

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SISTEMA SEROTONINÉRGICO ENVOLVIDO NA FEBRE
INDUZIDA POR LPS NO LOCUS COERULEUS**

Alexandre Oliveira Fernandes da Silva

Ribeirão Preto

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Sistema Serotoninérgico Envolvido na Febre
Induzida por LPS no Locus Coeruleus

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas.

Aluno: Alexandre Oliveira Fernandes da Silva

Orientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme de Siqueira Branco

Ribeirão Preto

2006

Esta dissertação é dedicada a todos que de alguma forma participaram direta ou indiretamente, desta minha breve incursão à atividade científica.

“Os experimentos realizados em nossos laboratórios apenas suplementam o que aconteceram, e ainda acontecem, na natureza, e os seus resultados devem ser forjados na mesma oficina”.

E. B.

Wilson

“Estudai problemas não períodos”.

Lord

Acton

Hammel cast a house thermostat on the front desk and said: “Show me a thermostat that is not adjustable!”

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Washington, Maria Luisa (*in memoriam*) e Rosana, por todo apoio instrucional irrestrito para a vida.

Aos meus irmãos camaradas, André e Matheus, estejam eles próximos ou distantes que tenham eles sorte das grandes.

Às anciãs, avós minha, Helena que não é de barro, mas é Cimento e Carmita que fala, mas não apita.

A todos os demais parentes que tenho sorte em ter e, poder mais do que nunca vivenciá-los, em especial aos professores, por ter certa participação na minha formação e neste trabalho.

À minha namorada, Déborah, lá ou cá sempre me apoiou com muito carinho e amor.

Ao Prof^o Dr. Luiz Guilherme Branco, meu orientador, que me acolheu disponibilizando além de ótimas condições de trabalho, atenção e até diversão.

Aos colegas de laboratório Camila, Carol, Giovani, Kênia, Maria Ida, Luciane, Mirela, Renata, Tatiane e Valéria, além das meninas de Jaboticabal que me aturaram e comigo trabalharam, conversaram, conviveram e festejaram, obrigado pela amizade.

Ao Gustavo, em especial à Lidiane, ao Mauro, pela amizade e excelente apoio técnico prestado.

Aos colegas pós-graduandos do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pelo companheirismo adotado durante o glorioso “Cursão”.

Aos funcionários e professores do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e sua comissão de Pós-Graduação.

Aos amigos, em especial ao Neura e ao Charle, pois sem tê-los conhecidos a concretização deste pareceria mais laboriosa.

A FAPESP que em adição ao meu pai concedeu apoio financeiro e prestou importantes considerações para o desenvolvimento do projeto.

1. Resumo

1. RESUMO

A temperatura corporal (Tc) é um dos principais sinais vitais. Ela é monitorada clinicamente durante intervenções cirúrgicas e internações. Informações da Tc e da temperatura ambiente são processadas na área pré-óptica anteroventral (AVPO) e hipotálamo anterior (HA) e destas regiões partem as vias que geram respostas que modulam o ganho/conservação e perda de calor. Estas respostas são ativadas por estímulos específicos e as vias são independentes umas das outras. Este estudo tem como proposta testar a hipótese de que receptores serotoninérgicos do (*locus coeruleus*) LC fazem parte da via termogênica eferente durante a eutermia e a febre induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Para alcançar este objetivo foram utilizados antagonistas dos receptores 5-HT_{1A} (WAY-100635; 3 µg/100 nL) e 5-HT_{2A} (ketanserina; 2 µg/100 nL) microinjetados no LC e monitoramento da temperatura corporal (Tc) por biotelemetria. As respostas febris observadas após injeção intraperitoneal (i.p.) de LPS apresentaram características bifásica em relação às doses administradas. Microinjeções de WAY-100635 no LC não alterou a temperatura dos animais durante o estado eutérmico nem a febre em resposta ao LPS. O antagonista ketanserina administrado no LC não interferiu na Tc dos animais na eutermia, porém o antagonista dos receptores 5-HT_{2A} aboliu a primeira fase da resposta febril causada por LPS. Em suma os resultados indicam que a serotonina agindo em receptores 5-HT_{2A} do LC age na via pirogênica efetora responsável pela termogênese durante a primeira fase da resposta febril ao LPS.

2. Summary

2. SUMMARY

This study was aimed at testing the hypothesis that serotonergic receptors in the *Locus coeruleus* (LC) play a role in bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced fever and euthermic state. To this end, 5-HT_{1A} (WAY-100635; 3 µg/100 nl) and 5-HT_{2A} (ketanserin; 2 µg/100 nl) antagonists were microinjected into the LC and body temperature (T_b) was monitored by biotelemetry. Intra-LC microinjections of WAY-100635 caused no change in T_b of euthermic animals neither in fevers ones. 5-HT_{2A} antagonist abolished the first phase of the LPS-induced fever but produce any change in the standart T_b. Taken together, these results indicate that serotonin acting on 5-HT_{2A} receptors in the LC mediates the first phase of the febrile response.

3. Introdução

3. INTRODUÇÃO

A existência da vida, sua história e seu futuro são totalmente dependentes da temperatura ambiente (T_a). A vida ativa dos animais limita-se a uma estreita faixa térmica, entre o ponto de congelamento da água (aproximadamente 0°C) e aproximadamente 50°C (Shmidt-Nielsen, 2002).

Na maioria dos animais distribuídos pela escala filogenética a temperatura corporal interna (T_c) acompanha de forma predominantemente passiva as variações da T_a (pepilotermia/ ectotermia). Esse, porém não é o caso dos mamíferos (e aves), objeto deste estudo, que com despendio energético endógeno mantém sua T_c praticamente constante (homeotermia/ endotermia) utilizando para termorregulação mecanismos autonômicos e comportamentais (Shmidt-Nielsen, 2002).

Processos fisiológicos vitais como função enzimática (Lenhinger, 2000), atividade neuronal (Aihara *et al.*, 2001) e imunológica (Wenisch *et al.*, 1996) e contratibilidade muscular (Wasserstrom & Vites, 1999) dependem para seu ótimo funcionamento, de uma adequada temperatura. Como, T_c e T_a geralmente são distintas, os animais homeotérmicos pagam o preço do gasto metabólico aumentado para conformar, de forma apropriada, a constância da primeira em relação à variação da segunda.

Dentro da homeotermia são conhecidos padrões de variações térmicas, fisiológicas e fisiopatológicas. Por exemplo, no ciclo circadiano e em períodos de torpor ou hibernação observa-se mudanças na T_c que lhes são características. Em processos infecciosos uma das primeiras alterações clínicas observáveis é a febre, e em certos casos de infecção generalizada, hipotermia.

Vale ressaltar que os termos homeotérmico e endotérmico, não são necessariamente sinônimos, assim como também não os são pepilotérmico e ectotérmico; pois os termos

poecilotérmicos e homeotérmicos referem-se à variação da temperatura corporal, e ectotérmico e endotérmico à origem da energia térmica. Portanto há indivíduos ectotérmicos que são homeotérmicos, caso dos peixes árticos ou abissais e endotérmicos que são heterotérmicos, como os indivíduos que hibernam ou entram em torpor (Shmidt-Nielsen, 2002).

3.1. MANUTENÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL

A manutenção da T_c pelos mamíferos é obtida pela ação de um sistema regulado, que diferentemente de sistemas abertos, não troca energia com o ambiente apenas de forma passiva. A resposta do sistema regulado se opõe às perturbações externas, numa dada faixa de variação, e através de um controle mantém a constância térmica. A temperatura constante é possível desde que a quantidade de calor perdido seja a mesma do calor ganho e produzido, ou seja, quando o balanço térmico for zero (Cabanac, 2006). Os mecanismos pelos quais os mamíferos alteram o balanço térmico em favor da manutenção da T_c são autonômicos e comportamentais e podem ser ativos ou passivos. Toda troca de calor do organismo com o ambiente, deriva da primeira Lei de Newton seja por condução, radiação ou convecção e acontece de forma passiva. Os mecanismos de controle da T_c (comportamentais e autonômicos) influenciam de forma ativa na intensidade pela qual o movimento energético passivo acontecerá (Gordon, 1990).

Os mecanismos termorregulatórios comportamentais são amplamente difundidos na escala filogenética, sendo uma resposta integrada paradigmática realizada de corpo inteiro pelo organismo (Cabanac, 2006). Comparado com o mecanismo autonômico é uma alternativa mais econômica, pois é baseado em princípios físicos passivos dependentes da procura por um ambiente mais quente ou mais frio, e também, portanto das sensações de

frio e calor (Cabanac, 1998). Entre as alternativas comportamentais individuais lista-se, mudanças posturais, banhos, “grooming”, locomoção, ingestão alimentar, e como alternativas coletivas, os agrupamentos, que no caso dos neonatos constitui a principal maneira de termorregular (Gordon, 1990).

Os mecanismos autonômicos são utilizados ativamente pelos animais endotérmicos para conservar e produzir calor ou para aumentar a perda de calor corpóreo. Tais mecanismos adicionam-se à produção basal de calor gerado pelo metabolismo. Como mecanismos de produção de calor pode-se elencar a atividade muscular, a termogênese por tremor, e termogênese sem tremor realizada pelo tecido adiposo marrom. O tecido adiposo marrom é encontrado nos mamíferos neonatos, persistente nos roedores, e está especialmente relacionado com a termorregulação. Como forma de evitar perda de calor aumenta-se o tônus vasomotor periférico e ocorre piloereção. Para incremento da perda de calor, observa-se vasodilatação periférica e sudorese ou ofegação (Nagashima *et al.*, 2000). A sudorese e a ofegação, em caso de T_a maior que T_c , são os únicos mecanismos efetivos, pois nesta condição não há perda de calor do organismo para o meio pelas trocas newtonianas, salvo através desta condição evaporativa (Branco *et al.*, 2004). No presente estudo, a T_a foi mantida constante a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sendo, portanto os mecanismos autonômicos os principais responsáveis pelo controle da T_c uma vez que através de alterações no comportamento os animais não poderiam alcançar um ambiente mais quente. Ainda sim, isoladamente, os ratos tinham como aumentar a conservação de calor por mudanças posturais, mas não a produção de calor.

A sensibilidade térmica externa é captada por fibras nervosas cutâneas, amielínicas do tipo C, denominadas termorreceptores periféricos. Estes termorreceptores podem ser sensíveis ao resfriamento ou ao aquecimento, e são caracterizados de acordo com a

condição em que têm a sua atividade aumentada. Existem termorreceptores periféricos espalhados por diversas áreas internas do organismo como os torácicos, além dos espinhais e os localizados no bulbo. São estes termorreceptores que detectam as informações sobre Tc, que serão encaminhadas até os centros que processam informações térmicas e geram a resposta apropriada com a finalidade de manter a Tc constante frente às variações da Ta (Boulant & Hardy, 1974; Boulant, 2000, Mercer & Simon, 2001).

