

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS  
LABORATÓRIO DE NEUROFISIOLOGIA COMPARADA**

Willian Anderson Spudeit

**A SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE EM  
POMBOS (*Columba livia*): DESCRIÇÃO, PROPOSTA DE UM  
PROTOCOLO PARA ESTUDO E EXAME DOS EFEITOS DE  
DROGAS HIPER- E HIPOFAGIANTES**

Florianópolis  
2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS  
LABORATÓRIO DE NEUROFISIOLOGIA COMPARADA**

Willian Anderson Spudeit

**A SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE EM  
POMBOS (*Columba livia*): DESCRIÇÃO, PROPOSTA DE UM  
PROTOCOLO PARA ESTUDO E EXAME DOS EFEITOS DE  
DROGAS HIPER- E HIPOFAGIANTES**

Dissertação apresentada à banca  
examinadora do Programa de Pós-  
Graduação em Neurociências, como  
pré-requisito obrigatório para a  
obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Marino  
Neto

Florianópolis  
2013



Spudeit, Willian Anderson

A SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE EM POMBOS (Columba livia): DESCRIÇÃO, PROPOSTA DE UM PROTOCOLO PARA ESTUDO E EXAME DOS EFEITOS DE DROGAS HIPER- E HIPOFAGIANTES. / Willian Anderson Spudeit ; orientador, José Marino Neto - Florianópolis, SC, 2013.

160 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

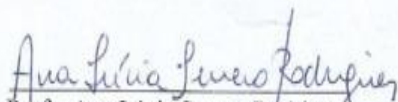
Inclui referências

1. Neurociências. 2. Sequencia Comportamental da Saciedade. 3. Comer. 4. Beber. I. Neto, José Marino. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

**“A SEQUÊNCIA COMPORTAMENTAL DE SACIEDADE  
EM POMBOS (*COLUMBA LIVIA*): DESCRIÇÃO,  
PROPOSTA DE UM PROTOCOLO PARA ESTUDO E  
EXAME DOS EFEITOS DE DROGAS HIPER- E  
HIPOFAGIANTES”**

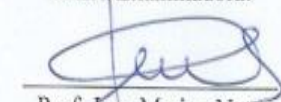
Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências na área de Neuropsicobiologia no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina

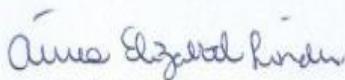
Florianópolis, 12 de junho de 2013.



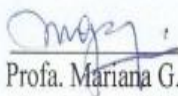
Profa. Ana Lúcia Severo Rodrigues  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

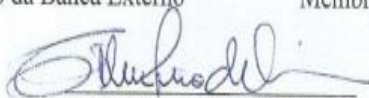
  
Prof. Jose Marino Neto  
Orientador - UFSC



Profa. Áurea Elizabeth Linder  
Membro da Banca Externo



Profa. Mariana G. Terenzi  
Membro - UFSC



Profa. Cilene Lino de Oliveira  
Membro - UFSC

Este trabalho é dedicado a todos os pesquisadores que lutam a cada dia por novas descobertas na área das ciências básicas.





## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer em primeiro lugar a Deus, por ter me dado saúde e sabedoria para que eu pudesse concluir este trabalho.

Quero agradecer também ao professor Dr. José Marino Neto, pelo tempo dedicado na minha orientação e pela oportunidade de poder aprender ao seu lado.

Não posso deixar passar a oportunidade de agradecer à minha esposa e à minha filhaque, com certeza, foram e são fundamentais na construção da minha carreira como pesquisador.

Agradeço igualmente aos alunos da iniciação científica, pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho.



*Reason, or the ratio of all we have already known,  
is not the same that it shall be when we know  
more.*(William Blake, 1788)



## RESUMO

A ingestão de alimentos acarreta uma série de alterações térmicas, metabólicas e comportamentais, que são conservadas filogeneticamente. As alterações comportamentais são compostas por uma sequência de comportamentos: beber, autolimpeza e sono, denominada Sequência Comportamental da Saciedade (SCS). Essa sequência foi descrita em roedores, permitindo, desse modo, a avaliação refinada de potenciais inibidores do apetite. No entanto, a presença e os atributos da SCS não foram estudados sistematicamente em animais não mamíferos. Aqui, descreve-se a SCS em pombos (*Columba livia*) induzida pela: (1) apresentação de uma mistura de sementes (MS) em animais que estavam com água e ração *ad libitum* e (2) apresentação da ração comum (RC) e da MS a animais que estavam privados de alimentos por 24 horas, examinando por decodificação dos comportamentos registrados em vídeo digital por 2 horas. A simples apresentação da MS em animais *ad libitum* ou em animais privados de alimento por 24 horas foi suficiente para provocar uma sequência de comportamentos consistente, composta pelo beber logo após o comer; em seguida, a autolimpeza e, por fim, o sono. Essa sequência de comportamentos foise semelhante à SCS observada em roedores. A estrutura e as relações temporais e sequenciais entre esses comportamentos foram quantitativamente examinadas e estatisticamente comparadas por meio de representação gráfica especialmente desenvolvida para tal fim, e por meio de índices como: latência para primeiro episódio do comportamento (L), tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecção entre as curvas dos comportamentos (I). Com base nesses resultados, propôs-se e testou-se um protocolo para o estudo da SCS, envolvendo a remoção de água e comida por uma hora, e devolução após esse período acrescido da MS, com registro comportamental por 84 minutos. Os índices comportamentais não foram afetados significativamente pela reexposição ao protocolo (três vezes com intervalo de sete dias entre as exposições); pelo gênero; pela ausência de água durante o teste; pela diferença de palatabilidade do alimento oferecido; por diferentes quantidades da MS oferecidas uma hora antes do início do protocolo (0, 33, 66 ou 100% do consumo na terceira apresentação); e pelas injeções intracerebroventricular de drogas serotoninérgicas, como 5-HT(50 e 150 nmol), Fluoxetina (22,5 e 75 nmol), Norfenfluramina (30 e 60 nmol), Metergolina (150 e 300 nmol) e m-CPP (3,9 e 13 nmol). O único tratamento que teve um efeito sobre os índices comportamentais

foio tratamento com a 5-HT na dose de 150 nmol, em que o tempo para o pico de comer e a latência foram postergados em relação aos demais comportamentos, ou seja, o comer foi deslocado para depois do sono. Esses dados demonstram que pombos, assim como roedores, apresentam uma SCS bem definida. Diferentemente do que ocorre em roedores, a SCS em pombos não parece ser afetada pela diminuição na quantidade ingerida de ração. Já os dados farmacológicos sugerem um papel da serotonina no controle da SCS. Por fim, esses dados mostram que a SCS em pombos é um evento que só pode ser controlado até o seu desencadeamento, dado o seu início, não importa a situação apresentada ao animal, a sequência temporal dos comportamentos será sempre a mesma, sempre no mesmo período.

**Palavras-chave:** Comer, beber, sono, sequência comportamental da saciedade, comportamento pós-prandial.



## ABSTRACT

Food intake leads to a series of thermal changes, metabolic and behavioral that are phylogenetically conserved. Behavioral changes are composed of a sequence of behaviors: drinking, sleep and self-cleaning, called the Behavioral Satiety Sequence (SCS). This sequence was described in rodents, which allowed the evaluation of potential inhibitors of refined appetite. However the presence and attributes of SCS has not been systematically studied in animals not mammals. Here we describe the SCS in pigeons (*Columba livia*) induced: (1) the presentation of a seed mixture (MS) in animals that were with water and food ad libitum (2) presentation of the common ration (RC) and MS animals who were deprived of food for 24 h, examined by decoding the behaviors recorded in digital video for 2 h. The mere presentation of MS in animals ad libitum or in animals deprived of food for 24 hours was sufficient to cause a sequence of behaviors consistent, comprising the drink immediately after eating the wiper and then finally sleep. This sequence was similar to the behavior observed in rodents SCS. The structure and sequential and temporal relationships between these behaviors were examined quantitatively and statistically compared by means of graphical representation specially developed for this purpose, and by means of indices as: latency to first episode of behavior (L), time to peak (P), interval between peaks (IP) and the intersection between the curves of behaviors (I). Based on these results, we proposed and tested a protocol for the study of SCS, involving the removal of food and water for an hour and return after that period plus the MS with behavioral record for 84 min. The behavioral indices were not significantly affected by re-exposure protocol (3 x 7 day interval between exposures), by gender, by the lack of water during the test, the difference in palatability of the food offered by different amounts of MS offered one hour before the start of the protocol (0, 33, 66 or 100% consumption in the third embodiment), intracerebroventricular injections of serotonergic drugs such as 5-HT (50 and 150 nmol), Fluoxetine (22.5 and 75 nmol) Norfenfluramina (30 and 60 nmol), metergoline (150 and 300 nmol), and m-CPP (3.9 nmol and 13). The only treatment that had an effect on the behavioral indices was the treatment with 5-HT at a dose of 150 nmol, where the time to peak of eating and latency were delayed in relation to other behaviors, ie eating was shifted to after sleep. These data show that birds as well as rodents SCS have a well-defined. Unlike what occurs in rodents, pigeons in the SCS does not seem to be affected by the decrease in the amount of feed



ingested Already pharmacological data suggest a role of serotonin in the control of SCS. Finally these data show that the SCS in pigeons is an event that can only be controlled by your trigger, since its beginning no matter the situation presented to the animal, the temporal sequence of behavior is always the same, always the same period.

**Keywords:** Feeding, drinking, sleep, Behavioral sequence of satiety.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Gaiola casa, ração comum e mistura de sementes	37
Figura 2	Índices e representações	42
Figura 3	Cálculo da pré-carga	48
Figura 4	Experimento de pré-carga	49
Figura 5	Experimento Farmacológico	49
Figura 6	Durações dos comportamentos no Experimento 1	56
Figura 7	Índices comportamentais do Experimento 1	60
Figura 8	Descrição temporal dos comportamentos no Experimento 1	61
Figura 9	Descrição temporal dos comportamentos à reexposição	64
Figura 10	Índices comportamentais da reexposição	65
Figura 11	Descrição temporal dos comportamentos na ausência de água ou ração	68
Figura 12	Descrição temporal dos comportamentos no experimento de palatabilidade	71
Figura 13	Correlação de consumo no experimento de pré-carga	73
Figura 14	Descrição temporal dos comportamentos no experimento de pré-carga	74
Figura 15	Ingestão de ração e água após tratamento com 5-HT	76
Figura 16	Índices comportamentais no tratamento com 5-HT	77
Figura 17	Descrição temporal dos comportamentos após tratamento com 5-HT	79
Figura 18	Ingestão de ração e água após tratamento com Fluoxetina	81
Figura 19	Descrição temporal dos comportamentos após tratamento com Fluoxetina	83
Figura 20	Ingestão de ração e água após tratamento com Norfenfluramina	85
Figura 21	Descrição temporal dos comportamentos após tratamento com Norfenfluramina	87
Figura 22	Ingestão de ração e água após o tratamento com Metergolina	89
Figura 23	Descrição temporal dos comportamentos após tratamento com Metergolina	91

Figura 24	Ingestão de ração e água após o tratamento com m-CPP	93
Figura 25	Descrição temporal dos comportamentos após tratamento com m-CPP	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição nutricional das rações utilizadas	38
Tabela 2	Catálogo Comportamental	40
Tabela 3	Resultados do Experimento 1	57
Tabela 4	Avaliação da influência do gênero sobre o protocolo	62
Tabela 5	Repetibilidade do protocolo e ausência de água ou ração	67
Tabela 6	Resultados do experimento de palatabilidade	70
Tabela 7	Resultados [?] do experimento de pré-carga	73
Tabela 8	Resultados dos experimentos com 5-HT	78
Tabela 9	Resultados dos experimentos com Fluoxetina	81
Tabela 10	Resultados dos experimentos com Norfenfluramina	85
Tabela 11	Resultados [?] dos experimentos com Metergolina	89
Tabela 12	Resultados dos experimentos com m-CPP	93



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AI – Arcopallium intermédio

CCK- Colocistocinina

HPA- Eixo hipotálamo, hipófise adrenal

L- Latência para o primeiro episódio do comportamento

MS- Mistura de sementes

MS-SCS- Sequência Comportamental da Saciedade desencadeada pela mistura de sementes

NPY- Neuropeptídeo Y

P – Tempo para o pico

I- Intersecção entre as curvas de duração de cada comportamento

IP- Intervalo entre os picos

RC- Ração Comum

SCS- Sequência Comportamental da Saciedade

TnA – NúcleoTaeniae da Amígdala





## **SUMÁRIO**

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>25</b>
1.1 A sequência comportamental da saciedade	25
1.2 Validação dos protocolos para estudo da SCS	28
1.3 Controle serotoninérgico da SCS	31
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>35</b>
2.1 Objetivo geral	35
2.2 Objetivos específicos	35
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>37</b>
3.1 Animais	37
3.2 Registros Comportamentais e Ingestivos	39
3.3 Descrição e Análise dos Registros Comportamentais	41
3.4 Implantação da Cânula Guia	42
3.5 Confirmação da Localização da Cânula Guia	43
3.6 Injeções Intracerebroventricular de Fármacos	44
3.7 Protocolos experimentais	44
3.8 Fármacos administrados	50
3.9 Análises Estatísticas dos Dados e Apresentação Gráfica	52
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>55</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>97</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>105</b>

**REFERÊNCIAS**  
**APÊNDICE**

**107**  
**121**

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 A sequência comportamental da saciedade

O comportamento alimentar é seguido de uma série de alterações metabólicas/térmicas, que ocorrem tanto em vertebrados como em invertebrados. Em 1902, o pesquisador alemão Max Rubner denominou por meio de experimentos com cães alterações metabólicas decorrentes da ingestão de alimento, utilizando uma câmara metabólica por ele inventada, como sendo “efeito específico dinâmico” (RUBNER, 1902; apud WITHERS, 1992). Posteriormente, esse evento passou a ser designado de “ação dinâmica específica”. Entre as marcantes alterações está o aumento rápido e intenso da taxa metabólica que ocorre após a ingestão de alimento ( 25% em humanos e 687% em répteis). Esse aumento pode persistir por horas ou mesmo dias em certas espécies de répteis e consumir porções consideráveis da energia total contida na refeição (e.g., de cerca de 20% em répteis e de 10% em aves) (MCCUE et al., 2006; SECOR et al., 2009).

Além das mudanças metabólicas e térmicas, o estado pós-prandial em mamíferos também está associado a uma série de outras alterações fisiológicas, como sincronização do ritmo circadiano, liberação de neurotransmissores, hormônios e mudanças intensas na pressão arterial e na função cardiovascular (e.g., VAN DEN BUUSE e MALPAS, 1997; BOULOS e TERMAN, 1980; VALENSI e COSSON, 2006), além da alteração na composição e no fluxo urinário (e.g., BLAIR-WEST e BROOK, 1969) e na atividade do eixo hipotálamo, hipófise, adrenal (HPA), saliva (MARTENS et al., 2012). Acredita-se que muitas dessas alterações possam ser fatores relevantes para o surgimento de doenças coronarianas, infarto agudo do miocárdio e até mesmo diabetes (e.g., JACKSON et al., 2010; LOPEZ-MIRANDA et al., 2007; MORGAN et al., 2003 ).

Essas alterações fisiológicas decorrentes do comportamento alimentar resultam numa sequência organizada e notável de comportamentos denominada Sequência Comportamental da Saciedade (ANTIN et al., 1975). A referida sequência é composta de duas fases: a fase prandial, composta pela ingestão de alimento, e a fase pós-prandial, composta pelo comportamento de beber, do comportamento de manutenção (autolimpeza) e do comportamento do sono ou postura típica de sono (HALFORD et al., 1998; RODGERS et al., 2010).

A descrição e a descoberta da sequência de comportamentos, hoje conhecidas como SCS, só foram possíveis em virtude dos trabalhos, como o de Barnett (1956). Esses trabalhos criticavam os estudos realizados na época sobre ingestão de alimentos por se aterem somente ao consumo total, sem dar a devida importância aos comportamentos decorrentes dessa ingestão. A partir dessas críticas, houve uma mudança do olhar científico sobre esse tipo de experimento, passando a se observar e dar mais importância aos comportamentos do que apenas ao consumo de alimento. Um exemplo disso é o trabalho de Bolles (1960), que estuda o comportamento de autolimpeza em ratos após a ingestão de alimentos.

Em meados dos anos de 1960, Richter e Bolles observaram pela primeira vez uma sequência de comportamentos realizada por roedores que foram apresentados ao alimento após estarem em jejum por 24 horas. Essa sequência de comportamentos era composta pelo beber, depois por um período curto de autolimpeza e finalizada com um longo período de inatividade com postura típica do sono. Nessa mesma época, surge, com o trabalho de Smith e colaboradores, a ideia de que a colecistocinina poderia ser um sinal natural de saciedade. Partindo dessa ideia e utilizando a observação comportamental como ferramenta de avaliação, Antin e seus colaboradores chegaram à confirmação de que a saciedade era refletida por intermédio de uma sequência de comportamentos (ANTIN et al., 1975; RODGERS et al., 2010).

A ingestão de alimentos tem uma relação direta com a ingestão de água em muitas espécies como, por exemplo, em roedores, em que 70% do consumo de água do consumo de 24 horas ocorre de dez a trinta minutos após o consumo da ração. Já em pombos, 70% do consumo de água se dá três minutos após a refeição. Nessas espécies, é observada uma correlação positiva entre o tamanho da refeição e a quantidade de água ingerida (McFARLAND et al., 1965; FITZSIMONS et al., 1969; ZEIGLER, 1971; NORMILE et al., 1984; CASTRO et al., 1988; MORGAN et al., 2000; ZORRILLA et al., 2005). A interdependência entre a ingestão de ração e a ingestão de água torna-se mais evidente quando seus consumos são avaliados na ausência de um ou de outro (NORMILE, 1984). Isso leva à redução tanto no consumo de ração como de água em muitas espécies, como em invertebrados (RAUBENHEIMER et al., 1994), em roedores (BOLLES, 1961) e em aves (McFARLAND et al., 1965; ZEIGLER, 1971). Essa variedade de espécies com respostas similares sugere que os mecanismos de

interdependência entre comer e beber estejam preservados filogeneticamente.

