

Brunella Valbão Flora

**Investigação dos neurônios da porção
rostrolateral da substância cinzenta
periaquedutal (PAGrl) mobilizados durante a
busca por droga e suas conexões com o córtex
pré-frontal medial (mPFC) e neurônios
orexinérgicos da área hipotalâmica lateral (LHA)**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Prof^a. Dra. Sandra Regina Mota Ortiz

Versão Corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo

2016

RESUMO

VALBÃO, B. F. **Investigação dos neurônios da porção rostralateral da substância cinzenta periaquedutal (PAGrl) mobilizados durante a busca por droga e suas conexões com o córtex pré-frontal medial (mPFC) e neurônios orexinérgicos da área hipotalâmica lateral (LHA).** 2016 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Diversos são os estudos que apontam a substância cinzenta periaquedutal (PAG) como um sítio neural crítico para a expressão de inúmeros comportamentos motivados. Trabalhos do nosso grupo mostraram a partir de lesões neuroquímicas por NMDA que a porção rostralateral da substância cinzenta periaquedutal (PAGrl) desempenha um papel chave na regulação da motivação para perseguir presas durante a caça predatória e que esta modulação dependeria da ligação deste sítio neural com os neurônios orexinérgicos da área hipotalâmica lateral (LHA) que, de acordo com a literatura, modularia os mecanismos de recompensa associados tanto ao comportamento alimentar, quanto ao comportamento de busca por droga, a partir de projeções para área tegmental ventral e núcleo acumbens. Adicionalmente, em estudos prévios de nosso laboratório, foi possível observar a mobilização da PAGrl, em animais que expressaram o comportamento de busca por droga, semelhante a observada nos animais submetidos ao comportamento de caça predatória. Ainda neste contexto é importante salientar que dentre as principais estruturas que aferentam a porção rostralateral da substância cinzenta periaquedutal estão áreas corticais infralímbica, pré-límbica e cíngulada anterior onde estudos sugerem que a PAGrl modularia os aspectos motivacionais relacionados à busca por droga, integrando aferências provenientes dessas porções do córtex pré-frontal medial (mPFC), modulando assim os neurônios orexinérgicos da área hipotalâmica lateral. Nossos resultados corroboram com essa hipótese, uma vez que lesões neuroquímicas por NMDA bilaterais no córtex do cíngulo anterior levaram a ausência de busca pela droga em animais submetidos ao CPP para sulfato de morfina o que nos permitiu inferir que a inibição deste comportamento poderia ser resultante da ausência de ativação desta via neural. Deste modo, os resultados dos experimentos hodológicos indicam que os neurônios da PAGrl mobilizados durante a busca por droga que recebem aferências do córtex pré-frontal medial, poderiam ser os mesmos que enviam projeções para os neurônios orexinérgicos da área hipotalâmica lateral e que este setor da PAG exerceria um papel crítico para a promoção do comportamento de busca por droga durante o CPP para sulfato de morfina.

Palavras-chave: Substância cinzenta periaquedutal. Busca por droga. Área hipotalâmica lateral. Córtex pré-frontal.

ABSTRACT

VALBÃO, B. F. **Investigation of neurons rostralateral portion of the periaqueductal gray (PAGrl) mobilized in the drug seeking behavior and their connections with the medial prefrontal cortex (mPFC) and orexin neurons in the lateral hypothalamic area (LHA).** 2016. 54 p. Masters thesis (Morphofunctional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