Vias somatossensoriais levam a informação obtida na periferia até as áreas integrativas do sistema nervoso central (SNC). O trajeto da sensibilidade térmica é feito através do corno dorsal da medula espinhal, seguindo pelo trato espinotalâmico lateral até o tálamo ventrobasal que se irrompe no córtex somatosensorial primário. No entanto ainda não é através destes trajetos aferentes que a Tc é regulada. Esta tarefa é realizada com a integração das informações aferentes sobre a temperatura média a partir de informações advindas de grandes áreas corpóreas, superficiais e internas, convergidas para a formação reticular do tronco encefálico e de lá enviadas para área pré-óptica (POA, Boulant, 1998). No SNC, também são encontrados termorreceptores que enviam para a POA informações térmicas a serem integradas. Estes receptores estão localizados na medula espinhal, bulbo, formação reticular e na própria POA (Boulant & Hardy, 1974; Boulant, 2000, Simon, 2000). Além destes receptores centrais, núcleos hipotalâmicos como o dorsomedial, ventromedial e paraventricular estão interpostos entre a atividade da POA e as respostas dos órgãos termorregulatórios. Estes núcleos hipotalâmicos desempenham atividades cruciais para a manutenção da Tc (DiMicco & Zaretsky, 2006; Ranelis & Griffin, 2003; Monda *et al.*, 1997).

A faixa de temperatura, em torno da qual a Tc é regulada é denominada *set point*. Este é um termo ‘emprestado’ da engenharia, que apesar de muita controvérsia entre

pesquisadores da área de termorregulação, muitos trabalhos que o adota foram publicados neste ano. Mesmo contendo algumas possíveis inconsistências é um bom modelo para explicar este tipo de sistema regulado. J. D. Hardy, em 1965, foi quem aplicou este conceito pela primeira vez, com esta função, H. T. Hummel, durante a década de sessenta refinou esta noção com a descrição do *set point* ajustável. O *set point* pode ser definido como informação determinada por sinais externos, para a qual a variável regulada é comparada ou pode ser determinada por características estruturais do próprio sistema. No caso da termorregulação, a T_c é comparada ao *set point* “desejado” pelo organismo (Cabanac, 2006), que é o valor defendido pela regulação. Qualquer T_c que estiver fora da faixa compreendida pelo *set point* gera uma mensagem de erro ativando mecanismos efetores compensatórios para aumentar ou diminuir a T_c e compensar o erro (*Figura 1*; Gordon, 2000). A capacidade de regular a T_c com o *set point* depende da sensação térmica, integração e resposta termorregulatória adequada (Boulant, 1998).

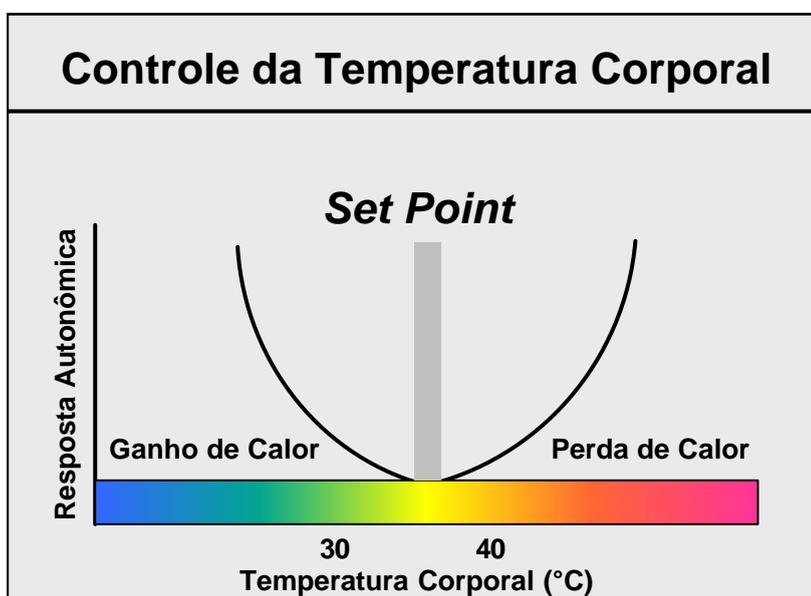


Figura 1. Relação entre a variação da T_c fora da faixa do *set point* e a atividade dos mecanismos termorregulatórios efetores.

A Tc, uma vez processada pelo SNC (POA), gera respostas que recrutam determinados efetores autonômicos e inibem outros de acordo com o limiar de ativação de cada um. Além dos diferentes limiares de ativação dos órgãos envolvidos na termorregulação, existem também vias neurais e neuromodulação próprias, portanto são controlados de maneira independente (Mercer & Simon, 2001, Nagashima *et al.*, 2000). Como resultado deste processo tem-se a manutenção da Tc dentro da faixa de temperatura compreendida pelo *set point*.

O estudo da ação dos neurotransmissores no SNC, no controle da Tc, tem sido vastamente investigado há pelo menos quarenta anos. Mediadores como adenosina (Barros e Branco, 2000), óxido nítrico (NO, Branco *et al.*, 1997; Barros *et al.*, 1998; Steiner *et al.*, 1998, Fabris *et al.*, 1999), ácido gama-amino-butírico (GABA), serotonina (Cox & Lomax, 1977, Zeisberger, 1986) e monóxido de carbono (CO, Steiner *et al.*, 1999, 2000) glutamato, arginina vasopressina (Paro *et al.*, 2002), participam do controle central da Tc. Nesses experimentos, o SNC foi acessado pelos ventrículos cerebrais, ou mais recentemente, através de núcleos específicos como *locus coeruleus* (LC; Fabris *et al.*, 1999, Fabris *et al.*, 2000, Almeida *et al.*, 2004 e Ravanelli, *et al.*, 2006) e área pré-óptica (Steiner, 2002) como meio de obter informações mais detalhadas sobre a função de cada núcleo. Nestes estudos foram utilizadas microinjeções e lesões.

3. 2. FEBRE

Além da sua importância histórica para a medicina, a febre é um importante sintoma clínico, e de aferição fácil e barata. Fisiologicamente, a febre pode ser definida como um aumento regulado da Tc ou do *set point*, devido ao aumento da conservação e produção de calor e diminuição da perda de calor (Blatteis, 1998; Kluger, 1991; Saper & Breder, 1994).

Os imunologistas preferem defini-la como uma resposta sintomática que acompanha um processo infeccioso ou outras doenças (Zeisberger, 1999). Observada de protozoários (*Paramecium caudatum*, Malvin & Wood, 1992) a mamíferos, é uma resposta largamente distribuída pela escala filogenética (Kluger, 1991). Suas características benéficas são observadas em diversos experimentos que associam a febre com uma maior sobrevivência em caso de infecções (Bernheim & Kluger, 1976; Kluger *et al.*, 1975; Kluger, 1991).

Diversos são os agentes causadores da febre. Protozoários, bactérias, fungos, vírus, componentes bacterianos (lipopolissacarídeo, muramildipeptídeo), peptídeos, esteróides, estresse, independente da etimologia, a febre é considerada uma resposta estereotipada (Saper & Breder, 1994; Netea *et al.*, 2000). Porém com os avanços experimentais e refinamentos de técnicas tornou-se evidente a dependência multifatorial sobre as características da resposta febril. O agente causador, a quantidade infectante (dose), a via pela qual o pirógeno invade o organismo e temperatura ambiente são fatores que influenciam o panorama da resposta febril (Conrad *et al.*, 1997; Rudaya *et al.*, 2005). Em pesquisas laboratoriais o pirógeno mais amplamente utilizado é o lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa da parede celular de bactérias Gram-negativas, que gera resposta inflamatória com conseqüente febre (Romanovsky, 2005).

O LPS é composto por moléculas de polissacarídeos, lipídeos e proteínas, cuja fração mais virulenta é denominada de Lipídeo A, sendo este último componente o responsável pela citotoxicidade. Este pirógeno exógeno é um composto anfifílico, que ao invadir o organismo de um mamífero age como um antígeno ativando o sistema imunológico inato. Pequenas quantidades de LPS têm permanente acesso ao nosso organismo, e age em caráter benéfico contra infecções. Porém em grandes quantidades age também em células endoteliais e pode desencadear choque séptico e até morte. O LPS

usualmente não é encontrado isolado, mas sim em agregados, ou na forma de seu reconhecimento celular predominante; ligado a proteínas carreadoras específicas (LBP, *Lipolissaccharide Binding Protein*). Aderido à LBP, a molécula de LPS é reconhecida por macrófagos, monócitos e neutrófilos. Cada uma dessas linhagens celulares apresenta cadeias específicas de reconhecimento em adição à via principal. De um modo geral, o LPS é reconhecido pelo complexo formado pelo receptor 4 da família *Toll* (TLR4), uma proteína conhecida como MD-2 no lado externo associadas ao CD14 no meio intracelular. O reconhecimento desencadeia uma cascata de eventos que culminam com a produção de uma gama de mediadores, entre eles os pirógenos endógenos (*Figura 2*, Chaby, 2004; Dauphinee & Karsan, 2006; Raetz & Whitfield, 2002; Takeuchi *et al.*, 1999).

Dentre os principais pirógenos endógenos produzidos durante o processo inflamatório estão o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina- 1β (IL- β) e interleucina-6 (IL-6), polipeptídeos denominados citocinas (Kluger, 1991; Mackowiak, 1998; Saper & Breder, 1994). Estes mediadores não são encontrados normalmente no plasma, exceto traços de IL-6 e TNF- α encontrados nos mastócitos (Malaviya & Georges, 2002). Além das citocinas, são mediadores da febre alguns derivados lipídicos da via do ácido aracônico, ou seja, as prostaglandinas (Milton & Wendtlandt, 1971, Milton, 1989). As prostaglandinas da série E_2 (PGE $_2$) são consideradas como mediadores finais da febre no SNC, mas agem também na periferia (Blatteis *et al.*, 2005; Mackowiak, 1998; Branco *et al.*, 2004).

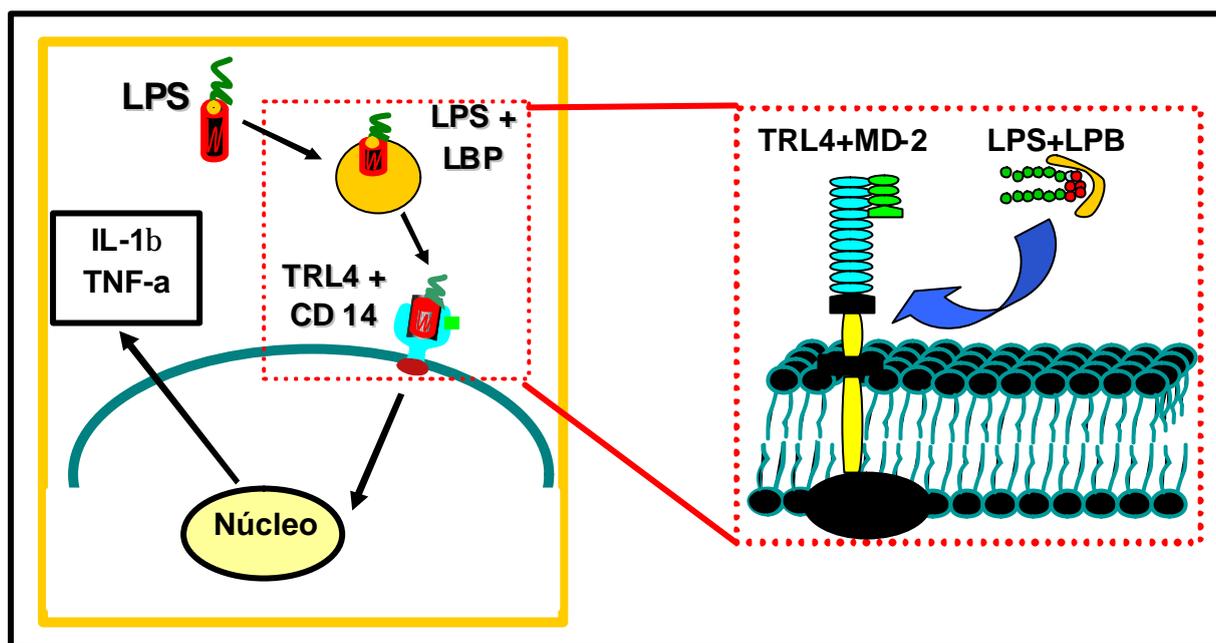


Figura 2. A. Mecanismos de sinalização e celular de reconhecimento da endotoxina pelo imunócitos mononucleares e em decorrência disso a síntese de citocinas. Em destaque o reconhecimento da associação do LPS com LBP pelo complexo CD14, TRL4 e MD2.

