin on the subfornical organ of male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **276**, E1004–E1008.
- Jorgensen H, Riis M, Knigge U, Kjaer A & Warberg J (2003). Serotonin receptors involved in vasopressin and oxytocin secretion. *J Neuroendocrinol* **15**, 242–249.
- Kirby D & Ames D (2001). Hyponatraemia and selective serotonin re-uptake inhibitors in elderly patients. *Int J Geriatr Psychiatry* **16**, 484–493.
- Larsen PJ, Hay-Schmidt A, Vrang N & Mikkelsen JD (1996). Origin of projections from the midbrain raphe nuclei to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat: a combined retrograde and anterograde tracing study. *Neuroscience* **70**, 963–988.
- Le Poul E, Laaris N, Doucet E, Laporte AM, Hamon M & Lanfumey L (1995a). Early desensitization of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors in rats treated with fluoxetine or paroxetine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **352**, 141–148.
- Le Poul E, Lima L, Laporte AM, Even C, Doucet E, Fattaccini CM, Laaris N, Hamon M & Lanfumey L (1995b). Central serotonin receptors and chronic treatment with selective serotonin reuptake inhibitors in the rat: comparative effects of fluoxetine and paroxetine [in French]. *Encephale* **21**, 123–132.
- Lima HR, Cavalcante-Lima HR, Cedraz-Mercez PL, Costa-E-Sousa RH, Olivares EL, Badaué-Passos D Jr, Medeiros MA, Côrtes WS & Reis LC (2004). Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or β -adrenergic stimulation. *An Acad Bras Cienc* **76**, 85–92.
- Marar IE & Amico JA (1998). Vasopressin, oxytocin, corticotrophin-releasing factor, and sodium responses during fluoxetine administration in the rat. *Endocrine* **8**, 13–18.
- Menani JV, Barbosa SP, De Luca LA Jr, De Gobbi JI & Johnson AK (2002). Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus and cholinergic-induced sodium appetite. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **282**, R837–R841.
- Menani JV, Colombari DS, Beltz TG, Thunhorst RL & Johnson AK (1998a). Salt appetite: interaction of forebrain angiotensinergic and hindbrain serotonergic mechanisms. *Brain Res* **801**, 29–35.
- Menani JV, De Luca LA Jr & Johnson AK (1998b). Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **274**, R555–R560.
- Menani JV, Thunhorst RL & Johnson AK (1996). Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **270**, R162–R168.
- Mikkelsen JD, Jensen JB, Engelbrecht T & Mork A (1999). D-Fenfluramine activates rat oxytocinergic and vasopressinergic neurons through different mechanisms. *Brain Res* **851**, 247–251.
- Moos F & Richard P (1983). Serotonergic control of oxytocin release during suckling in the rat: opposite effects in conscious and anesthetized rats. *Neuroendocrinology* **36**, 300–306.
- Neill JC & Cooper SJ (1989). Selective reduction by serotonergic agents of hypertonic saline consumption in rats: evidence for possible 5-HT_{1C} receptor mediation. *Psychopharmacology (Berl)* **99**, 196–201.
- Olivares EL, Costa-E-Sousa RH, Cavalcante-Lima HR, Lima HR, Cedraz-Mercez PL & Reis LC (2003). Effect of electrolytic lesion of the dorsal raphe nucleus on water intake and sodium appetite. *Braz J Med Biol Res* **36**, 1709–1716.
- Palm C, Pistrosch F, Herbrig K & Gross P (2006). Vasopressin antagonists as aquaretic agents for the treatment of hyponatremia. *Am J Med* **119** (7 Suppl. 1), S87–S92.
- Palm C, Reimann D & Gross P (2001). The role of V₂ vasopressin antagonists in hyponatremia. *Cardiovasc Res* **51**, 403–408.
- Raphael K & Tokeshi J (2002). Hyponatremia associated with sertraline and fluoxetine: a case report. *Hawaii Med J* **61**, 46–47.
- Reis LC, Ramalho MJ & Antunes-Rodrigues J (1990a). Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by water deprivation: effect of a serotonergic agonist (MK-212) administered intracerebroventricularly. *Braz J Med Biol Res* **23**, 1335–1338.
- Reis LC, Ramalho MJ & Antunes-Rodrigues J (1990b). Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by angiotensin II and carbachol in normally hydrated rats: effect of intracerebroventricular injection of MK-212. *Braz J Med Biol Res* **23**, 1339–1342.
- Reis LC, Ramalho MJ & Antunes-Rodrigues J (1992). Brain serotonergic stimulation reduces the water intake induced by systemic and central β -adrenergic administration. *Braz J Med Biol Res* **25**, 529–536.
- Reis LC, Ramalho MJ, Favaretto AL, Gutkowska J, McCann SM & Antunes-Rodrigues J (1994). Participation of the ascending serotonergic system in the stimulation of atrial natriuretic peptide release. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 12022–12026.
- Robinson AG, Roberts MM, Evron WA, Verbalis JG & Sherman TG (1990). Hyponatremia in rats induces downregulation of vasopressin synthesis. *J Clin Invest* **86**, 1023–1029.
- Rouah-Rosilio M, Orosco M & Nicolaidis S (1994). Serotonergic modulation of sodium appetite in the rat. *Physiol Behav* **55**, 811–816.
- Sawchenko PE, Swanson LW, Steinbusch HW & Verhofstad AA (1983). The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Brain Res* **277**, 355–360.
- Saydoff JA, Rittenhouse PA, van de Kar LD & Brownfield MS (1991). Enhanced serotonergic transmission stimulates oxytocin secretion in conscious male rats. *J Pharmacol Exp Ther* **257**, 95–99.
- Scroggin KE, Johnson AK & Schmid HA (1998). Multiple receptor subtypes mediate the effects of serotonin on rat subfornical organ neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **275**, R2035–R2042.
- Soares TJ, Coimbra TM, Martins AR, Pereira AG, Carnio EC, Branco LG, Albuquerque-Araujo WI, de Nucci G, Favaretto AL, Gutkowska J, McCann SM & Antunes-Rodrigues J (1999). Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 278–283.