There are several studies that show the periaqueductal gray (PAG) as a critical neural site for the expression of numerous motivated behavior. Research of our group showed by neurochemical injuries by NMDA, that rostralateral portion of the periaqueductal gray (PAGrl) plays a key role in the regulation of motivation to chase prey for predatory hunting and this modulation would depend of the binding of this neural site with orexin neurons in the lateral hypothalamic area (LHA), which according to the literature, modulates reward mechanisms associated to drug and food seeking by means of projections for the ventral tegmental area and nucleus accumbens. Additionally, in previous studies from our laboratory, we observed the mobilization of PAGrl in animals that expressed drug seeking behavior, similar to that observed in animals subjected to predatory hunting behavior. Also in this context it is important to note that among the main structures that send projections to PAGrl, are cortical areas infralímbica, pre-limbic and anterior cingulate, where studies suggest that PAGrl modulates the motivational aspects related to the search for drugs, integrating afferents from these portions of the medial prefrontal cortex (mPFC), thereby modulating the orexin neurons of the lateral hypothalamic area. Our results corroborate this hypothesis, once neurochemical injuries bilateral by NMDA in the cortex of the anterior cingulate led to lack of search for drugs in animals submitted to CPP for morphine sulfate, which allowed us to infer that the inhibition of this behavior could be the result of absence of activation of this neural pathway. Thus, the results of hodological experiments indicate that PAGrl neurons mobilized during the search for drugs, that receive input from the mPFC could be the same as send projections to orexin neurons of the LHA and that this section of PAG would play a critical role for the promotion drug seeking during the CPP for morphine sulfate.

Keywords: Periaqueductal gray. Drug seeking. Hypothalamic area. Prefrontal córtex.

1 INTRODUÇÃO

É de conhecimento a existência de estudos acerca do papel funcional da substância cinzenta periaquedutal na expressão de uma série de comportamentos motivados, como os comportamentos de defesa (BANDLER; SHIPLEY, 1994), sexual (SAKUMA; PAFF, 1979) e maternal (LONSTEIN; STERN, 1997, 1998). A expressão desses comportamentos está associada fundamentalmente às suas projeções para o tronco cerebral e medula espinal. Entretanto, estudos do nosso grupo (MOTA-ORTIZ et al., 2009, 2012; SUKIKARA et al., 2006) apontam para um importante papel da substância cinzenta periaquedutal como um influenciador da seleção de estratégias comportamentais críticas, das quais o comportamento de busca por fontes de recompensa, como alimento e droga, parece ser de particular relevância.

No trabalho de Mota-Ortiz e colaboradores, 2012, que investiga as bases neurais do controle motivacional para a busca alimentar, os autores mostraram que a motivação para perseguir as presas durante a caça predatória depende da integridade de um setor particular da substância cinzenta periaquedutal (PAG), situado no terço rostral da sua coluna lateral, uma vez que animais portadores de lesões citotóxicas nesta região perdem o interesse em buscar a presa durante a caça predatória, sem apresentar um déficit alimentar patente quando colocados com oferta alimentar *ad libitum*. Adicionalmente, os autores mostraram após a injeção do traçador anterógrado da leucoaglutinina do *Phaseolus vulgaris* (PHA-L) na porção rostral da coluna lateral da substância cinzenta periaquedutal, um contingente particularmente grande de fibras anterogradamente marcadas no setor da área hipotalâmica lateral que contém neurônios orexinérgicos, indicando possíveis posições entre as fibras marcadas anterogradamente com PHA-L e os corpos celulares imunorreativos à orexina, inferindo a existência de uma via entre a porção rostral da coluna lateral da substância cinzenta periaquedutal e os neurônios orexinérgicos do hipotálamo lateral, que poderia estar criticamente envolvida nos processos motivacionais de busca alimentar durante a caça predatória além de intermediar as ações da porção rostral da coluna lateral da substância cinzenta periaquedutal no controle motivacional para a busca das presas durante a caça predatória.