Como a Tc é regulada centralmente, assume-se que os pirógenos endógenos são liberados na circulação sanguínea e posteriormente transportados para o SNC mais precisamente até a POA, o principal centro de controle da Tc (Blatteis & Sehic, 1997). É controverso, no entanto, como as citocinas produzidas periféricamente sinalizam a POA uma vez que essas são peptídeos grandes e hidrofílicos incapazes de atravessar a barreira hematoencefálica por simples difusão (Saper & Breder, 1994; Blatteis & Sehic, 1997; Branco *et al.*, 2004). Algumas hipóteses correntes são plausíveis: 1) as citocinas podem ser ativamente transportadas pela barreira hematoencefálica (Banks *et al.*, 1995); 2) ou ainda podem ganhar acesso ao SNC através de regiões onde a barreira hematoencefálica é ausente ou enfraquecida, como os órgãos circunventriculares (Blatteis, 1992; Blatteis *et al.*, 2000; Boulant, 2000); 3) as citocinas podem interagir com células endoteliais da microvasculatura cerebral o que resulta na produção e liberação para o sistema nervoso central de citocinas,

PGE₂ ou ambas (Tilders *et al.*, 1994); 4) e ainda a sinalização neural, evidenciada principalmente pela vagotomia subdiafragmática (Blatteis & Sehic, 1997; Romanovsky, *et al.* 2000).

Qualquer que seja a forma da sinalização ocorre síntese e liberação de PGE₂ no SNC, interação com receptores EP3 neuroniais da POA (Oka *et al.*, 2003) e queda nos níveis de AMP cíclico intracelulares na POA (Steiner *et al.*, 2002; Steiner & Branco, 2003). A estes processos atribuem-se os sinais aferentes que causam a alteração do *set point* e em seguida a ativação de eferências responsáveis pelo aumento da Tc (Blatteis, 1998; Branco *et al.*, 2004, McAllen, 2004). Os órgãos responsáveis pela termogênese estão sob controle de núcleos supra espinhais, hipotalâmicos, pontinos e bulbares antes de receberem impulsos de neurônios pré-motores da medula espinhal que os ativa. Cada órgão relacionado resposta termogênica tem sua própria neurocircuitaria. Estas vias, são independentes uma das outras e são ativada de forma independente durante a febre (Nagashima *et al.*, 2000).

Estas vias envolvidas nas respostas febris são por sua vez moduladas por determinados neurotransmissores e neuromoduladores com ação no SNC. Dentre os moduladores da resposta febril pode-se citar a melanocortina (Huang *et al.*, 1997), serotonina (Gemma *et al.*, 1997; Nakamura *et al.*, 2002), noradrenalina (Shido, *et al.*, 1993), opióides (Chio *et al.*, 2005), óxido nítrico (Almeida *et al.*, 1999; Steiner *et al.*, 2002) e monóxido de carbono (Ravanelli *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 1999; 2002).

O padrão da febre gerada pela ministração de LPS foi extensamente estudado de modo que alguns consensos foram alcançados sem, no entanto, resolver algumas controvérsias ainda não esclarecidas. É aceito que a febre induzida por LPS gera uma resposta monofásica quando se aplica baixa dose de endotoxina (1 µg/kg; Snarkes *et al.*,

1981; Romanovsky *et al.*, 1996; 1998a), enquanto doses moderadas 10-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ocasionam febre com elevação periódica da Tc estabelecendo vários picos ao longo da sua duração, denominada por causa disso como febre polifásica (Romanovsky *et al.*, 1998a; 1998b). Este tipo de resposta foi inicialmente denominado de febre bifásica, pois os protocolos experimentais adotados pelos laboratórios de termorregulação usualmente não incluem na análise dos dados todo o decurso temporal necessário para detectar o padrão polifásico, ficando evidente, portanto, apenas os dois primeiros picos (Morimoto *et al.*, 1987; Snarkes *et al.*, 1981; Romanovsky *et al.*, 1996). Isto foi apontado como uma falha metodológica (Romanovsky *et al.*, 1998a; 1998b), ou com olhar mais cauteloso, que a importância temporal é relativa. A maioria das alterações na Tc durante a febre, devido às manipulações experimentais, quando presentes, localizam-se exatamente nas fases iniciais, não se fazendo necessário uma análise demasiadamente prolongada (Sanchez-Alavez *et al.*, 2006; Steiner *et al.*, 2006). Este padrão febril alterado pode, no entanto, perdurar pelas fases distintas ou ser fase específica (Romanovsky & Blatteis, 1995). A distinção entre as fases utilizando avaliações nociceptivas, temperatura da pele e atividade motora, pode ser feita de modo a separar as fases em: inicial e tardia (Romanovsky *et al.*, 1996). Doses muito altas de LPS (500-1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) têm efeitos, distinto ao das doses moderadas, pois leva a um decréscimo da Tc (Romanovsky *et al.*, 1996; Hasday & Garrison, 2000).

3.3. LOCUS COERULEUS E NEUROTRANSMISSÃO SEROTONINÉRGICA

O Locus coeruleus (lugar azul) assim nomeado, pois adquiriu uma forte coloração azul nas ocasiões em que foi caracterizado, quando submetido ao corante histológico. O LC é um par de pequenos núcleos localizados na ponte, lateralmente ao quarto ventrículo, medialmente em relação ao núcleo mesencefálico 5, acima do núcleo subcoeruleus alfa e

abaixo do núcleo parabraquial medial (Paxinos & Watson, 1998). O LC é formado predominantemente por um conjunto de corpos celulares noradrenérgicos, cujas projeções extensas suprem inervação noradrenérgica a estruturas corticais e subcorticais do encéfalo (Yang *et al.*, 1997). O LC contém o maior número de corpos celulares noradrenérgicos no SNC e é densamente innervado por fibras serotoninérgicas dos núcleos da rafe (Singewald & Phillipu, 1998). Já foi demonstrado que o LC participa de respostas ao estresse [medo (Svensson, 1987)], controle da ventilação e temperatura corporal (Fabris *et al.*, 1999, Gargaglioni *et al.*, 2005), entre outros. A POA envia projeções eferentes para o LC (Steininger *et al.*, 2001), fornecendo evidências de que o mesmo pode estar situado em uma via eferente de controle da Tc, após a PGE₂ na cascata febril. Em uma série de experimentos foi comprovada a participação deste núcleo na via eferente da resposta febril (Almeida *et al.*, 2004) e recentemente, que o CO é um dos moduladores da via (Ravanelli *et al.*, in press). De modo surpreendente a ação do CO no LC revelou-se ser antipirética, o que se opõe ao seu efeito quando administrado intracerebroventricularmente. Estes dados sugerem que este neuromodulador gasoso atua de formas diferentes em áreas específicas do SNC, mas a somatória destas ações resulta em uma ação pirética.

A serotonina (5-hydroxitriptamina ou 5-HT) é uma monoamina amplamente distribuída no encéfalo que foi identificada há cerca de 50 anos como efetora em diversos tipos de músculo liso, e posteriormente como agente que intensifica a agregação plaquetária e como neurotransmissor no SNC (Hoyer *et al.*, 1994), inclusive no LC (cf. Singewald & Phillipu, 1998). Sete famílias de receptores serotoninérgicos foram identificadas (5-HT₁₋₇). Exceto pelos receptores 5-HT₃, os quais são ligados a canais iônicos, todos os outros receptores são acoplados a proteínas G (Hoyer *et al.*, 2002). Sua abrangência engloba várias funções fisiológicas, como sono, dor, termorregulação, comportamento sexual,

alimentação, humor (Cox & Lomax, 1977, Hoyer *et al.*, 2002) e febre (Nakamura, 2002). Estudos anatômicos e funcionais indicam que a 5-HT, presente no sistema nervoso central, está envolvida na regulação da Tc (cf. Martín-Cora *et al.*, 2000) e que é particularmente importante na manutenção do *set point* termorregulador (Zeisberger, 1999). É sabido que os efeitos da 5-HT, dentro do LC, é importante em várias funções, inclusive na resposta a estímulos estressantes e depressão (Sinner *et al.*, 2001). O neurotransmissor 5HT integra um grande número de estímulos internos e externos no LC para regular respostas em diversas situações via sinapses axodendríticas (Leger & Descarries, 1978), agindo como neuromodulador nos neurônios noradrenérgicos do LC (McRae-Degueurce *et al.* 1985). Em uma avaliação autoradiográfica para 5HT, encontrou-se serotonina nas varicosidades do LC mostrando ser um de estoque de aminas nos neurônios noradrenérgicos do SNC. (Leger & Descarries, 1978).

Outro estudo observou aumento de neurônios FOS+ durante a febre induzida por injeção de LPS nas áreas A1 (bulbo ventrolateral), A2 (núcleo do trato solitário) e A6 (LC, Hare *et al.*, 1995). Além disso, Molina-Holgado e Guaza (1996) demonstraram que a injeção de LPS i.p. induz ativação neuroquímica de diferentes regiões do tronco encefálico, incluindo NTS e LC. Esses resultados fornecem evidências da importante participação do LC na resposta febril. A ministração de ipsaspirona ou tandospirona (agonistas dos receptores 5-HT_{1A}), aumenta a expressão de FOS no LC, demonstrando ativação dos neurônios noradrenérgicos via receptores 5-HT_{1A} (Hamamura *et al.*, 1997).

Estudos farmacológicos têm demonstrado que a homeostase térmica é mantida pela interação funcional entre receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} (Salmi & Ahlenius, 1998; cf. Zuideveld *et al.*, 2001) e que a influência serotoninérgica direta nos neurônios do LC é predominantemente inibitória, exercida via receptores pós-sinápticos (Goria & Adrien,

1988; Haddjeri *et al.*, 1997). Evidências da literatura mostram que a ativação de receptores pós-sinápticos 5-HT_{1A} causam hipotermia, pois inibem a liberação endógena de 5HT em ratos e em humanos (Seletti *et al.*, 1995; Lin, *et al.*, 1998; Zuideveld, 2001; Hedlun *et al.*, 2004), enquanto que os receptores 5-HT_{2A}, mas não o 5-HT_{2C}, causam hipertermia (Seletti *et al.*, 1995; Mazzola-Pomietto, 1997; Lin, *et al.*, 1998; Salmi & Ahlenius, 1998; Sugimoto *et al.*, 2000, Chio, 2005).

Uma vez que não existem dados ligando a resposta febril ao LPS, com a interação serotoninérgica no LC, traçamos nossos objetivos.

3. 4. OBJETIVOS

De forma geral o objetivo traçado foi analisar a participação da modulação serotoninérgica, no LC, durante a eutermia e sobre a via eferente da febre induzida por LPS.

