

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

**INTERAÇÃO DA ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-
ADRENAL E DA INGESTÃO ALIMENTAR EM ESTRESSE
INDUZIDO PELA ENDOTOXEMIA NO RATO.**

RODRIGO CÉSAR RORATO

RIBEIRÃO PRETO

2007

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

RODRIGO CÉSAR RORATO

**INTERAÇÃO DA ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-
ADRENAL E DA INGESTÃO ALIMENTAR EM ESTRESSE
INDUZIDO PELA ENDOTOXEMIA NO RATO.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia

Orientadora: Profa. Dra. Lucila L. K. Elias

RIBEIRÃO PRETO

2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Rorato, Rodrigo César

Interação da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e da ingestão alimentar em estresse induzido pela endotoxemia no rato. Ribeirão Preto, 2007.

103p; 30cm

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – Área de concentração: Fisiologia
Orientadora: Elias, Lucila Leico Kagohara

1. Ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal. 2. Hormônio Adrenocorticotrófico. 3. Corticosterona. 4. Ingestão alimentar. 5. Lipopolissacarídeo. 6. Prostaglandinas. 7. Adrenalectomia.

Agradeço à DEUS por TUDO

Ofereço e dedico este trabalho...

Aos meus pais, **Aurenir** e **Antônia** pelo carinho, dedicação e, pelo exemplo de honestidade e perseverança que sempre foram e serão os pilares de minha vida.

À minha namorada **Tatiana** pela paciência, compreensão, amor e companheirismo.

Aos meus irmãos **Reges** e **Rose** pelo incentivo e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Profª Drª **Lucila L. K. Elias**, pela oportunidade da orientação, paciência, dedicação, incentivo e, também pela significativa contribuição para o meu aprimoramento profissional, mas, principalmente pelo apoio e amizade durante estes anos de pós-graduação.

Especialmente ao Prof. Dr. **José Antunes Rodrigues**, por quem tenho enorme respeito, carinho e sobretudo admiração. Um amigo e um exemplo como ser humano e profissional que pretendo carregar por toda minha vida. Muito obrigado pelos ensinamentos e pelo apoio durante todo este tempo.

Aos amigos do laboratório de neuroendocrinologia pela inestimável colaboração e companheirismo. Em especial a **Carla Germano, Maurício Benedetti, Ernane Uchoa** e **Silvia Ruginsk** que muito me ajudaram na realização de experimentos e na padronização de protocolos.

Às técnicas e amigas **Maria Valci** e **Marina Holanda**, que nunca negaram uma ajuda por mais simples que fosse.

Aos meus amigos **Carter, Thalles** e **Wilton** pelo apoio sempre presente.

A Profª Drª **Margaret de Castro** pela disponibilização de seu laboratório para a realização de dosagens hormonais.

Às técnicas **Adriana Rossi, Lucimara Bueno e José Roberto da Silva** do Laboratório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da F.M.R.P. pelo auxílio nas dosagens hormonais.

Ao pessoal da secretaria, **Elisa, Cláudia, Fernando e Carlos** meu agradecimento pela gentileza nos processos administrativos relacionados à pós-graduação.

Ao técnico **Rubens Fernando de Melo** pelo auxílio na realização dos cortes histológicos e na montagem das lâminas.

A todos os Professores do Departamento de Fisiologia com quem tive contato durante o curso de pós-graduação.

Aos bioteristas do Departamento de Fisiologia, **Leonardo Sidelis Filho e Eduardo Gomes**, pelos cuidados com os animais.

A todos os colegas pós-graduandos do Departamento de Fisiologia.

RESUMO

RORATO, R.C. Interação da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e da ingestão alimentar em estresse induzido pela endoxemia no rato. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

A resposta de fase-aguda frente a um processo inflamatório ou infeccioso agudo inclui entre outras alterações a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e alterações comportamentais como diminuição do apetite. O fator liberador de corticotrofina (CRF) participa na regulação do eixo HHA, bem como no processo de ingestão alimentar, cujos mecanismos neuroendócrinos de controle envolvem também a participação do hormônio estimulante de melanócito (α -MSH), peptídeo anorexígeno produzido no núcleo arqueado. Neste projeto, avaliamos a interação da atividade do eixo HHA, ingestão alimentar e expressão da proteína Fos, α -MSH e CRF no hipotálamo, em modelo de estresse induzido pelo LPS. Ratos Wistar foram tratados com LPS (100 μ g/Kg, intraperitoneal) ou salina e foram decapitados 60 ou 120 minutos após, para coleta de sangue do tronco para dosagem de ACTH e corticosterona. Um outro subgrupo de ratos recebeu o mesmo tratamento, sendo anestesiado e perfundido, 4 horas após a injeção de LPS ou salina, para obtenção de tecido cerebral para realização de imunistoquímica para Fos, α -MSH e CRF. A coleta de sangue foi realizada, também, em outros dois subgrupos de ratos que receberam tratamento (15 minutos antes) com veículo ou indometacina (10 mg/Kg) ou que foram submetidos à adrenalectomia bilateral ou cirurgia fictícia (*Sham*), 7 dias antes, previamente à administração de LPS ou salina. A administração de LPS induziu aumento das

concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona e redução da ingestão alimentar, quando comparada ao grupo tratado com salina. Estas respostas foram associadas ao aumento de dupla marcação Fos/CRF na divisão parvocelular medial do núcleo paraventricular, porém não houve expressão de Fos no núcleo arqueado. O pré-tratamento com indometacina reduziu as respostas de ACTH e corticosterona, bem como o efeito anorexígeno induzidos pelo LPS. Com a adrenalectomia houve uma manutenção da resposta do ACTH ao estímulo com LPS. Adicionalmente, a redução da ingestão alimentar após LPS foi significativamente maior no grupo adrenalectomizado, quando comparada ao grupo *Sham*. Os dados obtidos indicam que as respostas de ativação do eixo HHA e redução da ingestão alimentar induzidas pela endotoxemia envolvem a participação de vias comuns, como a síntese de prostaglandinas. A ativação de neurônios CRHérgicos no núcleo paraventricular poderia contribuir, também, para o efeito anorexígeno induzido pelo LPS. Adicionalmente, observou-se que a retirada dos glicocorticóides potencializa o efeito anorexígeno induzido pelo LPS, sugerindo uma modulação da ingestão alimentar pelos glicocorticóides, no modelo utilizado.

ABSTRACT

RORATO, R.C. Interaction between the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and food intake under stress induced by endoxemia in rats. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

The acute phase response induced by an inflammatory and infectious process comprises several changes, such as the activation of hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis and behavioral changes, including reduction of food intake. Corticotropin releasing factor (CRF) is the main secretagogue of adrenocorticotropic hormone (ACTH). In addition to the role in the control of HPA axis, CRF participates in the control of food intake, which is under a neuroendocrine control, which includes the participation of α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH), an anorexigenic peptide produced in the arcuate nucleus. We evaluated the interplay between pituitary-adrenal axis activity, food intake and Fos, α -MSH and CRF expression in the hypothalamus, following LPS treatment. Male Wistar rats received LPS (100 μ g/Kg, intraperitoneal) or saline injection and were decapitated 60 and 120 minutes after, for trunk blood collection for ACTH and corticosterone measurement. Another set of rats was subjected to the same treatment, and 4 hours after LPS or saline injection they were anesthetized and perfused for the brain collection for Fos, α -MSH and CRF immunohistochemistry. Blood samples were also obtained from two other subgroups of rats that received an injection (15 minutes before) of indometacin (10 mg/Kg) or vehicle or were subjected to bilateral adrenalectomy, 7 days before the LPS or saline injection. LPS injection induced an increase in the ACTH and

corticosterone plasma levels and a reduction in the food intake, compared to the saline treatment. These responses were associated with an increase in the Fos/CRF double labeling in the medial parvocellular subdivision of the PVN, with no increase in the Fos expression in the arcuate nucleus. Indometacin pre-treatment induced a reduction of ACTH and corticosterone responses and the anorexigenic response to LPS. In adrenalectomized rats, ACTH responses induced by LPS were maintained, with lower food intake compared to the sham group. The present results indicate that HPA activation and food intake reduction during endotoxemia involve prostaglandin pathways. Activation of CRF neurons in the paraventricular nucleus also participates in the control of both responses. Adrenalectomy potentiates the anorexigenic effect induced by LPS, suggesting that glucocorticoids modulate food intake during endotoxemia.

ABREVIATURAS

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico

ADX: Adrenalectomia

AP: Área postrema

ARC: Núcleo arqueado

CART: Transcrito regulado pela cocaína e anfetamina

CRF: Fator liberador de corticotrofina

CVOs: Órgãos circumventriculares

EM: Eminência Mediana

HHA: Hipotálamo-hipófise-adrenal

LPS: Lipopolissacarídeo

MC4R: Receptor 4 da melanocortina

α -MSH: Hormônio estimulante de melanócitos

NE: Norepinefrina

NPY: Neuropeptídeo Y

NTS: Núcleo do trato solitário

OVLT: Órgão vascularizado da lâmina terminal

POMC: Pró-opiomelanocortina

PVN: Núcleo paraventricular

RNA_m: Ácido ribonucléico mensageiro

SFO: Órgão subfornicial

Sham: Cirurgia fictícia

SNC: Sistema nervoso central

INDICE

INTRODUÇÃO	14
OBJETIVOS	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	52
CONCLUSÕES	65
ANEXOS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

Os processos inflamatórios e infecciosos agudos induzem uma resposta do organismo denominada resposta de fase-aguda que inclui o desenvolvimento de febre, ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), supressão dos eixos tireoidiano e gonadal e alterações comportamentais como diminuição do apetite, diminuição do comportamento reprodutivo e menor atividade motora (Kushner 1988). A interação entre os sistemas imune e neuroendócrino é bidirecional e crucial para a manutenção da homeostase, sendo a interface neuro-imuno-endócrina mediada pelas citocinas que atuam como fatores endócrinos, parácrinos ou autócrinos, regulando a proliferação celular, secreção de hormônios e a atividade do eixo HHA (Haddad *et al.*, 2002). Esta interação foi inicialmente proposta por Hans Selye (1936 a e b); que observou o aumento da glândula adrenal e a involução do timo, órgão relacionado com a maturação de células do sistema imune, em resposta a diversos estímulos estressores.

A produção de citocinas pode ser observada no estabelecimento, manutenção e controle de diversas funções fisiológicas como, sono, ovulação, exercícios. Entretanto, durante o desenvolvimento de um processo inflamatório/infeccioso a produção destas moléculas apresenta-se extremamente elevada (Turnbull & Rivier, 1999). É descrito que em resposta a um estímulo inflamatório/infeccioso, como por exemplo, induzido pela administração de endotoxinas, o sistema imune desencadeia a produção de uma variedade de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α) (Ramachandra *et al.*, 1992).

As citocinas produzidas pelas células imunes são capazes de ativar o eixo HHA (Naitoh *et al.*, 1988). A IL-1 é considerada a principal citocina com

capacidade de modular a atividade do eixo HHA durante um processo inflamatório/infeccioso (Imura *et al.*, 1990; Besedovsky *et al.*, 1991; Rivest, 2001). A administração intraperitoneal (i.p.) de IL-1 é capaz de induzir aumento da atividade de todos os componentes do eixo HHA. Foi observado aumento da expressão da proteína Fos no núcleo paraventricular (PVN), e sua co-localização com RNAm do fator liberador de corticotrofina (CRF) neste núcleo (Ericsson *et al.*, 1994; Callahan & Piekut, 1997; Turnbull & Rivier, 1999). Ainda, esta citocina tem a propriedade de estimular a secreção de CRF (Sapolsky *et al.*, 1987; Berkenbosch *et al.*, 1989), como demonstrado pela administração central de IL-1 no PVN, eminência mediana (EM) e hipocampo que induz liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Barbanel *et al.*, 1990; Matta *et al.*, 1993; Linthorst *et al.*, 1994). A administração periférica de IL-1 induz, também, aumento do RNAm da pró-opiomelanocortina (POMC) nos corticotrofos, bem como, promove aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona (Turnbull & Rivier, 1999). Aparentemente, o efeito da IL-1 sobre a transcrição da POMC ou na liberação de ACTH não é direto. Estudos *in vitro* utilizando cultura primária de hipófise de rato (Suda *et al.*, 1989) e estudos de imunoneutralização do CRF demonstraram bloqueio da resposta de ACTH, induzida pela administração endovenosa (i.v.) de IL-1 (Uehara *et al.*, 1987). Adicionalmente, esta citocina apresenta um efeito direto nas células adrenais aumentando a síntese de glicocorticóides (Andreis *et al.*, 1991).

A interleucina 6 (IL-6) está envolvida em várias funções do sistema imune como diferenciação de linfócitos T e B, indução da produção de IL-2 e de seu receptor nas células T e síntese das proteínas de fase aguda (Taga & Kishimoto,

1997; Hirano, 1998). A IL-6 é um potente estimulador do eixo HHA, atuando sobre a liberação hipotalâmica de vasopressina e subsequente liberação de ACTH (Mastotakos *et al.*, 1994). O efeito da IL-6 sobre a secreção de ACTH, também é dependente de CRF, como demonstrado pelo bloqueio da liberação de ACTH com a imunoneutralização de CRF (Naitoh *et al.*, 1988). Os efeitos da IL-6 diretamente na adeno-hipófise são controversos, com estudos que demonstram liberação de ACTH após administração de IL-6, bem como, trabalhos que não observaram este efeito (Lyson & McCann, 1991, 1992; Loxley *et al.*, 1993; Shimon *et al.*, 1997). Além disso, a IL-6 estimula diretamente a secreção de cortisol em cultura primária de células adrenais humanas (Weber *et al.*, 1997). Os efeitos da IL-6 sobre a ativação do eixo HHA envolvem a participação da via da ciclooxigenase (Lyson & McCann, 1992; Turnbull & Rivier, 1999; Haddad *et al.*, 2002; Turnbull *et al.*, 2003).

Os relatos dos efeitos do TNF- α sobre a atividade do eixo HHA são contraditórios e podem ser decorrentes de diferenças farmacológicas da preparação, bem como da via de administração utilizada (Turnbull & Rivier, 1999). A administração i.v. de TNF- α induz aumento imediato da liberação de CRF (Watanobe & Takebe, 1992) e, conseqüentemente, estimulando o eixo HHA, porém, resultados opostos têm sido relatados com a injeção intracerebroventricular desta citocina (Turnbull & Rivier, 1999).

Os mecanismos pelos quais as citocinas ativam o eixo HHA ainda não são completamente conhecidos. A presença de receptores de citocinas, ou do RNAm destes, na hipófise e, também, nas adrenais, apontam para um mecanismo direto de liberação de ACTH e corticosterona (Cunningham *et al.*, 1992; Parnet *et al.*,

1993; Wolvers *et al.*, 1993; Path *et al.*, 1997). Contudo, os estudos divergem quanto a esta propriedade (Kehrer *et al.*, 1988; Beach *et al.*, 1989; Gwosdow *et al.*, 1990; Andreis *et al.*, 1991; Lyson & MacCann, 1992; Aubry *et al.*, 1997) e apontam para ativação de neurônios hipofisiotróficos hipotalâmicos, por diferentes vias, como o mecanismo mais provável de modulação do eixo HHA (Turnbull & Rivier, 1999).

A transmissão da sinalização induzida pelas citocinas pode ocorrer via estimulação de nervos aferentes viscerais como o nervo vago. A ativação de aferentes vagais parece ser importante na ativação do eixo HHA em resposta à administração intraperitoneal de citocinas, pois a vagotomia bloqueia a liberação de ACTH e corticosterona (Fleshner *et al.*, 1995; Kapcala *et al.*, 1996). Adicionalmente, diferentes trabalhos demonstraram que a retirada das terminações das aferências vagais previne a febre, reduz os efeitos comportamentais e diminui a hiperalgesia em resposta à administração i.p. de citocinas (Watkins *et al.*, 1994; Bluthe *et al.*, 1996; Opp *et al.*, 1998). Entretanto, outros estudos demonstram que estas aferências não são importantes durante um processo inflamatório/infeccioso (Engblom *et al.*, 2002). A divergência destes estudos provavelmente origina-se do emprego de diferentes doses, bem como, do uso de diferentes vias de administração do estímulo (Engblom *et al.*, 2002).

Outros mecanismos propostos relacionam-se com a liberação de citocinas cerebrais pelas células gliais ou neurônios, por mecanismo não conhecido, que então atuariam por efeito autócrino ou parácrino (Lechan *et al.*, 1990).

As citocinas são moléculas protéicas grandes hidrofílicas que não atravessam a barreira hemato-encefálica (BHE). Assim, a sinalização das

citocinas no sistema nervoso central (SNC) pode ocorrer via órgãos circumventriculares (CVOs), que estão livres da BHE e constituem estruturas especializadas que possuem capilares fenestrados, permitindo desta forma a passagem de algumas proteínas. Os CVOs incluem o órgão subfornicial (SFO), o órgão vascular da lamina terminal (OVLT), a eminência mediana (EM), área postrema (AP), glândula pineal, órgão subcomissural, plexo coróide do IV ventrículo e lobo intermédio e posterior da hipófise. O núcleo paraventricular (PVN) recebe informações diretas do SFO e do OVLT (Berk & Finkelstein, 1981; Sawchenko & Swanson, 1983) e indiretas da AP, via núcleo do trato solitário (NTS) (Herman *et al.*, 2003). Ericsson *et al.* (1994) demonstraram que após administração de doses elevadas de IL-1 ocorre indução da proteína Fos no OVLT e AP. O OVLT, bem como o SFO, estão principalmente envolvidos na homeostase hidreletrolítica, apresentando população neuronal densa de células produtoras de angiotensina (Plotsky *et al.*, 1988). Durante o choque séptico estas áreas estão envolvidas na ativação do PVN (Borges & Rocha, 2006), entretanto, em situações de endotoxemia sua função é desconhecida. Existem poucas evidências da presença de receptores de citocinas dentro de elementos neuronais destas áreas, porém, o endotélio, principalmente próximo ao OVLT, apresenta distribuição ampla de receptores de citocinas (Cao *et al.*, 2001). A ligação das citocinas com seus receptores presentes no endotélio produz uma resposta inflamatória mediada pelas prostaglandinas. Na EM encontram-se as projeções terminais dos neurônios que expressam CRF, e estudos demonstram que citocinas administradas nesta área podem influenciar a liberação de CRF de seus botões terminais (Matta *et al.*, 1990, 1993).