- Steardo L & Iovino M (1986). Vasopressin release after enhanced serotonergic transmission is not due to activation of the peripheral renin-angiotensin system. *Brain Res* **382**, 145–148.
- Stricker EM & Verbalis JG (1996). Central inhibition of salt appetite by oxytocin in rats. *Regul Pept* **66**, 83–85.
- Uvnas-Moberg K, Bjokstrand E, Hillegaard V & Ahlenius S (1999). Oxytocin as a possible mediator of SSRI-induced antidepressant effects. *Psychopharmacology (Berl)* **142**, 95–101.
- Ventura RR, Giusti-Paiva A, Gomes DA, Elias LL & Antunes-Rodrigues J (2005). Neuronal nitric oxide synthase inhibition differentially affects oxytocin and vasopressin secretion in salt loaded rats. *Neurosci Lett* **379**, 75–80.
- Verbalis JG (1984). An experimental model of syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **247**, E540–E553.
- Verbalis JG, Adler S, Hoffman GE & Martinez AJ (1995a). Brain adaptation to hyponatremia: physiological mechanisms and clinical implications. In *Neurohypophysiology*, ed. Saito T, Kurokawa K & Yoshida S, pp. 615–626. Elsevier, Amsterdam.
- Verbalis JG, Blackburn RE, Hoffman GE & Stricker EM (1995b). Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. *Adv Exp Med Biol* **395**, 209–225.
- Verbalis JG & Gullans SR (1993). Rapid correction of hyponatremia produces differential effects on brain osmolyte and electrolyte reaccumulation in rats. *Brain Res* **606**, 19–27.
- Verbalis JG, Mangione MP & Stricker EM (1991). Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. *Endocrinology* **128**, 1317–1322.
- Voisin DL, Chakfe Y & Bourque CW (1999). Coincident detection of CSF Na⁺ and osmotic pressure in osmoregulatory neurons of the supraoptic nucleus. *Neuron* **24**, 453–460.
- Weisinger RS, Blair-West JR, Chen N, Burns P & Weisinger HS (2004). Neurobiology of Sodium appetite. In *Neurobiology of Food and Fluid Intake*, ed. Stricker E & Woods S, pp. 545–585. Kluwer Academic, Plenum Publishers, New York.
- Wong LL & Verbalis JG (2001). Vasopressin V2 receptor antagonists. *Cardiovasc Res* **51**, 391–402.

Acknowledgements

We are indebted to Dr Connie Grobe for help with translation issues and Mr Ipojuca Pereira de Souza for animal care. This research was partly supported by Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).