Objetivo específico 1: Avaliar a participação dos receptores 5-HT_{1A} no LC durante o estado eutérmico e na febre induzida por LPS

Objetivo específico 2: avaliar a participação dos receptores 5-HT_{2A} no LC na eutermia e na febre induzida por LPS.

4. Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Os experimentos realizados utilizaram ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com peso entre 310 e 350 gramas, provenientes do Biotério Central do Campus USP de Ribeirão Preto. Os protocolos e procedimentos experimentais utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CETEA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, protocolo N° 258/2005.

Os animais foram mantidos em temperatura controlada ($25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$) com livre acesso à água e à ração em um ciclo diário claro-escuro 12:12 horas. Todos os experimentos tiveram início entre 9:00 e 10:00 horas, a fim de evitar influências circadianas da temperatura corporal dos animais nos resultados.

4.2. Cirurgias

Antes das cirurgias animais foram anestesiados com 2, 2, 2-tribromoetanol (Aldrich, Milwaukee, WI, EUA, 250 mg/kg). Os pêlos ao redor do local das incisões foram aparados e realizou-se com iodo a anti-sepsia externa. Ao final das intervenções cirúrgicas, os animais receberam antibiótico veterinário para animais de pequeno porte, (160.000 unidades/kg de benzilpenicilina, 33 mg/kg de estreptomicina e 33mg/kg diidroestreptomicina, i.m.), diluídos em 0,3 ml de água destilada estéril.

4.3. Implante da cânula unilateral no Locus coeruleus

Após a fixação do animal no instrumento estereotáxico, aplicou-se uma injeção subcutânea de anestésico local (cloridrato de lidocaína 2 mg e cloridrato de fenilefrina 40 µg em 0,1 ml).

Uma incisura sobre a fissura sagital com 2 cm de comprimento foi feita, os tecidos subcutâneos removidos para revelar as referências ósseas das coordenadas estereotáxicas.

Utilizando um micro motor (Foredom Micromotor 45000 rpm), trepanou-se em duas localidades a calota craniana, uma delas para a implantação da cânula guia de aço inoxidável (15 mm de comprimento), 1 mm acima do LC direito, de acordo com as coordenadas de Paxinos e Watson (1998): A (antero-posterior): A (antero-posterior): -3,4 mm do lambda, L (lateral): -1,2 mm do lambda, D (dorso-ventral): -5,8 mm do osso e 15° de angulação na barra do estereotáxico. A cânula foi ancorada ao crânio por meio de um micro parafuso, fixado na segunda perfuração, e de uma plataforma de acrílico dental. Um mandril de aço inoxidável com 15 mm de comprimento foi mantido dentro da cânula para prevenir oclusão da mesma e infecção.

Ao final das intervenções cirúrgicas, os animais receberam antibiótico veterinário, (160.000 unidades/kg de benzilpenicilina, 33 mg/kg de estreptomicina e 33mg/kg diidroestreptomicina, i.m.), diluídos em 0,1 ml de água destilada estéril. Os experimentos iniciaram-se de 6 a 8 dias após a cirurgia.

4.4. Cirurgia para implantação do *datalogger*

A temperatura corporal em todos os protocolos experimentais foi medida utilizando sensores-armazenadores de temperatura (*dataloggers*, SubCueTM, Canadá). Eles foram banhados por 30 minutos em álcool 70% e depois implantados na cavidade abdominal dos

animais, através de uma laparotomia para-medial, com a sutura sendo feita em dois planos (muscular e dérmico), pelo menos 2 dias antes dos experimentos.

4.5. Drogas

O LPS (E. Coli, 0111: B4, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) foi administrado intraperitonealmente (i.p.) nas doses de 10 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, diluídos em solução salina 0,9%, estéril e apirogênica. O antagonista específico para receptores 5HT_{1A}, WAY-100635 foi utilizado na concentração 3 $\mu\text{g}/0,1\text{ml}$, diluído em solução salina 0,9%, estéril e apirogênica (Gargaglioni *et al*, 2005). O antagonista específico para receptores 5HT_{2A} ketanserina foi administrado na concentração de 2 $\mu\text{g}/0,1\text{ml}$ (Gouveia & Franci, 2004) diluído em solução de dimetil sulfoxido (DMSO, 10%).

4.6. Injeções e análise histológica

Nas injeções de LPS, em ambas as doses, o volume foi de 1 ml/kg, diluição feita em solução salina 0,9%, estéril e apirogênica a partir de uma solução estoque 2 mg/ml.

Para as microinjeções no LC dos antagonistas e dos veículos, foi utilizada uma seringa (Hamilton, Reno, NV) de 5 μl e uma agulha odontológica (Becton Dickinson, 200 μm de diâmetro externo), com 16mm de comprimento conectada a um tubo de polietileno (PE-10), posicionados em uma bomba de infusão (Stoelting, modelo 310, II, EUA). O volume injetado foi sempre de 100 nl (0,3 $\mu\text{l}/\text{min}$) seguido de um período de trinta segundos de espera para retirada da agulha de injeção, com o intuito de evitar refluxo pela cânula guia. Nos experimentos controles as injeções continham os respectivos solventes com o mesmo volume das condições experimentais.

Após os experimentos os animais foram profundamente anestesiados com hidrato de cloral 10% (i.p. 0,3 ml/100g) e os sítios das microinjeções foram marcados com azul de Evans a 2%, pela administração local do corante valendo-se do mesmo volume usado durante os experimentos. Os *dataloggers* e os encéfalos foram retirados, sendo que estes transferidos para uma solução de formalina a 10%, onde permaneceram para fixação por pelo menos 2 dias. Após as mínimas 48 horas realizou-se, inclusão em parafina, cortes seqüenciais coronais, com 15 μ m de espessura no micrótomo (Leica, Alemanha) que foram corados utilizando-se o método cresil-violeta (Nissl), e posteriormente analisados com o auxílio de um microscópio óptico (Leica DMLS). A distribuição do corante no LC foi o indicativo de que o tratamento atingiu o núcleo como esperado. Nas microinjeções que o corante não atingiu o LC considerou-se tratamento peri-LC e os resultados foram utilizados como controle para averiguar se o efeito era sítio específico.

4.7. Medida da temperatura corporal

Antes da inserção dos medidores de temperatura na cavidade abdominal os instrumentos foram calibrados de acordo com o fabricante e programados para que suas funções iniciassem 30 minutos antes do começo dos experimentos, registrando a temperatura corporal a cada 5 minutos durante os 300 minutos seguintes. Após a retirada dos instrumentos das cavidades abdominais, os dados armazenados nos *dataloggers* foram transferidos para o computador utilizando-se um *software* próprio, SubCueTM e corrigidos individualmente de acordo com a indicação do fabricante.

4.8. Protocolos experimentais

Protocolo 1

CARACTERIZAÇÃO DA RESPOSTA FEBRIL

Para caracterizar a resposta febril dos animais utilizados (linhagem, peso, etc.) injetou-se LPS i.p. nas doses propostas no trabalho (10 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Nestes indivíduos não se realizou implantação da cânula no LC, no entanto, foram submetidos ao implante do *datalogger* em sua cavidade abdominal para medida da alteração da temperatura corporal. Os animais controle receberam o mesmo volume de solução salina 0,9% estéril e apirogênica (1 ml/kg, ip).

Protocolo 2

EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE WAY-100635, NO LC, SOBRE A TEMPERATURA CORPORAL NA EUTERMIA

O antagonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, WAY-100635 na concentração 3 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$, diluído em solução salina 0,9%, estéril e apirogênica foi microinjetado (100 nl) no LC direito 30 minutos após o início da medida da temperatura, 30 minutos antes da injeção de salina 0,9% apirogênica (1 ml/kg, ip).

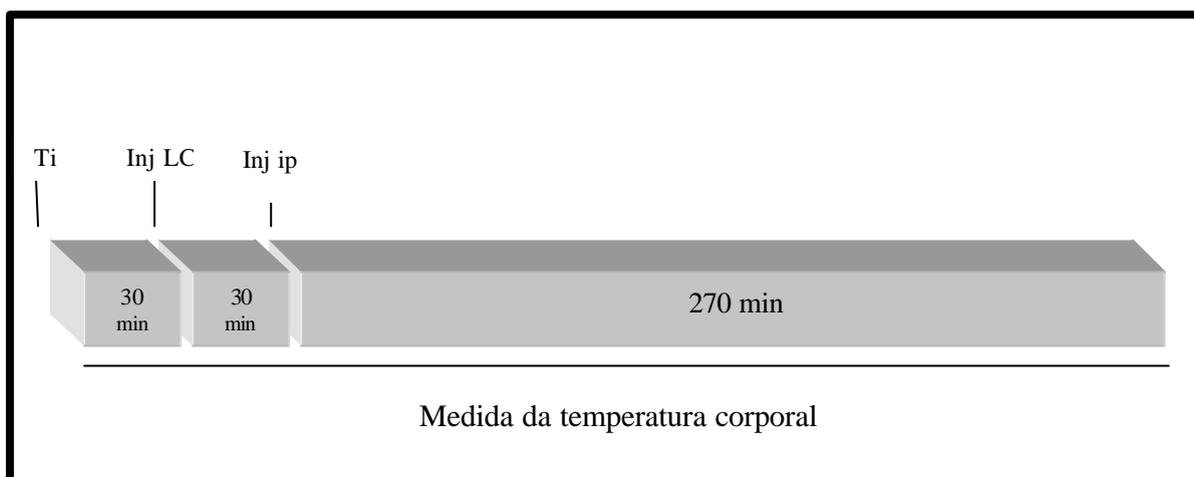


Figura 3. Esquema dos protocolos experimentais 2, 3, 4 e 5.

Protocolo 3

EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE WAY-100635, NO LC, SOBRE A TEMPERATURA CORPORAL NA FEBRE INDUZIDA POR LPS

Os animais foram tratados com WAY-100635 também na concentração $3 \mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$, diluído em solução salina 0,9%, estéril e apirogênica, foi microinjetado (100 nl) no LC direito 30 minutos após o início da medida da temperatura, 30 minutos antes da injeção de LPS ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$, ip).

Protocolo 4

EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE KETANSERINA, NO LC, SOBRE A TEMPERATURA CORPORAL NA EUTERMIA

O antagonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A} ketanserina ($2 \mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$), diluído em DMSO a 10%, foi microinjetado (100 nl) no LC direito 30 minutos após o início da medida da temperatura, 30 minutos antes da injeção de salina 0,9% estéril e apirogênica ($1 \text{ ml}/\text{kg}$, ip).

Protocolo 5

EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE KETANSERINA, NO LC, SOBRE A TEMPERATURA CORPORAL NA FEBRE INDUZIDA POR LPS

Os animais foram tratados com ketanserina (2 µg/0,1µl), diluído em DMSO a 10%, foi injetado (100 nl) no LC direito 30 minutos após o início da medida da temperatura, 30 minutos antes da injeção de LPS (100 µg/kg, ip).

4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média ± EPM. Os valores de Tci são as médias das temperaturas de 30 minutos anteriores ao início dos experimentos, Alterações na Tc foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas, seguida pelo teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes. Para a avaliação da variância, o curso da febre foi dividido em dois períodos, o inicial (60 minutos após a injeção de LPS) e o tardio que se inicia ao fim do primeiro, e perdura até o fim do experimento (60-270 minutos).