A sinalização das citocinas presentes na circulação periférica pode, também, atingir o SNC por meio das vias catecolaminérgicas do tronco encefálico. O aumento paralelo da corticosterona plasmática e do conteúdo cerebral de catecolaminas, em resposta à administração de IL-1, sugere a participação das vias adrenérgicas centrais na ativação da resposta neuroendócrina durante o processo infeccioso (Berkenbosch *et al.*, 1989; Dunn & Berridge, 1990). As subpopulações noradrenérgicas e adrenérgicas da região ventrolateral do bulbo e A2/C2 do NTS são ativadas em resposta à IL-1, juntamente com a ativação dos neurônios parvocelulares do PVN (Brady *et al.*, 1994; Ericsson *et al.*, 1995; Day & Akil, 1996), indicando a participação dessas vias na ativação do eixo HHA frente ao estímulo inflamatório ou infeccioso. Ainda, foi descrito que a lesão das projeções catecolaminérgicas para o hipotálamo induz redução do conteúdo hipotalâmico de norepinefrina (NE) e redução dos valores plasmáticos de ACTH e corticosterona em resposta à administração de IL-1 (Ovadia *et al.*, 1989; Chuluyan *et al.*, 1992). Adicionalmente, outros estudos descrevem que o uso de tetrodotoxina ou antagonista de glutamato bloqueia o efeito da NE sobre a ativação de neurônios parvocelulares do PVN, sugerindo que o efeito desta via é mediado por interneurônios glutamatérgicos (Daftary *et al.*, 2000). A ativação dos grupamentos catecolaminérgicos do tronco não é induzida diretamente pelas citocinas, visto que, não foi demonstrado receptores de IL-1 nestes núcleos (Ericsson *et al.*, 1995). Novamente as prostaglandinas aparecem como possíveis mediadores da via de sinalização do processo infeccioso.

As prostaglandinas são descritas como segundo mensageiros importantes em diversos fenômenos. A interação das citocinas com receptores em células

endoteliais induz a expressão da ciclooxigenase-2 (COX-2) e da enzima prostaglandina-sintase microssomal (mPGE), promovendo a produção de prostaglandina E₂ (PGE₂), descrita como principal responsável pelas alterações mediadas pelas prostaglandinas (Engblom *et al.*, 2002). Assim, em resposta a um estímulo inflamatório/infeccioso foi demonstrada a síntese de PGE₂ na microvasculatura cerebral, bem como no parênquima cerebral (Komaki *et al.*, 1992; Engblom *et al.* 2001). A administração de PGE₂ no OVLT (Katsuura *et al.*, 1990) e EM (McCoy *et al.*, 1994) induz aumento da concentração plasmática de ACTH, enquanto, no bulbo ventrolateral induz a expressão de Fos no PVN (Ericsson *et al.*, 1997). Receptores de prostaglandinas EP3 são os mais abundantes no sistema nervoso central (SNC) e foram descritos em diversas regiões que estão relacionadas à ativação do eixo HHA como os CVOs e tronco (Ek *et al.*, 2000; Engblom *et al.*, 2001). O uso de diferentes bloqueadores da síntese de PGE₂ induz redução da atividade do eixo HHA em resposta à administração de citocinas (Turnbull & Rivier, 1999), demonstrando a importância desta via na sinalização de um processo inflamatório/infeccioso.

Anorexia e perda de peso são observadas durante os processos inflamatórios e infecciosos em pacientes e em modelos experimentais animais de infecção. O comportamento alimentar é regulado por um sistema complexo que envolve várias regiões do cérebro, desde o córtex ao tronco cerebral, com destaque para o hipotálamo (Schwartz, 2000), onde ocorre a integração de sinais do estado energético e ingestão calórica. A integração destes sinais desencadeia respostas neuroendócrinas como secreção de peptídeos orexígenos como neuropeptídeo Y (NPY) e orexina (Elmqvist *et al.*, 1998; Sakurai *et al.*, 1998; Date

et al., 1999) ou a ativação de um circuito de sinais anorexígenos, representados pela expressão do hormônio estimulante de melanócito (α -MSH) e o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART).

A expressão do RNAm do NPY é aumentada em estados de jejum (Schwartz *et al.*, 2000). Diversos estudos demonstraram a propriedade orexígena deste peptídeo, dentre estes existem relatos de que a administração central de NPY induz aumento da ingestão de alimento, e o tratamento crônico com NPY leva à obesidade (Schwartz *et al.*, 2000). O α -MSH, bem como o receptor pelo qual este peptídeo exerce seus efeitos, o receptor 4 da melanocortina (MC4-R), fazem parte do sistema hipotalâmico da melanocortina, que tem sido descrito como essencial no controle da homeostase energética (Lu *et al.*, 1994, Fan *et al.*, 1999; Cone, 2005). A administração central de α -MSH induz inibição da ingestão de alimento em ratos (McMinn *et al.*, 2000; Wirth *et al.*, 2001). Camundongos com deleção do gene *Mc4r* apresentam hiperfagia, obesidade e diabetes mellitus (Huszar *et al.*, 1997). Adicionalmente, a administração de antagonistas específicos do MC4-R induz hiperfagia e obesidade, enquanto que o uso de agonistas do MC4-R resulta em efeitos opostos sobre a ingestão alimentar, indicando que a regulação do controle do apetite envolve o sistema da melanocortina central (Schiøth *et al.*, 1999; Benoit *et al.*, 2000).

A sinalização periférica do balanço energético para o hipotálamo ocorre via leptina, hormônio circulante produzido pelo tecido adiposo branco. Receptores da leptina estão presentes no núcleo arqueado e sua ativação aumenta a expressão de POMC e reduz a expressão de NPY neste núcleo (Mizuno *et al.*, 1998;

Elmqvist *et al.*, 1999). O LPS é capaz de induzir aumento na concentração plasmática de leptina, sendo esta ação mediada pela IL-1 (Francis *et al.*, 1999; Sergeyev *et al.*, 2001). Foi observado, também, que a administração de LPS ou TNF impede a redução das concentrações de leptina com o jejum (Grunfeld *et al.*, 1996), enquanto, em animais alimentados a endotoxina induz aumento da secreção de leptina, que por sua vez induz aumento da expressão de POMC no núcleo arqueado (Sergeyev *et al.*, 2001). Deste modo, a leptina poderia ser o mediador da anorexia induzida pelo LPS.

A administração de lipopolissacarídeo (LPS) mimetiza muitas das respostas de fase aguda observadas nas infecções, sem causar infecção do hospedeiro (Burrell, 1994). Portanto, a administração de LPS tem sido utilizada para investigação da resposta neuroendócrina à infecção bacteriana e sepse. Assim, o objetivo do nosso estudo foi avaliar a interação da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e da ingestão alimentar no modelo de estresse induzido pela endotoxemia no rato.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a interação da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e da ingestão alimentar em estresse induzido pela endotoxemia no rato.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a ingestão alimentar e ganho de peso após o estímulo com LPS.

- Avaliar as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

- Avaliar a expressão de Fos/ α -MSH no núcleo arqueado e Fos/CRF no núcleo paraventricular após a administração de LPS.

- Avaliar os efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas e da adrenalectomia sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após o estímulo com LPS.

- Avaliar os efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas e da adrenalectomia sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Animais:

Foram utilizados 260 ratos Wistar adultos (220-300g), provenientes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto – USP. Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais: intactos, pré-tratados com indometacina e adrenalectomizados, sendo que, em cada grupo foi realizado a dosagem hormonal de ACTH e corticosterona e a verificação da ingestão de alimento e ganho de peso. Adicionalmente, foi realizada perfusão no grupo de animais intactos para realização de imunistoquímica. Todos os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia, aclimatados à temperatura controlada ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e sob regime de luz com ciclo claro-escuro de 12 horas (luz 06:00 – 18:00 h). Os animais tiveram livre acesso à água e à dieta comercial sólida (Purina Nutriente Ltda), exceto aqueles em que o consumo de alimento foi verificado, como detalhado adiante. Para minimizar o estresse inespecífico do dia do experimento, os ratos foram manuseados diariamente durante três a cinco dias antes dos experimentos. Para dosagem hormonal e perfusão foram utilizados ratos adaptados em caixas individuais (30x19x13 cm), enquanto, para a verificação da ingestão alimentar foram utilizados animais mantidos em gaiolas metabólicas. Em cada grupo experimental foram utilizados 6 a 8 animais. Os experimentos destinados para as dosagens hormonais e perfusão foram realizados pela manhã, entre 07:00 – 12:00h. Os protocolos experimentais incluídos neste projeto foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da FMRP-USP (Protocolo: 218/2005).

PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Avaliação da ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com livre acesso à água e à dieta comercial em farelo, durante 4 dias. Todos os animais foram mantidos em jejum de 16 horas antes do experimento, com reapresentação da dieta às 08:00h, logo após a administração de salina ou LPS. Em todos os grupos, o registro da ingestão alimentar foi realizado de 2 em 2 horas nas primeiras 12 horas e também 24 horas após o estímulo. O peso dos ratos foi verificado antes e 24 horas após a administração de salina ou LPS.

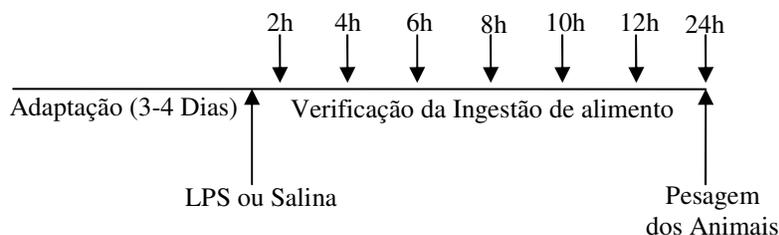


Figura 1. Esquema do protocolo experimental para avaliação da ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Avaliação das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Para realização deste protocolo os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- **Grupo tratado com salina:** os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de solução salina estéril, 0,1ml/100g de peso.
- **Grupo tratado com LPS:** os animais receberam injeção i.p. de solução de LPS (100µg/Kg de peso, 0,1ml/100g).

Os animais foram decapitados 60 ou 120 minutos após o estímulo para coleta de sangue.

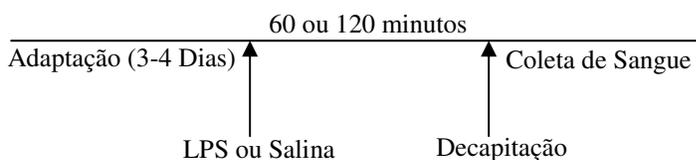


Figura 2. Esquema do protocolo experimental para avaliação das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Avaliação da expressão de Fos/ α -MSH no núcleo arqueado e Fos/CRF no núcleo paraventricular após estímulo com LPS.

Após o período de ambientalização, no dia do experimento os animais receberam injeção i.p. de salina ou LPS, como descrito acima. Após 4h, os animais foram submetidos à perfusão para obtenção de tecido cerebral, como descrito abaixo, para posterior realização dos procedimentos imunistoquímicos.

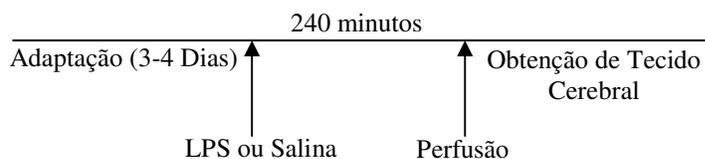


Figura 3. Esquema do protocolo experimental para avaliação da expressão de Fos/ α -MSH no núcleo arqueado e Fos/CRF no núcleo paraventricular após estímulo com LPS.

Avaliação dos efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Para realização deste protocolo os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- **Grupo tratado com veículo:** os animais receberam injeção i.p. de veículo (Tris 0,1M), pH 8,0, (1ml/Kg).
- **Grupo tratado com indometacina:** os animais receberam injeção i.p. prévia de indometacina (inibidor não seletivo da atividade da ciclooxigenase - 10 mg/Kg, num volume de 0,1ml/100g, Sigma).

Para realização deste protocolo os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com livre acesso à água e à dieta comercial em farelo, durante 4 dias. Todos os animais permaneceram 16 horas em jejum, quando receberam tratamento prévio de indometacina ou veículo, às 07:45h, e 15 minutos após receberam a administração de salina ou LPS, e imediatamente após foi realizada a reapresentação da dieta. Em todos os grupos, o registro da ingestão

alimentar foi realizado de 2 em 2 horas nas primeiras 12 horas e também 24 horas após o estímulo. O peso dos ratos foi verificado antes e 24 horas após a administração de salina ou LPS.

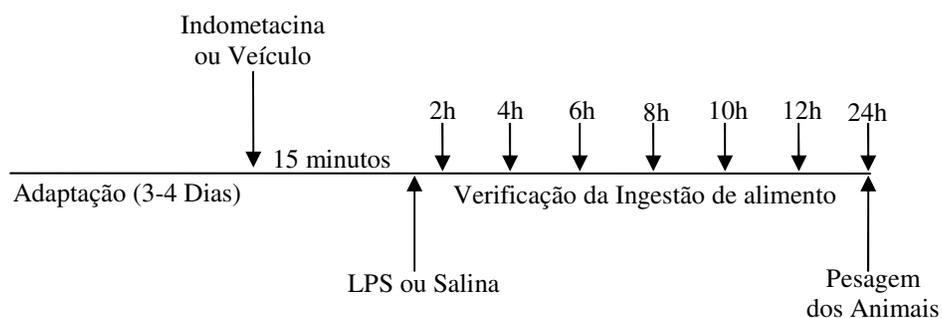


Figura 4. Esquema do protocolo experimental para avaliação dos efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Avaliação dos efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Para realização deste protocolo os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- **Grupo tratado com veículo:** os animais receberam injeção i.p. de veículo (Tris 0,1M), pH 8,0, (1ml/Kg).
- **Grupo tratado com indometacina:** os animais receberam injeção i.p. prévia de indometacina (10 mg/Kg, num volume de 0,1ml/100g, Sigma).

Após 15 minutos da administração de veículo ou indometacina, os ratos receberam injeção i.p. de salina ou LPS, como descrito anteriormente. A decapitação para obtenção de sangue do tronco foi realizada 60 ou 120 minutos após o estímulo.

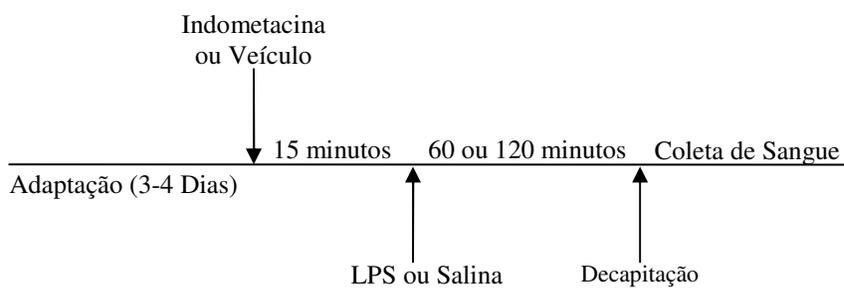


Figura 5. Esquema do protocolo experimental para avaliação dos efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Avaliação dos efeitos da adrenalectomia sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Neste protocolo os animais foram submetidos à adrenalectomia bilateral ou à cirurgia fictícia (*Sham*), e foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais com livre acesso a água e à dieta comercial em farelo. Após 7 dias, os animais permaneceram em jejum de 16 horas antes do experimento, e às 8:00h, receberam administração de salina ou LPS, com reapresentação da dieta logo após. Em todos os grupos, o registro da ingestão alimentar foi realizado de 2 em 2 horas nas primeiras 12 horas e também 24 horas após o estímulo. O peso dos ratos foi verificado antes e 24 horas após a administração de salina ou LPS.

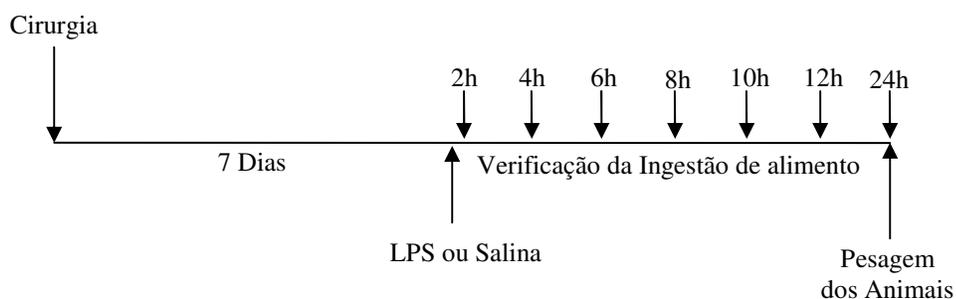


Figura 6. Esquema do protocolo experimental para avaliação dos efeitos da adrenalectomia sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Avaliação dos efeitos da adrenalectomia sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Neste protocolo experimental os animais foram submetidos previamente à adrenalectomia bilateral (ADX) ou cirurgia fictícia (*Sham*) e foram mantidos com livre acesso à água (grupo *Sham*) ou NaCl 0,9% (grupo ADX) e à dieta. Sete dias após a cirurgia, os animais receberam injeção i.p. de LPS ou salina, como descrito acima. A decapitação para obtenção de sangue do tronco foi realizada 120 minutos após o estímulo.

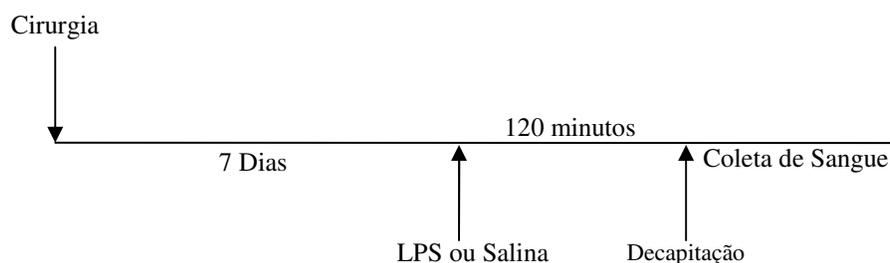


Figura 7. Esquema do protocolo experimental para avaliação dos efeitos da adrenalectomia sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Coleta de sangue:

Para as dosagens hormonais, o sangue do tronco foi coletado por decapitação, aos 60 ou 120 minutos após a injeção de salina ou LPS, em tubos plásticos de polipropileno heparinizados, sob gelo. O plasma foi obtido após centrifugação por 20 minutos, 2500 rotações/min, a 4°C e estocado a -20°C, até o momento do ensaio. Para dosagem de ACTH, adicionamos N-etilmaleimida (Sigma, St Louis, MO, USA), preparada a 5mg/ml, em um volume de 25µl/ml de plasma.