Já o comportamento de autolimpeza faz parte de um conjunto de comportamentos estereotipados que estão relacionados à manutenção corpórea e que são conservados filogeneticamente, sendo encontrados desde em artrópodes até em aves e mamíferos. (RADFORD et al., 2006; HOSADA et al., 2011). O que diferencia esse comportamento entre as espécies é a sua função. Enquanto em artrópodes tem a função principal de higiene de patas e antenas, em mamíferos tem o importante papel, além da higiene, no estabelecimento das relações sociais, como por exemplo, a tolerância para se alimentar junto com outro indivíduo, a ajuda mútua em relação ao comportamento agressivo de outros grupos (SPRUIJT et al., 1992; VENTURA et al., 2006). Além das funções mencionadas, a autolimpeza tem sido relacionada como marcador de baixos níveis de estresse, em primatas e roedores, e em aves (AURELI et al., 2010, SHUTT et al., 2007; NIN et al., 2012; SPRUIJT et al., 1992).

O comportamento do sono, após a refeição, é um comportamento que aparece ao fim da SCS e é um comportamento concorrente da ingestão de alimento, ou seja, ambos não podem acontecer ao mesmo tempo. Assim como os demais componentes da SCS, a relação entre o sono após a refeição parece ser preservada evolutivamente. Isso porque sua ocorrência é relatada tanto nos invertebrados (*C. elegans*) quanto em vertebrados, como roedores, por exemplo. No *C. elegans*, o sono após a refeição é caracterizado por um período de total imobilidade depois do consumo de alimento, e existe uma relação entre o tempo do sono com o valor nutricional do alimento (YOU et al., 2008). Já em roedores, esse sono pós-refeição não parece ser tão dependente do valor nutricional e sim da quantidade de alimento ingerida, como mostram os trabalhos de Danguir et al. (1979) e de Saint Hilaire et al. (1992).

Pombos *Columba livia*, que foram realimentados após jejum de 96 horas, apresentaram um aumento de três vezes na duração do sono de ondas lentas e o surgimento do sono paradoxal (DARIO, 1995). Tal relação entre o comer e o sono também foi observada em humanos e parece ser resultado de uma combinação que envolve estimulação das vias aferentes vagais, aumento da temperatura corporal, a concentração de glicose, mais os hormônios que são liberados pelo sistema gástrico como, por exemplo, a colecistocinina (CCK), que age sobre o sistema nervoso central em áreas envolvidas com o controle do sono (ZAMMIT et al., 1992; OOR et al., 1997; WELLS et al., 1997).

## 1.2 Validação dos protocolos para estudo da SCS

Com o advento de novas tecnologias, principalmente ligadas a registro por meio de câmeras, tornou-se possível o refinamento dos estudos sobre a SCS a ponto de poder se observar melhor os comportamentos – como eles são expressos e as relações existentes entre eles. O que tornou possível a realização dos experimentos de calibração da SCS. Entre eles, os experimentos que envolvem a pré-carga de ração oferecida ao animal antes do início da fase de observação, experimentos que envolvem a adulteração da palatabilidade da ração com adição de quinina ou lítio e que são usados para ajudar a diferenciar o que faz parte de um processo natural de saciação de uma interrupção do comer por causa do gosto desagradável ou a náusea em virtude da adulteração da ração. Com a calibração da SCS, foi possível a utilização de fármacos como ferramenta para se entender melhor os atributos da sequência, como por exemplo, saber se a SCS é sensível ou não a alterações na ingestão de alimento e, talvez o mais importante, permitir discernir o que é realmente uma saciedade causada por um fármaco de uma diminuição na ingestão em razão de seu efeito colateral como, por exemplo, a náusea, tontura, aumento da locomoção que são causados por alguns fármacos. E, por fim, os experimentos farmacológicos demonstraram a participação de alguns neurotransmissores no controle da sequência de saciedade, como a serotonina e o NPY (BLUNDELL et al., 1985; HALFORD et al., 1998; LÓPEZ-ALONSO et al., 2007; RODGERS et al., 2010).

Nesse sentido, os atributos da SCS, como a latência, duração, frequência do comportamento ingestivo e sua microestrutura, têm sido repetidamente usados como modelo pré-clínico mais seguro de efeitos hipofagiantes de drogas, em roedores (ANTIN et al., 1975; BLUNDELL et al., 1986; GIBBS e SMITH, 1982; HALFORD et al., 1998). Além disso, as medidas de mudanças nas relações temporais e sequenciais entre os componentes de SCS podem dissecar interações funcionais entre os sistemas relacionados com a homeostase energética, equilíbrio hidrossalino e estados de sono-vigília.

Em mamíferos, os métodos empregados para provocar a SCS lançam mão da privação prolongada de alimentos (24-48 horas) ou

restrição alimentar sistemática, seguida por reapresentação do alimento. A ingestão e os comportamentos pós-prandiais provocados pela interrupção do jejum são registrados separadamente em pequenos segmentos (cinco minutos), de forma a descrever o percurso temporal de cada comportamento em detalhe ao longo de 30-40 minutos após a refeição. Os efeitos de drogas aplicadas antes da reapresentação da comida ou de dietas-teste de maior ou menor palatabilidade, com diferentes propriedades nutricionais ou sensoriais, são examinados comparando-se as curvas resultantes dos diversos comportamentos simultaneamente (HALFORD et al., 1998).

No entanto, deve ser notado que, apesar de a privação de alimento ser um fator comum para o animal em seu habitat natural, em condições experimentais elapode introduzir variáveis não controláveis na expressão da SCS, alterando o impacto do fenômeno ingestivo no sono pós-prandial. Esse fato ocorre porque a privação de alimento acarreta modificação dos padrões de sono tanto em roedores quanto em aves. A diferença entre aves e roedores é que em roedores o jejum prolongado aumenta a vigília e reduz o tempo despendido em sono paradoxal, além de aumentar o tempo gasto com atividades motoras e de contribuir para um substancial atraso nos ritmos circadianos. Já em aves, o jejum prolongado gera um aumento do tempo despendido como sono, aumentando tempo do sono de ondas leves e o sono paradoxal (BORBELY et al., 1977; DARIO et al., 1996).

O jejum prolongado em aves igualmente pode provocar mudanças na temperatura corporal, em torno de 2° a 7° C, e essa mudançana temperatura pode resultar em mudanças comportamentais, como tremores e letargia ( PHILLIPS et al., 1991; RASHOTTE et al., 1999; LAURILA et al., 2003). Outra variável não controlável, que é introduzida no experimento com a restrição prolongada de alimento, é alteração no tempo no consumo ingestivo e no tempo gasto com o beber, já que a ingestão de alimentos é fonte importante de sinais que provocam a sede e a ingestão de água tanto em roedores quanto em aves. No entanto, essas duas espécies divergem entre si na resposta ao consumo de água diante de uma restrição alimentar prolongada, enquanto em roedores, essa restrição acarreta um aumento no consumo de água durante a fase clara e diminuição durante a fase escura do ciclo claro escuro; o quenormalmente acontece é um consumo de água proporcional ao consumo de ração durante a fase escura (período de maior atividade) em roedores (BOULOS, 1979).

Emaves, essa restrição alimentar prolongada provoca uma redução gradual no consumo de água (ZEIGLER, 1971). Esses dados

sugerem que em roedores o consumo de água possui um ritmo circadiano próprio que pode ser influenciado pelo consumo de ração, sugerindo, com isso, que as áreas que controlam esses comportamentos, apesar de interagirem entre si, são diferentes. Já em aves as áreas e os mecanismos que controlam esse dois comportamentos parecem ser os mesmos em virtude da íntima relação que há entre o comer e o beber (BOULOS, 1979; ZEIGLER, 1971; ZORRILLA et al., 2005).

Diante do exposto, faz-se necessária a busca por uma abordagem que seja capaz de originar um incremento sobre os níveis basais de ingestão que seja independente do jejum, podendo assim potencializar a SCS sem introduzir novas variáveis ao experimento. Uma possibilidade seria o uso de uma ração palatável, pois essa aumentaria o consumo independente da necessidade biológica ou homeostático causada pelo jejum, já que age ativando as vias de recompensa e assim mantém um consumo baseado no prazer de comer (HARROLD et al., 2012). Todavia, embora o efeito desorganizador sobre a SCS de comidas adulteradas para se tornarem pouco palatáveis (e.g., com quinino; BLUNDELL et al., 1985) seja bem conhecido em roedores, os efeitos de dietas palatáveis sobre a SCS não foi investigado em tais mamíferos.

Muito embora a relação entre os comportamentos que fazem parte da SCS parecerem estar filogeneticamente conservados em amniotas, como já descrito e reforçado pelos trabalhos de Takei et al. (2000), Rial et al. (2010) e Hoeller et al. (2013), a confirmação da existência da SCS é praticamente desconhecida na referida espécie. Contudo, estudos realizados em nosso laboratório indicaram a possível presença de uma SCS em pombos.

A interrupção de períodos prolongados de privação de alimento (de 48-96 horas) em pombos provoca intensas manifestações de sono pós-prandial, que são acompanhadas por sinais eletroencefalográficos de sono de ondas lentas e sono paradoxal similar aos do sono noturno (DARIO et al., 1996). Esses sinais de sono são idênticos aos observados após a intensa ingestão de alimentos provocada por injeções centrais de adrenalina em pombos saciados e despertos, sugerindo uma função fisiológica de circuitos adrenérgicos centrais no controle da ingestão de alimentos nessa ave, comparável ao observado em roedores (DARIO et al., 1996; CANELLO et al., 1993; RAVAZIO et al., 1990). Porém, não foi encontrado na literatura qualquer estudo sobre SCS em aves ou tentativas para desenvolver métodos experimentais para seu exame.



### 1.3 Controle serotoninérgico da SCS

Circuitos centrais serotoninérgicos em mamíferos estão envolvidos de forma crucial no término e na subsequente inibição da ingestão de alimentos (saciedade) e no controle da ingestão de água (BLUNDELL et al., 1986). Esses efeitos são mediados por diversos subtipos de receptores como: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> (ver, e.g., GLENNON e DUKAT, 1995; SAMANIN e GRIGNASCHI, 1996). Manipulações farmacológicas com metergolina (MET, um antagonista não seletivo de receptores 5-HT<sub>1/2</sub>) ou a ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> (que diminui a atividade de neurônios serotoninérgicos) desencadeiam aumento de ingestão de alimentos em animais saciados (COSCONA et al., 1994; CURRIE e COSCONA, 1996; PARKER et al., 2001). Já a ativação de receptores 5-HT<sub>2a/2c</sub>, por via intracerebroventricular (ICV), faz com que haja uma redução na ingestão de água induzida por privação e pela injeção ICV de carbacol ou angiotensina II em ratos (REIS et al., 1990a; REIS et al., 1990b).

O uso do 8-OH-DPAT, um agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, aumenta o consumo de água (e.g., COOPER e DESA, 1987; COOPER et al., 1988). Além disso, a ativação de receptores 5-HT<sub>2C</sub> e 5-HT<sub>3</sub> centrais bloqueia a ingestão de água produzida por diferentes estímulos fisiológicos (COOPER e DESA, 1987; CASTRO et al., 2003). Já a manipulação do sistema serotoninérgico acarreta uma série de mudanças nos padrões da sequência comportamental da saciedade, tais como: rompimento da sequência natural de comportamentos, com a supressão de um ou mais comportamentos e aceleração da sequência, ou seja, uma menor duração de cada comportamento que compõem a sequência. Esses efeitos são mediados por diferentes tipos de receptores (HALFORD, e BLUNDELL, 1996; SIMANSKY e VAIDYA, 1990). Injeções sistêmicas de DOI e MK212 (agonistas dos receptores 5-HT<sub>2</sub>) ocasionam uma desorganização da SCS em roedores, causando hipoatividade e sedação (KITCHENER e DOURISH, 1994; HALFORD et al., 1998).

Já a administração sistêmica do Ro-60-0175 (agonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub>) ocasionou hipofagia e a aceleração da SCS em ratos (HEWITT, 2000). A administração periférica de inibidores da recaptação de serotonina como Fluoxetina, D-Fenfluramina, acarreta uma diminuição na ingestão de alimentos e uma abreviação dos

comportamentos que compõem a SCS em roedores (CLIFTON et al., 1989; MCGUIRK et al., 1992; VICKERS et al., 1996). Em resumo, em mamíferos, o sistema serotoninérgico, além de controlar a ingestão de ração e água, parece estar envolvido no processo de saciedade. Essas respostas, por serem bem conhecidas, podem servir de referência para o estudo e a validação da SCS em outros animais.

Nosso laboratório vem, nos últimos anos, examinando o papel dos circuitos serotoninérgicos na ingestão de alimentos (STEFFENS et al., 1997a; STEFFENS et al., 1997b; STEFFENS et al., 1999; BRUN et al., 2001; SILVA et al., 2004; HACKL et al., 2005; DOS SANTOS et al., 2005a; DOS SANTOS et al., 2005b; DA SILVA et al., 2007; DOS SANTOS et al., 2009; MENEGHELLI et al., 2009; DOS SANTOS et al., 2011; HOELLER et al., 2013) em aves. De forma similar ao observado em mamíferos, injeções intracerebroventriculares (ICV) de 5-HT ou de DOI (um agonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) em pombos privados de alimentos por 24 horas, provocam um intenso efeito hipofágico (STEFFENS et al., 1997a; STEFFENS et al., 1997b; STEFFENS et al., 1999). Esses mesmos resultados foram obtidos em animais saciados *ad libitum* para ração e água. Hiperfagia foi observada nos citados animais após a injeção ICV de GR46611 (um agonista de receptores 5-HT<sub>1D/1B</sub>; DA SILVA et al., 2004), ou de MET em diversos núcleos hipotalâmicos (DA SILVA et al., 2007).

Já a aplicação de ICV de 8-OH-DPAT provoca um efeito hiperfágico modesto em pombos privados de alimentos (STEFFENS et al., 1997 a) ou não afeta a ingestão de alimentos em animais com livre acesso à comida (DA SILVA et al., 2004); a injeção intra-rafe da referida droga em animais saciados provoca modesto efeito hiperfágico (HACKL et al., 2005); já a injeção periférica de 8-OH-DPAT em animais privados de alimento por 24 horas teve efeito hipofagiante na primeira hora após o tratamento (DOS SANTOS et al., 2009).

Para que se possa diferenciar o que é um processo natural de saciedade de um efeito colateral de um fármaco ou uma “saciedade patológica” provocada pelo paladar aversivo é necessária uma série de testes que mostreas características de cada tipo de “saciedade” (BLUNDELL et al., 1985). Com esse fim, diversos testes foram realizados em roedores, como por exemplo, a avaliação de uma redução na ingestão provocada pela pré-alimentação (experimentos de pré-carga), a adulteração do sabor do alimento com quinino e injeções periféricas de cloreto de lítio, que provoca náusea. Os experimentos de pré-carga acarretaram uma redução no consumo durante a fase de

observação proporcional à quantidade de alimento que foi oferecida como pré-alimentação. Além disso, tal experimento ocasionou uma abreviação da SCS (os comportamentos aconteceram cada vez mais cedo do que no animal controle).

Os experimentos que envolviam adulteração da ração com quinino e injeções de cloreto de lítio diminuíram o consumo da ração durante a fase experimental e provocaram a desorganização da sequência comportamental, ou seja, os comportamentos aconteceram de forma aleatória, perdendo-se a sequência natural (ANTIN et al. , 1975; BLUNDELL et al., 1985; ISHII et al. , 2003).

Esses procedimentos e achados indicam que, antes que um protocolo desencadeador da SCS possa ser utilizado, as relações entre seus componentes comportamentais e suas relações com os estímulos que os provocam ou que os modificam devem ser examinados. Esse exame deve incluir a análise dos efeitos da repetição do protocolo, de mudanças na palatabilidade, das alterações relacionadas ao gênero, mudanças relacionadas à ausência de água ou ração e alterações ocasionadas pela redução na ingestão em virtude de uma pré-alimentação. Além disso, pombos (animais não selecionados intencionalmente para um fenótipo ingestivo ou reprodutivo particular) apresentam mecanismos serotoninérgicos de controle ingestivo similares aos observados em mamíferos, e a comparação entre os padrões de semelhanças e diferenças entre esses atributos da SCS com os encontrados em roedores podem oferecer informações e oportunidades de estudo valiosas (PARENT et al., 1981; REINER et al. , 2004; NORTON et al., 2008).



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Com o presente trabalho, pretende-se contribuir para a descrição da SCS em pombos, que culmine no desenvolvimento de um protocolo de estudo calibrado comportamental e farmacologicamente para se estudar as relações entre os comportamentos pós-ingestivos.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Descrever a SCS desencadeada por diferentes estímulos.
- b) Desenvolver um protocolo para estudo da SCS em pombos.
- c) Calibrar e validar o protocolo proposto.
- d) Estudar os efeitos de fármacos serotoninérgicos hipo e hiperfagiantes sobre o protocolo proposto.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados pombos (*Columba livia*), adultos, de ambos os sexos fornecidos pelo biotério central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e levados para o biotério do laboratório, sendo mantidos em gaiolas individuais (Figura 1A), dispoindo de bebedouro com água filtrada e comedouro, contendo alimentos granulados para aves (formulação para aves em crescimento, da SUPRA Ltda., Itajaí, SC), referidos nesta dissertação como ração comum (RC) (Figura 1B), *ad libitum*. Os animais foram mantidos numa temperatura entre 24-26° C e um ciclo claro-escuro de 12 horas (luz das 7 – 19 horas; a fase clara era mantida por lâmpadas fluorescentes, resultando numa intensidade de 80-90 lux). Antes do início dos experimentos, os animais foram ambientados às condições do laboratório poraté quatorze dias. Na semana que antecedia o início dos experimentos, os animais foram apresentados na sua própria gaiola, por noventa minutos, durante três dias alternados, a uma mistura de sementes aqui denominada de MS (Figura 1C); a composição encontra-se detalhada na Tabela 1.