Corroborando esta hipótese, uma série de trabalhos do pesquisador Gary Aston-Jones e colaboradores demonstraram que o sistema orexinérgico desempenha um papel chave nos mecanismos de recompensa envolvidos na busca por comida ou droga. A orexina é um neuropeptídeo expresso exclusivamente em neurônios da área hipotalâmica lateral que está fortemente associado ao comportamento alimentar e manutenção do alerta (CHEMELLI et al., 1999; LIN et al., 1999; SAKURAI et al., 1998; THORPE; KOTZ, 2005; WINSKY-SOMMERER et al., 2005), além de processos relacionados a mecanismos de recompensa e comportamentos aditivos (ASTON-JONES et al., 2008; BORGLAND et al., 2006; BOUTREL et al., 2005; GEORGESCU et al., 2003; HARRIS et al., 2005; HARRIS et al., 2007; KELLEY et al., 2005; LAWRENCE et al., 2006; NARITA et al., 2006). Especificamente, Harris e Aston-Jones, 2006, sugeriram que neurônios orexinérgicos localizados na porção mais lateral da área hipotalâmica lateral estariam envolvidos nos mecanismos de recompensa associados ao comportamento de busca por droga e comida, através de uma importante ligação com o sistema mesolímbico, através de projeções para a área tegmental ventral e núcleo acumbens; enquanto os neurônios orexinérgicos localizados na região perifornical estariam relacionados à manutenção dos níveis de alerta. Dessa forma, poderíamos sugerir que a porção rostral da coluna lateral da substância cinzenta periaquedutal poderia modular também aspectos motivacionais relacionados à busca por outras fontes de recompensa, como uma droga de abuso.

Em recentes experimentos realizados em nosso laboratório, avaliamos o padrão de ativação da PAG em animais que expressaram o comportamento de busca por droga (em um paradigma de preferência condicionado por lugar associada a sulfato de morfina) e verificamos uma ativação semelhante à observada durante a busca pela presa, no comportamento predatório, onde o setor da coluna lateral localizado imediatamente ventral a coluna dorsolateral e que se estende no sentido rostrocaudal do polo caudal do núcleo de Darkschewitsch até a metade rostral do núcleo oculomotor, apresenta-se particularmente mobilizado. Adicionalmente observamos a presença de neurônios duplamente marcados para Fos e orexina na porção lateral da área hipotalâmica lateral e verificamos que lesões neuroquímicas na PAGrl diminuíram a expressão do comportamento de busca por droga além de

diminuir o número de duplas marcações para Fos e orexina na área hipotalâmica lateral.

No presente contexto é importante salientarmos que dentre as principais estruturas que aferentam a PAGrl estão áreas corticais infralímbica, pré-límbica e cingulada anterior (MOTA-ORTIZ et al., 2009); regiões corticais particularmente envolvidas no planejamento comportamental (FUSTER, 2000; KOLB, 1984). Diversos trabalhos também apontam para o envolvimento da região pré-límbica do mPFC no comportamento de busca por droga. De acordo com estes estudos a inativação farmacológica ou lesões deste sítio encefálico foram capazes de diminuir o condicionamento ou a busca pela cocaína (CAPRILES et al., 2003; FUCHS et al., 2005; GIPSON et al., 2013; Mc FARLAND; KALIVAS, 2001; Mc FARLAND et al., 2004).

Segundo Schoenbaum e Roesch, 2005, o córtex pré-frontal desempenha um papel crítico no planejamento de respostas comportamentais motivadas associadas a elementos que oferecem recompensa. Durante a autoadministração da droga a área tegmental ventral libera dopamina no núcleo acumbens e no córtex pré-frontal medial ao mesmo tempo, estimulando a busca e o consumo da droga. A liberação de dopamina da área tegmental ventral no núcleo acumbens seria importante para a associação pista – droga, enquanto que a liberação de dopamina no córtex pré-frontal estimularia a liberação de glutamato a partir desta estrutura no núcleo acumbens resultando nas respostas motoras de busca pela droga (KALIVAS; VOLKOW, 2005). Adicionalmente, estudos de neuroimagem mostraram que pacientes usuários de cocaína, metanfetamina e heroína, apresentaram um aumento de atividade neuronal do córtex pré-frontal, quando colocados diante de pistas previamente associadas à droga (BOLLA et al., 2003; CHILDRESS et al., 1999; VOLKOW; FOWLER, 2000;).

Estes estudos demonstram que o mPFC é uma estrutura chave para o controle do comportamento de busca por droga, sendo responsável por diversos aspectos envolvidos no abuso de drogas e na consequente dependência, controlando assim a expressão da motivação e execução do plano comportamental relacionado a busca pela droga.