Drogas:

Utilizamos as seguintes drogas: LPS (Sigma, sorotipo 026:B6, St Louis, MO, USA) diluída em salina estéril 0,9% e Indometacina (Sigma, St Louis, MO, USA) diluída em TRIS 0,1M, pH 8,0. Todas as drogas foram administradas por

meio de injeção intraperitoneal (i.p.), sendo o LPS administrado na dose de 100µg/Kg e indometacina na dose de 10mg/Kg.

Anestesia Geral:

Os animais submetidos à adrenalectomia foram anestesiados com injeção i.p. de 2,2,2-tribromoetanol 2,5% (TBE, Acrós Organics, New Jersey, USA) em solução salina 0,9%, na dose de 1mL/100g.

Procedimento Cirúrgico:

Adrenalectomia Bilateral: A adrenalectomia bilateral ou a operação fictícia (*Sham*) foi realizada sob anestesia por TBE. Os animais foram submetidos à tricotomia seguida de uma incisão na região dorsal para permitir a visualização dos órgãos abdominais. No grupo de animais adrenalectomizados, a gordura perirrenal foi exteriorizada e seccionada juntamente com a adrenal, enquanto no grupo *Sham*, foi realizada apenas a introdução de uma pinça não cortante na cavidade abdominal. A lesão foi suturada com fio de algodão. Todos os animais receberam injeção intramuscular de Pentabiótico (0,1ml/100g, Forte Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, Brasil) ao término da cirurgia. Ao grupo de animais adrenalectomizados, foi oferecido solução salina 0,9% em substituição à H₂O. Os experimentos foram realizados 7 dias após a cirurgia.

Perfusão Cerebral: Os animais foram anestesiados com TBE e, após o desaparecimento dos reflexos raqui-medulares, foram submetidos à perfusão do SNC. No momento da perfusão foi palpada a região terminal do esterno onde foi realizado um corte na pele e na musculatura subjacente do abdome. As regiões

laterais das costelas foram seccionadas, visualizando-se o coração, que foi isolado das estruturas adjacentes, rebatendo-se o timo a fim de visualizar o ápice cardíaco e a saída do arco aórtico. A aorta torácica descendente foi visualizada e ocluída antes de sua passagem pelo hiato da aorta no diafragma. Levantando-se o coração, foi realizado um corte no ápice do ventrículo esquerdo, sendo a seguir, introduzida uma agulha romba até a saída da aorta. Um corte foi realizado no átrio direito para permitir a saída do sangue e do líquido após a perfusão cerebral.

A perfusão foi iniciada com a infusão de 200ml de solução salina isotônica estéril (NaCl 0,15M) com heparina (Hiipolabor, diluição 1:80) seguida pela infusão de 400ml de formaldeído 4% (Sigma, St Louis, MO, USA). Neste procedimento foi utilizada uma bomba peristáltica com velocidade de infusão de 15ml/minuto. O encéfalo foi retirado e colocado em um tubo *falcon*, contendo formaldeído 4% e pós-fixado por 1h a 4°C, período necessário para visualização da marcação citoplasmática, quando foi realizada a troca para solução de sacarose (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) 30%. O encéfalo foi mantido nesta solução de sacarose por um período máximo de 2 meses até a realização dos cortes histológicos.

Dosagens Hormonais:

Radioimunoensaio do ACTH plasmático: O ACTH plasmático foi determinado em duplicatas após extração com ácido silícico, segundo técnica previamente descrita (Moreira *et al.*, 1987). Os ensaios foram realizados em condições de não equilíbrio, com incubação de 72 horas. O hormônio marcado, ACTH ¹²⁵ I, foi obtido por radiodinação com cloramina-T, segundo método descrito por Greenwood e Hunter (1963), e purificado com ácido silícico ativado. O

anticorpo anti-ACTH foi cedido pelo Prof. Toshihiro Suda (Tokyo Women's Medical College, Japão). Sua reatividade cruzada é de 2,181% com ACTH 1-24, 364% com ACTH 11-24, 16% com ACTH 1-10, 9,5% com ACTH 1-17, 10% com ACTH 18-39 e 15,3% com α -MSH. Um segundo anticorpo foi utilizado na separação da fração livre da ligada (antigamaglobulina de coelho produzida em cabra).

A dose mínima detectada foi de 7,7 pg/mL. Os coeficientes de variação intra- e entre- ensaios foram em média de 6,3% e 14,0% respectivamente, a nível de B/Bo igual a 0,5% da curva padrão.

Radioimunoensaio da corticosterona: A corticosterona plasmática foi determinada pelo método de Vecsei *et al.* (1979), que utiliza extração do esteróide com etanol. Utilizamos um anticorpo anti-corticosterona (AB-cort-17984) preparado em coelhos, com o hormônio conjugado com albumina bovina. A especificidade do anticorpo foi testada pela reatividade cruzada com o cortisol (1%), 17OH-progesterona (1%) e sulfato de dehidroepiandrosterona (12%). A corticosterona [1,2-3(H)] (New England Nuclear) foi utilizada como marcado. Na separação da fração livre da ligada utilizamos uma solução de carvão-dextran 0,5/0,05%, respectivamente.

A dose mínima detectada foi de 0,4 μ g/dL. Os coeficientes de variação intra- e entre- ensaios foram em média de 8% e 19%, respectivamente.

Imunoistoquímica:

Os tecidos cerebrais foram seccionados em cortes de 30 μ m de espessura utilizando-se um criostato. Os cortes do PVN foram realizados entre -1,80 mm a -

2,12mm e do ARC entre -2,3 mm a -3,3mm posterior ao bregma. Imediatamente após, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com solução H₂O₂ 0,3%, seguido do bloqueio das ligações inespecíficas, utilizando-se soro normal da espécie apropriada. Posteriormente, para visualização da expressão da proteína Fos, os cortes foram incubados em temperatura ambiente por 14-16 horas com o anticorpo primário anti-FOS (Ab-5, Calbiochem, 1:10.000) e a seguir, incubados com o anticorpo secundário biotilado (Vector Laboratories, Burlingame, 1:200) por um período de 1 hora. Para a visualização da reação antígeno-anticorpo, foi utilizado o complexo avidina-biotina-peroxidase (Vector Laboratories, Burlingame, 1:200), empregando diaminobenzidina (DAB, Sigma, St Louis, MO, USA) e cloreto de níquel como cromógenos, cuja reação confere ao núcleo das células neuronais uma coloração de violeta escuro a preto.

No protocolo de co-localização, o protocolo básico de imunistoquímica foi seguido. No segundo dia, após o término do protocolo descrito acima, os cortes foram incubados com anticorpo anti-CRF (Rabbit anti-CRF, Peninsula Laboratories, 1:10.000) ou anti- α -MSH (Sheep anti- α -MSH, Chemicon International, 1:20.000).

Análise Estatística:

Os resultados estão expressos em média \pm EPM. Para análise dos dados, realizamos a comparação de dois grupos aplicando o test-t de Student e para comparação de duas ou mais médias aplicamos a análise de variância de duas entradas, seguida do teste de comparações múltiplas (Newman-Keuls). O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

Em anexo estão os valores individuais de ingestão alimentar, variação de peso, ACTH, corticosterona plasmáticos e contagem de dupla marcação Fos/CRH obtidos em cada protocolo experimental.

RESULTADOS

Efeito da administração do LPS sobre a ingestão alimentar e o ganho de peso.

Na Figura 8 observamos que a administração i.p. de LPS promoveu redução significativa da ingestão alimentar em todos os tempos analisados, quando comparada aos animais tratados com salina ($P<0,05$). O tratamento com LPS induziu, também, menor ganho de peso ($23,3\pm 0,8$ vs $31,1\pm 1,6$ g), quando comparado ao grupo salina ($P<0,001$).

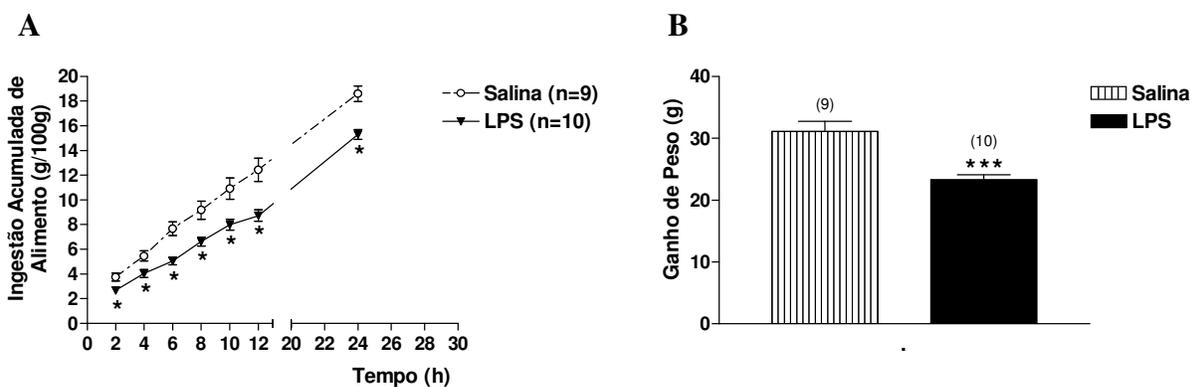


Figura 8. Efeito do LPS sobre a ingestão alimentar (A) e ganho de peso (B). Valores expressos como média \pm EPM. * $P<0,05$ e *** $P<0,001$ comparado ao grupo controle salina.

Efeito da administração do LPS sobre as concentrações plasmáticas de corticosterona e ACTH.

Não observamos diferença nos valores plasmáticos de ACTH entre animais tratados com salina ou LPS aos 60 minutos (Figura 9). Aos 120 minutos encontramos valores significativamente elevados de ACTH ($P<0,001$) em animais

tratados com LPS, quando comparados aos do grupo salina (1128 ± 225 vs $30,2 \pm 2,3$ pg/mL). O estímulo com LPS induziu aumento significativo nas concentrações plasmáticas de corticosterona, quando comparadas às do grupo tratado com salina aos 60 ($7,2 \pm 1,2$ vs $2,3 \pm 0,4$ µg/dL) e 120 minutos ($32,5 \pm 3,2$ vs $3,5 \pm 0,3$ µg/dL) ($P < 0,001$). Os valores de corticosterona foram significativamente maiores ($P < 0,001$) aos 120 minutos, quando comparados aos valores obtidos aos 60 minutos.

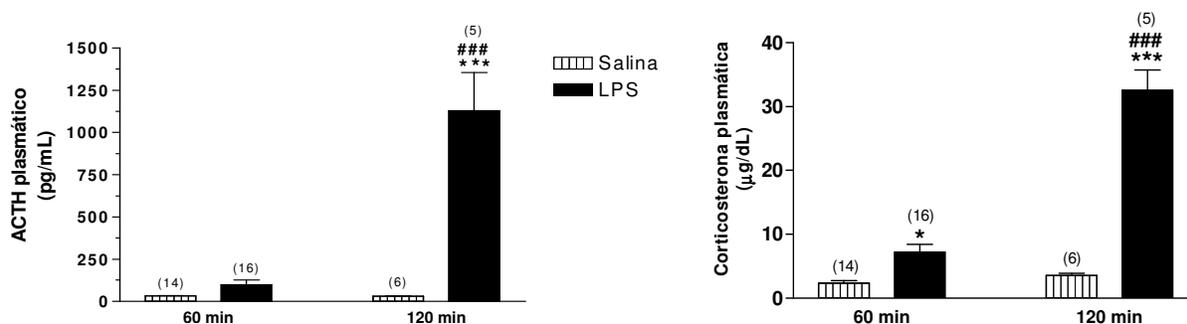


Figura 9. Efeito do LPS sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona. Valores expressos como média \pm EPM. * $P < 0,05$ e *** $P < 0,001$ comparado com o grupo salina; # $P < 0,05$ comparado ao grupo LPS 60 minutos.

Efeito da administração do LPS sobre a expressão de Fos/ α -MSH no núcleo arqueado e Fos/CRF no núcleo paraventricular.

O tratamento com LPS não induziu a expressão de Fos em neurônios que expressam α -MSH na subdivisão medial do núcleo arqueado. A Figura 10 apresenta fotomicrografias representativas da imunistoquímica para Fos e α -MSH o núcleo arqueado, após tratamento com salina ou LPS.

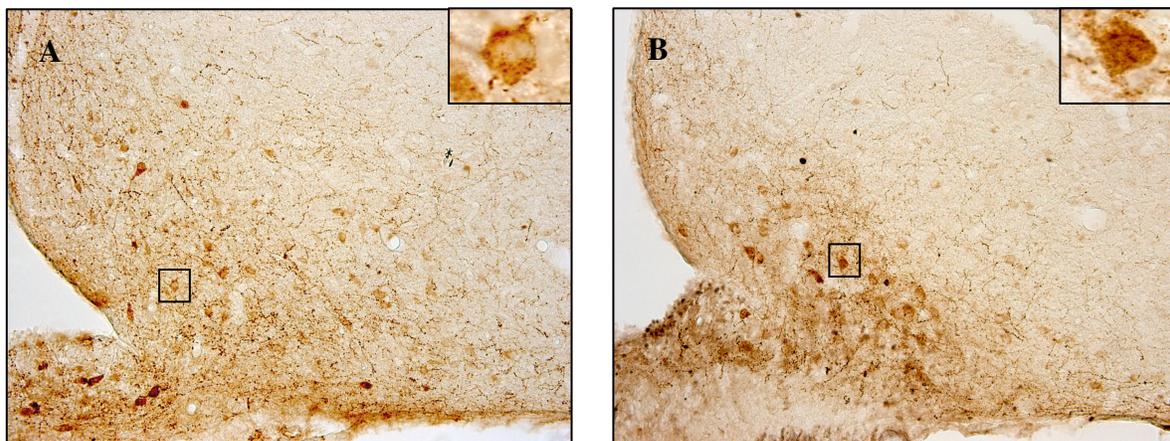


Figura 10. Fotomicrografias representativas (aumento de 20X) de secções coronais de imunistoquímica para Fos/ α -MSH na subdivisão medial do núcleo arqueado em animais tratados com salina (A) e LPS (B). Canto superior direito (aumento de 100X): marcação citoplasmática de α -MSH.

Observamos que o tratamento com LPS induziu aumento significativo ($P < 0,001$) no número de duplas marcações Fos/CRF na subdivisão parvocelular medial do núcleo paraventricular, quando comparado ao grupo salina ($11,8 \pm 1,2$ vs $1,7 \pm 0,4$) (Figura 11). A Figura 12 apresenta fotomicrografias representativas de imunistoquímica para Fos/CRF na subdivisão parvocelular medial do núcleo paraventricular (PaMP), após tratamento com salina ou LPS.

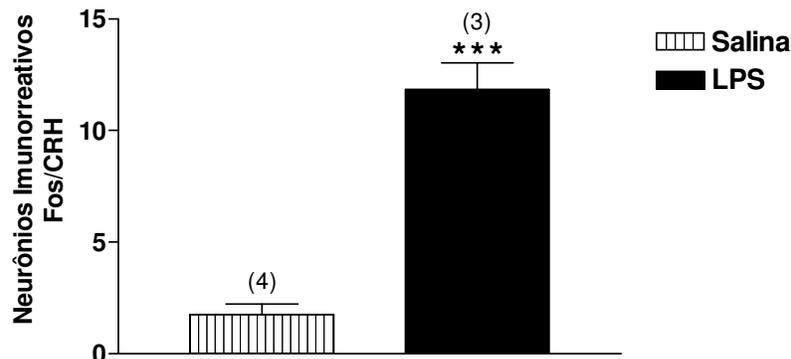


Figura 11. Efeito da administração do LPS sobre a dupla marcação Fos/CRF na subdivisão PaMP do núcleo paraventricular, após tratamento com salina ou LPS. Valores expressos como média±EPM. * $P < 0,001$ comparado com o grupo controle salina.

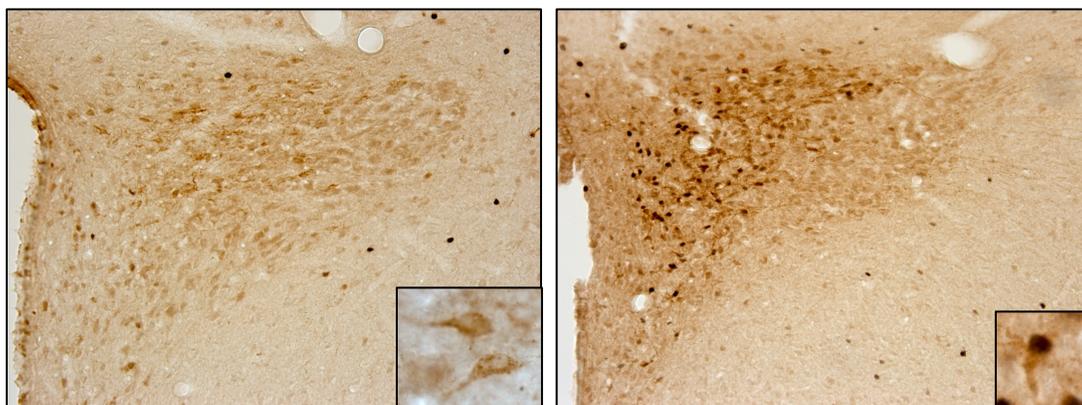


Figura 12. Fotomicrografias representativas (aumento de 20X) de secções coronais de imunohistoquímica para Fos/CRF subdivisão parvocelular medial do núcleo paraventricular em animais tratados com salina (esquerda) e LPS (direita). Canto inferior direito (aumento de 100X): dupla marcação Fos/CRF.