Os procedimentos aqui descritos foram realizados respeitando-se os princípios éticos de experimentação animal, postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1991) e foram aprovados pelo comitê de Ética sobre o Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA-UFSC, protocolo. PP00133/2007 e PP00524/2010).



Figura 1 – Gaiola residência onde os animais foram mantidos e onde os experimentos e os registros foram realizados (A); ração para crescimento de aves, denominada Ração Comum (B); (C) mistura de sementes, denominada Ração Palatável .

Tabela 1 – Informação nutricional sobre ração comum (RC) e da mistura de sementes (MS) utilizada como ração palatável (RP)

<i>Sementes</i>	<i>Proporção na mistura (%)</i>	<i>Descrição nutricional (em g/ 100g)</i>
Aveia ( <i>Avena Sativa</i> L).	57	Energia: 328,21 Kcal; Carboidratos: 60,03; Fibras: 3,6; Proteínas: 14,27; Gordura total: 8,02; Minerais: 1,81; Umidade:12,27.
Painço ( <i>Panicum millaceum</i> )	30	Energia:338,86Kcal;Carbohidratos:63,19;Fibras:6,84; Proteínas: 10,38; Gordura total: 5,03; Minerais: 3,53; Umidade:11,03.
Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> )	13	Energia: 441,66 Kcal; Carboidratos: 4,08 Fibras: 23,32;Proteínas:19,04; Gordura total: 42,44; Minerais:7,02; Umidade:8,36.
Ração Comum: Ração para o crescimento de aves da marca SUPRA Ltda., Itajaí, SC, Brasil, com a formulação código 108.	-	Energia: 315,79 Kcal; Carboidratos: 53,52; Fibras:4,60; Proteínas: 16,62; Gordura total: 8,27; Minerais: 7,02;Umidade:9,97.

Dados obtidos por meio de análise físico-química realizada pelo laboratório de análises LABCAL da Universidade Federal de Santa Catarina em 03/12/2012.



### 3.2 Registros comportamentais e ingestivos

Os experimentos foram conduzidos na própria gaiola casa do animal. Após a apresentação do alimento, em qualquer protocolo, os animais foram filmados individualmente por uma câmera de vídeo digital (Microsoft® , modelo vx 800), por diferentes períodos de tempo, de acordo com o protocolo.

A latência para o primeiro evento, a duração e a frequência do comportamento de comer, beber, autolimpeza, locomoção/exploração e sonoforam registrados pelo programa EthoWatcher®, programa desenvolvido em nosso laboratório e que está disponível em: [www.ethowatcher.ufsc.br](http://www.ethowatcher.ufsc.br) (CRISPIM et al., 2012). Essas unidades comportamentais, definidas na Tabela 2, foram anteriormente descritas (e.g., DOS SANTOS et al., 2011; CAMPANELLA et al., 2009).

A transcrição dessas gravações foi realizada pelo autor Willian Anderson Spudeit (WAS) e mais duas observadoras: Ana Carolina Andrade (ACA) e Gabryela Isabel Hunnig (GIH). O índice de concordância, Kappa de intra-observadores, foi de : WAS = 0,93, ACA = 0,94 e GIH = 0,92 e inter-observadores de 0,80). A MSe a RC foram fornecidas em comedouros feitos de garrafas plásticas de água mineral de 500 ml; já a água era fornecida num bebedouro de plástico.

A ração e a água foram pesadas no início do experimento e após diferentes períodos de tempo, conforme o protocolo. Os experimentos foram realizados no período das 13 às 17 horas, na fase clara do ciclo claro/escuro, quando o comportamento ingestivo geralmente é mais elevado que o observado nas primeiras horas da manhã (DOS SANTOS et al., 2009; ZEIGLER et al., 1971)

TABELA – 2Catálogo comportamental

<b>Comportamento</b>	<b>Sigla</b>	<b>Descrição</b>
COMER	C	O animal executa uma serie de de bicadas dirigidas a o comedouro contendo ração normal ou palatável segurando com ajuda do bico e a deglute. Observam-se movimentos da parte anterior do pescoço do animal. Um intervalo maior que 3 segundos do termino dessa ação, considera-se o final do ato de comer
BEBER	B	O animal introduz o bico no frasco de água e a suga, podendo fazer bolhas, de ar, dentro do bebedouro. Observam-se movimentos da parte anterior do pescoço do animal. Um intervalo maior que 3 segundos do termino dessa ação, considera-se o final do ato de beber
AUTO-LIMPEZA	A	O animal toca as próprias penas com a ajuda do bico e/ou com a pata, fazendo movimentos de puxar, separar ou bicar as penas. Um intervalo maior que 3 segundos do termino dessa ação, considera-se o final do ato de autolimpeza.
EXPLORAÇÃO/LOCOMOÇÃO	ET	O animal toca as grades da gaiola, o comedouro ou o bebedouro com as patas, com o bico . Inclui movimentos balísticos da cabeça em varias direções, ou apenas se desloca pela gaiola (descer e subir do poleiro ou de ambular com no mínimo um passo completo.
PARADO ALERTA	PA	O animal fica com uma ou duas patas fixas ao assoalho, com a postura totalmente ereta, com os olhos abertos, podendo realizar movimentos suaves com a cabeça. Após Um intervalo maior que 3 segundos do termino dessa ação, considera-se o final do estado de parado alerta.
SONO	S	O animal fica com uma ou duas patas fixas ao assoalho/ poleiro. Neste comportamento as patas podem estar retraídas, a ponto de o corpo tocar o chão; pode apresentar a postura encurvada - geralmente com a cabeça bem inserida ao corpo - com retração do pescoço (a ponto de o bico tocar o peito); os olhos podem estar totalmente fechados ou abrindo e fechando lentamente. Esse estado pode estar acompanhado do eriçamento das penas peitorais. Um intervalo maior que 3 segundos do termino dessa ação, considera-se o final do estado de sono.

### 3.3 Descrição e análise dos registros comportamentais

Para descrever o perfil temporal da mudança de comportamento, o tempo total do experimento foi segmentado de quatro em quatro minutos. As durações dos comportamentos registrados variam muito: beber dura em média 53 segundos, em contraste com o episódio de sono que pode durar até 1400 segundos. Para melhor demonstrar a relação temporal entre esses comportamentos, os dados individuais primários foram expressos como porcentagem do tempo gasto em um determinado comportamento (em cada período de quatro minutos), relativamente à duração total do comportamento, durante o período total de gravação. Isso foi calculado pela fórmula  $DR_{i\ per} = (DA_{i\ per} \times 100)/DT$ , onde  $DR_{i\ per}$  é a duração relativa de um determinado comportamento em relação ao período;  $DA_{i\ per}$  é a duração absoluta em segundos do comportamento no período; e  $DT$  é a duração total do comportamento no período de experimento.

Com base em dados individuais primários e DR de cada animal, foram calculados índices relacionados à estrutura temporal desses comportamentos e a relação sequencial entre eles. Esses índices incluem a **latência (L)** para cada comportamento e o **tempo par, o pico (TTP)** de cada comportamento (tempo decorrido em períodos de quatro minutos em que o comportamento atinge o seu valor de duração máxima da seção). Esses índices foram idealizados como medidas de posição absoluta no tempo e na sequência de cada comportamento, com objetivo de avaliar possíveis mudanças na sua ordem e o tempo até seu aparecimento, após a apresentação do alimento (**L**) e o tempo até chegar ao seu máximo (**TPP**).

Para avaliar as mudanças nas relações temporais e sequenciais entre o comer e os comportamentos da SCS, mediram-se o intervalo entre os picos (**IPI**) e o intervalo entre os picos dos comportamentos que fazem parte da SCS (comer, beber, autolimpeza e sono). Esse é um parâmetro que mostra se a sequência foi mantida de forma temporal, se o pico dos comportamentos aconteceu nos mesmos períodos do controle, se a sequência foi abreviada (pico dos comportamentos acontecem antes do período que aconteceu no controle) ou se a sequência foi postergada (período quando ocorre o pico dos comportamentos é maior do que no controle). **Intersecção (ItS)** é um parâmetro que mostra quando um comportamento de beber, ou de autolimpeza, ou de sono se tornou mais importantes que o comportamento de comer, indicando assim qual comportamento se sobressai em função da condição experimental a que o animal foi exposto, ver **FIGURA 2**.

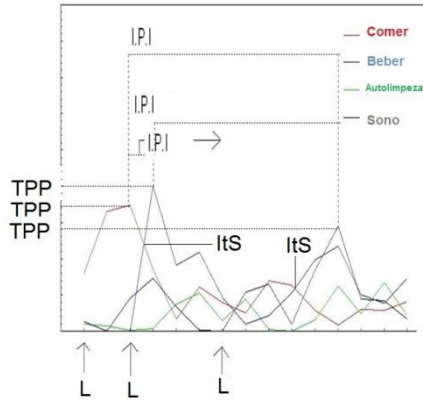


Figura 2 Índices comportamentais: L – latência para o primeiro episódio dos comportamentos de comer, beber, autolimpeza e sono; IPI – intervalo entre os picos de comer e beber, comer e autolimpeza e comer e sono; TPP – tempo para o pico de comer, beber, autolimpeza e sono; ItS – intersecção entre as curvas de comer e beber, comer e autolimpeza e comer e sono.

Para isso, foi realizada uma subtração dos valores da duração relativa entre o comer e o comportamento avaliado, por exemplo: duração relativa do comer – duração relativa da autolimpeza. Como critérios para a determinação do período em que ocorreu a intersecção foram utilizados: o período no qual o valor da subtração fosse seguido por uma sequência de cinco zeros, ou ainda quando o resultado fosse no mínimo dois valores negativos, ou o período em que o resultado da subtração fosse um valor negativo igual ou maior que 5% do tempo total gasto pelo animal no comportamento.

#### 3.4 Implantação da cânula guia para injeção intracerebroventricular (ICV)

Para a cirurgia de implantação de cânulas ICV, os pombos foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de xilazina e cloridrato de Ketamina [0,05 e 0,15 ml/100g de peso corporal, respectivamente, intraperitoneal (ip)]. Em seguida, os animais foram adaptados ao aparelho estereotáxico tendo a cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo e no bico, com uma distância entre dois pontos ajustados para 16 mm e formando um ângulo de 45°.

Previamente (dois minutos antes) ao escalpo, e a cada 15-20 minutos, durante todo o procedimento, a região onde o campo cirúrgico se encontrava era infiltrada subcutaneamente com solução contendo Lidocaína (2%, sem adrenalina, anestésico local). Após a assepsia com álcool iodado ou povidine, uma incisão longitudinal foi realizada no escalpo para exposição da calota craniana.

A seguir, uma cânula guia, feita com um segmento de agulha hipodérmica, com 0,55 mm de diâmetro externo e 15 mm de comprimento, foi posicionada dentro do ventrículo lateral de acordo com coordenadas descritas por Karten e Hodos (1967).

- Plano frontal – 6,0 mm anterior à linha interaural.
- Plano sagital – 1,0 mm lateral à sutura sagital.
- Plano horizontal – 6,0 mm abaixo da dura mater.

A cânula foi fixada à calota craniana por meio de parafusos e envolvida por acrílico autopolimerizável, formando um conjunto sólido capaz de resistir a eventuais choques mecânicos com a gaiola e a manipulação para injeções. Em cada cânula, foi ajustado um mandril de aço inoxidável para evitar obstrução. O correto posicionamento da cânula foi avaliado durante a cirurgia, utilizando-se um circuito de tubo de polietileno e um terminal com manômetro ligado à cânula guia e preenchido com salina.

Imediatamente após o término da cirurgia, os animais foram tratados com Ketofen (um analgésico veterinário com ação antipirética e antiinflamatória, 1 mg/Kg), por via intramuscular e com antibiótico Baytril 5%.

### 3.5 Confirmação da localização da cânula guia

Para verificação da correta localização da cânula guia, foi injetada nos animais, sete dias após a cirurgia, por via intracerebroventricular, uma dose de 1 nmol de val-5 angiotensina-II, diluída em solução salina. Essa dose, de acordo com Brun et al. (2001), causa um aumento drástico na ingestão de água (de 2ml para 28 ml em vinte minutos), com uma latência de noventa segundos em animais ingênuos experimentalmente. Assim sendo, animais que beberam quantidades condizentes com os efeitos dipsogênicos descritos anteriormente foram considerados aptos para os experimentos farmacológicos.

### 3.6 Injeções intracerebroventricular de fármacos

O procedimento para realização das injeções iniciava quando faltavam vinte minutos para o fim de uma hora de ausência de água e ração. Nesse momento, os animais eram retirados da gaiola casa e levados à sala de procedimento, contidos em jornal de tal forma que somente a cabeça e a cânula ficavam visíveis.

Na sala de procedimento, os fármacos foram injetados por meio de agulha injetora que exceda em 1 mm o comprimento da cânula guia, conectada a uma micro seringa de Hamilton de 10 ul. O volume injetado foi de 2 ul, e foi injetado durante o período de dois minutos (visando minimizar os efeitos do aumento no volume no líquido cefalorraquidiano).

Além desses dois minutos, a cânula injetora foi mantida no local por mais dois minutos de maneira que a solução se difundisse da ponta da cânula e, assim, prevenisse possíveis refluxos. Terminado o procedimento, o animal era devolvido imediatamente à sua gaiola casa, e o protocolo MS-SCS era seguido normalmente.

### 3.7 Protocolos experimentais

Experimento 1 – Desencadeando a SCS – Respostas ingestivas e comportamentais após a privação de alimento por 24 horas e apresentação de um alimento palatável

Para se encontrar um protocolo adequado a fim de se observar a sequência de comportamentos pós-prandiais, foram comparados os consumos e os comportamentos em animais com alimentação livre aos observados após duas situações que aumentam amotivação de comer – seis pombos (cinco machos e uma fêmea, pesando entre 340 e 450 gbw). Esses animais foram adaptados por quinze dias antes do início do experimento à MS por intermédio de três apresentações. Essas apresentações aconteceram no oitavo, no décimo e no décimo quinto dia. Esse alimento fica disponível ao animal por uma hora ao término da qual se pesava o comedouro para avaliação do consumo.

Durante a fase experimental, seus comportamentos foram registrados por duas horas seguidas (das 14 às 16 horas) em três seções (cada seção teve um intervalo de sete dias, e as aves foram distribuídas conforme quadrado latino) nas seguintes condições:

- 1) Mantidas por pelo menos sete dias com alimentação livre e, no dia do experimento, o comedouro de RC trocado por outro comedouro com RC fresca (RC).
- 2) Regime de alimentação livre (por pelo menos sete dias) e, no dia do experimento, o comedouro contendo RC substituído por um comedouro contendo RC fresca e, simultaneamente, foi oferecido comedouro contendo MS (RC+MS).
- 3) Privados de ração por 24 horas e, então, foi permitido o acesso ao comedouro contendo RC fresca e ao comedouro de MS (J24h + MS). A comida e água foram pesadas na primeira hora e na segunda hora após a apresentação do alimento, e o comedouro contendo MS foi removido no fim das 4 horas.

## Experimento 2 – Apresentação de um alimento palatável como protocolo para desencadear a SCS

Dados do Experimento 1 sugerem que a mera apresentação de um alimento palatável para animais com alimentação livre é suficiente para desencadear a SCS e que pode ser integralmente observada dentro de 84 minutos depois da apresentação do alimento. Enquanto protocolos de privação de comida (J24h +MS) podem provocar uma SCS mais definida; porém, eles também são conhecidos não só por afetar o comer, mas também o beber, a regulação térmica e funções relacionadas ao sono em pombos. (ZEIGLER., 1971; PHILLIPS e BERGER, 1989; LAURILA et al., 2003; RASHOTTE et al., 1998).

O protocolo J24h +MS pode assim dificultar as distinções comportamentais induzidas por episódios de alimentação como beber, sono da resposta ao estresse relacionado aos desafios que ocorrem durante o período de privação. Por isso, realizou-se uma série de experimentos para examinar as características de protocolo para estudo da SCS em pombos, consistindo da remoção breve da RC e da água (1h), em animais que estavam com a alimentação livre, seguido por uma apresentação da MS, referido aqui como “mistura de sementes – induz SCS” protocolo (MS-SCS).

Experimento 2.1 – Protocolo MS-SCS: descrição e efeitos relativos ao sexo do animal sobre a expressão da SCS no protocolo proposto

Doze pombos experimentalmente ingênuos (sete machos e cinco fêmeas, pesando entre 350 e 530 g de peso corporal) foram adaptados por quinze dias antes do início do experimento, conforme já descrito e tinham acesso *ad libitum* à MS (por sessenta minutos durante três dias alternados). Sete dias após a apresentação, a MS e o comedouro de RC mais a água foram retirados por uma hora, junto com a ração derramada no assoalho. Passado esse período, o bebedouro, o comedouro, contendo RC fresca, e mais o comedouro, contendo MS foram devolvidos à gaiola casa, e os comportamentos dos pombos foram filmados por 84 minutos (tempo suficiente para se observar toda a SCS, comodeterminado no Experimento 1 e em ensaios preliminares). Posteriormente, esse grupo foi dividido em dois para serem usados no Experimento 3 (seis animais) e no Experimento 4 (cinco animais).

Experimento 3 – Protocolo MS-SCS: descrição e efeitos da exposição repetida ao protocolo

Seis pombos sendo dois machos e quatro fêmeas, pesando entre 350 e 530 g de peso corporal já adaptados à mistura de sementes e submetidos ao protocolo por uma vez após a adaptação (dentro do Experimento 2.1), foram re-expostos ao protocolo; e a esse mesmo protocolo por mais duas vezes com intervalo de sete dias entre cada seção. Cada uma das seções foi filmada por 84 minutos, e os comedouros e o bebedouro foram pesados no fim de cada seção.