5. Resultados

5. RESULTADOS



Figura 4. Fotomicrografia representativa dos sítios de injeção unilateral do LC. A seta indica o local exato das microinjeções.

A temperatura basal inicial (T_{ci}) dos animais variou de 36,7 a 37,2°C, não havendo diferenças significativas entre os valores de T_{ci} em todos os protocolos experimentais, assim como em todo o período avaliado (animais controle) do protocolo 1 (*Figura 3*), e nos animais que receberam apenas injeções de salina ou nos protocolos 3 e 5. Toda alteração térmica avaliada foi comparada às respectivas T_{ci} . As intervenções farmacológicas no LC com o auxílio de microinjeções de pequenos volumes (100 nl) não interferiram na T_c (*Figuras 6, 7, 8 e 9*).

Protocolo 1. Os animais que receberam injeção i.p. de LPS, tanto em dose 10 µg/kg como em dose 100 µg/kg, desenvolveram respostas febris bifásicas semelhantes. A injeção de salina (1ml/kg, ip) não causou nenhuma alteração na T_c (*Figura 5*). A primeira fase ocorreu do início do experimento (injeção de LPS) até aproximadamente 60 minutos após a dose de LPS, sendo estatisticamente significante em relação ao controle entre 40 e 60 minutos com

elevação na Tc de 0,5 e 0,4 °C nas doses de LPS 10 µg/kg ($P < 0,05$) e 100 µg/kg respectivamente ($P < 0,05$). Foi considerada segunda fase ou fase tardia a partir dos 60 minutos até a ultima medida tomada, aos 300 minutos, sendo significativa a partir de 140 minutos. A fase tardia teve aumento de 1,3 °C quando ministrada a dose de LPS 10 µg/kg ($P < 0,05$) e de 1,2 °C para a dose de 100 µg/kg ($P < 0,05$).

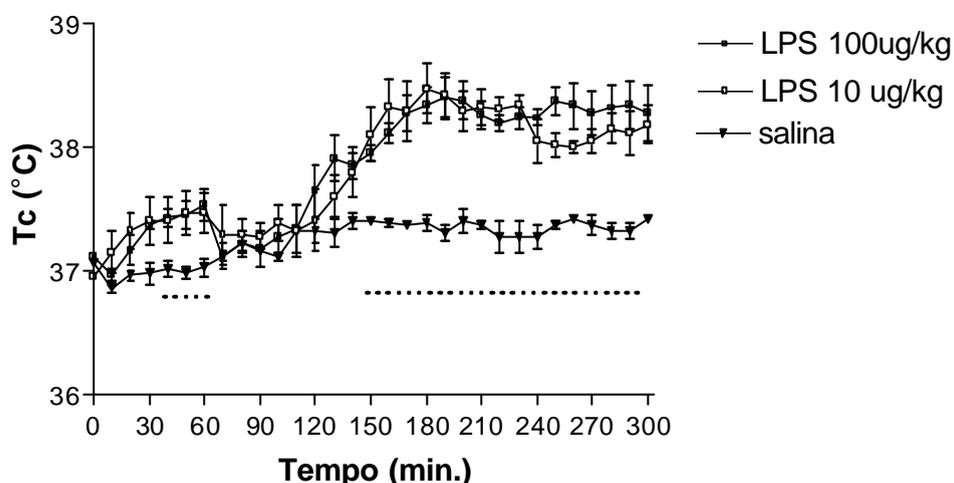


Figura 5. Caracterização da resposta febril induzida pela injeção de LPS i.p. de 10 µg/kg ($n = 6$) e 100 µg/kg ($n = 5$). A linha pontilhada horizontal aponta os valores estatisticamente significativos. A injeção de LPS i.p. foi aplicada no início da contagem temporal.

Protocolo 2. A injeção i.p. de salina (1 ml/kg, i.p.) não causou variações significativas nas Tc dos ratos. A microinjeção do antagonista WAY-100635 (3 µg/0,1 µl) ou do veículo (0,1 µl salina 0,9%) no LC durante estado eutérmico não alterou a Tc dos animais durante o período aferido (-30 até 270 minutos), assim como as microinjeções com o mesmo tratamento de WAY-100635 localizadas peri-LC (*Figura 6*, $P > 0,05$).

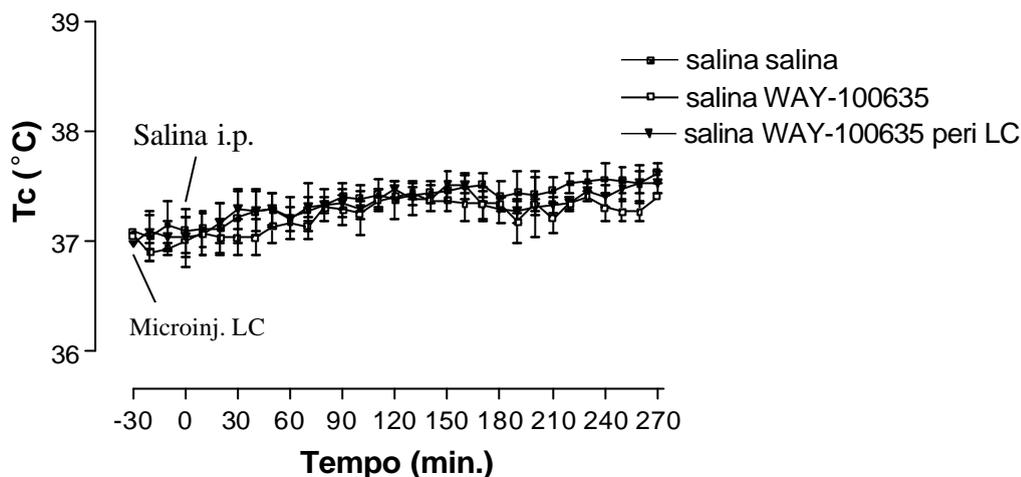


Figura 6. Médias da Tc dos animais após a injeção i.p. de salina (1 ml/kg, ip) trinta minutos após o tratamento com WAY-100635, 3 µg/0,1µl (n = 4) e veículo (n = 6) no LC, além de WAY-100635 3 µg/0,1µl peri-LC (n = 6).

Protocolo 3. A febre bifásica induzida por 10 µg/kg de LPS, precedida de microinjeção de veículo no LC, teve o primeiro pico (0,5°C) entre 20 e 60 minutos e o segundo pico entre 120-150 minutos (1,3°C) após a injeção i.p. (LPS, *Figura 7*). O tratamento no LC com o antagonista para os receptores 5-HT_{1A}, WAY-100635 (3 µg/0,1µl) não modificou de forma significativa padrão da febre observada nos indivíduos que receberam o veículo, ($P > 0,05$) apresentaram, no entanto o um primeiro pico mais tardio e menos pronunciado (0,3°C aos 45 minutos após injeção de LPS, $P > 0,05$). Os indivíduos que receberam o tratamento do antagonista WAY-100635 peri-LC também apresentaram um primeiro pico febril menos pronunciado, 0,3 °C, em relação à Tci, aos 30 minutos, sem alteração significativa quanto à resposta febril ($P > 0,05$). A fase tardia teve picos aos 140 minutos do curso febril para todos os indivíduos, com amplitude de 1,3 °C quando as microinjeções localizaram-se no LC, e de 1,5°C peri-LC (*Figura 7*, $P > 0,05$).

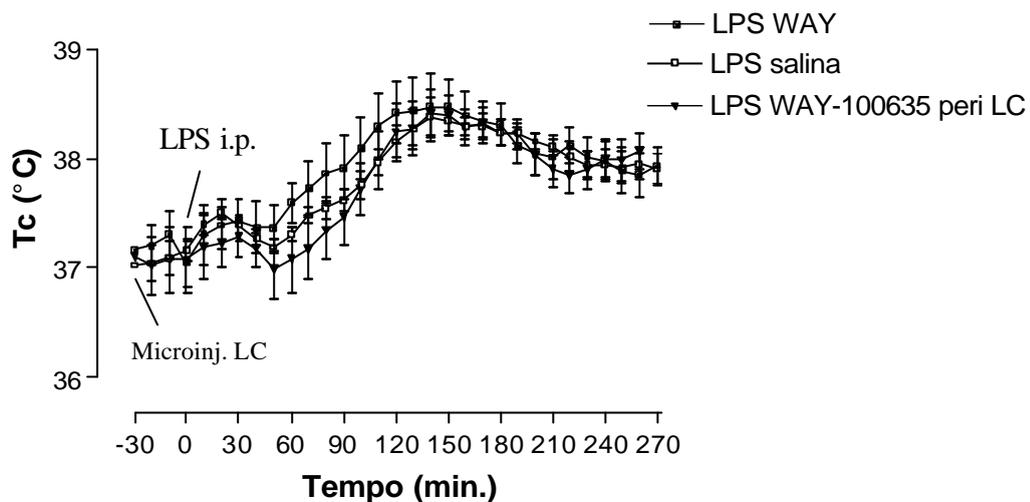


Figura 7. Medida da temperatura corporal após a microinjeção no LC de WAY-100635 (3 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$, $n = 8$), 0,1 μL de veículo (salina, $n = 8$) e WAY-100635 (3 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$) peri-LC ($n = 6$), 30 minutos antes da injeção i.p. de LPS 10 $\mu\text{l}/\text{kg}$. A seta indicam o momento da injeção.

Protocolo 4. Os ratos eutérmicos em que se administrou o antagonista 5-HT₂ ketanserina (3 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$) centralmente ou o seu veículo, DMSO, em microinjeções de 100 nl não tiveram variações em suas Tc devido ao tratamento ($P > 0,05$). As injeções de salina i.p. (1 ml/kg, ip) 30 minutos após as microinjeções não causaram alteração significativa na Tc dos animais comparada com a Tci (Figura 8).

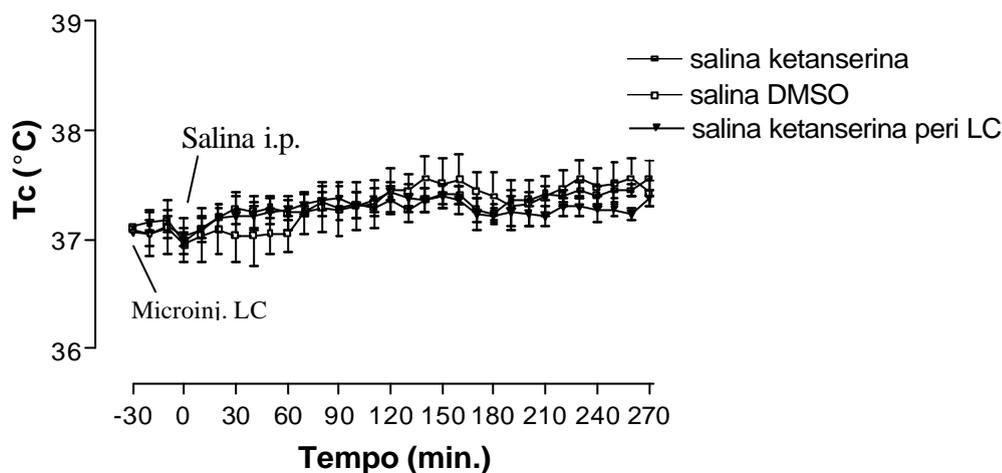


Figura 8. Medidas da Tc dos animais após a injeção i.p. de salina (1 ml/kg, i.p.) trinta minutos após o tratamento com ketanserina, 2 µg/0,1µl (n = 6) e veículo (DMSO, n = 6) no LC, além de ketanserina 2 µg/0,1µl peri-LC (n = 5).