Não foi observada diferença significativa na dupla marcação Fos/CRF na subdivisão parvocelular posterior do núcleo paraventricular (PaPo) entre animais tratados com LPS ou salina ($4,5 \pm 0,9$ vs $5 \pm 0,0$) (Figura 13). A Figura 14 apresenta fotomicrografias representativas da imunistoquímica para Fos/CRF na subdivisão PaPo do núcleo paraventricular, após tratamento com salina ou LPS.

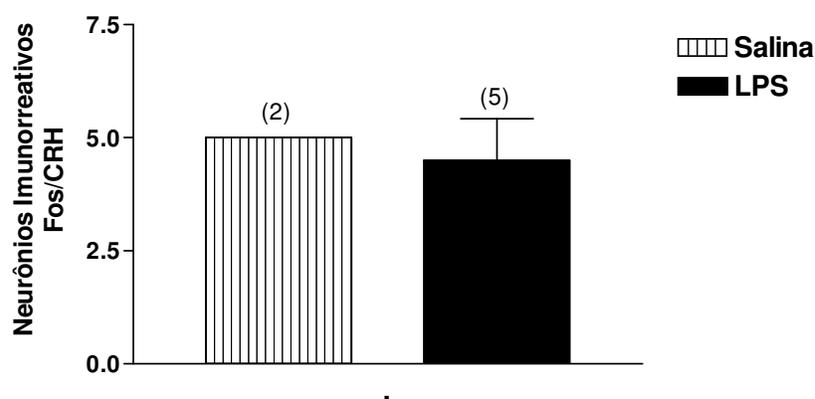


Figura 13. Efeito da administração do LPS sobre a dupla marcação Fos/CRF na subdivisão parvocelular posterior do núcleo paraventricular, após tratamento com salina ou LPS. Valores expressos como média \pm EPM.

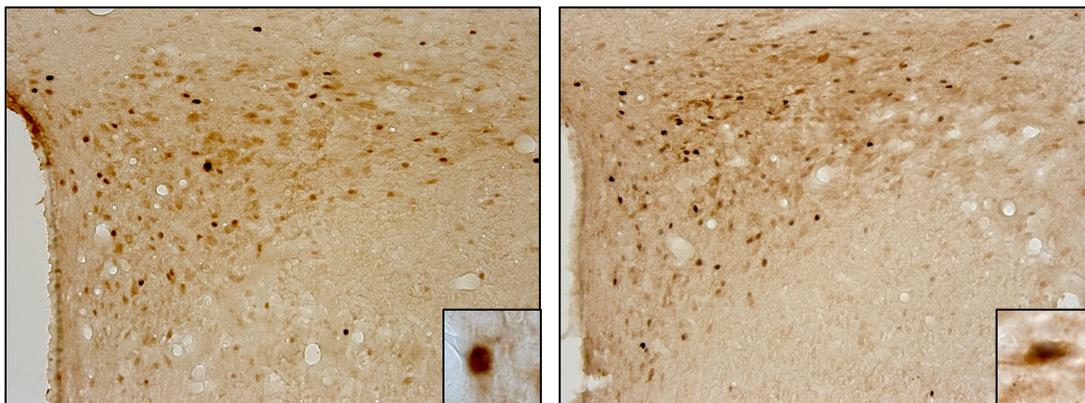


Figura 14. Fotomicrografias representativas (aumento de 20X) de secções coronais de imunohistoquímica para Fos/CRF subdivisão parvocelular posterior do núcleo paraventricular em animais tratados com salina (esquerda) e LPS (direita). Canto inferior direito (aumento de 100X): dupla marcação Fos/CRF.

Efeitos da inibição da síntese de prostaglandinas sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

A ingestão alimentar nos grupos submetidos ao tratamento prévio com indometacina ou veículo e que receberam salina não apresentou diferença significativa (Figura 15). Entretanto, o pré-tratamento com indometacina reduziu o efeito anorexígeno induzido pela administração de LPS ($P < 0,05$), em todos os tempos avaliados, quando comparado ao pré-tratamento com veículo.

O prévio tratamento com veículo ou indometacina não alterou o ganho de peso em animais que receberam tratamento com salina ($33,6 \pm 3,7$ vs $34,2 \pm 0,8$ g) (Figura 8). Adicionalmente, observamos que nos animais que receberam LPS, o ganho de peso foi significativamente maior ($P < 0,05$) no grupo pré-tratado com

indometacina, quando comparado ao grupo pré-tratado com veículo ($29,4 \pm 2$ vs $22,3 \pm 2$ g).

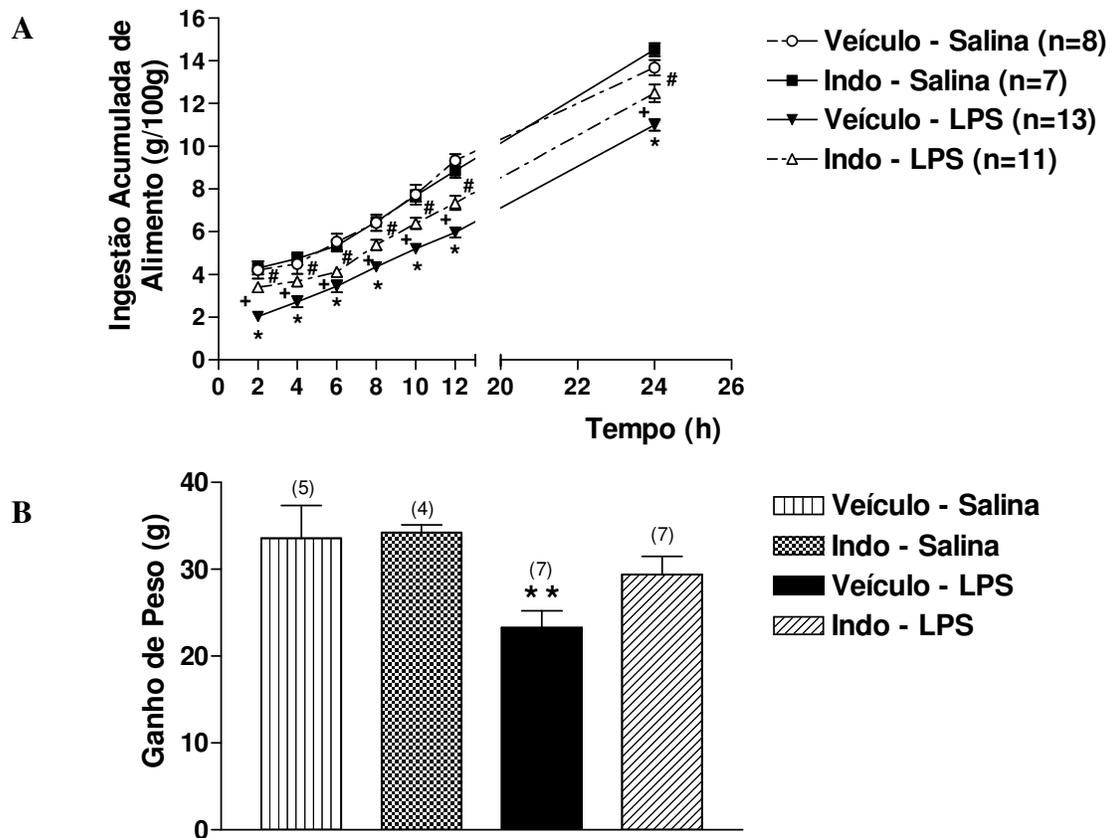


Figura 15. Efeito da administração de LPS ou salina sobre a ingestão alimentar (A) e ganho de peso (B) em animais previamente tratados com indometacina (Indo) ou veículo. Valores expressos como média \pm EPM. * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ comparado com o grupo Veículo-Salina; + $P < 0,05$ comparado com o grupo Indo-Salina e # $P < 0,05$ vs.Veículo-LPS.

Efeito da inibição da síntese de prostaglandinas sobre as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após estímulo com LPS.

Na figura 16 podemos observar que não foi encontrada alteração significativa nos concentrações plasmáticas de corticosterona e ACTH, aos 60 e 120 minutos, entre os animais que foram previamente tratados com veículo ou indometacina e que receberam injeção de salina. Entretanto, o pré-tratamento com indometacina bloqueou o aumento de ACTH plasmático após estímulo com LPS aos 60 ($P<0,05$) e reduziu significativamente aos 120 minutos ($P<0,05$), quando comparado ao grupo pré-tratado com veículo (60 minutos: $58,09\pm 7,68$ vs $140\pm 42,18$ pg/mL; 120 minutos: 212 ± 61 vs 532 ± 107 pg/mL, respectivamente). O mesmo efeito também foi observado com relação aos valores de corticosterona plasmática aos 60 ($P<0,05$) e 120 minutos ($P<0,05$) (60 minutos: $4,76\pm 0,7$ vs $14,2\pm 1,5$ µg/dL; 120 minutos: $9,4\pm 1,79$ vs $35,1\pm 1,7$ µg/dL, respectivamente grupo indometacina e veículo).

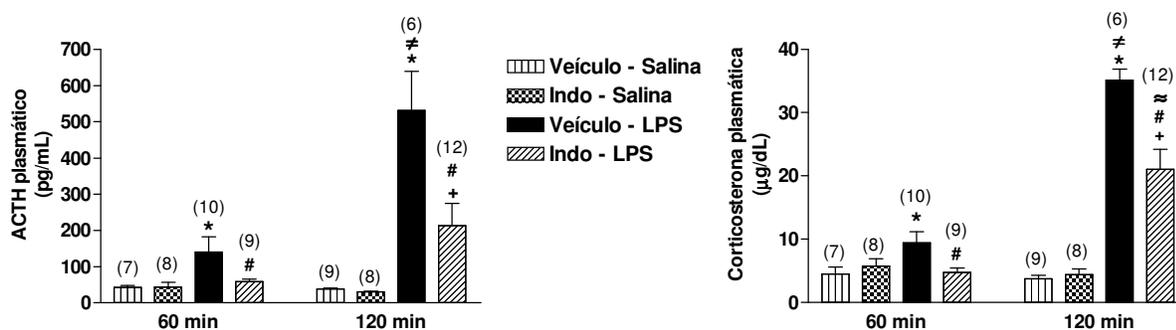


Figura 16. Efeito da administração do LPS sobre as concentrações plasmáticas de ACTH (Painel esquerdo) e corticosterona (Painel Direito) após LPS ou salina, em animais previamente tratados com indometacina (Indo) ou veículo. Valores

expressos como média±EPM. * $P<0,05$ comparado com o grupo Veículo-Salina; + $P<0,05$ comparado com o grupo Indo-Salina; # $P<0,05$ vs.Veículo-LPS; ≠ $P<0,05$ vs Veículo-LPS 60 minutos; ≈ $P<0,05$. vs Indo-LPS 60 minutos.

Efeito da adrenalectomia sobre a ingestão alimentar e ganho de peso após estímulo com LPS.

Animais adrenalectomizados que receberam administração de salina apresentaram ingestão alimentar ($P<0,05$) e ganho de peso menores ($21,8\pm 3,2$ vs $36,4\pm 1,6$ g, $P<0,05$, quando comparados com animais *Sham* que receberam o mesmo tratamento (Figura 17). Após tratamento com LPS, o grupo ADX apresentou ingestão alimentar ($P<0,05$) e ganho de peso menores ($10,6\pm 2,4$ vs $21,8\pm 3,4$ g, $P<0,05$), quando comparado ao grupo *Sham*.

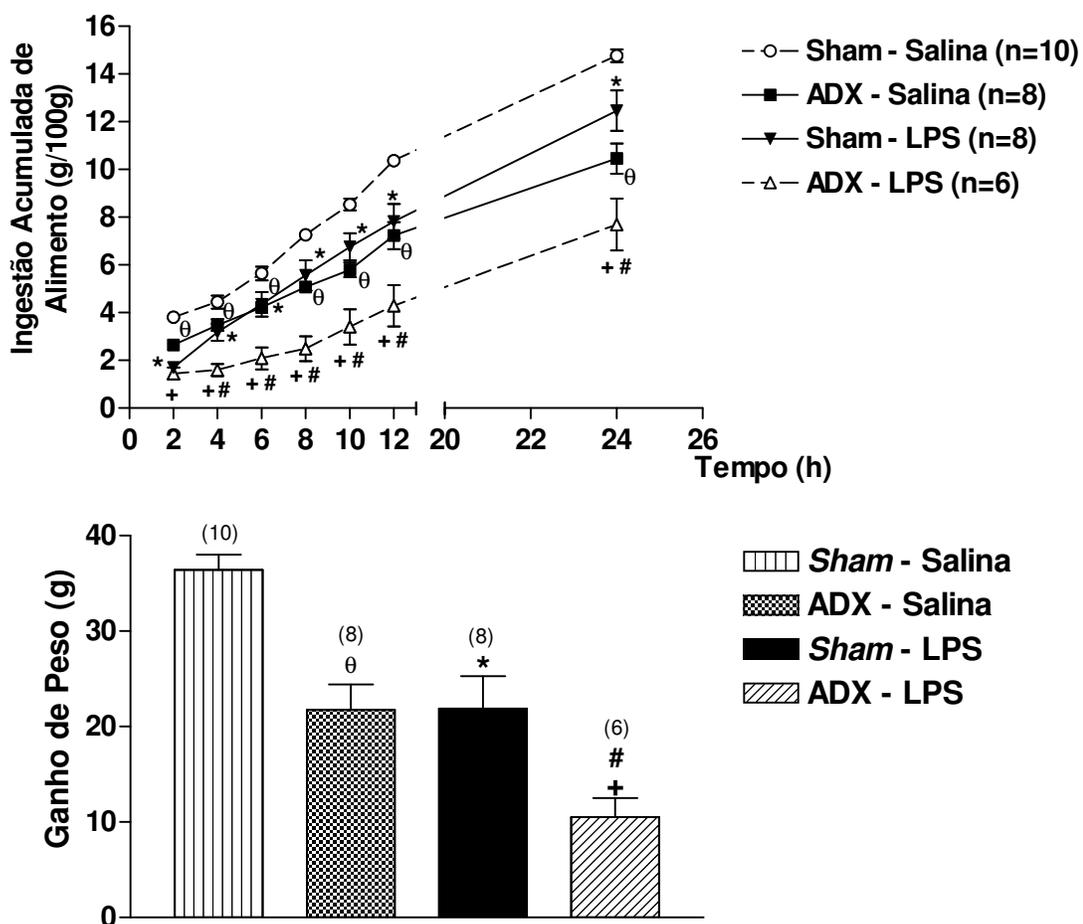


Figura 17. Efeito da administração do LPS ou salina sobre a ingestão alimentar (Painel superior) e ganho de peso (Painel inferior) em animais adrenalectomizados (ADX) ou *Sham*. Valores expressos como média±EPM. * $P<0,05$ comparado com o grupo *Sham-Salina*; + $P<0,05$ comparado com o grupo *ADX-Salina*; # $P<0,05$ vs.*Sham-LPS*; θ $P<0,05$ vs *Sham-Salina*.

Efeito da adrenalectomia sobre as concentrações plasmáticas de ACTH após estímulo com LPS.

Na Figura 18 observamos que os valores de ACTH plasmático, após injeção de salina, foram significativamente maiores no grupo ADX, quando comparados ao grupo *Sham* tratado com salina ($P < 0,05$). O tratamento com LPS em animais ADX induziu um aumento maior dos valores plasmáticos de ACTH ($P < 0,05$), quando comparado ao grupo *Sham*, submetido ao tratamento com LPS.

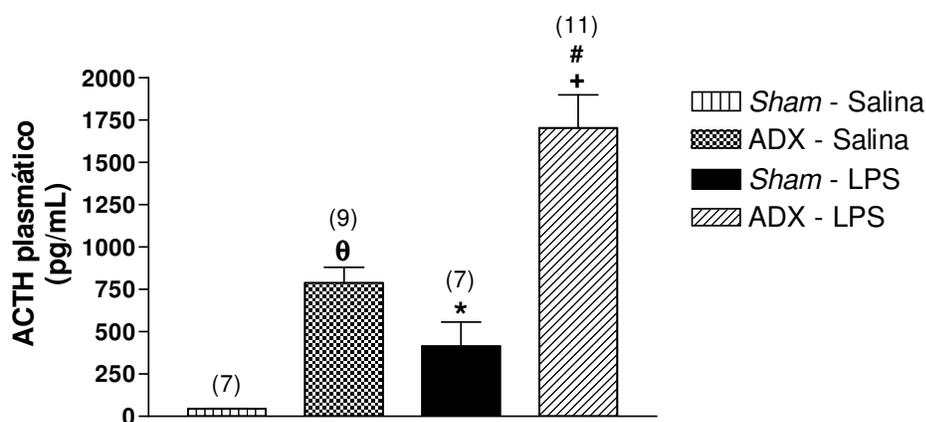


Figura 18. Efeito da administração do LPS ou salina sobre as concentrações plasmáticas de ACTH em animais adrenalectomizados (ADX) ou *Sham*. Valores expressos como média ± EPM. * $P < 0,05$ comparado com o grupo *Sham*-Salina; + $P < 0,05$ comparado com o grupo ADX-Salina; # $P < 0,05$ vs. *Sham*-LPS; θ $P < 0,05$ vs *Sham*-Salina.

No presente estudo avaliamos os efeitos da administração de LPS sobre a resposta hipofisário-adrenal, bem como, a ingestão alimentar e o ganho de peso. Avaliamos também, a participação das prostaglandinas e o efeito da retirada dos glicocorticóides nestas respostas. A administração de LPS induziu aumento das concentrações de ACTH e corticosterona e redução da ingestão alimentar e do ganho de peso. Estas respostas foram associadas à ativação de neurônios que expressam CRF na divisão parvocelular medial do PVN, não havendo ativação de neurônios POMCérgicos do ARC. Ainda, as respostas de ACTH e corticosterona, o efeito anorexígeno e o menor ganho de peso induzidos pelo LPS foram atenuados pela inibição da síntese de prostaglandinas. Após adrenalectomia houve manutenção da resposta de ACTH após LPS, bem como a acentuação do efeito anorexígeno e menor ganho de peso.

O aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após administração de LPS é concordante com dados da literatura (Morrison & Ryan, 1979; Ulevitch and Tobias, 1995; Lenczowski, 1997), e confirmam a eficácia do modelo na indução da ativação do eixo HHA, mimetizando um processo inflamatório/infeccioso.

A ativação do eixo HHA pelo LPS envolve, como uma das vias de sinalização, a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- α (Dinarello & Cannon, 1988; DeRijk *et al.*, 1991; Lenczowski *et al.*, 1997; Bumiller *et al.*, 1999), estas por sua vez, são estimuladoras potentes da secreção de ACTH e corticosterona, podendo atuar de maneira autócrina, parácrina ou endócrina (Haddad *et al.*, 2002). A liberação de ACTH e corticosterona, por uma ação direta das citocinas sobre a hipófise anterior e adrenais é conflitante, visto que, existem

trabalhos que demonstraram este efeito direto (Beach *et al.*, 1989; Andreis *et al.*, 1991; Lyson & MacCann, 1992), porém, outros estudos encontraram resultados negativos quanto a este mecanismo de ação (Kehrer *et al.*, 1988; Gwosdow *et al.*, 1990; Aubry *et al.*, 1997). Contudo, estudos apoiando este mecanismo de ação direta demonstraram a presença destes receptores, bem como, a síntese do RNAm nestas áreas (Cunningham *et al.*, 1992; Parnet *et al.*, 1993; Wolvers *et al.*, 1993; Path *et al.*, 1997).

Observamos aumento significativo dos valores de corticosterona plasmática aos 60 e 120 minutos, porém o aumento dos valores de ACTH plasmático foi observado apenas aos 120 minutos. A ação direta das citocinas nas adrenais pode justificar o aumento de corticosterona aos 60 minutos, mesmo sem aumento significativo de ACTH, neste tempo após estímulo com LPS. Entretanto, não podemos descartar a hipótese de que o aumento, ainda que não significativo, nos valores plasmáticos de ACTH, poderia ser suficiente para induzir uma resposta adrenal subsequente.

As citocinas, induzidas pela administração de LPS, podem sinalizar para o SNC por meio de ativação das aferências vagais, ativação de CVOs ou formação de segundo mensageiro, como as prostaglandinas (Engblom *et al.*, 2002). As aferências vagais parecem ser uma importante via de sinalização de um processo inflamatório/infeccioso somente em estudos utilizando doses baixas (0,1 – 1 µg/Kg) de LPS ou IL-1 administrados intraperitonealmente (Engblom *et al.*, 2002). As informações conduzidas pelas aferências vagais atingem áreas do tronco cerebral, principalmente o NTS (Berthoud & Neuhuber, 2000), que, sabidamente, comunica-se de maneira recíproca com o PVN (Swanson & Kuypers, 1980). A

literatura demonstra que as projeções catecolaminérgicas do tronco para o PVN representam uma das principais vias excitatórias do eixo HHA (Plotsky 1987; Plotsky *et al.*, 1989). A administração de LPS pode ativar neurônios do NTS, bem como região ventrolateral rostral e caudal do bulbo (Sagar *et al.*, 1995; Elmquist *et al.*, 1996), ainda, o NTS, apresenta comunicação extensa com a AP, podendo desta forma detectar, indiretamente, alterações de citocinas circulantes. A síntese de prostaglandinas na microvasculatura local pode, também, ativar o NTS (Ericsson *et al.*, 1997). Assim, é evidente a participação de áreas do tronco cerebral, especialmente o NTS, na ativação do eixo HHA em resposta a um estímulo inflamatório/infeccioso.

Os CVOs apresentam permeabilidade relativa às citocinas (Laflamme & Rivest, 2001), além disto, foi demonstrada uma indução rápida da expressão do RNAm de IL-1, IL-6 e TNF- α em estruturas dos CVOs após estímulo com LPS (Blatteis *et al.*, 1983; Hashimoto *et al.* 1991; Banks *et al.*, 1995; Aderem & Ulevitch, 2000; Laflamme & Rivest, 2001). O LPS foi, também, capaz de induzir expressão do RNAm de *c-fos* no OVLT e SFO (Rivest & Laflamme, 1995; Ruzicka & Akil, 1995; Elmquist *et al.*, 1996), enquanto, estudos de microinjeção de citocinas diretamente na EM induziram secreção de ACTH (Matta *et al.*, 1993; McCoy *et al.*, 1994). Assim, diversos estudos demonstram que os CVOs são ativados em resposta a estímulos inflamatórios/infecciosos.

As citocinas, bem como o LPS, têm a propriedade de induzir a síntese e liberação de prostaglandinas (Sehic *et al.*, 1996). O ácido araquidônico (AA) é inicialmente convertido pela enzima ciclooxigenase (COX) em prostaglandina H₂,

esta por sua vez sofre processamento tecido específico, derivando prostaglandina E₂ (PGE₂) pela atividade da enzima prostaglandina-sintase microssomal E (mPGE). A PGE₂ tem sido descrita como mediador importante de diversas alterações observadas durante a endotoxemia (Katsuura *et al.*, 1990; Rassnick *et al.*, 1995). É conhecida a existência de dois subtipos de COX: COX-1, expressa constitutivamente e COX-2, denominada induzida, devido ao aumento de sua síntese durante um processo infeccioso (Simmons *et al.*, 2004). No presente estudo, utilizamos a indometacina, inibidor não seletivo da COX, e observamos que a inibição da síntese de prostaglandinas atenuou o aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona após administração de LPS. Lacroix & Rivest (1997) observaram redução da expressão do RNAm do CRF no núcleo paraventricular após administração de dose moderada de LPS (25 µg/Kg, i.p.) em animais previamente tratados com indometacina, contudo, este efeito não foi observado por Johnson e cols (2001). Foi demonstrado, também, que a administração de indometacina diretamente no OVLT atenua o aumento de ACTH em resposta à IL-1 (Katsuura *et al.*, 1990). Adicionalmente, a administração central de PGE₂ é capaz de induzir a expressão da proteína Fos em áreas relacionadas com a ativação do eixo HHA como NTS, OVLT e AP (Lacroix *et al.*, 1996), ainda, a administração de PGE₂ na região ventrolateral do bulbo induz transcrição do RNAm do CRF no PVN, enquanto, o pré-tratamento com indometacina reduz esta resposta (Ericsson *et al.*, 1997).

Assim, nossos dados estão de acordo com estudos que observaram redução da ativação do eixo HHA, durante a endotoxemia com tratamento prévio com inibidores seletivos e não seletivos da ciclooxigenase (Gadek-Michalska &

Bugajski, 2004). A redução da ativação do eixo HHA seria possivelmente mediada pelo bloqueio da atividade da COX-2, visto que a expressão desta enzima encontra-se elevada predominantemente na vasculatura cerebral, mas também em elementos neuronais, durante a infecção (Cao *et al.*, 1995; Matsumura *et al.*, 1998) e sua expressão é necessária para a resposta adequada a um processo inflamatório/infeccioso (Li *et al.*, 1999).

Com relação à atividade neuronal, observamos que a administração de LPS induziu aumento de expressão da dupla marcação Fos/CRF na subdivisão parvocelular medial do PVN. A presença da expressão de proteína Fos tem sido utilizada como marcador de atividade neuronal. Assim, o resultado observado indica aumento da atividade de neurônios produtores de CRF, principal secretagogo de ACTH (Vale *et al.*, 1981). Outros estudos, também, demonstraram que após administração de LPS ocorre aumento da expressão de Fos ou, ainda, do RNAm do CRF na região parvocelular medial do PVN (Kakucska *et al.*, 1993; Wan *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1995; Sagar *et al.*, 1995). Apesar dos diferentes níveis de modulação descritos acima, o aumento da atividade de neurônios que expressam CRF parece ser essencial para o aumento dos valores plasmáticos de ACTH e corticosterona em animais intactos, demonstrando assim a importância do PVN na resposta do eixo HHA ao LPS. A redução dos valores plasmáticos de ACTH e corticosterona, após administração de LPS em animais pré-tratados com indometacina, pode ter sido induzida pela modulação da atividade dos neurônios que expressam CRF, pois, como exposto acima, ocorre diminuição da expressão do RNAm de CRF após tratamento com indometacina.

Como esperado a retirada das adrenais, e conseqüentemente a retirada da retroalimentação negativa exercida pelo glicocorticóides, acarreta valores elevados de ACTH em animais tratados com salina (Birnberg *et al.*, 1984). Experimentos conduzidos em nosso laboratório não observaram aumento dos valores plasmáticos de ACTH em animais ADX submetidos ao estímulo de contenção, quando comparados com os animais controles (Laguna-Cerávolo, 2006). Contudo, em nosso estudo observamos que o LPS induziu aumento ainda mais expressivo dos valores de ACTH. Os glicocorticóides são conhecidos por exercerem importante ação imunossupressora (Munck *et al.*, 1984). Os valores periféricos e centrais de citocinas após adrenalectomia, em condições basais, encontram-se elevados, quando comparados aos valores de animais *Sham* (Goujon *et al.*, 1996). Adicionalmente, estes autores demonstraram, também, que o tratamento com LPS em animais ADX acarreta aumento adicional nos valores de citocinas, o que poderia justificar o aumento expressivo dos valores de ACTH após LPS, observado no presente estudo.

Com relação à ingestão de alimento, observamos que a endotoxemia induziu uma redução deste comportamento. Adicionalmente, observamos que animais intactos tratados com LPS apresentaram menor ganho de peso quando comparados com animais que receberam salina. Nossos dados estão de acordo com relatos da literatura demonstrando anorexia após administração de LPS ou citocinas (Faggioni *et al.*, 1995; Fantuzzi *et al.*, 1996; Plata-Salamán 1998), bem como, menor ganho de peso em animais submetidos a um estímulo infeccioso (Swiergiel & Dunn, 1999).

O efeito anorexígeno induzido pela administração de LPS parece ser essencialmente mediado pelas citocinas, visto que, animais resistentes ao LPS não apresentam elevação de citocinas ou anorexia após administração da endotoxina, enquanto, o tratamento destes animais com IL-1 induz efeito anorexígeno potente (Segretti *et al.*, 1997). Por outro lado, estudos utilizando antagonistas do receptor de citocinas falharam em reduzir a ingestão de alimento em animais que receberam tratamento com LPS (Kent *et al* 1992; Swiergiel *et al* 1997).

Durante processos inflamatórios/infecciosos é descrito aumento do gasto energético (Tocco-Bradley *et al.*, 1987), como observado pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) após a administração de LPS (MacNeil *et al.*, 1996; MacNeil *et al.*, 1997). As citocinas e PG são descritas como possíveis fatores intermediários do efeito do LPS sobre a atividade do SNS (Nijima *et al.*, 1991; Ichijo *et al.*, 1994; MacNeil *et al.*, 1997). Desta forma o aumento da atividade do SNS e, conseqüentemente, do metabolismo periférico, induzido pela administração de LPS poderia contribuir pelo menor ganho de peso observado nestes animais.

No presente estudo a redução da ingestão alimentar não esteve associada à expressão de Fos em neurônios produtores de α -MSH, sugerindo que neurônios POMCérgicos do ARC poderiam não participar no efeito anorexígeno pós LPS, no modelo utilizado. Outros estudos, utilizando imunoistoquímica para Fos, também não observaram aumento da ativação do ARC após administração de doses anorexígenas de LPS (250 μ g/Kg, i.p.; 150 μ g/Kg, i.v.) ou citocinas (1,25 μ g/rato, i.p.) (Brady *et al* 1994; Sagar *et al* 1995; Konsman *et al* 1999). Contudo,

utilizando doses maiores de LPS (500 µg/Kg), observamos, em nosso laboratório, a expressão de Fos nos neurônios que expressam α -MSH no ARC (Menezes *et al.*, dados não publicados), indicando que este núcleo poderia modular a ingestão de alimentos em uma situação de endotoxemia mais intensa. Assim, seriam necessários mais estudos, utilizando outras estratégias, como a expressão de outros marcadores de atividade neuronal, bem como estudo de expressão gênica, que possibilitem uma melhor avaliação da atividade de neurônios produtores de α -MSH no ARC no modelo utilizado.

O efeito anorexígeno após LPS, na dose utilizada, poderia envolver a participação de outras áreas hipotalâmicas. Como apresentado inicialmente, demonstramos aumento de dupla marcação Fos/CRF no PVN medial. Além de sua ação hipofisiotrófica sobre a atividade do eixo HHA, o CRF participa no controle de outros sistemas, como a homeostase energética, possuindo propriedades anorexígenas (Rivest *et al.*, 1989; Richard *et al.*, 2002). Em modelos de estresse de contenção, que também estão associados com a ativação do eixo HHA, o uso de antagonista do receptor de CRF induziu a reversão da anorexia (Krahn *et al.*, 1986; Heinrichs & Koob, 1992). Assim, a anorexia induzida pelo LPS no presente estudo pode ser modulada pelo CRF produzido no núcleo paraventricular.

Além do hipotálamo, outras áreas relacionadas com a ingestão alimentar localizadas no tronco participam nos mecanismos de controle da ingestão alimentar, controlando o tamanho da refeição, ou seja, são capazes de induzir saciedade. Diversos estudos demonstraram aumento da expressão de Fos no NTS, AP e complexo motor dorsal do vago após administração de LPS (Wan *et*

al., 1994; Sagar *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 2000). O NTS é o mediador dos efeitos sacietógenos da colecistocinina (CCK). A liberação de CCK é induzida pela ingestão de alimento, porém, as citocinas podem modular a liberação de CCK, como observado pelo aumento das concentrações plasmáticas deste hormônio após administração de IL-1 (Daun & McCarthy, 1993). A CCK, produzida por células endócrinas intestinais, interage com receptores específicos, em terminações vagais, e sinaliza, via aumento da descarga de aferentes viscerais do nervo vago que se projetam para o NTS, (Moran *et al.*, 1987; South & Ritter, 1988; Reidelberger *et al.*, 1994; Broberger & Hokfelt, 2001). A subdivisão medial do NTS possui neurônios produtores de α -MSH e sua ativação induz redução da ingestão de alimento (Williams *et al.* 2000, 2002). A liberação de CCK induz aumento da atividade dos neurônios POMCérgicos do NTS (Appleyard *et al.*, 2005). Assim, ativação do NTS poderia ser um mecanismo envolvido na redução da ingestão de alimento pós LPS.

A leptina, importante hormônio relacionado com o controle da homeostase energética, constitui um outro fator a ser considerado no comportamento de redução da ingestão alimentar durante um processo inflamatório/infeccioso. A liberação de leptina foi demonstrada após administração de LPS ou citocinas (Sarraf *et al.*, 1997; Berkowitz *et al.*, 1998), entretanto, animais *ob/ob* ou *db/db*, deficientes na secreção ou na ação da leptina, apresentam anorexia após administração de LPS ou citocinas (Faggioni *et al.*, 1997). A atividade da leptina durante a endotoxemia parece estar relacionada com a modulação do efeito tóxico do LPS, visto que, animais *ob/ob* apresentam maior taxa de mortalidade após injeção de LPS (Faggioni *et al.*, 1999).

Demonstramos que o tratamento com indometacina reduz o efeito anorexígeno induzido pelo LPS, indicando que as prostaglandinas participam no mecanismo que resulta em anorexia durante um processo infeccioso. A reversão parcial da redução da ingestão de alimento induzida pelo LPS foi também observada por Lugarini *et al.* (2002), porém, utilizando antagonista específico da COX-2. Ainda, Pecchi *et al.* (2006) demonstraram que após administração de IL-1 ocorre *up-regulation* do gene da mPGE, responsável pela síntese de PGE₂, em áreas do hipotálamo e complexo motor dorsal do vago. Foi observado, também que administração de LPS, induz aumento na expressão do RNAm da COX-2 em células perivasculares (Breder & Saper, 1996). Outros estudos demonstraram que o aumento da expressão dos genes responsáveis pela produção da PGE₂ (mPGE e COX-2) está relacionado com os efeitos anorexígenos observados durante um processo inflamatório/infeccioso. Entretanto, o mecanismo pelo qual o bloqueio da síntese de prostaglandinas atenua a anorexia é controverso, visto que existem estudos demonstrando supressão da expressão do CRF (Lacroix & Rivest, 1996, 1997) e também que o bloqueio da síntese de prostaglandinas não altera a expressão de CRF e NPY induzidas pelo LPS (Johnson *et al.*, 2001).

Ainda, com relação ao tratamento prévio com indometacina em animais que receberam injeção de LPS, observamos que neste grupo ocorreu aumento do ganho de peso, quando comparado com animais previamente tratados com veículo que receberam administração posterior de LPS. A Administração central de PGE₂ induz aumento rápido da descarga simpática (Ando *et al.*, 1995), por outro lado, a administração central de indometacina bloqueia a ativação do SNS induzida pelo LPS (MacNeil *et al.*, 1997). Assim, este bloqueio, juntamente com a

perda do efeito anorexígeno, podem justificar o aumento do ganho de peso após LPS, em animais que foram previamente tratados com indometacina.

Em animais ADX observamos que o comportamento alimentar, bem como o ganho de peso foram reduzidos quando comparados com animais *Sham* tratados com salina. Estes efeitos observados após ADX foram também descritos por outros pesquisadores (Schiffer & Wertheimer, 1947; Freedman *et al.*, 1986). A administração de glicocorticóides em animais com as adrenais intactas aumenta a ingestão de alimento e o ganho de peso (Green *et al.*, 1992; Zakrzewska *et al.*, 1997). Estudos demonstram que a ADX é capaz de reverter completa ou parcialmente o fenótipo obeso em animais *ob/ob* (Saito & Bray, 1984; Bailey *et al.*, 1986; Zakrzewska *et al.*, 1997) e normalizar os valores hipotalâmicos do RNAm da POMC e AgRP nestes animais (Makimura *et al.*, 2000). A redução da ingestão de alimento associada à ausência de glicocorticóides pode ser decorrente do aumento da atividade da POMC hipotalâmica (Beaulieu *et al.*, 1988) e redução da atividade NPY/AGRPérgica (White *et al.*, 1990; Arvaniti & Richard, 1999).