Experimento 4-Protocolo MS-SCS: efeito da remoção da ração ou da água

Para investigar os reflexos da ausência de comida ou de bebida durante o período experimental sobre os demais comportamentos da sequência de saciedade e sua contribuição para expressão desta, cinco pombos (quatro machos e uma fêmea, pesando entre 380 e 420 g de peso corporal), que passaram pelo Experimento 2.1, foram submetidos a três condições experimentais: somente reposição dos comedouros, um contendo RC e o outro MS, chamado de ausência de água (AA); apenas reposição do bebedouro, denominado ausência de ração (AR); e a



condição protocolar MS-SCS. O intervalo entre as seções foi de sete dias.

#### Experimento 5 – Protocolo MS-SCS:efeitos da palatabilidade

Para avaliar as possíveis participações de mecanismos orofaríngeos, pré-absortivos nas respostas pós-prandiais, foram utilizados seis animais (quatro machos e duas fêmeas, pesando entre 350 e 450 g) adaptados à MS-SCS, como descrito no Experimento 2.1 . Eles tiveram seus comportamentos registrados por 84 minutos em três condições experimentais após a ausência de água e comida por uma hora: reposição de água, mais RC (N); reposição de água, mais MS (P); e reposição de água, mais MS adulterada com quinino 1% (QP).

Todos os animais foram expostos às três rações, em sequência prevista de acordo com um quadrado latino para os testes com rações N e P, com pelo menos sete dias de intervalo entre as exposições. Para evitar influências da experiência aversiva com o quinino sobre os testes com MS, os testes com a ração QP foram sempre os últimos da série experimental para todos os animais. Após o término do experimento QP, a ração adulterada foi removida e substituída por uma mistura palatável e ração normal.

Para produzir a ração de teste não palatável, 100 g da mistura de sementes já descritas foram aspergidas com 100 ml de uma solução de 1% de sulfato de quinino (SIGMA) em água destilada e deixada secar a 40° C em estufa. A MS não adulterada foi aspergida apenas com água destilada e deixada secar na estufa.

#### Experimento 6- Protocolo MS-SCS: efeitos de pré-cargas de MS

Para avaliar os efeitos de uma pré-alimentação com MS equivalente a 0, 33, 66 e 100% do conteúdo ingerido pelo animal na 3ª apresentação à MS, foi utilizado um grupo experimental com oito animais sendo quatro fêmeas e quatro machos, pesando entre 350 e 450 g. Esses animais foram adaptados às condições do laboratório por quinze dias como já descrito e foram submetidos a quatro condições experimentais:

- 1- pré-carga equivalente a 33% do consumo de MS na 3ª apresentação (PRÉ 33) ou
- 2- pré-carga equivalente a 66% do consumo (PRÉ 66) ou
- 3- pré-carga equivalente a 100% do consumo (PRÉ 100) ou
- 4- protocolo MS-SCS.

O intervalo entre as seções foi de sete dias, e os animais foram distribuídos conforme quadrado latino. O cálculo da pré-carga seda da seguinte forma: o consumo de MS na 3ª apresentação de cada animal (**MS 3AP**) é multiplicado pela porcentagem equivalente (**33 ou 66**) e dividido por cem. No caso da pré-carga equivalente a 100% , refere-se ao consumo de MS como um todo da 3ª apresentação (Figura 3).

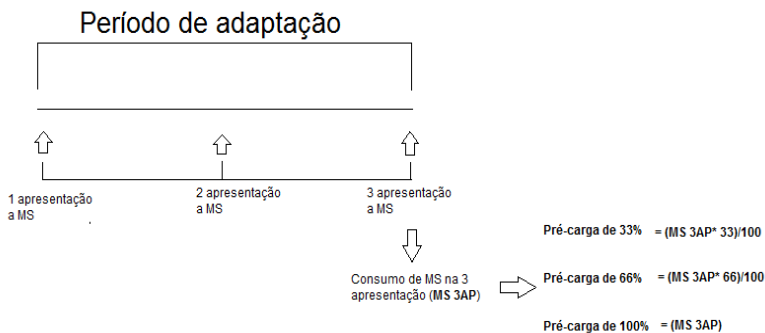


Figura 3 – Esquema mostrando a forma de se calcular a quantidade da pré-carga MS 3AP – consumo de mistura de sementes na 3ª apresentação de cada animal, 33 , 66 ou 100 do consumo de cada animal

O experimento era iniciado com a apresentação da pré-carga (0, 33, 66 ou 100%) uma hora antes do início do protocolo MS- SCS. Essa pré-carga permanecia disponível ao animal durante esses sessenta minutos que antecediam o início do protocolo. Passado esse período, dava-se início ao protocolo como já descrito no Experimento 2 A (Figura 4).

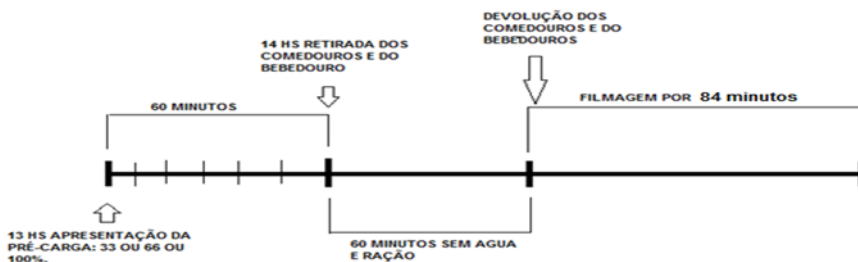


Figura 4 – Esquema explicativo dos procedimentos realizados no experimento de pré-carga

### Experimentos Farmacológicos

Para esses experimentos, após o período de adaptação (quinze dias, conforme já descrito), os animais foram submetidos à cirurgia para implantação da cânula guia no ventrículo lateral. Passados sete dias da recuperação pós-cirúrgica, foi realizado o teste de verificação do posicionamento da cânula, conforme descrito no item 3.4.1. Posteriormente ao teste, foram aguardados mais sete dias para o início dos experimentos. Durante esses últimos sete dias que antecederam o experimento, os animais foram apresentados por duas vezes ao protocolo MS-SCS, para se verificar possíveis alterações comportamentais e ingestivas decorrentes da cirurgia (Figura 5).

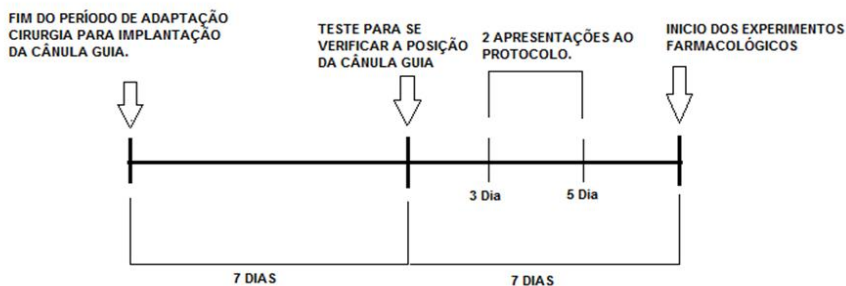


Figura 5 – Esquema demonstrando os procedimentos que antecederam os experimentos farmacológicos

### 3.8 Fármacos administrados

a) 5-hidroxitriptamina (5-HT Sigma), nas doses de 50 e 150 nmol; diluído em ácido ascórbico a 5%, utilizado também nos experimentos de controle. As doses administradas são oriundas de trabalhos anteriores do nosso laboratório as quais demonstraram um efeito hipofagiante, tanto em modelo de animais com livre acesso à água e ração (SANTOS et al., 2011), quanto em animais privados de alimentos por 24 horas, quando injetados por via ICV (STEFFENS et al., 1997).

b) Norfenfluramina (Cloridrato de Norfenfluramina, Sigma), um inibidor da recaptação de serotonina, nas doses de 9, 30 e 60 nmol, diluído em salina 0,9% utilizado também nos experimentos de controle. As doses aqui utilizadas são derivadas de doses administradas por via intraperitoneal em ratos, nos quais provocaram uma redução dose dependente na ingestão de alimentos (ROWLAND et al., 2000; VICKERS et al., 2001).

c) Fluoxetina ((±)-*N*-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina, Tocris bioscience), inibidor da recaptação da serotonina, nas doses de 7,5 , 22,5 e 75 nmol diluído em água destilada, utilizada também nos experimentos controle. As doses utilizadas são derivadas de doses as quais provocaram uma redução da dose dependente na ingestão de alimentos em ratos da raça Sprague-Dawley privados de alimentos por 2 horas (CURRIE et al., 1998).

d) m-CPP (1-(3-Clorofenil) hidroclorido de piperazina, Tocris Bioscience), um agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>2C/2B</sub>, nas doses 1,3 ; 3,9 e 13 nmol, diluído em NaCl 0,9 %, utilizado também nos experimentos de controle. As doses utilizadas são derivadas de doses administradas por via subcutânea, que resultaram numa redução de 40% da ingestão de alimento, comparados com o controle em camundongos (DALTON et al., 2006).

e) Metergolina([(8 $\beta$ )-1,6-Dimetilergolin-8-il)meti-1]ácido carbônico fenil metil éster, Tocris Bioscience), um antagonista não seletivo dos receptores 5-HT<sub>1/2</sub>, nas doses de 50, 150 e 300 nmol, diluído em ácido ascórbico 5%, utilizado também em experimentos controle. As doses utilizadas são derivadas de doses que demonstraram ter um efeito hiperfagiante quando aplicadas na região do arcopallium em pombos (CAMPANELLA et al., 2009).

Experimento 7 – Protocolo MS-SCS: efeitos das injeções ICV de serotonina (5-HT)

Tendo em vista a vasta literatura contendo a ação de fármacos serotoninérgicos sobre a SCS (para revisão, ver HALFORD et al., 1997) e os dados obtidos em nosso laboratório, os quais demonstraram diminuição na ingestão de alimento e aumento do beber e do sono, tanto em animais privados de alimento como em animais saciados, resolveu-se investigar a influência desse neurotransmissor sobre a SCS em nosso protocolo, iniciando com a injeção da própria 5-HT. Para isso, utilizaram-se sete pombos (quatro machos e três fêmeas) pesando entre 350 e 450 g que receberam uma dose de veículo ou 50 nmol ou 150 nmol de 5-HT, de acordo com o esquema amostral de quadrado latino e com intervalo de sete dias entre os tratamentos.

Experimento 8 – Protocolo MS-SCS: efeitos das injeções ICV de fluoxetina (FLX)

Ainda dentro dessa mesma linha citada, resolveu-se investigar os efeitos de um inibidor seletivo da recaptação de 5-HT, a FLX (MCGUIRK et al., 1991). Para isso, foi utilizado um novo grupo, contendo seis pombos (dois machos e quatro fêmeas), pesando entre (350- 400g). Esses animais receberam veículo ou 22,5 nmol ou 75 nmol de FLX.

Após o término do tratamento, foi respeitado um período de sete dias sem que houvesse nenhum procedimento com esses animais; depois disso, foram utilizados no experimento com Norfenfluramina.

### Experimento 9 – Protocolo MS-SCS: efeitos das injeções ICV de norfenfluramina (NOR)

Ainda com o intuito de se verificar o efeito farmacológico de drogas serotoninérgicas hipofagiantes, testou-se a Norfenfluramina, que, além de ser um inibidor da recaptção de 5-HT, tem seu efeito descrito na literatura como sendo um liberador de 5-HT e agonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub> (CLAUSING et al., 1996; VICKERS et al., 2001). Para isso, utilizaram-se os mesmos seis pombos usados no Experimento 8. Todos os animais receberam as doses de veículo ou 30 nmol ou 60 nmol de NOR.

### Experimento 10 – Protocolo MS-SCS: efeitos das injeções ICV de m-CPP

Foi testado também o fármaco m-CPP um agonista de receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> (CASTRO et al., 2002). Para esse experimento, foi utilizado um grupo de pombos composto por seis animais, pesando entre 350 e 420 g. Todos os animais receberam doses de veículo ou 3,9 nmol ou 13 nmol de m-CPP.

### Experimento 11 – Protocolo MS-SCS: efeitos das injeções ICV de metergolina (MET)

Por fim, testou-se a metergolina, um antagonista não seletivo dos receptores de 5-HT (SILVA et al., 2007). Para isso, utilizaram-se os mesmos seis pombos usados no Experimento 10. Todos os animais receberam as doses de veículo, ou 150 nmol ou 300 nmol de metergolina.

## 3.9 Análises estatísticas dos dados e apresentação gráfica

No Experimento 1, o consumo de alimentos e de água bem como os dados comportamentais foram analisados por uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas, tomando como fatores as condições nutricionais e os diferentes períodos (1º e 2º hora de filmagem) com medidas repetidas (usando o programa Statistica 8.0, Statsoft, Tulsa, Oklahoma), seguido por teste *post hoc* de Duncan, quando a análise

ANOVA mostrava diferença significativa. Já nos demais experimentos, o consumo total de ração e de água foi analisado por uma ANOVA de uma via, seguido por teste *post hoc* de Duncan, quando apropriado.

Os demais índices avaliados em todos os experimentos foram analisados com uma ANOVA não paramétrica (Kruskal-Wallis), seguidos pelo teste *post hoc* de Mann-Whitney, quando a ANOVA não paramétrica indicava diferença significante entre os grupos. Isso porque esses índices avaliados não demonstram distribuição Gaussiana significativa (como indicado pelo teste de Shapiro-Wilks de normalidade da distribuição da amostra).

Para representar graficamente as alterações comportamentais de cada grupo experimental, foi utilizada a mediana dos comportamentos de comer, beber, autolimpeza e sono (demais comportamentos foram removidos por uma questão de clareza). Do mesmo modo, no interesse da clareza, foi utilizada uma estimativa dos mínimos quadrados (distância ponderada dos mínimos quadrados de montagem) para cada curva traçada nesses gráficos. As curvas foram calculadas utilizando-se parâmetro de rigidez igual a zero e regressão polinomial de 2 ordem.





## 4 RESULTADOS

### 4.1 Desencadeando a SCS – Respostas ingestivas e comportamentais após a privação de alimento por 24 horas e apresentação de um alimento palatável

A ingestão de alimentos aumentou significativamente após a apresentação da MS e RC em animais com alimentação livre (RC+MS), bem como nos pombos submetidos a 24 horas de privação alimentar (J24+MS; efeito do estado nutricional  $F(2,30) = 8,53$ ,  $p = 0,001$ , efeito do tempo após a apresentação do alimento  $F(1,30) = 72,61$ ,  $p < 10^{-6}$ ; interação  $F(2,30) = 17,37$ ,  $p < 10^{-6}$  (Figura 6 A). A ingestão total de alimentos aumentou na primeira hora, e depois foi similar ao controle RC em ambas as situações.

Nessas mesmas condições, a ingestão da mistura de sementes na primeira e na segunda hora foi maior que a de RC (Tabela 3). A ingestão de alimentos após J24h também foi maior do que o observado após RC+MS. Não houve diferença no consumo de água após os diferentes estados nutricionais nas diferentes horas de filmagem (Figura 6 B).

Foi significativa a diferença na duração de comer entre os estados nutricionais; porém, não significantes entre as horas filmadas:  $F(1,30) = 12,44$ ,  $p = 0,001$ , interações  $F(2,30) = 5,32$ ,  $p = 0,01$  e a duração de beber [estado nutricional: (NS); horas filmadas:  $F(1,30) = 10,25$ ,  $p < 0,003$ ; interações:  $F(2,30) = 3,29$ ,  $p = 0,05$ ]. No RC+MS e J24 + MS, comer e o beber foram mais elevados que os animais RC, tanto na primeira como na segunda hora (Figura 6 C, D). Duração do sono [Estado nutricional:  $F(2,30) = 4,61$ ,  $p = 0,01$ ; Hora filmada:  $F(1,30) = 7,55$ ,  $p < 0,01$ ; interações (NS)] aumento nos animais de J24+MS na segunda hora (comparado com animais controle RC), enquanto a autolimpeza, a exploração/locomoção e o parado de alerta não tiveram alteração significativa (Figura 5 E-H; Tabela 3). Teste de Pearsons indicou uma forte correlação entre o total de comer e a duração de sono ( $r^2 = 0,72$ , na primeira hora após a apresentação da ração em animais J24 + MS).