Dessa forma, para avaliarmos se os neurônios da PAGrl que se projetam para a LHA e modulam o sistema orexinérgico no comportamento de busca por droga são

os mesmos aferentados pelo mPFC, realizamos injeções dos traçadores anterógrado Biotynilated Dextran Amine (BDA) no mPFC e retrógrado Fluorogold (FG) na LHA. Nossos resultados indicam que a mesma região da PAGrl que recebe projeções do mPFC se projeta para o grupamento de neurônios orexinérgicos da área hipotalâmica lateral, indicando uma possível via de modulação utilizada no comportamento de busca por droga.

Adicionalmente aos experimentos hodológicos, realizamos experimentos de lesão por NMDA nas regiões do mPFC, em particular, a região do cíngulo anterior e as regiões pré-límbica e infralímbica onde os resultados indicaram que lesões bilaterais restritas nas referidas áreas corticais levaram a ausência de busca pela droga em animais submetidos ao CPP para sulfato de morfina. Cabe ressaltar que os experimentos de lesões corticais foram realizados em colaboração com o Dr. Wagner Fernandes de Oliveira.

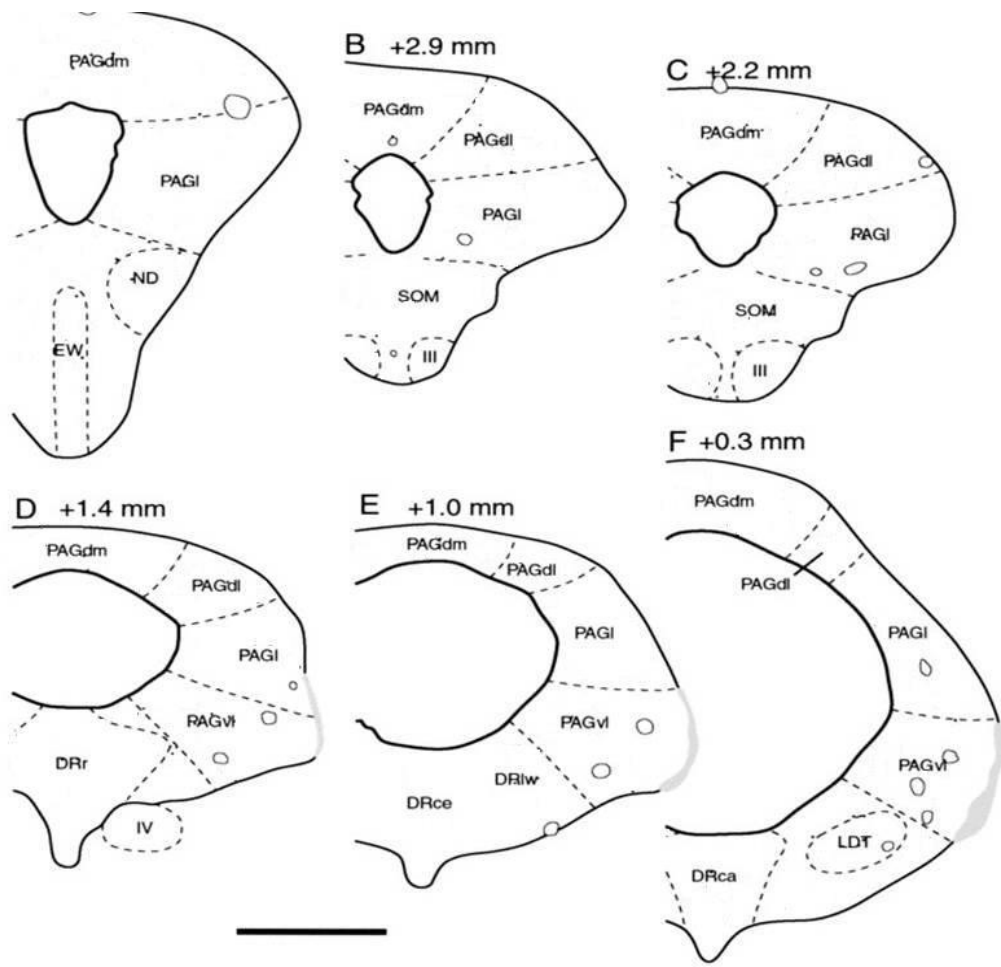


Figura 1 - Desenho de câmara lucida evidenciando o parcelamento dos níveis e colunas da substância cinzenta periaquedutal em toda a sua extensão rostral (nível 1, 2 e 3) caudal (nível 4, 5 e 6). Imagem adaptada de Comoli e colaboradores de 2003. Abreviações: PAGdm: coluna dorsomedial da PAG; PAGdl: coluna dorsolateral da PAG; PAGl: coluna lateral da PAG; PAGvl: coluna ventrolateral da PAG; DR: núcleo dorsal da raphé; CUN: núcleo cuneiforme; III: núcleo oculomotor; IV: núcleo troclear

6 CONCLUSÃO

A partir dos experimentos de lesão é possível inferir que o mPFC (ACAd, PL e ILA) e a PAGrl poderiam estar envolvidos na modulação do comportamento de busca por droga, uma vez que, tanto a lesão neuroquímica bilateral da ACAd quanto à lesão neuroquímica bilateral casada das áreas PL e ILA do mPFC foram capazes de inibir a preferência pelo compartimento previamente pareado com a droga.

Por meio dos experimentos com os traçadores anterógrados e retrógrados, observamos que neurônios localizados nas regiões do mPFC efetivamente enviam projeções para os neurônios da PAGrl que encontram-se mobilizados durante o comportamento de busca por droga, e estes também enviam projeções para a porção da LHA que contém os neurônios orexinérgicos, sugerindo portanto a existência de uma via entre essas três regiões que seria fundamental para modular a expressão do comportamento de busca por droga.