Protocolo 5. A febre induzida por LPS 100 µg/kg teve sua fase inicial abolida nos ratos tratados com o antagonista dos receptores 5-HT_{2A} ketanserina (2 µg/0,1µl) no LC ($P < 0,05$, efeito do tratamento, *Figura 9*) enquanto a microinjeção de veículo no mesmo núcleo não causou modificações no padrão da febre em relação à resposta observada no protocolo 1. Os animais em que se administrou ketanserina peri-LC também não tiveram alterações significativas na resposta febril ao pirógeno em relação aos animais tratados com DMSO. A primeira fase da febre ocorreu 30 minutos após a injeção de LPS 100 µg/kg i.p. com amplitude de 0,3 °C. Em relação à segunda fase, iniciada depois de 60 minutos do estímulo pirogênico não houve modificações significativas causadas pelo tratamento ($P > 0,05$). Os animais sofreram manipulação farmacológica no LC apresentaram um aumento de 1,0 °C enquanto o grupo peri-LC teve aumento de 1,3 °C na sua Tc em relação à Tci (*Figura 9*).

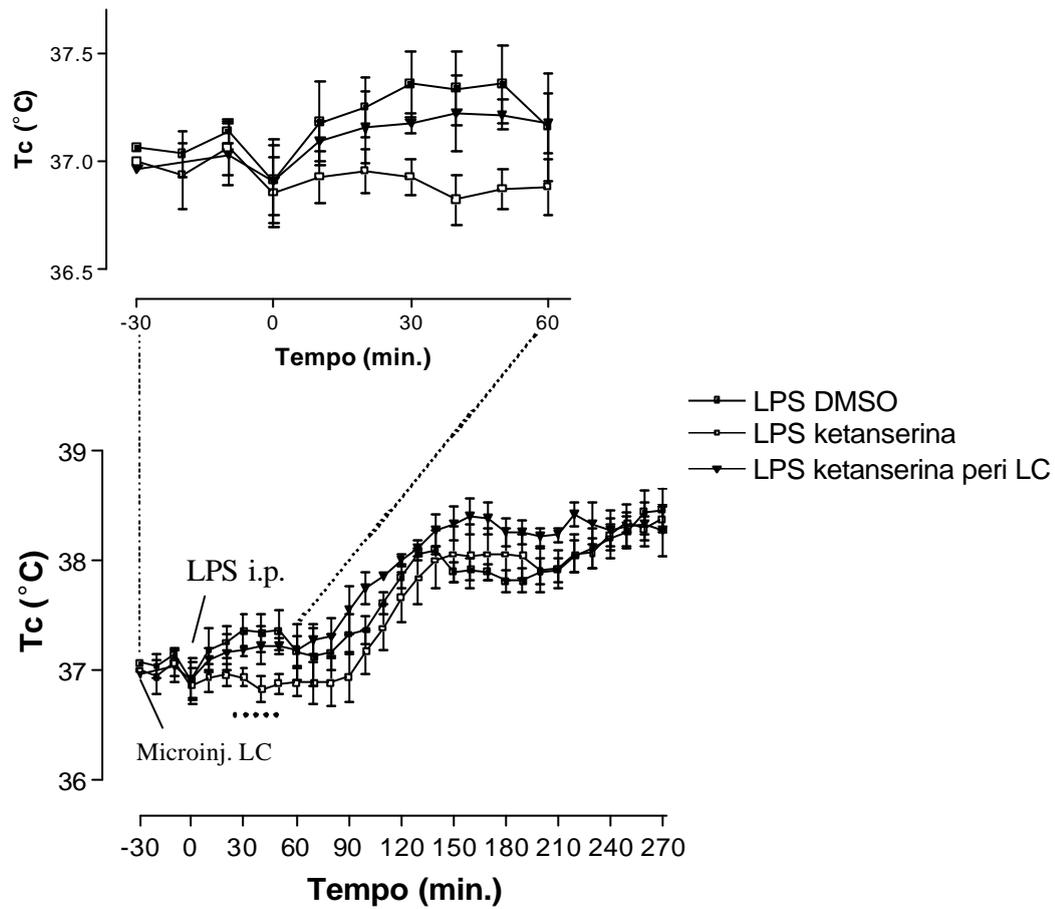


Figura 9. A figura mostra a resposta febril induzida por 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de LPS injetado (1 ml/kg, i.p.) 30 minutos após às microinjeções no LC do antagonista dos receptores 5HT_{2A} ketanserina, 2 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$ ($n = 8$) ou DMSO ($n = 5$) e peri-LC ($n = 5$) de ketanserina (2 $\mu\text{g}/0,1\mu\text{l}$). A linha pontilhada horizontal indica valores estatisticamente significativos.

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

A produção de conhecimento científico relacionado à descrição das vias aferentes e integrativas das informações térmicas tem se intensificado ultimamente (*cf.* Cabanac, 2006). A busca por detalhamentos das vias eferentes, menos conhecidas, tem uma conotação de destaque. Estudos com lesões de neurônios do LC utilizando 6-hidroxi dopamina (6-OHDA) abolem a febre induzida por IL-1 (Ovadia *et al.*, 1989) e LPS, e caracterizaram este núcleo noradrenérgico como constituinte da via febrigênica eferente (Almeida *et al.*, 2004). O presente trabalho mostra que esta via sofre modulação serotoninérgica pela ação de receptores 5-HT_{2A}. O bloqueio desta classe de receptores, no LC, impediu o estabelecimento da primeira fase da febre induzida por LPS (100 µg/kg).

As microinjeções realizadas neste trabalho não causaram alterações na Tc dos animais, porém as injeções i.p. causaram uma breve queda. Esta diminuição da Tc pode ser creditada ao estresse causado pela manipulação dado que uma situação estressante pode causar oscilações na Tc (Romanovsky *et al.*, 1998b). O aumento de temperatura causado pela administração de LPS i.p. nas doses 10 e 100 µg/kg observado ao longo de 300 min. no protocolo 1 foi característico de uma resposta febril ao relativo pirógeno. O padrão da resposta febril em questão é bem estabelecido quando as doses de LPS variam entre 10 µg/kg - 100 µg/kg de LPS, consideradas moderadas (Romanovsky, *et al.* 1996; 1998a; 1998b; Steiner *et al.*, 2006).

Abordagens com diversas metodologias verificaram um controle inibitório do sistema serotoninérgico, sobre o LC, provenientes principalmente da rafe dorsal, rafe central e rafe bulbar (Leger & Descarrier, 1978, McRae-Degueurce *et al.*, 1985). Hamamura *et al.* (1997) constatou que azapirones, agonista do receptor 5-HT_{1A} aumenta a expressão de

Fos, no LC, marcação esta que é amenizada pela ministração de WAY-100635, relacionando a atividade deste núcleo noradrenérgico com a classe 1 dos receptores 5-HT. Como o azapirone é um agonista parcial dos receptores 5-HT_{1A} e funciona como antagonista dos receptores 5-HT tipo 2, os autores postula que a atividade do LC pode ser controlada de forma inibitória por estes receptores (Haddjeri *et al.*, 1997). A interação entre estas duas classes de receptores serotoninérgicos já foi avaliada em relação ao controle da temperatura corporal por Salmi & Ahlenius (1997), quando o tratamento sistêmico com agonistas dos receptores 5-HT_{2A} causava hipertermia, a qual era exacerbada pela ministração de antagonistas 5-HT_{1A}. Injeções i. v. de agonistas de receptores 5-HT_{1A} causam queda na Tc de ratos (Hedlund, *et al.*, 2004; Zuideveld *et al.*, 2001), mas o tratamento no LC com antagonistas dos receptores 5-HT_{1A} não causa nenhuma variação significativa na Tc dos animais (*Figura. 6*). Este resultado não é surpreendente, pois durante a eutermia mesmo a lesão do LC não afeta a capacidade termogênica dos ratos seja durante a exposição ao frio ou pela injeção de noradrenalina (Almeida *et al.*, 2004).

A ausência de efeito na manipulação do sistema serotoninérgico no LC sobre a homeostase térmica foi confirmada pelos resultados do protocolo 4 (*Figura 8*), nos quais o antagonista dos receptores 5-HT_{2A} não causaram modificações na Tc dos indivíduos. O envolvimento dos receptores 5-HT_{2A} com a Tc (eutermia) limita-se a outras situações e sítios de ações. Esta classe de receptores medeia hipertermia, no modelo animal de síndrome de 5-HT (Nisijima *et al.*, 2000), durante a depleção de 5-HT utilizando p-cloroanfetamina no SNC (Yamada *et al.*, 2001) ou periféricamente (Sugimoto *et al.*, 2000). A serotonina (Lin, *et al.*, 1983, 1998) e o LC (Steininger *et al.*, 2001) estão envolvidos com Tc, porém os efeitos observados no presente estudo com a administração dos antagonistas

WAY-100635 e ketanserina, no LC, não suportam a interação tônica destes dois sistemas como efetores na manutenção da temperatura corporal.

O envolvimento dos neurônios catecolaminérgicos do LC, durante a febre induzida por LPS, está relacionado com órgãos termogênicos e não com mecanismos vasomotores (Almeida *et al.*, 2004). Este fato fez com que fosse adequada a utilização de Ta subneutra (25°C) nos nossos experimentos. Condição na qual os indivíduos estão com o tônus vasomotor aumentado e, portanto qualquer elevação da Tc é devido à termogênese e não à conservação de calor (Gordon, 1990; Rand *et al.*, 1965; Stitt, 1973). Deste modo as respostas febris dos animais controle observadas nos protocolos 3 (LPS 10 µg/kg) e 5 (LPS 100 µg/kg) foram semelhantes ao do protocolo 1 para as respectivas doses.

Blessing (2004), através de ativação de receptores 5-HT_{1A} sistêmicos, descreveu a ocorrência de vasodilatação periférica e redução no aumento da Tc durante o início da resposta febril. A febre, no entanto, não foi abolida e o autor cogita a ativação destes receptores serotoninérgicos com caráter clínico durante febres excessivas. Se for seguido o raciocínio do efeito hipotérmico causado pela ativação dos receptores 5-HT_{1A} (Zuideveld *et al.*, 2001; Hedlun *et al.*, 2004), o bloqueio dos mesmos receptores poderia causar hipertermia, que durante a febre, o aumento da Tc poderia vir a ser excessivo e, portanto, prejudicial. Este realmente não foi o resultado encontrado na Tc dos animais que receberam o antagonista WAY-100635 no LC, durante a febre induzida por LPS (10 µg/kg, *Figura 7*). A resposta febril, dos animais tratados com WAY-100635 no LC, assemelhou-se às dos animais controle.

Os resultados do protocolo 5 apontam a participação dos receptores 5-HT_{2A} do LC na febre induzida por LPS, mais precisamente na primeira fase da resposta febril. Os

mecanismos específicos associados a cada uma das fases da febre ainda são objeto de estudo. Sabe-se que a PGE_2 produzida na periferia e as enzimas que são expressas durante a sua síntese de estão associadas com a fase inicial da febre induzida por LPS (Ivanov *et al.*, 2002). A primeira fase da resposta febril é produzida em resposta à sinalização das células hematopoéticas via receptores TLR4, principalmente nos macrófagos (Steiner *et al.*, 2006a). Nas células hematopoéticas, entre outros fenômenos, ocorre a fosforilação da fosfolipase A_2 citosólica e o aumento transcricional da COX-2 (Steiner *et al.*, 2006b). Outra propriedade conhecida é sobre a atividade das respostas autonômicas termogênicas, que são alteradas distintamente durante a febre, exceto no período inicial quando em todos os órgãos estão da mesma forma elevados. (Cabanac, 2006).