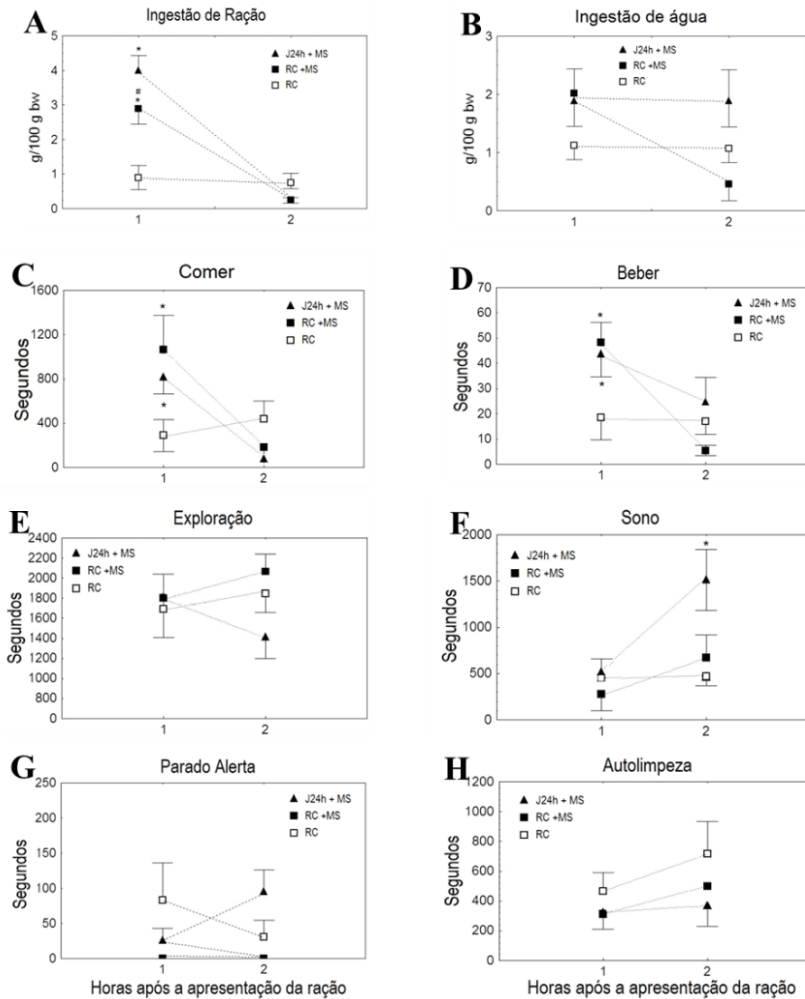


Figura 6 – Ingestão de ração e água (A,B), duração (C-H) dos comportamentos ingestivos e não ingestivos em animais *ad libitum* para comer e beber (RC), em animais *ad libitum* com apresentação da mistura de sementes (RC+MS) e em animais privados de alimento por 24 horas, com apresentação da mistura de sementes mais a ração comum (J24h+MS). Dados são expressos em média  $\pm$  EPM. (\*)  $p < 0,05$  comparado com os dados da 1ª hora de registro na condição RC. (#)  $p < 0,05$ , comparado com os resultados na condição RC+MS

TABELA 3 – Desencadeando a SCS: Respostas comportamentais, apresentação da mistura de sementes. # valores da latência, do tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecção são expressos em valores da mediana + quartis; já o valores da ingestão de água e comida e as durações dos comportamentos são expressos em média ± EPM. (\*) P<0,05, comparado com os dados da 1ª hora de (RC)

	Free-feeding (FF) (n=6)	FF + Mistura de Sementes (n=6)	24-h de jejum (n=6)
<b>Consumo de ração comum</b> (g/100g pc)			
1ª hora	0,89 ± 0,34	0,37± 0,59	1,41 ± 1,51
2ª hora	0,75± 0,45	0,07± 0,12	0,06 ± 0,09
<b>Consumo de ração palatável</b> (g/100g pc)		2,51 ± 1,30*	2,58 ± 1,22*
1ª hora		0,17 ± 0,20	0,18 ± 0,17
2ª hora			
<b>Ingestão de ração</b> (g/100g pc)			
1ª hora	0,89 ± 0,34	2,88±1,08 *	3,99 ±1,17 *
2ª hora	0,75±0,45	0,23±0,20	0,23 ± 0,19
<b>Comer</b> (duração)			
1ª hora	292,44 ±142,53	1064±75 *	818 ± 349 *
2ª hora	436,00± 369,69	118±23 *	50 ± 65
Latência (s) #	2321 (529, 2710)	185 (144, 221) *	56,22 (39,43, 61,64) *
Tempo do pico (bins)	12,5 (12,0, 3,0)	2,5 (3,0, 2,0) *	2 (1, 3) *
<b>Ingestão de água</b> (ml/100g pc)			
1ª hora	1,11± 0,32	2,01 ± 1,31	1,89 ± 1,05
2ª hora	1,06±1,08	0,46 ± 0,37	1,80 ± 1,00
<b>Beber</b> (duração)			
1ª hora	25,56± 8,46	48,31 ± 21,75	43,74 ± 24,99
2ª hora	17,05±13,59	5,48 ± 5,05	24,66 ± 24,02
Latência (s)	863 (442, 2053)	1387(881, 2306)	822 (580, 3065)
Tempo do pico (bins)	8,50 (3,00, 9,00)	8,0 (4,0, 12,0)	5 (4, 6)
<b>Autolimpeza</b> (duração)			
1ª hora	758 ± 219	311 ± 223	608 ± 772
2ª hora	715 ± 534	496,66 ± 369,43	374 ± 359
Latência (s)	304 (143, 529)	251,6 (98,4,694,4)	986 (863, 1025) *
Tempo do pico (bins)	4 (4, 8)	13 (12, 14) *	9,5 (7,0, 12,0) *
<b>Sono</b> (duração)			
1ª hora	516 ±125	276 ± 441	520 ± 405
2ª hora	470 ± 247	669 ± 599	1512 ± 807
Latência (s)	870 (184, 1281)	2880 (2533, 4560) *	1854 (1263, 2131) *
Tempo do pico (bins)	7,0 (6,0, 9,0)	19,5 (16,0, 22,0) *	10 (7, 14) *

<b>Exploração</b> (duração)			
1ª hora	1908±166	1783 ± 513	1733 ± 408
2ª hora	1845±463	2062 ± 432	1415 ± 531
<b>Parado alerta</b> (duração)	81.98 ± 53.33	0,0	26.09 ± 41.99
1ª hora	30.99 ± 57.93	0,0	95.22 ± 75.76
2ª hora			
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	-4.0 (-12.0, -2.0)	2.5 (2.0 , 8.0) *	2.5 (1.0, 4.0) *
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	-7.5 (-8, -5)	11 (9, 12) *	6.5 (5 ,10) *
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	-6,5 (-7.0, -4.0)	17 (7, 19) *	8.5 (6, 11) *
<b>Intersecção Comer/Beber</b> (bins)	4 (2 , 9)	4 (4, 10)	4 (3 , 4)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza</b> (bins)	1.5 (1, 3)	6.5 (5, 13) *	8.5 (7, 9) *
<b>Intersecção Comer/Sono</b> (bins)	4 (1, 6)	12 (11,16) *	9.5 (7 , 14) *

A latência para o início do comer [teste de Kruskal-Wallis;  $H(2,18)=14,76$ ,  $p=0,0006$ ], autolimpeza [ $H(2,18)= 5,49$ ,  $p=0,05$ ] e sono [ $H(2,18)=11,28$ ,  $p=0,003$ ] foi afetada pelo estado nutricional enquanto a de beber permaneceu inalterada (Figura 7A; Tabela 3). O comer teve início mais cedo no regime RC + MSe no J24+MS do que nos animais controle (RC). A latência para o primeiro episódio de autolimpeza foi aumentada no J24+MS, e a latência para o primeiro episódio de sono ocorreu mais cedo em relação aos animais que estavam sob o regime RC+MS e RC. Não houve diferença significativa entre a latência de comer, beber, autolimpeza e sono entre os animais RC, enquanto o comer ocorreu significativamente antes do beber e do sono nos animais em RC+MS [ $H(3,24)=14,85$ ,  $p=0,002$ ] e mais cedo do que o beber, autolimpeza e sono nos animais J24+MS [ $H(3,24)=13.83$ ,  $p=0.003$ ] (Figura 7A; Tabela 3).

O tempo para atingir o pico de comer [ $H(2,18)=12,12$ ,  $p=0,002$ ], autolimpeza [ $H(2,18)=10,21$ ,  $p=0,006$ ] e sono [ $H(2,18)=9,18$ ,  $p=0,01$ ], após apresentação das rações igualmente foi alterado nos diferentes estados nutricionais (Figura 7B; Tabela 3). O tempo para se atingir o pico de comer diminuiu e, para a autolimpeza, aumentou. Já para o sono, houve um aumento significativo em todos os regimes quando comparado com o animal RC; enquanto o beber atingiu seu máximo em tempos similares em todas as condições. Em comparação com os dados dos animais submetidos a regime de RC+MS, os animais de J24+MS aumentaram significativamente o tempo para atingir o pico da autolimpeza e diminuiu a latência para o sono. Os picos de beber, autolimpeza e sono ocorreram significativamente mais tarde do que o pico de comer em RC+MS [ $H(3,24)=13,36$ ,  $p=0,004$ ] e J24+MS [ $H(3,24)=13,58$ ,  $p=0,003$ ], e os picos de autolimpeza e sono apareceram significativamente depois do pico de beber em ambas as situações (Figura 7B; Tabela 3).

Apesar das diferenças significativas na latência e no tempo para o pico de comer, a intersecção entre esse comportamento e o beber não foi alterada pelas diferentes condições experimentais (Figura 7C; Tabela 3). No entanto, as intersecções do comer/autolimpeza [ $H(2,18)=8,98$ ,  $p=0,01$ ] e a intersecção de comer/sono [ $H(2,18)=11,20$ ,  $p=0,003$ ] foram significativamente adiadas nas situações RC+MS e J24+MS, quando comparadas com animais sob regime RC (Figura 6C; Tabela 3); intersecções entre o comer e o beber acometeu significativamente mais cedo do que comer e sono em animais RC+MS e J24+MS, mas não nos animais RC. O intervalo entre os picos de comer e beber [ $H(2,18)=6,82$ ,  $p=0,03$ ], comer e autolimpeza [ $H(2,18)=12,25$ ,  $p=0,002$ ] e entre o comer e o sono [ $H(2,18)=11,93$ ,  $p=0,002$ ], foram todos negativos e similares aos animais RC, e foram significativamente alterados nas situações RC+MS e J24+MS.

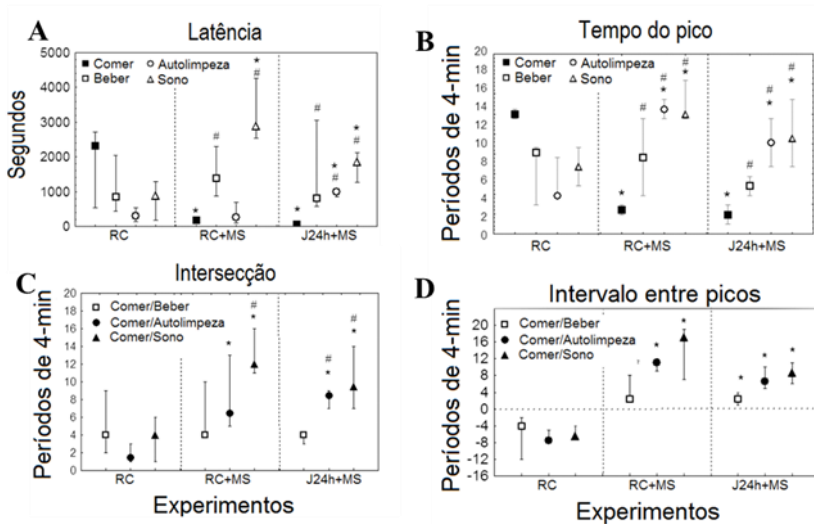


Figura 7 – Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos e não ingestivos nas condições *ad libitum* para comer e beber (RC), *ad libitum* mais a apresentação da mistura de sementes (RC+MS) e privação de alimento por 24 horas com apresentação da mistura de semente mais ração comum (J24h+MS). Dados expressos em mediana + percentil (25, 75%). (\*) $p < 0,005$  comparados com a condição (RC). (#) $p < 0,05$ , na comparação dos comportamentos dentro da mesma condição experimental

Em resumo, os dados demonstram que pombos apresentados a estímulos de consumo (uma mistura de sementes palatável ou o jejum prolongado seguido da apresentação da mistura de sementes) apresentam uma sequência comportamental de saciedade bem

caracterizada de duas horas de avaliação, como e possível observar na Figura 8.

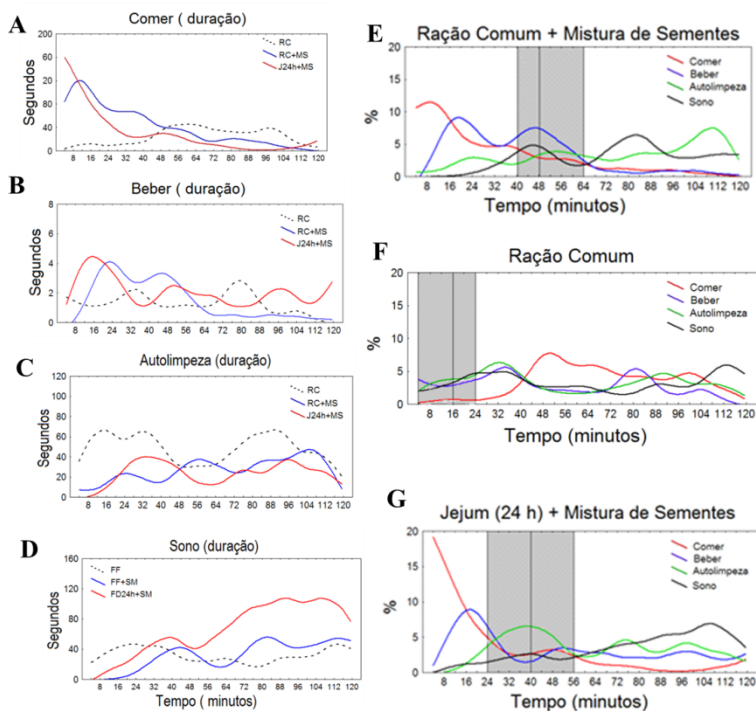


Figura 8 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados por 2horas após a apresentação da ração. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados e as áreas escuras nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

4.2 Apresentação da ração palatável: um protocolo capaz de desencadear a SCS em pombos

#### 4.2.1 Experimento 2 – Protocolo MS-SCS: descrição e efeitos relativos ao sexo do animal sobre a expressão da SCS no protocolo proposto

Não houve diferenças significativas entre os sexos quanto à ingestão de alimentos e água ou no perfil expresso da SCS, exceto para o tempo de intersecção entre as curvas de comer e do sono que ocorreu num período significativamente menor nos machos do que nas fêmeas [ $F(1,10) = 6,27, p = 0,03$ ] (Tabela 4, Figura 1 do apêndice).

Salvaguardados de que o sexo do animal não traz diferença nas quantidades ingeridas e na expressão da SCS, realizaram-se os demais experimentos sem preocupação de manter em números iguais de machos e fêmeas dentro de cada grupo experimental.

Tabela 4 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do gênero. # Valores da latência, IPs e intersecções são expressos em valores da mediana (menor quartil, maior quartil); já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  SEM

	<b>Machos (n=7)</b>	<b>Fêmeas (n=5)</b>
<b>Ingestão de alimentos</b> (g/100 g pc)	4.51 $\pm$ 0.30	4.65 $\pm$ 0.20
<b>Comer</b> (duração)	1742 $\pm$ 308	2384 $\pm$ 339
Latência (s) #	36 (20,88)	27 (14, 50)
Tempo do pico (bins)	2 (2,3)	2 (2,2)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2.44 $\pm$ 0,18	2.78 $\pm$ 0,44
<b>Beber</b> (duração)	81 $\pm$ 24	81 $\pm$ 19
Latência (s)	1478(653, 2513)	1129(638,1470)
Tempo do pico (bins)	8 (4,13)	8 (3,10)
<b>Autolimpeza</b> (duração)	290.22 $\pm$ 79,02	590.03 $\pm$ 168.80
Latência (s)	1550(408, 1806)	590 (519, 797)
Tempo do pico (bins)	12 (11,15)	14 (11,15)
<b>Sono</b> (duração)	1126 $\pm$ 223	709.91 $\pm$ 88.75
Latência (s)	1132(820,1711)	3781(2975,4440)
Time to peak (bins)	13 (8,21)	17 (15,20)
<b>Exploração</b> (duração)	1732 $\pm$ 260	1418 $\pm$ 282



<b>Parado Alerta</b> (duração)	448,2 ±142,0	308,3 ±107,1
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	5 (1,12)	6 (2,8)
<b>IPI</b>	10 (9,13)	10 (9,14)
<b>Comer/autolimpeza</b> (bins)		
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	11 (7,18)	16 (13,18)
<b>Intersecção Comer/Beber</b> (bins)	7 (3,11)	4 (3,7)
<b>Intersecção</b>		
<b>Comer/Autolimpeza</b> (bins)	11 (7, 13)	11 (9,12)
<b>Intersecção</b>	9 (5,13)*	16 (16,19)
<b>Comer/Sono</b> (bins)		

#### 4.2.2 Experimento 3 – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos da exposição repetida ao protocolo e à ausência de água ou ração durante o experimento

O perfil da SCS, no primeiro ensaio do protocolo MS-SCS (sete dias após a terceira das três apresentações ao protocolo MS-SCS, que ocorreu durante o período de adaptação ao laboratório), e nas duas outras reexposições, é demonstrado na Figura 9. A média de ingestão de alimentos no citado protocolo é de  $4,57 \pm 0,18$  g em 84 minutos; resultado que é comparável com dados obtidos após privação de alimento por 24 horas ( $4,22 \pm 1,04$ g em 120 min) e maior do que o observado quando apresentado à MS a animais com ração comum *ad libitum*, sem o período de ausência de água e comida – Experimento 1 ( $3,11 \pm 0,68$ g em 120 min). Isso sugere que o período de 1 hora sem água e comida é importante para que haja um maior controle sobre a quantidade ingerida pelo animal.

As exposições repetidas com um intervalo de sete dias revelaram uma redução no consumo total de ração na terceira apresentação [ $F(2,15) = 7,87$ ,  $p = 0,004$ ] em comparação com as outras exposições (Tabela 5). No entanto, a duração e os outros escores comportamentais relacionados à alimentação não foram afetados (Figura 10). A duração de beber diminuiu nas duas últimas apresentações [ $F(2,15) = 3,92$ ,  $p = 0,04$ ], mas o consumo de água, assim como os demais índices comportamentais, foi semelhante em todas as apresentações. Na terceira exposição, o intervalo interpico [ $F(2,15) = 18,3$ ,  $p < 0,001$ ] e a intersecção entre as curvas de comer e autolimpeza [ $F(2,15) = 3,8$ ,  $p = 0,04$ ] foi significativamente aumentada, mas os outros escores comportamentais se mantiveram inalterados (Tabela 5).