REFERÊNCIAS*

ASTON-JONES G, SMITH RJ, MOORMAN DE, RICHARDSON KA. Role of lateral hypothalamic orexin neurons in reward processing and addiction. *Neuropharmacology*, v. 56, n. 1, p.112-121, 2009

ASTON-JONES G, SMITH RJ, SARTOR GC, MOORMAN DE, MASSI L, TAHSILI-FAHADAN P, RICHARDSON KA. Lateral hypothalamic orexin/ hypocretin neurons: a role in reward seeking and addiction. *Brain Res.*, v. 1314, p. 74-90, 2010

BALLEINE, B.; DICKINSON, A. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, v. 37, p. 407-419, 1998.

BANDLER R, SHIPLEY MT. Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: modules for emotional expression? *Trends Neurosci.*, v. 17, n. 9, p. 379-89, 1994

BOLLA KI, ELDTRETH DA, LONDON ED, KIEHL KA, MOURATIDIS M, CONTOREGGI C, MATOCHIK JA, KURIAN V, CADET JL, KIMES AS, FUNDERBURK FR, ERNST M. Orbitofrontal cortex dysfunction in abstinent cocaine abusers performing a decision-making task. *Neuroimage*, v. 19, n. 3, p. 1085-1094, 2003

BORGLAND SL, TAHA SA, SARTI F, FIELDS HL, BONCI A. Orexin A in the VTA is critical for the induction of synaptic plasticity and behavioral sensitization to cocaine. *Neuron*, v. 49, n. 4, p. 589-601, 2006

BOUTREL B, KENNY PJ, SPECIO SE, MARTIN-FARDON R, MARKOU A, KOOB GF, DE LECEA L. Role for hypocretin in mediating stress-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, v. 102, n. 52, p. 19168-19173, 2005

CAPRILES, N.; RODAROS, D.; SORGE, R.E.; STEWART, J. A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology*, v.168, n. 1, p. 66-74, 2003.

CHEMELLI RM, WILLIE JT, SINTON CM, ELMQUIST JK, SCAMMELL T, LEE C, RICHARDSON JA, WILLIAMS SC, XIONG Y, KISANUKI Y, FITCH TE, NAKAZATO M, HAMMER RE, SAPER CB, YANAGISAWA M. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*, v. 98, n. 4, p. 437-451, 1999

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CHILDRESS AR, MOZLEY PD, MCELGIN W, FITZGERALD J, REIVICH M, O'BRIEN CP. Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry.*, v. 156, n. 1, p. 11-8, 1999

COMOLI, E.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; CANTERAS, N. S. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. *Behav. Brain. Res.*, v.138, n.1, p.17-28, 2003.