Observamos que o efeito anorexígeno induzido pelo LPS foi potencializado pela adrenalectomia. Os glicocorticóides suprimem a síntese e secreção de citocinas, bem como, de PG (Weidenfeld *et al.*, 1993). Desta forma a retirada da contra-regulação exercida pelos glicocorticóides sobre a síntese e secreção destes dois sinalizadores com propriedades anorexígenas, pode ser o responsável pelo maior efeito anorexígeno observado em animais ADX tratados com LPS. A adrenalectomia induz aumento da expressão de CRF no núcleo paraventricular pela retirada do mecanismo de contra-regulação negativa exercida pelos glicocorticóides (Herman & Morrison, 1996). Assim, um outro mecanismo que pode

contribuir para maior efeito anorexígeno, nos animais adrenalectomizados que receberam LPS, seria a maior ativação de neurônios que expressam CRF neste grupo.

Em conclusão, o conjunto dos dados obtidos indica que os mecanismos envolvidos na ativação do eixo HHA, como as vias das prostaglandinas e a ativação de neurônios que expressam CRF do núcleo paraventricular, participam também na modulação do comportamento alimentar após a administração de LPS.

CONCLUSÕES

Após estímulo com LPS intraperitoneal observamos:

- Redução da ingestão alimentar e menor ganho de peso.
- Aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona.
- Ausência de expressão de Fos em neurônios que expressam α -MSH do núcleo arqueado.
- Aumento da expressão de dupla marcação Fos/CRH em neurônios da subdivisão parvocelular medial

O tratamento prévio com indometacina induziu as seguintes alterações das respostas após estímulo com LPS:

- Atenuação do efeito anorexígeno e da perda de peso
- Redução das respostas de ACTH e corticosterona

A adrenalectomia induziu as seguintes alterações das respostas após estímulo com LPS:

- Acentuação do efeito anorexígeno e da perda de peso
- Acentuação da resposta de ACTH

O conjunto dos dados obtidos indica que o estímulo com LPS induziu ativação de neurônios que expressam CRF do núcleo paraventricular, que resultou em um aumento na secreção de ACTH e corticosterona. A resposta hipofisária ao estímulo com LPS foi mantida após a retirada da retroalimentação negativa exercida pelos glicocorticóides. Adicionalmente, observamos que a ativação do eixo HHA envolve a participação das prostaglandinas. Ainda, os dados obtidos

indicam que a redução da ingestão alimentar após estímulo com LPS envolve, também, a participação das prostaglandinas. A adrenalectomia acentua o efeito anorexígeno após estímulo com LPS. O aumento de atividade de neurônios CRHérgicos do PVN poderia contribuir para a redução da ingestão alimentar observada após estímulo com LPS.

Tabela 1: Valores individuais e média da ingestão alimentar acumulada em animais intactos tratados com LPS ou salina.

Tempo (h)	Ingestão de Alimento Acumulada (g)											Média ± EPM
	Salina	LPS										
2	Salina	4,69	3,75	5,33	3,41	2,94	2,76	2,87	4,78	3,22		3,75 ± 0,31
	LPS	2,32	2,79	2,87	2,22	2,72	2,70	3,28	1,86	3,18	2,72	2,67 ± 0,13
4	Salina	5,63	5,63	7,11	5,36	3,43	5,99	5,26	6,95	3,68		5,45 ± 0,42
	LPS	3,25	5,58	3,82	4,00	5,45	4,05	3,28	2,32	4,09	4,54	4,04 ± 0,31
6	Salina	8,45	8,45	9,77	7,31	4,90	8,75	6,69	9,13	5,52		7,66 ± 0,55
	LPS	4,65	5,58	4,78	5,33	5,90	4,95	3,28	3,72	5,90	6,36	5,05 ± 0,31
8	Salina	11,26	9,38	12,00	8,78	5,39	10,13	9,56	10,00	5,99		9,17 ± 0,73
	LPS	7,44	6,51	6,22	6,22	7,72	5,85	5,16	5,11	8,63	7,27	6,61 ± 0,36
10	Salina	11,26	10,32	15,11	10,73	6,37	11,98	12,91	11,73	7,83		10,92 ± 0,86
	LPS	7,90	9,30	8,13	8,00	10,00	6,75	7,04	5,11	9,09	8,63	7,99 ± 0,44
12	Salina	14,08	11,26	16,88	12,68	7,84	13,36	14,83	11,73	9,21		12,43 ± 0,93
	LPS	8,83	10,69	8,13	9,33	10,00	7,20	7,04	6,51	9,54	10,00	8,73 ± 0,45
24	Salina	19,71	17,37	21,77	19,02	15,19	17,97	20,09	17,82	18,43		18,60 ± 0,62
	LPS	15,34	17,20	15,31	15,55	15,90	13,96	13,61	13,48	15,90	16,81	15,31 ± 0,40

Tabela 2: Valores individuais e média do ganho de peso em animais intactos tratados com LPS ou salina.

Ganho de Peso (24 h)		
Salina	LPS	
38,00	25,00	
29,00	25,00	
30,00	25,00	
33,00	22,00	
24,00	23,00	
28,00	21,00	
27,00	19,00	
39,00	23,00	
32,00	28,00	
	22,00	
Média ± EPM	31,11 ± 1,65	23,30 ± 0,80

Tabela 3: Valores individuais e média das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona em animais intactos tratados com LPS ou salina.

60 minutos				120 minutos				
ACTH (pg/mL)		Corticosterona (µg/dL)		ACTH (pg/mL)		Corticosterona (µg/dL)		
Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	
32,80	40,00	4,76	4,78	32,80	1800,00	3,40	42,00	
27,20	40,00	2,53	4,16	27,20	1380,00	3,05	35,65	
29,60	56,00	2,79	4,98	20,00	1200,00	2,67	22,55	
32,80	44,00	2,93	4,80	36,00	600,00	4,09	30,15	
15,60	24,00	4,36	4,43	32,80	660,00	2,81	32,40	
36,00	168,00	4,88	14,30	32,80		5,09		
38,00	36,00	0,21	4,46					
32,00	44,00	1,74	4,58					
38,00	40,00	0,78	3,11					
36,00	24,00	1,80	1,45					
38,00	48,00	2,60	4,75					
29,60	348,00	1,56	13,25					
52,00	114,00	1,63	11,80					
22,00	87,00	0,16	3,60					
	120,00		13,50					
	348,00		16,95					
Média	32,83	98,81	2,33	7,18	30,26	1128,00	3,52	32,55
EPM	2,266	26,27	0,40	1,22	2,35	225,61	0,37	3,19

Tabela 4: Valores individuais e média da expressão de FOS em neurônios que expressam CRF nas divisões parvocelular medial (PaMP) e posterior (PaPo) do PVN em animais intactos tratados com LPS ou salina.

	PaMP		PaPo	
	Salina	LPS	Salina	LPS
	1,00	9,50	5,00	4,50
	3,00	12,50	5,00	8,00
	1,00	13,50		4,00
	2,00			3,00
				3,00
Média ± EPM	1,75 ± 0,47	11,83 ± 1,20	5,00 ± 0,00	4,50 ± 0,92

Tabela 5: Valores individuais e média da ingestão alimentar acumulada em animais pré-tratados com indometacina ou veículo que receberam administração de LPS ou salina.

Tempo(h)	Ingestão de Alimento Acumulada (g)														Média		
															±	EPM	
2	Veículo	Salina	6,40	4,71	4,49	3,68	3,39	2,99	3,24	4,72							4,20 ± 0,39
		LPS	2,11	2,67	1,78	2,38	2,55	1,74	1,90	2,08	1,59	0,83	2,22	2,55	2,08		2,04 ± 0,13
	Indometacina	Salina	4,16	4,04	5,71	5,07	3,49	4,01	3,57								4,29 ± 0,30
		LPS	3,87	3,83	3,89	3,60	3,73	3,60	3,27	2,57	3,14	2,95	2,94				3,40 ± 0,13
4	Veículo	Salina	6,40	6,16	4,49	3,68	3,39	3,41	3,24	5,11							4,49 ± 0,45
		LPS	2,11	3,81	1,78	3,57	2,55	1,74	2,38	2,08	1,99	2,50	4,88	2,55	3,33		2,71 ± 0,25
	Indometacina	Salina	5,68	4,04	5,71	5,07	4,26	4,01	4,36								4,73 ± 0,28
		LPS	3,87	3,83	4,28	3,60	4,56	4,00	3,27	3,43	3,58	2,95	2,94				3,66 ± 0,15
6	Veículo	Salina	6,40	7,24	5,24	4,92	4,53	3,84	6,07	5,90							5,52 ± 0,38
		LPS	2,95	4,19	1,78	4,76	2,97	2,17	2,85	2,91	3,58	2,91	4,88	4,68	4,16		3,45 ± 0,27
	Indometacina	Salina	5,68	5,51	5,71	6,25	5,42	4,41	4,36								5,33 ± 0,26
		LPS	4,22	3,83	5,05	4,00	4,56	4,40	3,68	3,43	4,48	4,22	3,36				4,11 ± 0,15
8	Veículo	Salina	7,60	7,61	5,24	5,73	5,28	5,98	6,07	7,87							6,42 ± 0,38
		LPS	3,79	4,93	3,12	4,93	3,83	3,04	4,93	4,16	5,18	3,75	4,93	4,93	5,00		4,35 ± 0,21
	Indometacina	Salina	6,17	6,61	6,93	7,03	6,17	6,17	6,17								6,46 ± 0,14
		LPS	4,93	4,59	5,83	6,00	6,22	5,60	4,92	4,72	5,38	6,75	4,20				5,38 ± 0,23
10	Veículo	Salina	8,40	8,69	8,61	8,60	5,66	6,41	6,47	9,05							7,74 ± 0,46
		LPS	4,64	5,74	4,01	5,74	5,10	3,47	5,74	5,00	5,97	5,00	5,74	5,74	5,83		5,21 ± 0,21

		Salina	7,19	8,45	8,57	8,20	7,36	7,22	6,74							7,68 ± 0,27
		Indometacina														
		LPS	6,33	6,51	7,40	7,20	7,46	6,80	5,73	4,72	5,83	6,75	5,46			6,38 ± 0,26
		Veículo														
		Salina	10,80	9,78	8,98	8,60	8,30	8,97	8,90	10,23						9,32 ± 0,30
		LPS	5,48	6,53	4,46	6,53	5,10	4,78	6,53	5,00	6,77	6,25	6,53	7,08		5,96 ± 0,24
12		Indometacina														
		Salina	7,95	9,92	9,80	8,20	7,75	9,23	9,12							8,85 ± 0,33
		LPS	7,04	6,89	8,56	8,40	8,71	8,40	5,73	6,43	6,27	8,01	6,30			7,34 ± 0,32
		Veículo														
		Salina	14,80	15,21	12,36	14,34	12,83	12,82	13,36	13,78						13,69 ± 0,36
		LPS	10,97	12,97	10,27	11,11	10,21	9,56	11,90	9,58	10,36	11,25	12,00	11,49	11,25	10,99 ± 0,27
24		Indometacina														
		Salina	14,01	15,81	15,10	13,67	15,11	14,05	13,88							14,52 ± 0,30
		LPS	13,03	12,26	12,84	12,40	16,18	12,80	11,88	11,16	11,21	11,39	12,18			12,48 ± 0,41

Tabela 6: Valores individuais e média do ganho de peso em animais pré-tratados com indometacina ou veículo que receberam administração de LPS ou salina.

Ganho de Peso (24 h)			
Veículo		Indometacina	
Salina	LPS	Salina	LPS
46,0	16,0	32,0	22,0
27,0	27,0	35,0	32,0
33,0	21,0	34,0	32,0
37,0	19,0	36,0	32,0
25,0	22,0		37,0
	29,0		23,0
			28,0
Média ± EPM	33,6 ± 3,76	22,33 ± 1,93	34,25 ± 0,85
			29,42 ± 2,04

Tabela 7: Valores individuais e média das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona em animais pré-tratados com indometacina ou veículo que receberam administração de LPS ou salina.

	60 minutos								120 minutos							
	ACTH (pg/mL)				Corticosterona (µg/dL)				ACTH (pg/mL)				Corticosterona (µg/dL)			
	Veículo		Indometacina		Veículo		Indometacina		Veículo		Indometacina		Veículo		Indometacina	
	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS
	26,4	380,0	20,00	52,0	5,80	18,68	7,06	7,73	28,8	560,0	24,00	126,0	4,70	30,0	7,20	28,15
	32,8	40,0	15,60	68,0	6,60	4,10	6,34	5,51	40,0	1000,0	33,60	48,0	4,20	41,5	4,90	13,65
	48,0	56,0	132,00	56,0	5,96	5,30	7,25	5,45	40,0	560,0	30,00	24,0	5,30	32,0	6,80	7,40
	40,0	88,0	56,00	42,0	0,60	10,80	9,76	4,50	24,0	460,0	33,60	36,0	5,11	32,5	5,90	6,15
	48,0	400,0	20,00	46,0	3,70	16,20	6,64	7,22	38,0	396,0	24,00	420,0	3,90	37,5	4,70	26,35
	28,0	104,0	28,00	28,8	0,80	4,60	2,02	4,24	50,0	216,0	18,00	39,6	5,04	37,2	4,45	12,90
	72,0	72,0	42,00	96,0	8,20	14,70	1,14	4,40	36,0		31,20	780,0	3,41		0,80	37,65
		88,0	33,60	42,0		5,90		0,80	42,0		44,00	280,0	0,97		0,60	13,70
		64,0		96,0		2,75		3,05	44,0			160,0	1,18			18,00
		112,0				11,00						216,0				39,50
												246,0				28,00
												180,0				21,00
Média	42,17	140,40	43,40	58,09	4,52	9,40	5,74	4,76	38,08	532,00	29,80	212,96	3,75	35,11	4,42	21,03
EPM	5,97	42,18	13,50	7,68	1,10	1,79	1,15	0,69	2,60	107,10	2,80	61,89	0,54	1,76	0,88	3,18

Tabela 8: Valores individuais e média da ingestão alimentar acumulada em animais submetidos à ADX ou cirurgia fictícia (*Sham*) que receberam administração de LPS ou salina.

Tempo (h)	Ingestão de Alimento Acumulada (g)											Média ± EPM	
	Sham	Salina											
2	Sham	Salina	2,66	3,67	3,29	4,29	3,93	3,44	3,38	4,54	4,36	4,46	3,80 ± 0,19
		LPS	2,72	2,04	1,79	1,85	0,81	1,15	1,16	2,08			
	ADX	Salina	2,17	3,40	3,29	2,11	2,91	2,64	2,23	2,42			2,65 ± 0,17
		LPS	2,56	1,21	1,33	1,36	1,48	0,76					1,45 ± 0,24
4	Sham	Salina	2,66	3,67	4,52	4,29	3,93	4,59	4,51	5,30	5,55	5,35	4,44 ± 0,27
		LPS	4,54	3,26	2,24	4,63	2,02	3,46	2,33	2,92			3,17 ± 0,35
	ADX	Salina	3,04	4,68	3,29	4,22	3,75	2,64	3,36	2,82			3,47 ± 0,24
		LPS	2,56	1,21	1,33	1,81	1,85	0,76					1,59 ± 0,25
6	Sham	Salina	4,94	4,08	5,35	5,15	5,24	6,13	5,64	6,81	5,95	7,14	5,64 ± 0,28
		LPS	5,91	4,89	2,69	6,94	3,64	3,84	3,11	3,75			4,35 ± 0,51
	ADX	Salina	3,91	4,68	4,11	4,22	4,58	3,77	5,22	3,63			4,21 ± 0,17
		LPS	3,41	1,21	1,33	3,18	2,59	0,76					2,08 ± 0,45
8	Sham	Salina	6,84	6,93	6,17	6,86	6,98	7,28	7,52	8,33	7,14	8,48	7,25 ± 0,22
		LPS	7,72	5,30	3,58	8,79	4,85	5,38	4,67	4,16			5,56 ± 0,63
	ADX	Salina	4,34	4,68	4,93	5,06	5,41	5,66	5,59	4,84			5,06 ± 0,16
		LPS	3,41	1,61	1,33	4,09	3,33	1,15					2,49 ± 0,51
10	Sham	Salina	8,36	8,98	8,23	8,58	8,29	8,04	7,51	9,09	7,93	10,26	8,53 ± 0,24
		LPS	9,10	6,53	5,38	8,79	6,88	7,30	5,05	5,00			6,75 ± 0,56
	ADX	Salina	4,78	4,68	6,17	6,75	7,08	5,66	5,97	5,24			5,79 ± 0,30
		LPS	4,70	2,82	1,77	5,91	4,07	1,15					3,40 ± 0,74

12	Sham	Salina	10,64	10,61	9,87	9,87	10,04	10,34	9,39	11,36	9,92	11,60	10,36 ± 0,22
		LPS	11,36	7,75	5,83	10,18	7,28	8,07	5,44	6,66			7,82 ± 0,72
	ADX	Salina	5,65	5,95	8,64	7,17	10,41	6,03	7,09	6,85			7,22 ± 0,56
		LPS	5,98	4,83	2,22	6,36	5,18	1,15					4,29 ± 0,86
24	Sham	Salina	14,82	13,87	15,22	15,88	16,15	14,56	14,28	15,15	13,88	13,84	14,77 ± 0,26
		LPS	16,81	13,47	10,76	14,35	12,14	11,53	8,95	11,66			12,46 ± 0,84
	ADX	Salina	8,26	8,08	11,93	12,23	11,25	8,68	11,94	11,29			10,46 ± 0,63
		LPS	9,40	8,46	5,77	10,91	8,14	3,44					7,69 ± 1,09

Tabela 9: Valores individuais e média do ganho de peso em animais submetidos à ADX ou cirurgia fictícia (*Sham*) que receberam administração de LPS ou salina.

Ganho de Peso (24 h)			
Sham		ADX	
Salina	LPS	Salina	LPS
33,0	36,0	10,0	5,0
38,0	28,0	19,0	9,0
33,0	18,0	23,0	10,0
42,0	27,0	30,0	19,0
48,0	24,0	16,0	13,0
36,0	25,0	25,0	7,0
36,0	7,0	33,0	
34,0	10,0	18,0	
33,0			
31,0			
Média ± EPM		36,40 ± 1,62	21,87 ± 3,41
		21,75 ± 2,67	10,50 ± 2,02

Tabela 10: Valores individuais e média das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona em animais submetidos à ADX ou cirurgia fictícia (*Sham*) que receberam administração de LPS ou salina.