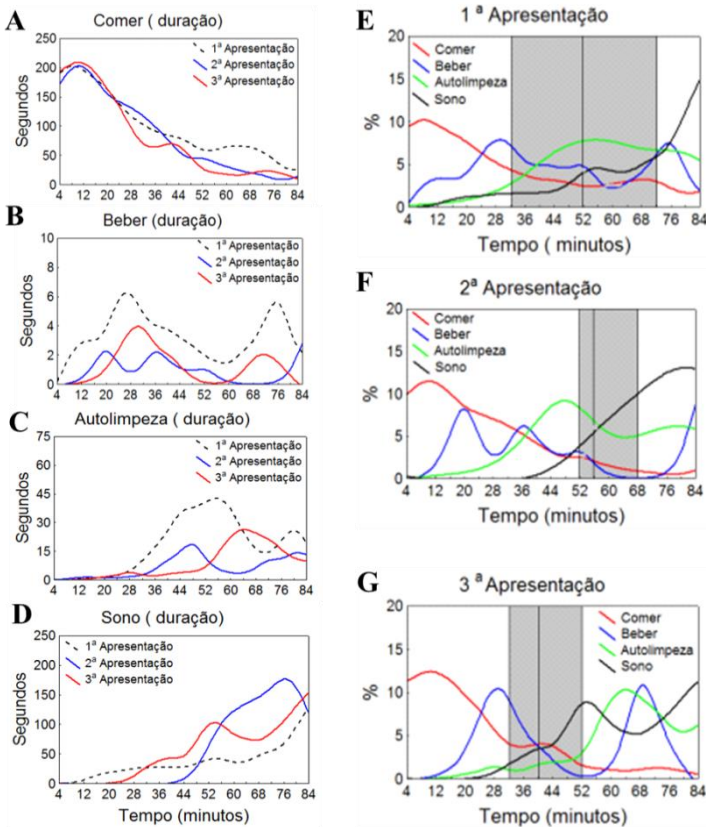


Figura 9 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados por 84 minutos após a apresentação da ração. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha e uma

representação dos mínimos quadrado e as áreas escuras nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

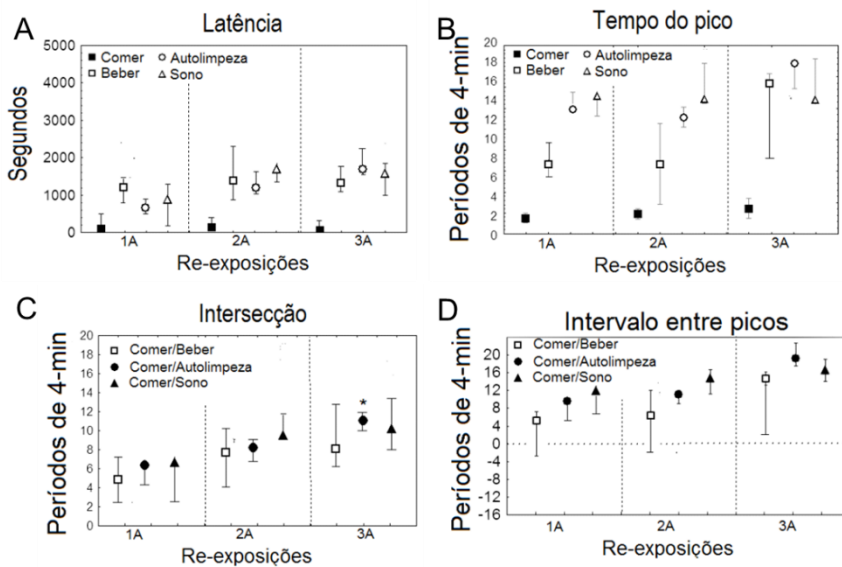


Figura 10 – Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos e não ingestivos na primeira apresentação (1 A), na segunda (2 A) e na terceira (3 A) apresentação ao protocolo. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75%). (\*) $p < 0,005$  comparado com a condição 1 A. (#) $p < 0,05$ , na comparação dos comportamentos dentro da mesma condição experimental

O consumo total de ração aumentou significativamente na ausência de água [ $F(1,9)=8,857, P = 0,015$  ], em comparação com animais submetidos ao modelo MS-SCS. Entretanto, a duração e os demais escores comportamentais relacionados ao consumo de ração não foram afetados, exceto a intersecção da curva de comer com a do sono,

que foi significativamente menor do que a dos que tinham água e ração durante o experimento [ $H(1,11)= 1,216, P=0,03$ ]. A duração e os demais escores dos comportamentos de autolimpeza e sono não foram afetados (Tabela 5). Já a ausência de ração afetou o consumo [ $F(1,9)= 26,806, P= 0,0005$ ] e a duração de beber [ $F(1,9)= 7,403, P=0,02$ ], sugerindo uma relação direta entre o consumo de ração e água. Os demais escores relacionados ao beber não foram alterados. A redução na duração de beber foi seguida por um aumento na duração da exploração [ $F(1,9)=5,372, P= 0,04$ ], da autolimpeza [ $F(1,9)=11,001, P=0,008$ ] e do parado alerta [ $F(1,9)=9,713, P= 0,01$ ], em comparação com os animais submetidos ao protocolo MS-SCS. A duração do sono não foi afetada (Tabela 5)

A latência para o primeiro episódio de autolimpeza [ $H(1,N=11)=7,500, P= 0,006$ ] e sono [ $H(1,N=11)=4,800, P=0,02$ ] foi afetada pela ausência de ração, enquanto a de beber não foi afetada (Tabela 5, Figura 2 apêndice) A autolimpeza e sono ocorreram mais cedo do que em animais expostos ao MS-SCS. Apesar da diminuição da latência desses comportamentos, o intervalo entre os picos de beber e autolimpeza e beber e sono não foram afetados; assim como não o foi a intersecção da curva desses comportamentos.

Em síntese, os dados mostram que este é um protocolo estável em relação à sua repetição e em relação ao gênero do animal, o que faz com que o experimentador não precise ter dentro do grupo o mesmo número de machos e fêmeas. Esse fato facilita para o experimentador em virtude do baixo dimorfismo sexual na espécie em foco. Os dados também indicam que a organização da SCS é dependente do comer; na sua ausência, há toda uma desorganização dessas sequências. Isso fica melhor demonstrado na Figura 11.

TABELA 5 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos da exposição repetida e da avaliação nutricional. # valores da latência, do tempo para o pico (P), do intervalo entre os picos (IP) e das intersecções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água e as durações são expressos em valores da média ± EPM

	1ª apresentação (n=12)	2ª Apresentação (n=6)	3ª Apresentação (n=6)	Ausência de comida (n=5)	Ausência de água (n=5)
<b>Ingestão de alimentos</b> (g/100 g pc)	4.57 ± 0.18	4.76 ± 0.50	3.65 ± 0.64*	-	4.59 ± 0.33*
<b>Comer</b> (duração)	2009 ± 238	1708 ± 475	1601 ± 335	-	1488 ± 273
<b>Latência (s) #</b>	31(17,81)	44 (15,87)	51 (13,73)	-	21 (7, 49)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	2 (2, 3)	2 (2,3)	3 (2, 3)	-	2 (2, 2)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2.59 ± 0.21	2.80 ± 0.76	1.85 ± 0.73	0.14 ± 0.03*	-
<b>Beber</b> (duração)	81 ± 15	35.11 ± 11.22*	35.88 ± 18.97	10.64 ± 8.82*	-
<b>Latência (s)</b>	1248 (646, 1896)	1708 (1022, 5102)	1342 (941, 1709)	2475 (187, 255)	-
<b>Tempo do pico (bins)</b>	8.0 (3.5, 12)	7 (4, 22)	17 (8, 22)	15 (11, 16)	-
<b>Autolimpeza</b> (duração)	415 ± 91	188.55 ± 95.12	229.16 ± 97.81	1061 ± 611*	352.68 ± 92.89*
<b>Latência (s)</b>	943 (466, 1734)	1343 (922, 2803)	1989 (1152, 2436)	339(292, 367)*	2423(2371, 2501)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	13 (11, 15)	12 (10, 12)	19 (17, 21)	7 (4, 21)	17 (17, 19)
<b>Sono</b> (duração)	953.01 ± 144.75	1510 ± 505	1675 ± 981	1038 ± 769	980.40 ± 984.75
<b>Latência (s)</b>	2948 (1744, 4500)	2936 (2631, 3892)	2290 (1668, 2916)	139(124, 1058)*	2284(1763, 2603)
<b>Time to peak (bins)</b>	16 (11, 20)	14(14,19)	18 (13, 20)	12 (11, 13)	22 (19, 22)
<b>Exploração</b> (duração)	1601 ± 189	1635 ± 338	1673 ± 636	2784 ± 950*	2471 ± 818
<b>Parado Alerta</b> (duração)	389.96 ± 92.67	322.11 ± 178.68	270.82 ± 152.34	586.61* ± 184.36	289.64 ± 188.89
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	5.5(1.5, 10.5)	5 (2, 20)	14 (7, 19)	-	-
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	10.0 (9.0, 13.5)	9 (8, 9)	16.5(15.5, 18.5)*	-	16 (15, 17)
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	14 (9, 18)	12.50(11.50, 16.50)	15 (10, 16)	-	19 (17, 20)*
<b>Intersecção Comer/Beber</b> (bins)	6.50 (3.00, 9.00)	9 (5, 12)	8 (6, 13)	-	-
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza</b> (bins)	11.0 (8.5, 12.5)	11 (9, 12)	14.5 (14, 15)*	-	12 (12, 13)
<b>Intersecção Comer/Sono</b> (bins)	13 (8, 17.5)	13 (13, 14)	10 (8, 13)	-	10 (9, 12)

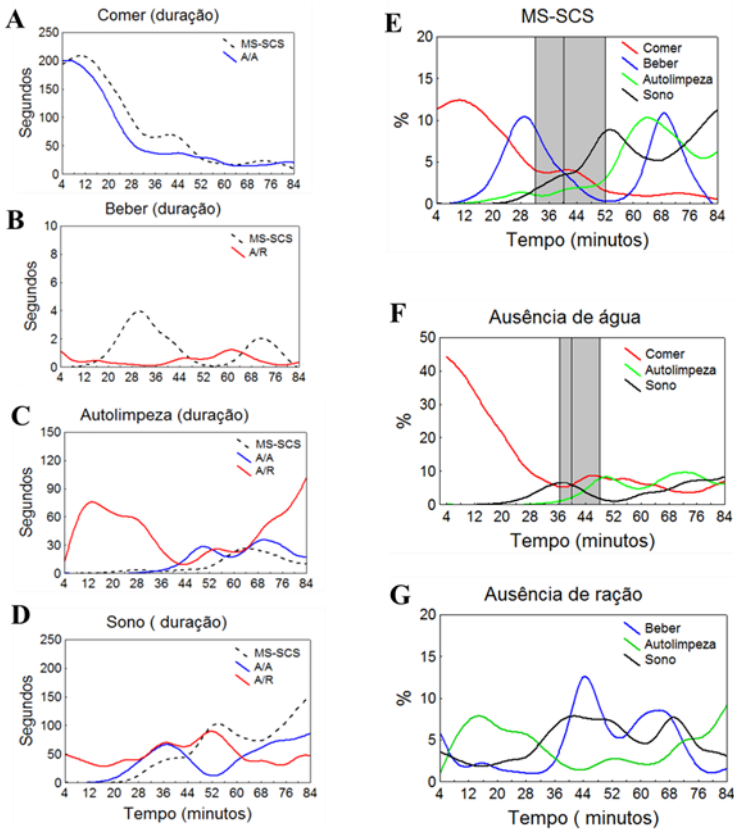


Figura 11 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação da água e da ração comum + mistura de sementes (MS-SCS), ou somente as rações (A/A), ou somente apresentação da água (A/R). (A-D) durações cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber, autolimpeza e sono, dentro de cada condição experimental. Cada linha e uma representação dos mínimos quadrado e a área escura nas figuras (E, F) representa a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.2.3 Experimento 4 – Protocolo MS-SCS: efeitos de alterações na palatabilidade dos alimentos: adulteração da mistura de sementes com quinino

A adulteração da mistura de sementes com quinino 1% afetou o consumo total de ração [F (2,15)= 13,625, P=0,008] e a duração [F (2,15)= 28,157, P=0,008] quando comparado com animais que receberam a mistura de sementes não adulterada (Tabela 6). Apesar dessa redução, o consumo de mistura de sementes adulterada [F (2,15)= 13,625, P=0,04] e a duração [F (2,15)= 28,157, P=0,0006] foram maior do que com os animais que só receberam ração comum. Esse fato demonstra a preferência dos animais pela mistura de sementes relativamente à ração comum, como foi mostrado pelo Experimento 1 (Tabela 3). Os demais escores comportamentais relacionados ao consumo de ração não foram afetados.

A alteração da palatabilidade da mistura de sementes pelo quinino afetou o beber, determinando uma redução no consumo [F(2,15)= 3,397, P=0,03], quando comparado com os animais que somente receberam a ração comum. A duração e os demais escores comportamentais relacionados ao beber não foram afetados (Tabela 6)

Em relação aos demais comportamentos (autolimpeza e sono), a adulteração da mistura de sementes afetou a duração da autolimpeza [F(2,15)= 7,815, P=0,002], que foi reduzida quando comparada com animais que receberam somente ração comum; e a duração que foi menor em relação do que os animais que receberam somente a mistura de sementes [F(2,15)=5,569, P=0,008], mas igual aos animais que receberam ração comum. A intersecção entre as curvas de comer e autolimpeza [H(2,18)=7,990, P=0,004] foi postergada em relação ao animais que só receberam ração comum. Os demais escores de ambos os comportamentos não foram alterados (Tabela 6, Figura 3 apêndice).

Importante ressaltar que a apresentação da ração comum também provoca aumento de ingestão, embora menor que a da MS. No entanto, esse pequeno acréscimo no consumo já é suficiente para desencadear uma SCS nítida dentro do 84 minutos avaliados (Figura 12).

Em resumo, a simples remoção da comida e da água por uma hora faz com que haja um aumento no consumo, seja da ração comum, MS ou da MS adulterada com quinino. Conquanto esse aumento no consumo nos animais que receberam ração adulterada seja menor em relação à apresentação da MS, é o suficiente para desencadear a SCS.

Tabela 6 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos da adulteração da mistura de sementes com quinino. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	Ração Comum (n=6)	Mistura de Sementes (n=6)	Mistura de Sementes, adulterada (n=6)
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g pc)	2.27 $\pm$ 0.44	6.05 $\pm$ 1.88*	3.84 $\pm$ 1.04*
<b>Comer (duração)</b>	490 $\pm$ 218	1769 $\pm$ 261*	1244 $\pm$ 362*
<b>Latência (s) #</b>	17 (8, 21)	2 (0,13)	8 (6, 9)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	1 (1,17)	1 (1, 1)	2 (1,3)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2.87 $\pm$ 0.86	2.64 $\pm$ 1.19	1.61 $\pm$ 0.49*
<b>Beber (duração)</b>	58.61 $\pm$ 13.10	50.82 $\pm$ 53.38	47.32 $\pm$ 22.46
<b>Latência (s)</b>	263 (117, 596)	790 (462, 2453)	1115 (795, 1397)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	12 (7,18)	11 (4, 13)	5.5 (4.0, 13.0)
<b>Autolimpeza (duração)</b>	982.18 $\pm$ 475.38	460.77 $\pm$ 197.78*	297.95 $\pm$ 170.70*
<b>Latência (s)</b>	540 (440, 1348)	2042 (1947, 2810)	2221 (1264, 3891)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	18.5 (17.0, 22.0)	17 (15, 18)	15.5 (10.0, 21.0)
<b>Sono (duração)</b>	691.14 $\pm$ 597.11	295.14 $\pm$ 303.97	492.92 $\pm$ 538.11
<b>Latência (s)</b>	3137 (1070, 4289)	3876 (2448, 4869)	3441 (2178, 5400)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	17 (12, 19)	17.5 (16, 21)	12 (0, 14)
<b>Exploração (duração)</b>	2431 $\pm$ 787	2342 $\pm$ 614	2564 $\pm$ 898
<b>Parado alerta (duração)</b>	348.96 $\pm$ 179.29	165.08 $\pm$ 124.40	128.30 $\pm$ 114.95
<b>IPI Comer/Beber (bins)</b>	5.5 (1.0, 9.0)	10.0 (1.0, 12.0)	2.0 (2.0, 14.0)
<b>IPI Comer/Autolimpeza (bins)</b>	16.0 (3.0, 19.0)	14.5 (13.0, 17.0)	13.5 (5.0, 19.0)
<b>IPI Comer/Sono (bins)</b>	16.0 (13.0, 18.0)	8.5 (2.0, 18.0)	16.5 (10.0, 20.0)
<b>Intersecção Comer/Beber (bins)</b>	3.5 (3.0, 4.0)	9.0 (4.0, 11.0)	5.0 (4.0, 8.0)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza (bins)</b>	7.5 (6.0, 10.0)	14.5 (14.0, 16.0)*	11.5 (10.0, 17.0)
<b>Intersecção Comer/Sono (bins)</b>	11.5 (5.0, 14.0)	17.5 (16.0, 21.0)	9.5 (9.0, 13.0)



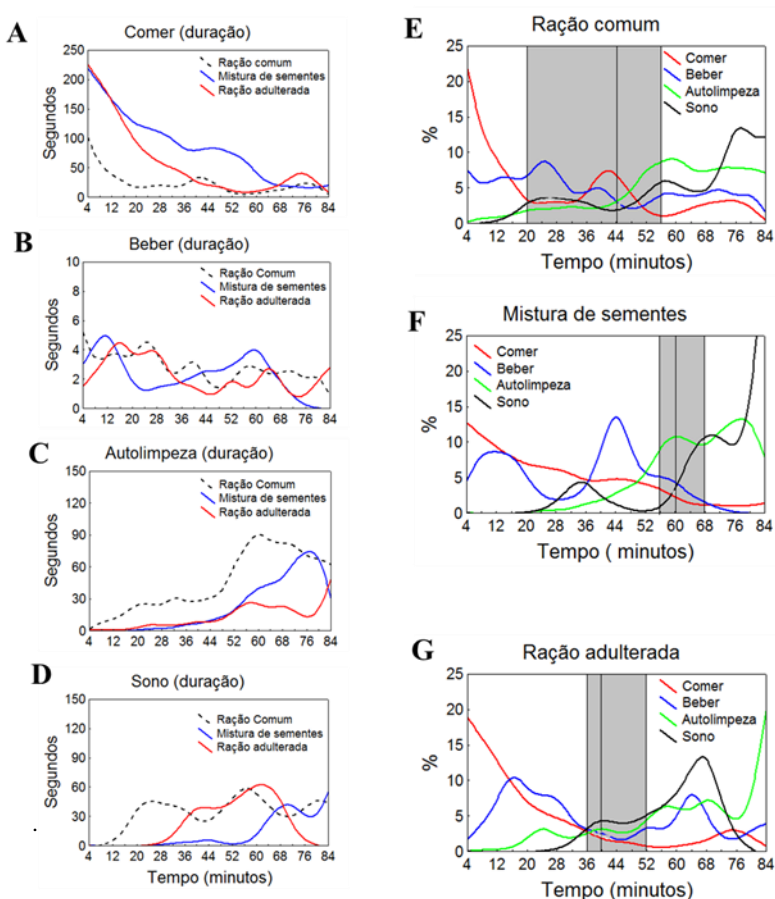


Figura 12 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação da ração comum, ou mistura de sementes ou mistura de sementes adulteradas com quinina. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber, autolimpeza e sono, dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrado, e a área escura nas figuras (E-G) representa a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.2.4 Experimento 5 – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de pré-cargas de ração palatável

A apresentação de uma pré-carga de mistura de sementes uma hora antes do início do protocolo MS-SCS afeta o consumo do animal durante a fase experimental. Existe uma correlação negativa entre o consumo da pré-carga pelo animal e o consumo total de ração na fase experimental [ $r^2 = -0,5262, p = 0,04$ ] (Figura 13). Contudo, essa correlação não se reflete sobre a duração de comer e dos demais comportamentos, beber, autolimpeza e sono (Tabela 7).