DALLEY, J.W.; CARDINAL, R.N.; ROBBINS, T.W. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 28, p.771-784, 2004

EUSTON, D. R.; GRUBER, A.J.; McNAUGHTON, B.L. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, v. 76, p. 1057-1070, 2012.

FUCHS, R.A.; BRANHAM, R.K.; SEE, R.E. Different neural substrates mediate cocaine seeking after abstinence versus extinction training: critical role for the dorsolateral caudate-putamen. *J. Neurosci.*, v. 26, n. 13, p. 3584-3588, 2006

FUSTER, J.M. Executive frontal functions. *Exp. Brain Res.*, v.422, p.556-578, 2000

GEORGESCU D, ZACHARIOU V, BARROT M, MIEDA M, WILLIE JT, EISCH AJ, YANAGISAWA M, NESTLER EJ, DILEONE RJ. Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal. *J Neurosci.*, v. 23, n. 8, p. 3106-3111, 2003

GIPSON, C.D.; KUPCHIK, Y.M.; SHEN, H.; REISSNER, K.J.; THOMAS, C.A; KALIVAS, P.W. Relapse induced by cues predicting cocaine depends on rapid, transient synaptic potentiation. *Neuron*, v. 77, p.867-872, 2013

HAO, Y.; YANG, J.; SUN, J.; QI, J.; DONG, Y.; WU, C. F. Lesions of the medial prefrontal cortex prevent the acquisition but not reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Neuroscience Letters.* v. 433, p. 48-53, 2008

HARRIS GC, ASTON-JONES G. Arousal and reward: a dichotomy in orexin function. *Trends Neurosci.*, v. 29, n. 10, p. 571-577, 2006

HARRIS GC, HUMMEL M, WIMMER M, MAGUE SD, ASTON-JONES G. Elevations of FosB in the nucleus accumbens during forced cocaine abstinence correlate with divergent changes in reward function. *Neuroscience*, v. 147, n. 3, p. 583-591, 2007

HARRIS GC, WIMMER M, ASTON-JONES G. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature*, v. 437, n. 7058 p. 556-559, 2005

HARRIS GC, WIMMER M, RANDALL-THOMPSON JF, ASTON-JONES G. Lateral hypothalamic orexin neurons are critically involved in learning to associate an environment with morphine reward. *Behav Brain Res.*, v. 183, n. 1, p. 43-51, 2007

KALIVAS, PW; VOLKOW. The neural basis of addiction: A pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry.*, v. 162, n. 8, p. 1403-1413, 2005

KELLEY AE, BALDO BA, PRATT WE. A proposed hypothalamic-thalamic-striatal axis for the integration of energy balance, arousal, and food reward. *J Comp Neurol.*, v. 493, n. 1, p. 72-85, 2005

KILTS, C.D.; GROSS, R.E.; ELY, T.D.; DREXLER, K.P. The neural correlates of cue-induced craving in cocaine-dependent women. *Am. J. Psychiatry.*, v. 161, p.233-241, 2004.

KOLB, B. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res. Rev.*, v.8, p.65-98, 1984

LAWRENCE AJ, COWEN MS, YANG HJ, CHEN F, OLDFIELD B. The orexin system regulates alcohol-seeking in rats. *Br J Pharmacol.*, v. 148, n. 6, p. 752-759, 2006

LIN L, FARACO J, LI R, KADOTANI H, ROGERS W, LIN X, QIU X, DE JONG PJ, NISHINO S, MIGNOT E. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell*, v. 98, n. 3, p. 365-376, 1999

LONSTEIN JS, STERN JM. Site and behavioral specificity of periaqueductal gray lesions on postpartum sexual, maternal, and aggressive behaviors in rats. *Brain Res.*, v. 804, n. 1, p. 21-35, 1998

LONSTEIN, J.S.; STERN, J.M. Role of the midbrain periaqueductal gray in maternal nurturance and aggression: c-Fos and electrolytic lesion studies in lactating rats. *The Journal of Neuroscience*, v. 17, n. 9 p. 3369- 3378, 1997.