120 minutos								
ACTH (pg/mL)				Corticosterona (µg/dL)				
Sham		ADX		Sham		ADX		
Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	Salina	LPS	
44,00	1020,00	520,00	1320,00	0,40	14,27	0,40	0,40	
46,00	780,00	480,00	2016,00	0,40	20,47	0,40	0,40	
46,00	146,50	1080,00	2520,00	3,74	7,37	0,40	0,40	
40,00	102,00	1280,00	1200,00	0,20	13,50	0,40	0,40	
44,00	105,00	460,00	1500,00	3,31	18,80	0,40	0,40	
32,80	139,90	800,00	799,20	0,51	28,15	0,40	0,40	
52,00	600,00	920,00	2100,00	2,68	28,90	0,40	0,40	
		660,00	1200,00			0,40	0,40	
		880,00	3000,00			0,40	0,40	
			1620,00				0,40	
			1465,20				0,40	
Média	43,54	413,34	786,66	1703,67	1,54	18,78	0,40	0,40
EPM	2,24	144,36	94,57	194,92	0,60	2,97	0,00	0,00

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aderem, A., Ulevitch, R.J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. 406(6797):782-7, 2000.

Ando, T., Ichijo, T., Katafuchi, T., Hori, T. Intracerebroventricular injection of prostaglandin E2 increases splenic sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol*. 269(3 Pt 2):R662-8, 1995.

Andreis, P.G., Neri, G., Belloni, A.S., Mazzocchi, G., Kasprzak, A., Nussdorfer, G.G. Interleukin-1 beta enhances corticosterone secretion by acting directly on the rat adrenal gland. *Endocrinology* 129(1):53-7, 1991.

Appleyard, S.M., Bailey, T.W., Doyle, M.W., Jin, Y.H., Smart, J.L., Low, M.J., Andresen, M.C. Proopiomelanocortin neurons in nucleus tractus solitarius are activated by visceral afferents: regulation by cholecystokinin and opioids. *J Neurosci*. 25(14):3578-85, 2005.

Arzt, E., Stelzer, G., Renner, U., Lange, M., Muller, O.A., Stalla, G.K. Interleukin-2 and interleukin-2 receptor expression in human corticotrophic adenoma and murine pituitary cell cultures. *J Clin Invest* 90:1944-51, 1992.

Aubry, J.M., Turnbull, A.V., Pozzoli, G., Rivier, C., Vale, W. Endotoxin decreases corticotropin-releasing factor receptor 1 messenger ribonucleic acid levels in the rat pituitary. *Endocrinology*. 138(4):1621-6, 1997.

Banks, W.A., Kastin, A.J., Broadwell, R.D. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation* 2:241-248, 1995.

Barbanel, G., Ixart, G., Szafarczyk, A., Malaval, F., Assenmacher, I. Intrahypothalamic infusion of interleukin-1 beta increases the release of corticotropin-releasing hormone (CRH 41) and adrenocorticotrophic hormone

(ACTH) in free-moving rats bearing a push-pull cannula in the median eminence. *Brain Res.* 516(1):31-6, 1990.

Beach, J.E., Smallridge, R.C., Kinzer, C.A., Bernton, E.W., Holaday, J.W., Fein, H.G. Rapid release of multiple hormones from rat pituitaries perfused with recombinant interleukin-1. *Life Sci.* 44(1):1-7, 1989.

Benoit, S.C., Schwartz, M.W., Lachey, J.L., Hagan, M.M., Rushing, P.A., Blake, K.A., Yagaloff, K.A., Kurylko, G., Franco, L., Danhoo, W., Seeley, R.J. A novel selective melanocortin-4 receptor agonist reduces food intake in rats and mice without producing aversive consequences. *J Neurosci* 20:3442-3448, 2000.

Berk, M.L., Finkelstein, J.A. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience.*6(8):1601-24, 1981.

Berkenbosch, F., de Goeij, D.E., Rey, A.D., Besedovsky, H.O. Neuroendocrine, sympathetic and metabolic responses induced by interleukin-1. *Neuroendocrinology.* 50(5):570-576, 1989.

Berkowitz, D.E., Brown, D., Lee, K.M., Emala, C., Palmer, D., An, Y., Breslow, M. Endotoxin-induced alteration in the expression of leptin and beta3-adrenergic receptor in adipose tissue. *Am J Physiol.* 274(6 Pt 1):E992-7, 1998.

Berthoud, H.R., Neuhuber, W.L. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci.* 85(1-3):1-17, 2000.

Besedovsky, H.O., del Rey, A., Klusman, I., Furukawa, H., Monge Arditi, G., Kabiersch, A. Cytokines as modulators of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 40(4-6):613-8, 1991.

Birnberg, N.C., Lissitzky, J.C., Hinman, M., Herbert, E. Glucocorticoids regulate proopiomelanocortin gene expression in vivo at the levels of transcription and secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80(22):6982-6, 1983.

Blatteis, C.M., Bealer, S.L., Hunter, W.S., Llanos-Q, J., Ahokas, R.A., Mashburn, T.A. Jr. Suppression of fever after lesions of the anteroventral third ventricle in guinea pigs. *Brain Res Bull.* 11(5):519-26, 1983.

Bluthe R.M., Michaud, B., Kelley, K.W., Dantzer, R. Vagotomy attenuates behavioural effects of interleukin-1 injected peripherally but not centrally. *Neuroreport.* 7(9):1485-8, 1996.

Brady, L.S., Lynn, A.B., Herkenham, M., Gottesfeld, Z. Systemic interleukin-1 induces early and late patterns of c-fos mRNA expression in brain. *J Neurosci.* 14(8):4951-64, 1994.

Bristulf, J., Bartfai, T. Interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha stimulate the mRNA expression of interleukin-1 receptors in mouse anterior pituitary AtT-20 cells. *Neurosci Lett.* 187(1):53-6, 1995.

Bristulf, J., Simoncsits, A., Bartfai, T. Characterization of a neuronal interleukin-1 receptor and the corresponding mRNA in the mouse anterior pituitary cell line AtT-20. *Neurosci Lett.* 128(2):173-6, 1991.

Broberger, C., Hokfelt, T. Hypothalamic and vagal neuropeptide circuitries regulating food intake. *Physiol. Behav.* 74:669-82, 2001.

Brown, M.R., Fisher, L.A., Spiess, J., Rivier, C., Rivier, J., Vale, W. Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology.* 111(3):928-31, 1982.

Buller, K.M. Role of circumventricular organs in pro-inflammatory cytokine-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28:581-589, 2001.

Burrell, R. Human responses to bacterial endotoxin. *Circ Shock*. 43(3):137-53, 1994.

Callahan, T.A., Piekut, D.T. Differential Fos expression induced by IL-1beta and IL-6 in rat hypothalamus and pituitary gland. *J Neuroimmunol*. 73(1-2):207-11, 1997.

Cao, C., Matsumura, K., Shirakawa, N., Maeda, M., Jikihara, I., Kobayashi, S., Watanabe, Y. Pyrogenic cytokines injected into the rat cerebral ventricle induce cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells and also upregulate their receptors. *Eur J Neurosci*. 13(9):1781-90, 2001.

Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K., Watanabe, Y. Induction by lipopolysaccharide of cyclooxygenase-2 mRNA in rat brain; its possible role in the febrile response. *Brain Res*. 697(1-2):187-96, 1995.

Chuluyan, H.E., Saphier, D., Rohn, W.M., Dunn, A.J. Noradrenergic innervation of the hypothalamus participates in adrenocortical responses to interleukin-1. *Neuroendocrinology*. 56(1):106-11, 1992.

Cunningham, E.T. Jr., Wada, E., Carter, D.B., Tracey, D.E., Battey, J.F., De Souza, E.B. In situ histochemical localization of type I interleukin-1 receptor messenger RNA in the central nervous system, pituitary, and adrenal gland of the mouse. *J Neurosci*. 12(3):1101-14, 1992.

Daftary, S.S., Boudaba, C., Tasker, J.G. Noradrenergic regulation of parvocellular neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroscience*. 96(4):743-51, 2000.

Date, Y., Ueta, Y., Yamashita, H., Yamaguchi, H., Matsukura, S., Kangawa, K., Sakurai, T., Yanagisawa, M., Nakazato, M. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:748-753,1999.

Day, H.E., Akil, H. Differential pattern of c-fos mRNA in rat brain following central and systemic administration of interleukin-1-beta: implications for mechanism of action. *Neuroendocrinology*. 63(3):207-18, 1996.

DeRijk, R. H., N. Van Rooijen, F. J. H. Tilders, H. O. Besedovsky, A. del Rey, and F. Berkenbosch. Selective depletion of macrophages prevents pituitary-adrenal activation in response to subpyrogenic, but not to pyrogenic, doses of bacterial endotoxin. *Endocrinology* 129: 330–338, 1991.

Dinarello, C. A., and J. G. Cannon. New concepts of the pathogenesis of fever. *Rev. Infect. Dis.* 10: 168–189, 1988.

Dunn, A.J., Berridge, C.W. Is corticotropin-releasing factor a mediator of stress responses? *Ann N Y Acad Sci*; 579:183-91, 1990.

Dunn, A.J., Chuluyan, H.E. Endotoxin elicits normal tryptophan and indolamine responses but impaired catecholamine and pituitary-adrenal responses in endotoxin-resistant mice. *Life Sci.* 54: 847–53, 1994.

Ek, M., Arias, C., Sawchenko, P., Ericsson-Dahlstrand, A. Distribution of the EP3 prostaglandin E(2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites

of interleukin-1-induced cellular responsiveness. *J Comp Neurol.* 428(1):5-20, 2000.

Elmquist, J.K., Ackermann, M.R., Register, K.B., Rimler, R.B., Ross, L.R., Jacobson, C.D. Induction of fos-like immunoreactivity in the rat brain following *Pasteurella multocida* endotoxin administration. *Endocrinology* 133: 3054–7, 1993.

Elmquist, J.K., Maratos-Flier, E., Saper, C.B., Flier, J.S. Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nature Neurosci* 1:445-450, 1998.

Elmquist, J.K., Scammell, T.E., Jacobson, C.D., Saper, C.B. Distribution of Fos-like immunoreactivity in the rat brain following intravenous lipopolysaccharide administration. *J Comp Neurol.* 15;371(1):85-103, 1996.

Engblom, D., Ek, M., Saha, S., Ericsson-Dahlstrand, A., Jakobsson, P.J., Blomqvist, A. Prostaglandins as inflammatory messengers across the blood-brain barrier. *J Mol Med.* 80(1):5-15, 2002.

Ericsson, A., Arias, C., Sawchenko, P.E. Evidence for an intramedullary prostaglandin-dependent mechanism in the activation of stress-related neuroendocrine circuitry by intravenous interleukin-1. *J Neurosci.* 17(18):7166-79, 1997.

Ericsson, A., Kovacs, K.J., Sawchenko, P.E. A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons. *J Neurosci.* 14(2):897-913, 1994.

Ericsson, A., Liu, C., Hart, R.P., Sawchenko, P.E. Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation. *J Comp Neurol.* 361:681-98, 1995.

Faggioni, R., Fantuzzi, G., Villa, P., Buurman, W., van Tits, L.J., Ghezzi, P. Independent down-regulation of central and peripheral tumor necrosis factor production as a result of lipopolysaccharide tolerance in mice. *Infect Immun.* 63(4):1473-7, 1995.

Faggioni, R., Fuller, J., Moser, A., Feingold, K.R., Grunfeld, C. LPS-induced anorexia in leptin-deficient (ob/ob) and leptin receptor-deficient (db/db) mice. *Am J Physiol.* 273(1 Pt 2):R181-6, 1997.

Fan, W., Boston, B.A., Kesterson, R.A., Hruby, W.J., Cone, R.D. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agout obesity syndrome. *Nature* 385: 165-168, 1997.

Fantuzzi, G., Zheng, H., Faggioni, R., Benigni, F., Ghezzi, P., Sipe, J.D., Shaw, A.R., Dinarello, C.A. Effect of endotoxin in IL-1 beta-deficient mice. *J Immunol.* 157(1):291-6, 1996.

Fleshner, M., Goehler, L.E., Hermann, J., Relton, J.K., Maier, S.F., Watkins, L.R. Interleukin-1h induced corticosterone elevation and hypothalamic NE depletion is vagally mediated. *Brain Res. Bull.* 37: 605–10, 1995.

Goujon, E., Parnet, P., Laye, S., Combe, C., Dantzer, R. Adrenalectomy enhances pro-inflammatory cytokines gene expression, in the spleen, pituitary and brain of mice in response to lipopolysaccharide. *Brain Res Mol Brain Res.* 36(1):53-62, 1996.

Green, P.K., Wilkinson, C.W., Woods, S.C. Intraventricular corticosterone increases the rate of body weight gain in underweight adrenalectomized rats. *Endocrinology*. 130(1):269-75, 1992.

Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J., Feingold, K. R. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the *ob* gene product, in hamsters. *J. Clin. Invest.* 97: 2152-7, 1996.

Gwosdow, A.R., Kumar, M.S., Bode, H.H. Interleukin 1 stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Am J Physiol.* 258(1 Pt 1):E65-70, 1990.

Haddad, J.J., Saade, N.E., Safieh-Garabedianc, B. Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. *J Neuroimmunol* 133: 1– 19, 2002.

Harbuz, M.S., Stephanou, A., Knight, R.A., Chover-Gonzalez, A.J., Lightman, S.L. Action of interleukin-2 and interleukin-4 on CRF mRNA in the hypothalamus and POMC mRNA in the anterior pituitary. *Brain Behav Immun* 6:214-22, 1992.

Harrold, J.A., Widdowson, P.S., Williams, G. Altered energy balance causes selective changes in melanocortin-4(MC4-R), but not melanocortin-3 (MC3-R), receptors in specific hypothalamic regions: further evidence that activation of MC4-R is a physiological inhibitor of feeding. *Diabetes* 48:267-271, 1999.

Hashimoto, M., Ishikawa, Y., Yokota, S., Goto, F., Bando, T., Sakakibara, Y., Iriki, M. Action site of circulating interleukin-1 on the rabbit brain. *Brain Res.* 540 (1-2):217-23, 1991.

Herman JP, Morrison DG. Immunoautoradiographic and in situ hybridization analysis of corticotropin-releasing hormone biosynthesis in the hypothalamic paraventricular nucleus. *J Chem Neuroanat.* 11:49-56, 1996.

Hillhouse, E.W. Interleukin-2 stimulates the secretion of arginine vasopressin but not corticotropin-releasing hormone from rat hypothalamic cells in vitro. *Brain Res.* 650:323-5, 1994.

Hirano, T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol* 16: 249–284, 1998.

Huszar, D., Lynch, C.A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J.H., Fang, Q., Berkemeier, L.R., Gu, W., Kesterson, R.A., Boston, B.A., Cone, R.D., Smith, F.J., Campfield, L.A., Burn, P., Lee, F. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 88:131-141, 1997.

Ichijo T, Katafuchi T, Hori T. Central interleukin-1 beta enhances splenic sympathetic nerve activity in rats. *Brain Res Bull.* 34(6):547-53, 1994.

Imaki, T., Vahan, J.L., Rivier, C., Sawchenko, P.E., Vale, W. Differential regulation of corticotropin-releasing factor mRNA in rat brain regions by glucocorticoids and stress. *J Neurosci.* 11(3):585-99, 1991.

Imura, H., Fukata, J., Mori, T. Cytokines and endocrine function: an interaction between the immune and neuroendocrine systems. *Clin Endocrinol (Oxf).* 35(2):107-15, 1991.

Jansen, A.S., Wessendorf, M.W., Loewy, A.D. Transneuronal labeling of CNS neuropeptide and monoamine neurons after pseudorabies virus injections into the stellate ganglion. *Brain Res.* 683(1):1-24, 1995.

Kakucska, I., Qi, Y., Clark, B.D., Lechan, R.M. Endotoxin-induced corticotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus is mediated centrally by interleukin-1. *Endocrinology*. 133(2):815-21, 1993.

Kapcala, L.P., He, J.R., Gao, Y., Pieper, J.O., Detalla, L.J. Subdiaphragmatic vagotomy inhibits intra-abdominal interleukin-1 beta stimulation of adrenocorticotropin secretion. *Brain Res* 728:247-54 1996.

Katahira, M., Iwasaki, Y., Aoki, Y., Oiso, Y., Saito, H. Cytokine regulation of the rat proopiomelanocortin gene expression in AtT-20 cells. *Endocrinology* 139:2414-2422, 1998.

Katsuura, G., Arimura, A., Koves, K. & Gottschall, P.E. Involvement of organum vasculosum of the lamina terminalis and preoptic area in interleukin-1b-induced ACTH release. *Am. J. Physiol.* 258: 163-171, 1990.

Kehrer, P., Turnill, D., Dayer, J.M., Muller, A.F., Gaillard, R.C. Human recombinant interleukin-1 beta and -alpha, but not recombinant tumor necrosis factor alpha stimulate ACTH release from rat anterior pituitary cells in vitro in a prostaglandin E2 and cAMP independent manner. *Neuroendocrinology*. 48(2):160-6, 1988.

Kushner, I. The acute phase response: an overview. *Methods Enzymol.*;163:373-83, 1988.

Lacroix, S., Rivest, S. Functional circuitry in the brain of immune-challenged rats: Partial involvement of prostaglandins. *J Comp Neurol* 387:307-324, 1997.

Lacroix, S., Rivest, S. Role of cyclooxygenase pathways in the stimulatory influence of immune challenge in the transcription of a specific CRF receptor subtype in the rat brain. *J Chem Neuroanat* 10:53–71, 1996.

Lacroix, S., Vallieres, L., Rivest, S. C-fos mRNA pattern and corticotropin-releasing factor neuronal activity throughout the brain of rats injected centrally with a prostaglandin of E2 type. *J Neuroimmunol.* 70(2):163-79, 1996.

Laflamme, N., Rivest, S. Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components. *FASEB J* 15:155-163, 2001.

Laguna-Cerávolo, M.T. Ativação de neurônios vasopressinérgicos e ocitocinérgicos nos núcleos paraventricular e supra-óptico: efeito da adrenalectomia e estresse. F.M.R.P. USP, 2006.