Os escores comportamentais relacionados à autolimpeza e sono não foram alterados pela apresentação da pré-carga. Já o intervalo entre o pico de comer e beber [ $H(3, 27) = 7,043, P = 0,02$ ], e o tempo para pico de beber [ $H(3, 27) = 7,549, P = 0,03$ ] foram postergados à medida que se aumentava a concentração da pré-carga (Tabela 7, Figura 4 apêndice).

Em resumo, a pré-alimentação reduziu proporcionalmente o consumo durante os experimentos. No entanto, mesmo com essa redução na ingestão durante o experimento, a quantidade ingerida foi suficiente para desencadear a SCS.

O perfil da SCS dos animais expostos ao protocolo MS-SCS, pré-carga 33%, pré-carga de 66% e pré-carga de 100% é demonstrado na Figura 14.

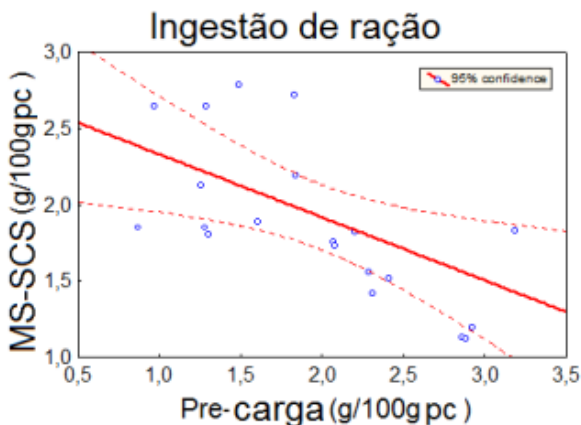


FIGURA 13 – Correlação entre o consumo da pré-carga e o consumo durante os 84 minutos do protocolo MS-SCS

TABELA 7 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos depré-cargas de ração palatável 1 hora antes do início do experimento. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	Pre-carga 0% (n=5)	Pre-carga 33% (n=5)	Pre-carga 66% (n=5)	Pre-carga 100% (n=5)
<b>Pre-carga (g)</b>		634 $\pm$ 201	1289 $\pm$ 402	1924 $\pm$ 609
<b>Consumo da pré-carga (g)</b>		580 $\pm$ 130	866 $\pm$ 262	1368 $\pm$ 525
<b>Consumo em 100 g de pc</b>		1,356	1,993	2,576
<b>Ingestão total de ração (g/100 gpc)</b>	3,65 $\pm$ 0,64	2,42 $\pm$ 0,36*	1,90 $\pm$ 0,42*	1,45 $\pm$ 0,32*
<b>Comer (duração)</b>	1601 $\pm$ 335	1470 $\pm$ 964	1229 $\pm$ 552	1915 $\pm$ 947
<b>Latência (s)</b>	51 (13,73)	72 (49,135)	53 (40,77)	43 (35,68)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	3 (2,3)	3 (2,4)	2 (1,2)	2 (2,3)
<b>Ingestão de água (ml/100 gpc)</b>	1,85 $\pm$ 0,73	2,81 $\pm$ 1,25	1,25 $\pm$ 0,67	2,26 $\pm$ 1,58
<b>Beber (duração)</b>	3588 $\pm$ 1897	4255 $\pm$ 2169	3539 $\pm$ 1856	6374 $\pm$ 5424
<b>Latência (s)</b>	1342 (941, 1709)	588 (342, 1485)	935 (713, 1389)	494 (335, 858)*
<b>Tempo do pico (bins)</b>	17 (8,22)	10 (5,13)	6 (5,8)*	8 (3,8)*
<b>Autolimpeza (duração)</b>	22916 $\pm$ 9781	56254 $\pm$ 50541	31561 $\pm$ 20995	26856 $\pm$ 12723
<b>Latência (s)</b>	1989 (1152, 2436)	985 (749, 2462)	1078 (531, 1552)	914 (818, 2142)*
<b>Tempo do pico (bins)</b>	19 (17,21)	19 (14,20)	15 (16,13)*	15 (11,22)
<b>Sono (duração)</b>	1675 $\pm$ 981	1111 $\pm$ 791	539 $\pm$ 392*	1515 $\pm$ 458
<b>Latência (s)</b>	2290 (1668, 2916)	2207 (1932, 4107)	2359 (1892, 3075)	1493 (1224, 2848)
<b>Tempo do pico (bins)</b>	18 (13,20)	19 (11,20)	11 (9,17)	13 (8,14)
<b>Exploração (duração)</b>	1673 $\pm$ 636	2263 $\pm$ 1360	2338 $\pm$ 1197	1960 $\pm$ 940
<b>Parado alerta (duração)</b>	270,82 $\pm$ 152,34	86,43 $\pm$ 147,44	711,57 $\pm$ 835,09	153,41 $\pm$ 405,90
<b>IPI Comer/Beber (bins)</b>	5,5 (1,5, 10,5)	7,0 (1,0, 11,0)	4,0 (3,0, 6,0)*	6,0 (1,0, 6,0) *
<b>IPI Comer/Autolimpeza (bins)</b>	10,0 (9,0, 13,5)	14,0 (5,0, 18,0)	13,0 (11,0, 14,0)*	13,0 (9,0, 20,0)
<b>IPI Comer/Sono (bins)</b>	14,0 (9,0, 18,0)	14,0 (6,0, 19,0)	8,0 (8,0, 16,0)	11,0 (6,0, 12,0)
<b>Intersecção Comer/Beber (bins)</b>	6,50 (3,00, 9,00)	5,0 (2,0, 7,0)	5,0 (4,0, 6,0)	3,0 (2,0, 8,0)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza (bins)</b>	11,0 (8,5, 12,5)	11,0 (6,0, 15,0)	8,0 (7,0, 11,0)	11,0 (9,0, 15,0)
<b>Intersecção Comer/Sono (bins)</b>	13 (8, 17,5)	13,0 (9,0, 18,0)	11,0 (8,0, 14,0)	8,0 (7,0, 13,0)

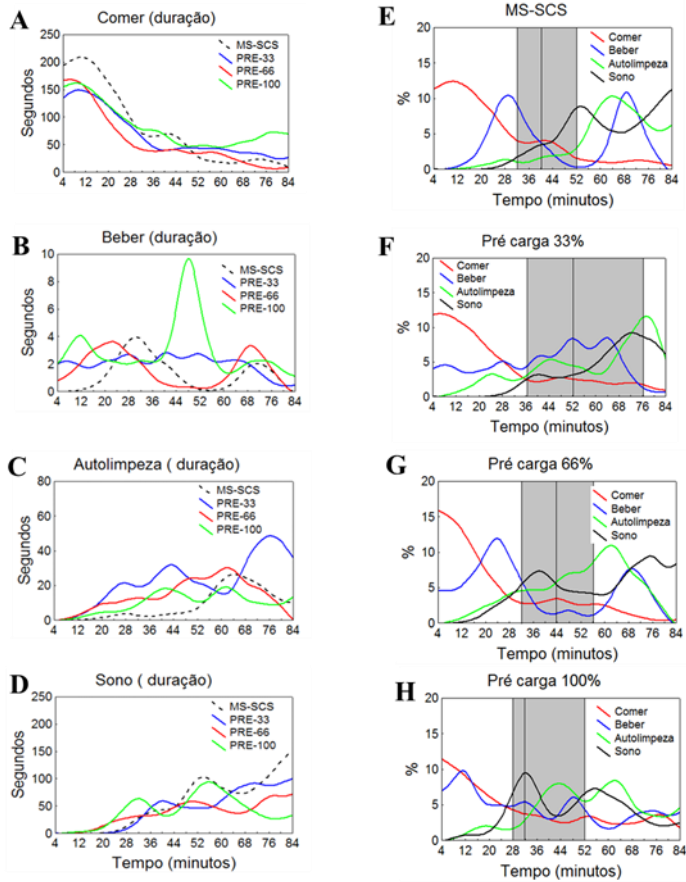


FIGURA 14 – (A-H) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação da ração em animais que receberam 0, ou 33, ou 66, ou 100 de pré-carga de ração palatável. (A-D) durações cada comportamento e (E-H) durações relativas de comer, beber autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação do mínimo quadrado, e a área escura nas figuras (E-H) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.3.1 Experimento 6 – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de injeções ICV de 5-HT

Logo no início dos registros, os animais que receberam doses 5-HT se diferenciavam nos seus comportamentos observados dos animais que receberam veículo. O comportamento predominante desses animais era o beber seguido de autolimpeza e sono. Esse comportamento de beber ocorria nos primeiros quinze minutos de observação; posteriormente, o animal passava por um período muito curto de autolimpeza, como se fosse uma fase de transição e, em seguida, entrava no sono. O sono iniciava em média aos trinta minutos e terminava aos setenta minutos de observação. Com o fim do sono, o animal despertava e ia comer intensamente.

As injeções de 5-HT afetaram de forma dose dependente o consumo total de ração [F (2,18)=20,652, P=0,00008], diminuindo o consumo quando comparado com os animais que receberam veículo. No entanto, a duração não foi afetada por nenhuma das doses (Tabela 8; Figura 15). Já o beber foi afetado somente pela dose de 150 nmol, tendo produzido um aumento drástico no consumo [F (2,18) = 40,745, P= 0,00075] da água quando comparado com animais que receberam veículo. Porém, a duração não foi afetada pelos tratamentos (Tabela 8). A duração da autolimpeza foi reduzida [F ( 2,18)= 4,075, P= 0,03] pelas injeções de 5-HT quando comparada com os animais que receberam veículo. Já a duração do sono não foi afetada (Tabela 8).

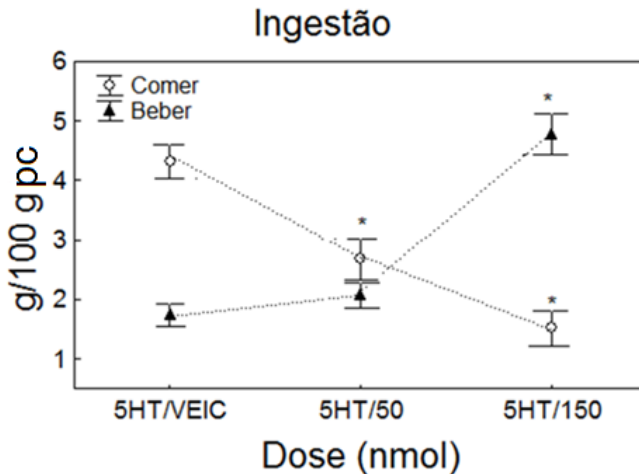


FIGURA 15 – Gráfico representando a ingestão total de ração e de água após o tratamento com veículo (ácido ascórbico), ou 50 nmol, ou 150 nmol de 5-HT. (\*)  $p < 0,05$  comparado com os animais tratados com veículo

A latência para o primeiro episódio de comer [H (2,21)=6,953,  $P = 0,01$ ] e para o beber [H (2,21)=8,066,  $P = 0,007$ ] foi afetada pelo tratamento com 5-HT. Já a latência para a autolimpeza e para o sono não foi afetada. O comportamento de comer foi postergado em animais tratados com 150nmol de 5-HT em relação aos animais tratados com veículo. A dose de 50 nmol não afetou a latência para comer. O comportamento de beber aconteceu antes tanto nos animais tratados tanto com 50 nmol como nos tratados com 150 nmol, quando comparados com os animais tratados com veículo (Tabela 8; Figura 16A).

O tempo para atingir o pico de comer [H(2,N=21)= 11,494,  $P = 0,007$ ] também foi afetado pelo tratamento com 5-HT. O tempo para atingir o pico dos demais comportamentos não foi afetado pelo tratamento. O tempo para atingir o pico de comer ocorreu mais tarde nos animais tratados tanto com 50 ou 150 nmol quanto nos animais tratados com veículo (Tabela 8; Figura 16A).

Assim como a duração, a latência e o tempo para atingir o pico de comer foram afetados pelo tratamento com 5-HT. A interseção entre o comer e o beber também foi afetada [ H (2,N=21)=

8,591,  $P=0,007$ ]. A intersecção entre o comer e o beber aconteceu mais cedo em animais tratados com 50 ou 150 nmol de 5-HT do que em animais tratados com veículo. A intersecção entre comer e o sono também foi afetada pelo tratamento com 5-HT [ $H(2, N=21)=4,798$ ,  $P=0,03$ ], ocorrendo mais cedo em animais tratados com 150 nmol de 5-HT do que nos animais tratados com veículo. Contudo, a dose de 50 nmol não afetou a intersecção entre comer e o sono (Tabela 8; Figura 15C). A intersecção entre o comer e a autolimpeza não foi afetada pelo tratamento. O intervalo entre os picos de comer e beber [ $H(2, N=21)=9,035$ ,  $P=0,004$  e comer e sono [ $H(2, N=21)=8,545$ ,  $P=0,006$ ] foram alterados pelo tratamento. O mesmo aconteceu num intervalo menor nos animais tratados com 50 ou 150 nmol de 5-HT do que nos animais tratados com veículo (Tabela 8; Figura 16D).

Em resumo, o tratamento com 5-HT faz com que o comer seja postergado para depois do sono e abrevia a SCS, fazendo com que os comportamentos aconteçam antes do que no controle.

O perfil da SCS dos animais após o tratamento com 5-HT é demonstrado na (Figura 17).

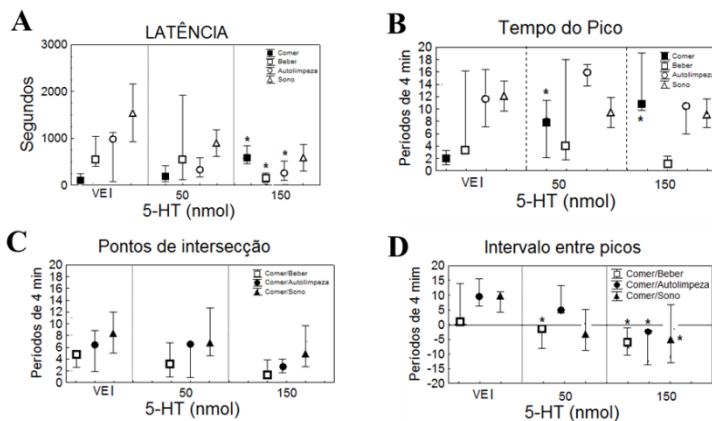


FIGURA 16 –Latência para o primeiro episódio de comer (A); tempo para o pico (B); ponto de intersecção (C); e intervalo entre picos (D); após o tratamento com ácido ascórbico, ou 50, ou 150 nmol de 5-HT. Dados são expressos em mediana mais quartis (\*)  $p<0,05$ , quando comparado com os animais que receberam veículo

TABELA 8 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do tratamento com 5-HT. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e interseções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média ± EPM

	<b>Veículo (n=7)</b>	<b>50 nmol (n=7)</b>	<b>150 nmol (n=7)</b>
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g pc)	4.32 ± 0,77	2.68 ± 0.91*	1.51 ± 0.77*
<b>Comer</b> (duração)	1809 ± 907	968 ± 475	1094 ± 827
Latência (s) #	102 (52, 255)	260 (143, 502)	494 (269, 524)*
Tempo do pico (bins)	2 (1,3)	8 ( 3, 16)*	12 (7,19)*
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	1.73 ± 0.51	2.07 ± 0.53	4.78 ± 0.93*
<b>Beber</b> (duração)	31.96 ± 15.60	29.35 ± 18.16	51.14 ± 31.77
Latência(s)	657 (504, 1178)	647 (191, 2092)*	128 (42, 253)*
Tempo do pico (bins)	3 (3,14)	3 (1, 15)	1 (1 , 2)
<b>Autolimpeza</b> (duração)	789.00 ± 190	487.70 ± 196.52*	504.46 ± 270.88*
Latência (s)	997 (41, 1142)	163 (42, 371)	239 (74, 506)
Tempo do pico (bins)	12 (8, 16)	18 (16, 19)	11 (7, 16)
<b>Sono</b> (duração)	1501.91 ± 763.91	1710.96 ± 733.53	2104.43 ± 668.88
Latência (s)	1424 (232,2065)	1148 (147, 1408)	477 (234, 701)
Tempo do pico (bins)	11 (7, 14)	8 (5, 13)	8 (5, 13)
<b>Exploração</b> (duração)	1464 ± 154	1715 ± 628	1535 ± 677
<b>Parado</b> <b>alerta</b> (duração)	174.73 ± 176.12	338.08 ± 314.89	227.84 ± 328.66
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	1 (0, 12)	-1 (-7, 0)*	-7 (-11, -3)*
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	9 (6, 14)	4 (3, 11)	-1(-11, 9)*
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	10 (5, 11)	-3 (-8, 4)*	-3 (-10, 7)*
<b>IntersecçãoComer/Beber</b> (bins)	5 (3, 5)	3 (1, 6)*	1 (1, 1)*
<b>IntersecçãoComer/Autolimpeza</b> (bins)	6 (2, 8)	6 (1, 6)	2 (1, 3)*
<b>IntersecçãoComer/Sono</b> (bins)	8 (5, 11)	6 (4, 11)	4 (2, 8)*