No hipotálamo, durante a febre induzida por IL-1, há aumento de 5-HT e ativação de neurônios via receptores $5HT_{2A}$, que gera uma situação de hipertermia (Chio *et al.*, 2005). Durante a febre, os núcleos da rafe são ativados já que também compõe uma via termogênica e a estimulação dos núcleos da rafe aumenta a quantidade de 5HT no LC. Estes dados, junto com o resultado do presente estudo, leva-nos a especular que a modulação serotoninérgica no LC através de receptores $5HT_{2A}$ é responsável pelo incremento da termogênese durante a fase inicial da resposta febril. Estes mesmos receptores se antagonizados, na POA, no decurso a febre, atenuam a elevação da temperatura corporal (Chio *et al.*, 2005).

Parece não haver uma interação funcional entre os receptores $5HT_{1A}$ e $5HT_{2A}$, no LC, em relação à Tc, durante a febre. Mas, dentre os 14 subtipos de receptores serotoninérgicos descritos (Hoyer *et al.*, 2002), evidências crescentes indicam que receptores 5-HT estão, de fato, regulando a Tc (cf. Lin *et al.*, 1998). Este trabalho mostrou, pela primeira vez, que a via termofetora da qual o LC participa, está relacionada com a

primeira fase da febre induzida por LPS, sendo ela modulada por receptores $5HT_{2A}$, no LC.

Este resultado inédito correlaciona os receptores $5HT_{2A}$ com a primeira fase da resposta febril ao LPS confirmando a dependência de múltiplos fatores para o estabelecimento da resposta febril. Revela especificidade de ativação de uma dada via, relacionada com o seu estímulo ativador e com o neurotransmissor responsável pela sua ação.

7. Conclusões

CONCLUSÕES

-Os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} do LC não participam da manutenção da Tc no estado eutérmico.

-Os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} do LC não estão envolvidos com a alteração da Tc durante a resposta febril induzida por LPS.

-O bloqueio dos receptores 5HT_{2A} do LC causa abolição da fase inicial da febre induzida por LPS.

8. Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aihara H, Okada Y & Tamaki N (2001). The effects of cooling and rewarming on the neuronal activity of pyramidal neurons in guinea pigs hippocampal slices. *Brain Res* 893: 36-45.
- Almeida M C, Steiner A A, Coimbra N C & Branco L G S (2004) Thermoeffector neuronal pathways in fever: role of the locus coeruleus. *J. Physiol.* 558 (1): 283-294.
- Almeida M C, Trevisan F N, Barros R C H, Carnio E C & Branco L G S (1999). Tolerance to lipopolysaccharide is related to the nitric oxide pathway. *Neuroreport* 10: 3061-3065.
- Banks W A, Kastin A J & Broadwell R D (1995). Passage of cytokines across the blood brain barrier. *Neuroimmunomodulation* 2: 241-248.
- Barros R C H & Branco L G S (1998). Effect of nitric oxide synthase inhibition on hypercapnia-induced hypothermia and hyperventilation. *J. Appl. Physiol* 85: 29-35.
- Barros R C H & Branco L G S (2000). Role of central adenosine in the respiratory and Thermoregulatory Responses to Hypoxia. *Neuroreport*, 11, 193-197.
- Bernheim H A & Kluger M J (1976). Fever: effect of drug-induced antipyresis on survival. *Science* 193: 237-239.
- Blatteis C M (1992). Role of the OVLT in the febrile response to circulating pyrogens. *Prog Brain Res* 91: 409-412.
- Blatteis C M (1998). Physiology and Pathophysiology of temperature regulation (Blatteis, CM, ed.). *World Scientific*, New Jersey, pp. 108-124.
- Blatteis C M & Sehic (1997). Fever: how may circulating pyrogens signal the brain? *News Physiol Sci.* 12: 1-9.
- Blatteis C M, Sehic E & Li S (2000). Pyrogen sensing and signaling: Old views and news concepts. *Clin Infect Dis* 31: 81-88;
- Blessing W W (2004). 5-hydroxytryptamine 1a receptor activation reduces cutaneous vasoconstriction and fever associated with the acute inflammatory response in rabbits. *Neurosc.* 123: 1-4.
- Boulant J A (1998). Hypothalamic neurons: mechanisms of sensitivity to temperature. *Ann N Y Acad Sci* 856: 108-115.
- Boulant J A (2000). Role of preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. *Clin Infect Dis* 31: S157-S161.
- Boulant J A & Hardy J D (1974). The effects of spinal and skin temperatures on the firing rate and thermosensitivity of preoptic neurons. *J Physiol* 240: 639-660.
- Branco L G S, Carnio E C & Barros R C H (1997). Role of nitric oxide pathway in hypoxia-induced hypothermia of rats. *Am. J. Physiol.*, 273: R967-R971.

- Branco L G S, Carnio E C, Steiner A A & Bicego K C (2004). Regulação neuroendócrina da temperatura corporal. in: Antunes-Rodrigues J; *Neuroendocrinologia Básica e Clínica*. **cap. 8**.
- Branco L G S, Steiner A A, Tattersall G & Wood S C (2000). Role of adenosine in hypoxia-induced hypothermia of toads. *Am. J Physiol*, 279 R196-R201.
- Cabanac M (1998). Selective brain cooling and thermoregulatory set-point. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 9(1):3-13.
- Cabanac M (2006). Adjustable set point: to honor Harold T. Hammel. *J Appl Physiol* 100: 1338-1346.
- Cao C, Matsumura K, Yamagata K, & Watanabe Y (1997). Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **272**:R1712–R1725.
- Chio C C, Tsai S M, Wang J J & Mao T L (2005). 5-HT_{2A}-mu opioid receptor mechanisms in the hypothalamus mediate interleukin-1 fever in rats. *Neurosci.Letters*. 381:6-11.
- Cox B & Lomax P (1977). Pharmacological control of temperature regulation. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **17**:341-53.
- de Paula D, Steiner A A & Branco L G S (2000). The nitric oxide pathway is an important modulator of stress-induced fever in rats. *Physiology & Behavior*. **70**:505-511.
- DiMicco J A & Zaretsky D (*in press*) The dorsomedial hypothalamus: A new player in thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.
- Fabris G, Anselmo-Franci J & Branco L G S (1999). Role of nitric oxide in hypoxia-induced hyperventilation and hypothermia: participation of the locus coeruleus. *Braz J Med Biol Res* **32**: 1389-1398.
- Fabris G, Steiner A A, Anselmo-Franci J & Branco L G S (2000). Role of nitric oxide in rat locus coeruleus in hypoxia-induced hyperventilation and hypothermia. *Neuroreport*, **11**, 2991-2995.
- Gargaglioni L H, Bicego K C, Nucci T B & Branco L G S (2005). Serotonergic receptors in the anteroventral preoptic region modulate the hypoxic ventilatory response. *Respiratory Physiology & Neurobiolog* 1044(1):16-24.
- Gemma C, Imeri L, de Simoni M G & Mancia M (1997). Interleukin-1 induces changes in sleep, brain temperature, and serotonergic metabolism. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* **272**:601-606.
- Gordon F J (2000). Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin-1 β . *Autonomic Neurosci: Basic and Clinical*. **85**: 102-110.
- Gordon C J (1990). Thermal biology of laboratory rat. *Physiol & Behav*. 47: 963-991.
- Gouveia E M & Franci C R (2004). Involvement of serotonin 5HT₁ and 5HT₂ receptors and nitric oxide synthase in the medial preoptic area on gonadotropin secretion. *Brain Research Bulletin* **63**:243–251.

- Haddjeri N, Montigny C & Blier P (1997). Modulation of the firing activity of noradrenergic neurons in the rat locus coeruleus by the 5-hydroxytryptamine system. *British Journal Pharmacology* **120**:865-875.
- Hamamura T, Lee Y, Fujiwara Y & Kuroda S (1997). Serotonin_{1A} receptor agonists induce Fos protein expression in the locus coeruleus of the conscious rat. *Brain Research* **759**:156-159.
- Hare A S, Clarke G. & Tolchard S(1995). Bacterial lipopolysaccharide-induced changes in Fos protein expression in the rat brain correlation with thermoregulation changes in plasma corticosterone. *Neuroendocrinol***7**: 791-799.
- Hasday J D & Garrison A (2000). Antipyretic Therapy in Patients with Sepsis. *Clin Infect Dis* **31**: S234-41.
- Hedlun P B, Kelly L, Mazur C, Lovenberg T, Sutcliffe, JG & Bonaventure, P (2004). 8-OH-DPAT acts on both 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors to induce hypothermia in rodents. *European Journal of Pharmacology* **487**:125125-132.
- Hoyer D, Clarke D E, Fozard JR, Hartig PR, Martin G R, Mylecharane E J, Saxena P R & Humphey P P A (1994). International Union of Pharmacology classification for 5 hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol. Rev.* **46**:157-204.
- Hoyer D, Hannon J P & Martin G R (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav.*, **71**: 533-554.
- Kiyohara T, Miyata S, Nakamura T, Shido O, Nakashima T & Shibata M (1995). Differences in Fos expression in rat brains between cold and warm ambient exposures. *Brain Res Bull* **38**: 193-201.
- Kluger M J (1991). Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol. Rev.* **71**(1): 93-127.
- Kluger M J, O'Reilly B, Shope T R & Vander A J (1987). Further evidence that stress hyperthermia is a fever. *Physiology & Behavior.* **34**:763-766.
- Kluger M J, Ringler D H & Anver M R (1975). Fever and survival. *Science Wash* **188**: 166-168.
- Leger L. & Descarries L (1978). Serotonin in the locus coeruleus of adult rat: a radioautographic study. *Brain Research.* **145**:1-13.
- Lehninger A L, Nelson D L & Cox MM (2000). *Enzymes Em: Principles of biochemistry.* W.H. Freeman, New York, NY, USA.
- Lin M T, Wu J J & Tsay B L (1983). Serotonergic mechanisms in hypothalamus mediate thermoregulatory responses in rats, Naunyn-Schmiedeberg's *Arch. Pharmacol.* **322**, 271-278.
- Lin M T, Tsay H J, Su W H & Chueh, F Y (1998). Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *Am. J. Physiol.* **274** (43):R1260-R1267.
- Mackowiak P A (1998). Concepts of fever. *Arch. Intern. Med.* **158**: 1870-1881.
- Malaviya R, Georges A (2002). Regulation of mast cell-mediated innate immunity during early response to bacterial. *Infection. Clin Rev Allergy Immunol* **2002**;22:189-204.