Lechan, R.M., Toni, R., Clark, B.D., Cannon, J.G., Shaw, A.R., Dinarello, C.A., Reichlin, S. Immunoreactive interleukin-1 beta localization in the rat forebrain. *Brain Res* 514:135-40, 1990.

Lee, S., Barbanel, G., Rivier, C. Systemic endotoxin increases steady-state gene expression of hypothalamic nitric oxide synthase: comparison with corticotropin-releasing factor and vasopressin gene transcripts. *Brain Res.* 705: 136–48, 1995.

Li, S., Wang, Y., Matsumura, K., Ballou, L.R., Morham, S.G., Blatteis, C.M. The febrile response to lipopolysaccharide is blocked in cyclooxygenase-2(-/-), but not in cyclooxygenase-1(-/-) mice. *Brain Res.* 825(1-2):86-94, 1999.

Linthorst, A.C., Flachskamm, C., Holsboer, F., Reul, J.M. Local administration of recombinant human interleukin-1 beta in the rat hippocampus

increases serotonergic neurotransmission, hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis activity, and body temperature. *Endocrinology*. 135(2):520-32, 1994.

Loxley, H.D., Cowell, A.M., Flower, R.J., Buckingham, J.C. Modulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses to cytokines in the rat by lipocortin 1 and glucocorticoids: a role for lipocortin 1 in the feedback inhibition of CRF-41 release? *Neuroendocrinology*. 57(5):801-14, 1993.

Lu, D., Willard, D., Patel, I.R., Kadwell, S., Overton, L., Kost, T., Luther, M., Chen, W., Woychik, R.P., Wilkison, W.O., Cone, R.D. Agouti protein is an antagonist of the melanocortin-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371:799-802, 1994.

Lugarini, F., Hrupka, B.J., Schwartz, G.J., Plata-Salaman, C.R., Langhans, W. A role for cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-induced anorexia in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 283(4):R862-8, 2002.

Lyson, K., McCann, S.M. Induction of adrenocorticotrophic hormone release by interleukin-6 in vivo and in vitro. *Ann N Y Acad Sci*. 650:182-5, 1992.

Lyson, K., McCann, S.M. Involvement of arachidonic acid cascade pathways in interleukin-6-stimulated corticotropin-releasing factor release in vitro. *J Neuroendocrinol* 55:708–713, 1992.

Lyson, K., McCann, S.M. The effect of interleukin-6 on pituitary hormone release in vivo and in vitro. *Neuroendocrinology*. 54(3):262-6, 1991.

MacNeil, B.J., Jansen, A.H., Greenberg, A.H., Nance, D.M. Activation and selectivity of splenic sympathetic nerve electrical activity response to bacterial endotoxin. *Am J Physiol*. 270(1 Pt 2):R264-70, 1996.

MacNeil, B.J., Jansen, A.H., Janz, L.J., Greenberg, A.H., Nance, D.M.

Peripheral endotoxin increases splenic sympathetic nerve activity via central prostaglandin synthesis. *Am J Physiol.* 273(2 Pt 2):R609-14, 1997.

Makimura, H., Mizuno, T.M., Roberts, J., Silverstein, J., Beasley, J.,

Mobbs, C.V. Adrenalectomy reverses obese phenotype and restores hypothalamic melanocortin tone in leptin-deficient ob/ob mice. *Diabetes.* 49(11):1917-23, 2000.

Marks, D.L., Ling, N., Cone, R.D. Role of the central melanocortin

system in cachexia. *Cancer Res* 61:1432-8, 2001.

Marquette, C., Van Dam, A.M., Ban, E., Laniece, P., Crumeyrolle-

Arias, M., Fillion, G., Berkenbosch, F., Haour, F. Rat interleukin-1 beta binding sites in rat hypothalamus and pituitary gland. *Neuroendocrinology* 62(4):362-9, 1995.

Mastorakos, G., Weber, J.S., Magiakou, M.A., Gunn, H., Chrousos,

G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and stimulation of systemic vasopressin secretion by recombinant interleukin-6 in humans: potential implications for the syndrome of inappropriate vasopressin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 79:934-939, 1994.

Matsumura, K., Cao, C., Watanabe, Y. Prostaglandin system in the

brain: sites of biosynthesis and sites of action under normal and hyperthermic states. *Prog Brain Res.* 115:275-95, 1998.

Matta, S., Singh, J., Newton, R., Sharp, B.M. The adrenocorticotropin

response to interleukin-1 beta instilled into the rat median eminence depends on the local release of catecholamines. *Endocrinology.* 127(5):2175-82, 1990.

Matta, S.G., Linner, K.M., Sharp, B.M. Interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta stimulate adrenocorticotropin secretion in the rat through a similar hypothalamic receptor(s): effects of interleukin-1 receptor antagonist protein. *Neuroendocrinology*. 57(1):14-22, 1993.

McCoy, J.G., Matta, S.G., Sharp, B.M. Prostaglandins mediate the ACTH response to interleukin-1-beta instilled into the hypothalamic median eminence. *Neuroendocrinology*. 60(4):426-35, 1994.

Mizuno, T.M., Kleopoulos, S.P., Bergen, H.T., Roberts, J.L., Priest, C.A., Mobbs, C.V. Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin. *Diabetes* 47:294-297, 1998.

Moran, T.H., Smith, G.P., Hostetler, A.M., McHugh, P.R. Transport of cholecystokinin (CCK) binding sites in subdiaphragmatic vagal branches. *Brain Res.*, 415:149-52, 1987.

Moreira, A.C., Krieger, D.T. The effects of subdiaphragmatic vagotomy on circadian corticosterone rhythmicity in rats with continuous or restricted food access. *Physiol Behav* 28: 787-790, 1982.

Morrison, D.C., Ryan, J.L. Bacterial endotoxins and host immune responses. *Adv Immunol*. 28:293-450, 1979.

Munck, A., Guyre, P.M., Holbrook, N.J. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev*. 5(1):25-44, 1984.

Naitoh, Y., Fukuta, J., Tommaga, T., Nakai, Y., Tamai, S., Mori, K., Imura, H. Interleukin-6 stimulate the secretion of adrenocorticotrophic hormone in

conscious, freely moving rats. *Biochem Biophys Res Commun* 155:1459–1463, 1988.

Niijima, A., Hori, T., Aou, S., Oomura, Y. The effects of interleukin-1 beta on the activity of adrenal, splenic and renal sympathetic nerves in the rat. *J Auton Nerv Syst.* 36(3):183-92, 1991.

Opp, M.R., Toth, L.A. Somnogenic and pyrogenic effects of interleukin-1beta and lipopolysaccharide in intact and vagotomized rats. *Life Sci.* 62(10):923-36, 1998.

Ovadia, H., Abramsky, O., Weidenfeld, J. Evidence for the involvement of the central adrenergic system in the febrile response induced by interleukin-1 in rats. *J Neuroimmunol.* 25(2-3):109-16, 1989.

Parnet, P., Brunke, D.L., Goujon, E., Mainard, J.D., Biragyn, A., Arkins, S., Dantzer, R., Kelley, K.W. Molecular identification of two types of interleukin-1 receptors in the murine pituitary gland. *J Neuroendocrinol.* 5(2):213-9, 1993.

Path, G., Bornstein, S.R., Ehrhart-Bornstein, M., Scherbaum, W.A. Interleukin-6 and the interleukin-6 receptor in the human adrenal gland: expression and effects on steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 82(7):2343-9, 1997.

Pecchi, E., Dallaporta, M., Thirion, S., Salvat, C., Berenbaum, F., Jean, A., Troadec, J.D. Involvement of central microsomal prostaglandin E synthase-1 in IL-1beta-induced anorexia. *Physiol Genomics.* 25(3):485-92, 2006.

Plata-Salaman, C.R. Cytokines and Feeding. *News Physiol Sci.* 13:298-304, 1998.

Plotsky, P.M. Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways or central norepinephrine injection. *Endocrinology*. 121(3):924-30, 1987.

Plotsky, P.M., Cunningham, E.T. Jr., Widmaier, E.P. Catecholaminergic modulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion. *Endocr Rev*. 10(4):437-58, 1989.

Plotsky, P.M., Sutton, S.W., Bruhn, T.O., Ferguson, A.V. Analysis of the role of angiotensin II in mediation of adrenocorticotropin secretion. *Endocrinology*. 122(2):538-45, 1988.

Raab, C., Weidmann, E., Schmidt, A., Bergmann, L., Badenhop, K., Usadel, K.H., Haak, T. The effects of interleukin-2 treatment on endothelin and the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Clin Endocrinol* 50:37-44, 1999.

Ramachandra, R.N., Sehon, A.H., Berczi, I. Neuro-hormonal host defence in endotoxin shock. *Brain Behav Immun*. 6(2):157-69, 1992.

Rassnick, S., Zhou, D.H. & Rabin, B.S. Central administration of prostaglandin E (2) suppresses in vitro cellular immune responses. *Am. J. Physiol*. 269: R92±R97, 1995.

Rivest, S., Laflamme, N. Neuronal activity and neuropeptide gene transcription in the brains of immune-challenged rats. *J Neuroendocrinol*. 7(7):501-25, 1995.

Rivest, S., Laflamme, N., Nappi, R.E. Immune challenge and immobilization stress induce transcription of the gene encoding the CRF receptor in selective nuclei of the rat hypothalamus. *J. Neurosci.* 15: 2680–95, 1995.

Ruzicka, B.B., Akil, H. Differential cellular regulation of pro-opiomelanocortin by interleukin-1-beta and corticotropin-releasing hormone. *Neuroendocrinology.* 61(2):136-51, 1995.

Saadé, N.E., Kafrouni, A.I., Saab, C.Y., Atweh, S.F., Jabbur, S.J. Chronic thalamotomy increases pain-related behavior in rats. *Pain* 83: 401–9, 1999.

Saadé, N.E., Major, S.C., Jabbur, S.J., Atweh, S.F., Kanaan, S.A., Safieh-Garabedian, B. Involvement of capsaicin sensitive primary afferents in thymulin-induced hyperalgesia. *J. Neuroimmunol.* 91: 171–9, 1998.

Sagar, S.M., Price, K.J., Kasting, N.W., Sharp, F.R. Anatomic patterns of FOS immunostaining in rat brain following systemic endotoxin administration. *Brain Res. Bull.* 36: 381–392, 1995.

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R.M., Tanaka, H., Williams, S.C., Richardson, J.A., Kozlowski, G.P., Wilson, S., Arch, JR., Buckingham, R.E., Haynes, A.C., Carr, S.A., Annan, R.S., McNulty, D.E., Liu, W.S., Terrett, J.A., Elshourbagy, N.A., Bergsma, D.J., Yanagisawa, M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92:573-585, 1998.

Sapolsky, R., Rivier, C., Yamamoto, G., Plotsky, P., Vale, W. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science* 238:522-524, 1987.

Sarraf, P., Frederich, R.C., Turner, E.M., Ma, G., Jaskowiak, N.T., Rivet, D.J. 3rd., Flier, J.S., Lowell, B.B., Fraker, D.L., Alexander, H.R. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J Exp Med.* 185(1):171-5, 1997.

Sawchenko PE, Swanson LW. The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J Comp Neurol.* 218(2):121-44, 1983.

Sawchenko, P.E. Adrenalectomy-induced enhancement of CRF and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons: anatomic, peptide, and steroid specificity. *J Neurosci.* 7(4):1093-106, 1987.

Schiffer, F., Wertheimer, E. Leanness in adrenalectomized rats. *J. Endocrinol.* 5:147-151, 1947.

Schioth, H.B. The physiological role of melanocortin receptors. *Vitamins and hormones* 63: 195-232, 2001.

Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte Jr, D., Seeley, R.J., Baskin, D.G. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-71, 2000.

Sehic, E., Szekely, M., Ungar, A.L., Oladehin, A., Blatteis, C.M. Hypothalamic prostaglandin E2 during lipopolysaccharide-induced fever in guinea pigs. *Brain Res Bull.* 39(6):391-9, 1996.

Selye, H. (A) A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138: 32, 1936.

Selye, H. (B) Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxications. *Br. J. Exp. Pathol.* 17: 234–248, 1936.

Sergeyev, V., Broberger, C., Hokfelt, T. Effect of LPS administration on the expression of POMC, NPY, galanin and MCH mRNAs in the rat hypothalamus. *Mol Brain Res* 90: 93-100, 2001.

Shimon, I., Yan, X., Ray, D.W., Melmed, S. Cytokine-dependent gp130 receptor subunit regulates human fetal pituitary adrenocorticotropin hormone and growth hormone secretion. *J Clin Invest.* 100(2):357-63, 1997.

Simmons, D.L., Botting, R.M., Hla, T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev. Sep* 56(3):387-437, 2004.

South, E.H., Ritter, R.C. Capsaicin application to central or peripheral vagal fibers attenuates CCK satiety. *Peptides*, 9:601-12, 1988.

Suda, T., Tozawa, F., Ushiyama, T., Tomori, N., Sumitomo, T., Nakagami, Y., Yamada, M., Demura, H., Shizume, K. Effects of protein kinase-C-related adrenocorticotropin secretagogues and interleukin-1 on proopiomelanocortin gene expression in rat anterior pituitary cells. *Endocrinology* 124:1444-9, 1989.

Swanson, L.W., Kuypers, H.G. The paraventricular nucleus of hypothalamus cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labelling methods. *J. Comp. Neurol.* 194:555-570, 1980.

Swiergiel, A.H., Dunn, A.J. The roles of IL-1, IL-6, and TNF α in the feeding responses to endotoxin and influenza virus infection in mice. *Brain Behav Immun.* 13(3):252-65, 1999.

Taga, T., Kishimoto, T. Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines. *Annu Rev Immuno* 15: 797–819, 1997.

Tocco-Bradley, R., Georgieff, M., Jones, C.T., Moldawer, L.L., Dinarello, C.A., Blackburn, G.L., Bistran, B.R. Changes in energy expenditure and fat metabolism in rats infused with interleukin-1. *Eur J Clin Invest.* 17(6):504-10, 1987.

Turnbull, A.V., Prehar, S., Kennedy, A.R., Little, R.A., Hopkins, S.J. Interleukin-6 is an afferent signal to the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during local inflammation in mice. *Endocrinology* 144:1894–1906, 2003.

Turnbull, A.V., Rivier, C. Regulation of the HPA axis by cytokines. *Brain Behav. Immun.* 9: 253–75, 1995.

Turnbull, A.V., Rivier, C.L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 79: 2-71, 1999.

Uehara, A., Gottschall, P.E., Dahl, R.R., Arimura, A. Interleukin-1 stimulates ACTH release by an indirect action which requires endogenous corticotropin releasing factor. *Endocrinology* 121:1580–1582, 1987.

Ulevitch, R.J., Tobias, P.S. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol.* 13:437-57, 1995.

Vaisse, C., Clement, K., Guy-Grand, B., Froguel, P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet* 20:113-14, 1998.

Vallieres, L., Rivest, S. Regulation of the genes encoding interleukin-6, its receptor, and gp130 in the rat brain in response to the immune activator

lipopolysaccharide and the proinflammatory cytokine interleukin-1beta. *J Neurochem.* 69(4):1668-83, 1997.

Wan, W., Janz, L., Vriend, C.Y., Sorensen, C.M., Greenberg, A.H., Nance, D.M. Differential induction of c-Fos immunoreactivity in hypothalamus and brain stem nuclei following central and peripheral administration of endotoxin. *Brain Res Bull.* 32(6):581-7, 1993.

Wan, W., Janz, L., Vriend, C.Y., Sorenson, C.M., Greenberg, A.H., Nance, D.M. Differential induction of c-fos immunoreactivity in hypothalamus and brain stem nuclei following central and peripheral administration of endotoxin. *Brain Res. Bull.* 32: 581–7, 1993.

Wan, W., Wetmore, L., Sorensen, C.M., Greenberg, A.H., Nance, D.M. Neural and biochemical mediators of endotoxin and stress-induced c-fos expression in the rat brain. *Brain Res Bull* 34:7-14, 1994.

Watanobe, H., Takebe, K. Intravenous administration of tumor necrosis factor-alpha stimulates corticotropin releasing hormone secretion in the push-pull cannulated median eminence of freely moving rats. *Neuropeptides.* 22(2):81-4, 1992.

Watkins, L.R., Wiertelak, E.P., Goehler, L.E., Smith, K.P., Martin, D., Maier, S.F. Characterization of cytokine-induced hyperalgesia. *Brain Res.* 654(1):15-26, 1994.

Weber, M.M., Michl, P., Auernhammer, C.J., Engelhardt, D. Interleukin-3 and interleukin-6 stimulate cortisol secretion from adult human adrenocortical cells. *Endocrinology* 138:2207-2210, 1997.

Weidenfeld, J., Amir, I., Shohami, E. Role of glucocorticoids in the regulation of brain prostaglandin biosynthesis under basal conditions and in response to endotoxin. *Endocrinology*. 132(3):941-5, 1993.

Whiteside, M.B., Quan, N., Herkenharn, M. Induction of pituitary cytokine transcripts by peripheral lipopolysaccharide. *J Neuroendocrinol*. 11(2):115-20, 1999.

Williams, D.L., Grill, H.J., Weiss, S.M., Baird, J.P., Kaplan, J.M. Behavioral processes underlying the intake suppressive effects of melanocortin 3/4 receptor activation in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. 161(1):47-53, 2002.

Williams, D.L., Kaplan, J.M., Grill, H.J. The role of the dorsal vagal complex and the vagus nerve in feeding effects of melanocortin-3/4 receptor stimulation. *Endocrinology*. 141(4):1332-7, 2000.

Wolvers, D.A., Marquette, C., Berkenbosch, F., Haour, F. Tumor necrosis factor-alpha: specific binding sites in rodent brain and pituitary gland. *Eur Cytokine Netw*. 4(5):377-81, 1993.

Yeo, G.S., Farooqi, I.S., Aminian, S., Halsall, D.J., Stanhope, R.G., O'Rahilly, S. A. frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet* 20:111-12, 1998.

Zakrzewska, K.E., Cusin, I., Sainsbury, A., Rohner-Jeanrenaud, F., Jeanrenaud, B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes*. 46(4):717-9, 1997.

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](#)