McFARLAND, K.; KALIVAS, P.W. The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci.*, v. 21 n. 21, p. 8655-8663

McFARLAND, K.; DAVIDGE, S.B.; LAPISH, C.C.; KALIVAS, P.W. Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *J Neurosci.*, v.24, n. 7, p.1551-1560, 2004.

MILLER, E.K.; COHEN, J.D. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu. Rev. Neurosci.*, v. 24, p. 167-202, 2001.

MOTA-ORTIZ SR, SUKIKARA MH, FELICIO LF, CANTERAS NS. Afferent connections to the rostral part of the periaqueductal gray: a critical region influencing the motivation drive to hunt and forage. *Neural Plast.*, v. 2009 Article ID 612698, 11 pages, 2009

MOTA-ORTIZ SR, SUKIKARA MH, BITTENCOURT JC, ELIAS CF, BALDO MV, FELICIO LF, CANTERAS NS. The periaqueductal gray as a critical site to mediate reward seeking during predatory hunting. *Behav Brain Res.*, v. 226, n. 1, p. 32-40, 2012

NARITA, M.; NAGUMO, Y.; HASHIMOTO, S.; NARITA, M.; KHOTIB, J.; MIYATAKE, M.; SAKURAI, T.; YANAGISAWA, M.; NAKAMACHI, T.; SHIODA, S.; SUZUKI, T.

Direct involvement of orexinergic systems in the activation of the mesolimbic dopamine pathway and related behaviors induced by morphine. *J Neurosci.*, v.26, n. 2, p.398-405, 2006

SAKUMA, Y.; PAFF, D.W. Facilitation of female reproductive behavior from mesencephalic central gray in the rat. *Am J Physiol.*, v. 237 p. 278-284, 1979

SAKURAI T, AMEMIYA A, ISHII M, MATSUZAKI I, CHEMELLI RM, TANAKA H, WILLIAMS SC, RICHARDSON JA, KOZLOWSKI GP, WILSON S, ARCH JR, BUCKINGHAM RE, HAYNES AC, CARR SA, ANNAN RS, MCNULTY DE, LIU WS, TERRETT JA, ELSHOUBAGY NA, BERGSMA DJ, YANAGISAWA M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, v. 92, n. 4, p. 573-585, 1998

SCHOENBAUM G, ROESCH M. Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron*, v. 47, n. 5, p. 633-636, 2005

SUKIKARA MH, MOTA-ORTIZ SR, BALDO MV, FELÍCIO LF, CANTERAS NS. A role for the periaqueductal gray in switching adaptive behavioral responses. *J Neurosci.*, v. 26, n. 9, p. 2583-2589, 2006

THORPE AJ, KOTZ CM. Orexin A in the nucleus accumbens stimulates feeding and locomotor activity. *Brain Res.*, v. 1050, n. 1, p. 156-162, 2005

TZSCHENTKE, T.M.; SCHMIDT, W.J. Discrete quinolinic acid lesions of the rat prelimbic medial prefrontal cortex affect cocaine- and MK-801-, but not morphine- and amphetamine-induced reward and psychomotor activation as measured with the place preference conditioning paradigm. *Behav Brain Res.*, v. 97, n. 1, p. 115-127, 1998

TZSCHENTKE, T.M.; SCHMIDT, W.J. Functional heterogeneity of the rat medial prefrontal cortex: effects of discrete subarea-specific lesions on drug-induced conditioned place preference and behavioural sensitization. *Eur J Neurosci.*, v. 11, n. 11, p. 4099-4109, 1999

VOLKOW ND, FOWLER JS. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex.*, v. 10, n. 3, p. 318-325, 2000

WINSKY-SOMMERER R, YAMANAKA A, DIANO S, BOROK E, ROBERTS AJ, SAKURAI T, KILDUFF TS, HORVATH TL, DE LECEA L. Interaction between the corticotropin-releasing factor system and hypocretins (orexins): a novel circuit mediating stress response. *J Neurosci.*, v. 24, n. 50, p. 11439-11448, 2004