- Malvin G M & Wood S C (1992). Behavioral hypothermia and survival of hypoxic protozoans *Paramecium caudatum*. *Science Wash.* 255: 1423-1425.
- Mazzola-Pomietto P, Aulakh C S, Tolliver & Murphy D L (1997). Functional subsensitivity of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors mediating hyperthermia following acute and chronic treatment with 5-HT_{2A/2C} receptors antagonists. *Psychopharmacology* 130:144-151.
- McRae-Degueurce A, Dennis T, Leger L & Scatton B (1985). Regulation of noradrenergic neuronal activity in the rat locus coeruleus by serotonergic afferents. *Physiological Psychology* 13(3): 188-196.
- Mercer JB & Simon E (2001). Lessons from the past: human and animal thermal physiology. *Journal of Thermal Biology* 26: 249–253.
- Milton A S & Wendlandt S (1970). A possible role for prostaglandin E1 as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *J. Physiol.* 207(2):76-77.
- Milton A S (1989). Thermoregulatory actions of eicosanoids in the central nervous system with particular regard to the pathogenesis of fever. *Ann NY Acad Sci* 559: 392-410.
- Molina-Holgado F & Guaza C (1996). Endotoxin administration induced differential neurochemical activation of the rat brain stem nuclei. *Brain Res. Bull.* 40(3): 151-156.
- Monda M, Sullo A, De Luca V, Viggiano A, Pellicano MP (1997). Acute lesions of the ventromedial hypothalamus reduce sympathetic activation and thermogenic changes induced by PGE1. *J Physiol Paris.* 91(6):285-90.
- Morimoto A, Murakami N, Nakamori T & Watanabe T (1987). Evidence for separate mechanisms of induction of biphasic fever inside and outside the blood-brain barrier in rabbits. *J Physiol* 383: 629-637.
- Nagashima K, Nakai S, Tanaka M & Kanosue K (2000). Neuronal circuitries involved in thermoregulation, *Auton. Neurosci.* 85:18–25.
- Nakamura K, Matsumura K, Kaneko T, Kobayashi S, Katoh H & Negishi M (2002). The Rostral Raphe Pallidus Nucleus Mediates Pyrogenic Transmission from the Preoptic Area. *J. Neurosci* 22 (11): 4600-4610.
- Netea M G, Kullberg B J & Van der Meer J M W (2000). Circulating cytokines as mediators of fever. *Clin Infect Dis* 31:S178-S184.
- Nisijima K, Yoshino T, Yui K & Katoh S (2001). Potent serotonin (5-HT) receptor antagonists completely prevent the development of hyperthermia in an animal model of the 5-HT syndrome. *Brain Res* 890: 23-31.
- Oka T, Oka K, Kobayashi T, Sugimoto Y, Ichikawa A, Ushikubi F, Narumiya S & Saper C B (2003). Characteristics of thermoregulatory and febrile responses in mice deficient in prostaglandin EP1 and EP3 receptor. *J Physiol* 551: 945-954.
- Osborne P G, Onoe H, and Watanabe Y. GABAergic system inducing hyperthermia in the rat preoptic area: its independence of prostaglandin E2 system. *Brain Res* 661: 237–242, 1994.

- Ovadia H, Abramsky, O & Weidenfeld J (1989). Evidence for the involvement of central adrenergic system in the febrile response induced by interleukin-1 in rats. *J. Neuroimmunol.* **25**: 109-116.
- Paro FM, Almeida MC, Carnio EC & Branco LGS (2002). Role of systemic L-glutamate in systemic AVP-induced hypothermia. *J Appl. Physiol* , 130(2)151-160.
- Paxinos G & Watson C (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. 3^d Edition. *Academic Press*, San Diego, Plate 20, Figure 20.
- Rand R P, Byrton A C & Ing T(1965). The tail of the rat, in temperature regulation and acclimatization. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **43**: 257-267.
- Ranels H J, Griffin J D (2003). The effects of prostaglandin E2 on the firing rate activity of thermosensitive and temperature insensitive neurons in the ventromedial preoptic area of the rat hypothalamus. *Brain Res.* 964(1):42-50.
- Ravanelli M I B, Almeida M C & Branco L G S (*in press*). Role of the locus coeruleus carbon monoxide pathway in endotoxin fever in rats. *Pflügers Arch - Eur J Physiol.*
- Romanovsky A A, Almeida MC, Aronoff DM, Ivanov AI, Konsman JP, Steiner AA & Turek, VF (2005). Fever and hypothermia in systemic inflammation: recent discoveries and revisions. *Front Biosci* **10**: 2193-2216
- Romanovsky A A & Blatteis C M (1995). Biphasic fever: what triggers the second temperature rise? *Am J Physiol* **38**: R280-R286.
- Romanovsky A A, Ivanov A I & Szekely M (2000). Neural route of pyrogens signaling to the brain *Clin Infect Dis* **31**: S162-S167
- Romanovsky A A, Kulshitsky V A, Simons C T, & Sugimoto N (1998a). Methodology of fever research: why are polyphasic fevers often thought to be biphasic? *Am J Physiol* **275**: R332-R338.
- Romanovsky A A, Shido O, Sakurada S, Sugimoto N, & Nagasaka T (1996b). Endotoxin shock: thermoregulatory mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **270**:R693-R703.
- Romanovsky A A, Simons CT & Kulshitsky V A (1998b). "Biphasic" fevers often consist of more than two phases. *Am J Physiol* **275**: R323-R331.
- Romanovsky A A, Simons CT, Székely M, & Kulchitsky V A (1997). The vagus nerve in the thermoregulatory response to systemic inflammation. *Am J Physiol* **273**: R407-R413.
- Sanchez-Alavez M, Tabarean I V, Behrens M M & Bartfai T (2006). Ceramide mediates the rapid phase of febrile response to IL-1 β . *Proc Nac Acad Sci* 103 (8): 2904-2908.
- Saper C B & Breder C D (1994). The neurologic basis of fever. *New Engl. J. Med.* 330 (26): 1880-1886.
- Schmidt-Nielsen K (2002). *Fisiologia Animal*. Ed Santos, São Paulo, SP, 611p.
- Seletti B, Benkelfat C, Blier P, Annable L, Gilbert F & De Montigny C (1995). Serotonin1A receptor activation by flesinoxan in humans. Body temperature and neuroendocrine responses. *Neuropsychopharmacology*, **13**: 93-104.

- Shido O, Romanovsky A A, Ungar A L & Blatteis C M (1993). Role of intrapreoptic norepinephrine in endotoxin-induced fever in guinea pigs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **265**:1369-1375.
- Singewald N & Philippu A (1998). Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. *Progress in Neurobiology*. 56:237-267.
- Snarkes R C, Brown S K, Hull S S & McCracken J A (1981). Role of prostaglandin E in the biphasic fever response to endotoxina. *J Exp Med* **154**: 1212-1224.
- Sinner C, Kaehler ST, Philippu A & Singewald N (2001). Role of nitric oxide in the stress-induced release of serotonin in the locus coeruleus. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 364(2):105-109.
- Steiner A A & Branco L G S (2003). Fever and anapyrexia in systemic inflammation: intracellular signaling by cyclic nucleotides. *Front Bios* **8**: s1398-s1408.
- Steiner A A, Antunes-Rodrigues J & Branco L G S (2002). Role of preoptic second messenger systems (cAMP and cGMP) in the febrile response. *Brain Res* **944**: 135-145.
- Steiner A A & Branco L G S (2000). Central CO-heme oxygenase pathway raises body temperature by a prostaglandin-independent way. *J Appl Physiol* **88**: 1607-1613.
- Steiner A A, Carnio E C, Antunes-Rodrigues J & Branco L G S (1998). Role of nitric oxide in systemic vasopressin-induced hypothermia. *Am. J. Physiol.* **275**: R937-R941.
- Steiner A A, Colombari E & Branco L G S (1999). Carbon monoxide as a novel mediator of the febrile response in the central nervous system. *Am J Physiol*. **277**:R499-507.
- Steiner A A & Branco L G S (2002). Role of preoptic carbon monoxide pathway in endotoxin fever in rats. *Brain Research* 827(1):27-34.
- Steiner A A, Chakravarty S, Rudaya A Y, Herkenham M & Romanovsky A A (2006a). Bacterial lipopolysaccharides fever is initiated via Toll-like receptor4 on hematopoietic cells. *Immunobiology* 107 (10): 4000- 4002.
- Steiner A A, Ivanov A I, Serrats J, Hosokawa P, Phayre A N, Robbins J R, Roberts J L, Kobayashi S, Matsumura K, Sawchenko P E & Romanovsky A A (2006b). Cellular and Molecular Bases of the Initiation of Fever. *PLoS Biol* 4(9): e284. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040284.
- Steininger T L, Gong H, McGinty D & Szymusiak R (2001). Subregional organization of preoptic area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups. *J. Comp. Neurol.* **429**: 638-653.
- Stitt J T (1973). Prostaglandin E1 fever induced in rabbits. *J Physiol* **232**: 163-179.
- Sugimoto Y, Ohkura M, Inoue K & Yamada J (2000). Involvement of the 5HT₂ receptor in hyperthermia induced by pchloroamphetamine, a serotonin-releasing drug in mice. *European Journal of Pharmacology* **403**:225-228.
- Svensson T H (1987). Peripheral, autonomic regulation of locus coeruleus noradrenergic neurons in brain: putative implications for psychiatry and psychopharmacology. *Psychopharmacology* **92**:1-7.

- Terlow E M C, Kent S, Cremona S & Dantzer R (1996). Effect of intracerebroventricular administration of vasopressin on stress-induced hyperthermia in rats. *Physiology & Behavior*. **60** (2): 417-424.
- Tilders F J, Derijk R H, Van Dam A M, Vincent V A, Schotanus K & Persoons J H (1994). Activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis by bacterial endotoxins: routes and intermediate signals. *Psychoneuroendocrinology*. **19**:209-32.
- Van Bockstaele E J, Peoples J & Telegan P (1999). Efferent projections to the nucleus of the solitary tract to peri-locus coeruleus dendrites in rat brain: evidence for a monosynaptic pathway. *J Comp Neurol***412**: 410-428.
- Wasserstron J A & Vites A M (1999). Activation of contraction in cat ventricular myocytes: effects of low Cd^{2+} concentration and temperature. *Am J Physiol* **277**: H488-H498.
- Wenish C, Narzt E, Sessler D I, Parschalk B, Lenhardt R, Kurz A & Graninger W (1996). Mild intraoperative hypothermia reduces production of reactive oxygen intermediates by polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg* **82**: 810-816.
- Woodward T E. The fever pattern as a clinical diagnostic aid (1997). In: *Fever: Basic Mechanisms and Management*, ed. Mackowiak, P. A., New York: *Raven*.
- Yamada J, Sugimoto Y, Ohkura M, Inoue K, Shinozuka K & Kunitomo M (2001). Role of 5-HT receptor subtypes in depletion of 5-HT induced by *p*-chloroamphetamine in the mouse frontal cortex. *Brain Res* **911**: 141-145.
- Yang J J, Chou Y C, Lin M T & Chiu T H. Hypoxia-induced differential electrophysiological changes in rat locus coeruleus neurons. *Life Sci* **61**: 1763-1773.
- Zeisberger E. The roles of monoaminergic neurotransmitters in thermoregulation (1986). *Can. J. Pharmacol*. **65**:1395-1401.
- Zeisberger E (1999). From humoral fever to neuroimmunological control of fever. *J Therm Biol* **24**: 287-326.
- Zuideveld K P, Maas H J, Treijtel N, Hulshof J, Van Der Graaf P H, Peletier L A & Danhof M (2001). A set-point model with oscillatory behavior predicts the time course of 8-OH-DPAT-induced hypothermia. *Am. J. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* **281**: R2059-R2071.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)