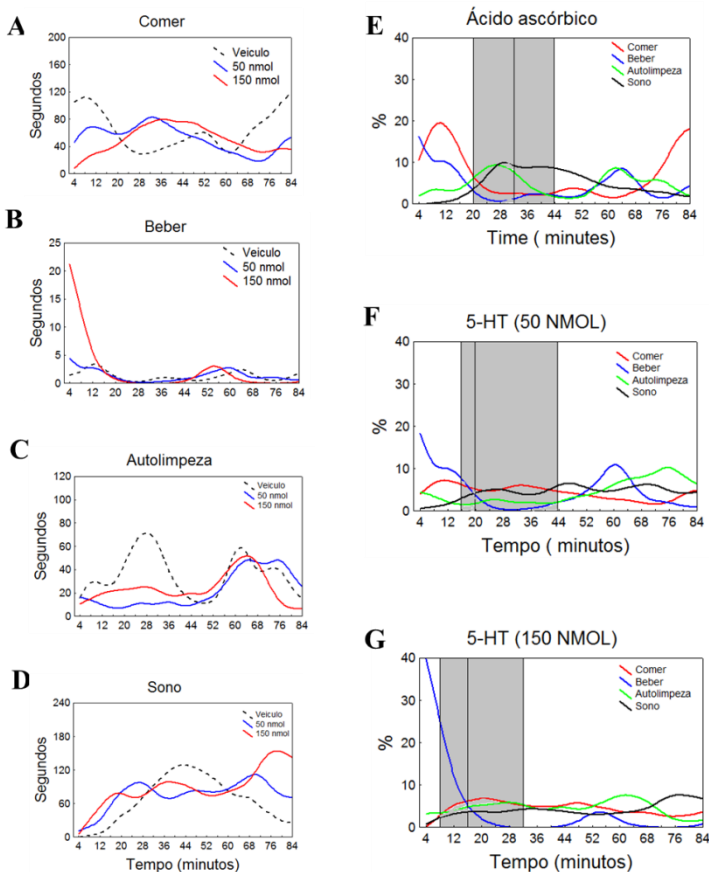


FIGURA 17 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação em animais tratados com ácido ascórbico, ou 50, ou 150 nmol de 5-HT. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados, e a área escura nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.3.2 Experimento 7 – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de injeções ICV de fluoxetina (FLX)

Os animais que foram tratados com fluoxetina permaneceram imóveis por alguns minutos, com postura que se assemelhava à postura de repouso. Passado esses minutos, eles se dirigiam diretamente ao bebedouro, bebendo uma quantidade de água superior a três vezes ao que os animais consomem quando tratados com veículo (Tabela 9). Após esse efeito dipsogênico, os animais voltavam à posição de repouso, permanecendo nessa posição até próximo do fim do experimento, quando despertavam e iam consumir a mistura de sementes.

Assim como as injeções ICV de 5-HT, as injeções de FLX – um inibidor da recaptção de 5-HT – afetaram tanto a ingestão de ração como a de água. A ingestão de ração foi reduzida de forma dose dependente [ $F(2,15) = 86,767$ ,  $P = 0,00009$ ], assim como a duração [ $F(2,15) = 7,696$ ,  $P = 0,002$ ]. Já a ingestão de água foi maior nos animais tratados com FLX 75nmol do que nos animais tratados com veículo [ $F(2,15) = 21,783$ ,  $P = 0,0002$ ]. A dose de 22,5 nmol não afetou a ingestão de água, e a duração do beber não foi afetada por nenhuma das doses, assim como a duração da autolimpeza e do sono (Tabela 9; Figura 18).

A latência para o primeiro episódio de comer foi afetada pelo tratamento com Fluoxetina. Já a latência para beber, autolimpeza e sono não foi afetada. O primeiro episódio de comer aconteceu mais tarde nos animais tratados com FLX 75 nmol do que nos animais veículo [ $H(2,18) = 11,427$ ,  $P = 0,002$ ]. A dose de 22,5 não afetou a latência para comer (Tabela 9).

Diferentemente do que aconteceu com a 5-HT, o tempo do pico de comer, a intersecção entre comer e beber, e o intervalo entre o pico de comer e beber, e comer e sono não foram afetados pelo tratamento com a Fluoxetina. O tempo do pico de beber, a autolimpeza e o sono também não foram afetados pelo tratamento, assim como a intersecção entre comer e autolimpeza, comer e sono, e o intervalo entre comer e autolimpeza.

Em síntese, apesar da redução na ingestão total de ração e na sua duração, o tratamento com FLX não afeta a SCS (Tabela 9, Figura 5 apêndice).

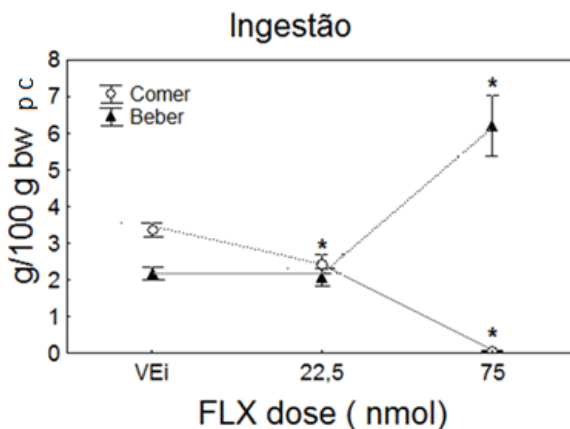


FIGURA 18 – Gráfico representando a ingestão total de ração e de água após o tratamento com veículo (salina), ou 22,5 nmol, ou 75 nmol de Fluoxetina. (\*) $p < 0,05$  comparado com os animais tratados com veículo.

TABELA 9 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do tratamento com Fluoxetina. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	Veículo (n=6)	22,5 nmol (n=6)	75 nmol (n=6)
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g pc)	3,38 $\pm$ 0,46	2,42 $\pm$ 0,63*	0,05 $\pm$ 0,04*
<b>Comer</b> (duração)	1625 $\pm$ 1009	1012 $\pm$ 574	105 $\pm$ 139*
Latência (s) #	102 (9, 126)	103 (77, 134)	2672 (1058, 5400)*
Tempo do pico (bins)	2 (2,2)	4 (2, 17)	8 (0,15)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2,18 $\pm$ 0,43	2,06 $\pm$ 0,60	6,02 $\pm$ 2,01*
<b>Beber</b> (duração)	38,93 $\pm$ 9,65	50,50 $\pm$ 37,34	80,82 $\pm$ 67,65
Latência(s)	532 (531, 718)	299(131, 393)	899 (80, 2287)
Tempo do pico (bins)	4 (3,12)	5 (2, 15)	4 (1, 17)

<b>Autolimpeza</b> (duração)	161.41 ± 138.24	415.74 ± 255.75	487.75 ± 385.27
Latência (s)	1397 (144, 2132)	529 (274, 601)	159 (43, 2414)
Tempo do pico (bins)	14 (10, 17)	12 (4, 17)	19 (15, 19)
<b>Sono</b> (duração)	1346.39 ± 1297.57	1476.80 ± 837.66	2187.60 ± 904.50
Latência (s)	2779 (1610,4335)	2304 (1093, 3334)	1900 (859, 2727)
Tempo do pico (bins)	16 (11, 19)	12 (10, 19)	11 (9, 13)
<b>Exploração</b> (duração)	1852 ± 914	2166 ± 863	1664 ± 1402
<b>Parado alerta</b> (duração)	417.38 ± 309.39	402.77± 171.36	501.81 ± 444.30
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	2 (1, 10)	2 (-5, 4)	0,5 (-1, 2)
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	11 (8, 15)	6 (1, 11)	8(4, 15)
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	14 (8, 17)	8 (-11, 17)	4 (-6, 9)
<b>IntersecçãoComer/Beber</b> (bins)	3 (3, 4)	2 (2, 3)	4 (1, 10)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza</b> (bins)	9 (7, 15)	4 (3, 10)	4 (1, 11)
<b>Intersecção Comer/Sono</b> (bins)	14 (7, 19)	10 (5, 15)	10 (8, 12)

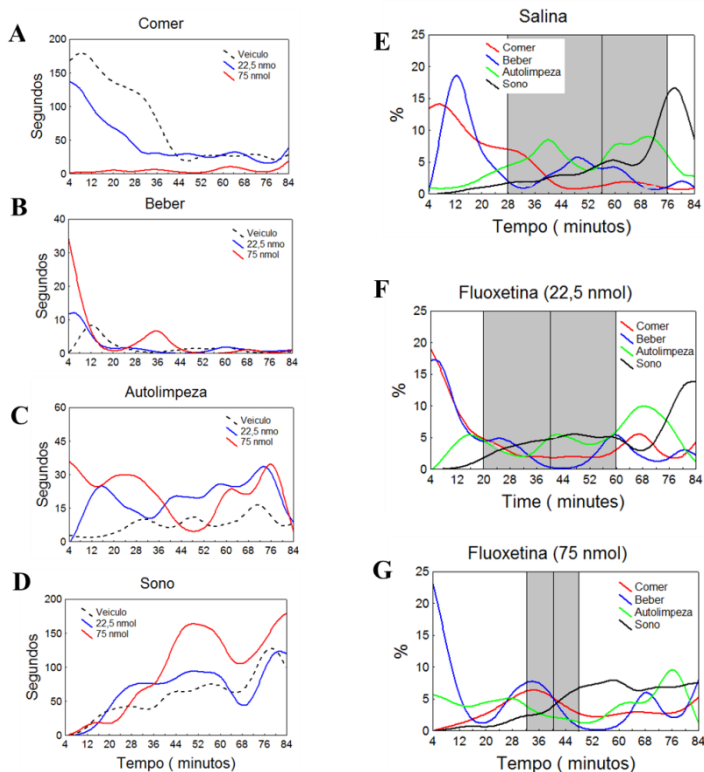


FIGURA 19 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação em animais tratados com salina ou 22,5 ou 75 nmol de FLX. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber, autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados, e a área escura nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.3.3 Experimento 8 – protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de injeções ICV de Norfenfluramina (NOR)

Após o tratamento com Norfenfluramina, os animais passaram maior parte do tempo avaliando, explorando e se locomovendo e isso ocasionou a diminuição do consumo de ração.

As injeções ICV de Norfenfluramina, diversamente das injeções de 5-HT, afetaram somente a ingestão de ração e não afetaram a ingestão de água (Figura 20). O consumo de ração foi reduzido de forma dose dependente pelas injeções de NOR, quando comparado com os animais tratados com veículo [ $F(2,15)= 5,945, P=0,01$ ]. Em relação aos escores comportamentais, o tratamento com a NOR afetou somente o intervalo entre o pico de comer e autolimpeza, que foi reduzido nos animais tratados com 60 nmol em relação aos animais tratados com veículo [ $H(2,18)=8,054, P=0,009$ ]. No entanto, os demais escores avaliados, como duração, latência, tempo do pico, intersecção, não foram afetados pelo tratamento. Ver **TABELA 10**.

Em resumo, o tratamento com a NOR ocasionou uma redução no consumo de ração sem alterar a SCS (Figura 21, Figura 6 apêndice).

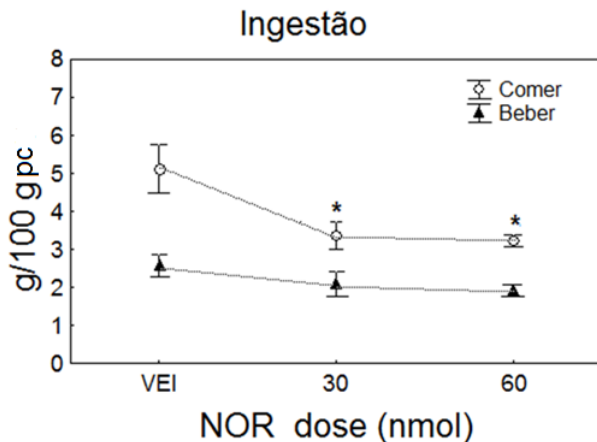


Figura 20 – Gráfico representando a ingestão total de ração e de água após o tratamento com veículo (ácido ascórbico), ou 30 nmol, ou 60 nmol de Norfenfluramina. (\*)  $p < 0,05$  comparado com os animais tratados com veículo.

Tabela 10 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do tratamento com Norfenfluramina. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecções (I), são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	Veículo (n=6)	30 nmol (n=6)	60 nmol (n=6)
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g bw)	5.12 $\pm$ 1.59	3.36 $\pm$ 0.87*	3.23 $\pm$ 0.37*
<b>Comer</b> (duração)	1501 $\pm$ 834	1966 $\pm$ 566	1066 $\pm$ 747
Latência (s) #	86 (52, 146)	83 (6, 154)	134 (92, 238)
Tempo do pico (bins)	2 (2,3)	2 (2, 8)	9 (4,15)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g bw)	2.57 $\pm$ 0.71	2.08 $\pm$ 0.79	1.93 $\pm$ 0.38
<b>Beber</b> (duração)	37.90 $\pm$ 13.64	45.84 $\pm$ 37.81	27.48 $\pm$ 15.89
Latência(s)	609(504, 1179)	852(127, 1309)	507 (378, 1061)
Tempo do pico (bins)	8 (3,14)	6(1, 11)	6 (5 , 17)
<b>Autolimpeza</b> (duração)	602.67 $\pm$ 414.02	561.78 $\pm$ 255.75	540.20 $\pm$ 202.90
Latência (s)	1470 (997, 1722)	923 (653, 1102)	328 (176, 374)
Tempo do pico (bins)	18 (14, 20)	16 (14, 20)	12 (10, 13)
<b>Sono</b> (duração)	1612.51 $\pm$ 1222.29	981.05 $\pm$ 601.70	1753.10 $\pm$ 757.54
Latência (s)	1460 (232,3556)	2726 (1080, 3677)	2084 (1422,

Tempo do pico (bins)	14 (12, 16)	17 (16, 20)	3076 14 (9, 15)
<b>Exploração</b> (duração)	1484 ± 540	1689 ± 388	1829 ± 787
<b>Parado alerta</b> (duração)	241.20 ± 291.12	205.05± 163.31	246.80 ± 283.25
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	6 (1, 11)	4 (-7, 8)	-2 (-6, 3)
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	14 (9, 18)	12 (9, 13)	4(1, 7)*
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	10 (9, 14)	14 (8, 19)	4 (-3, 13)
<b>IntersecçãoComer/Beber</b> (bins)	4 (3, 6)	6 (1, 7)	4 (3, 6)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza</b> (bins)	8 (6, 11)	12 (9, 14)	4 (2, 10)
<b>Intersecção Comer/Sono</b> (bins)	12 (11, 16)	12 (5, 16)	10 (8, 14)



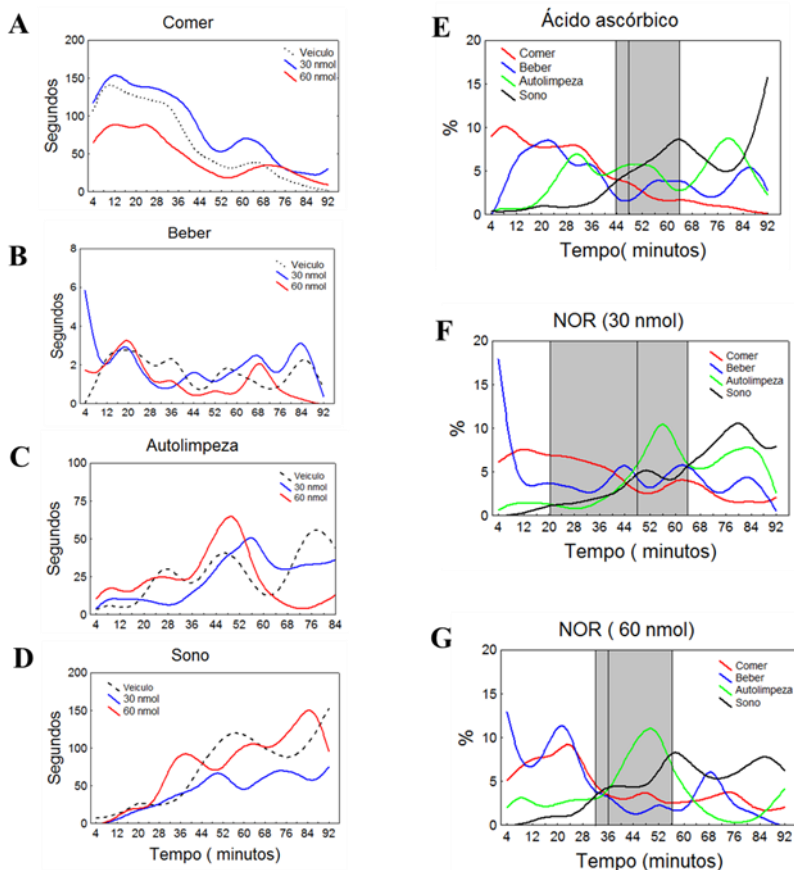


Figura 21 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação em animais tratados com ácido ascórbico, ou 30, ou 60 nmol de NOR. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber, autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados, e a área escura nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono

#### 4.3.5 Experimento 9 – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de injeções ICV de m-CPP

Não foi perceptível uma alteração nos comportamentos dos animais tratados com m-CPP, umagonista dos receptores 5-HT<sub>2B/2C</sub> em relação aos animais tratados com animais tratados com Norfenfluramina, que também tem um efeito de agonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub>. A diferença entre os animais tratados e os animais veículo só foi perceptível quando, no fim do experimento, foi feita a pesagem do conteúdo do comedouros e do bebedouros; constatou-se uma redução no consumo de ração e água em relação aos animais controle.

As injeções ICV de m-CPP afetaram tanto o consumo de ração quanto o consumo de água. A ingestão de ração foi menor nos animais tratados com m-CPP 13 nmol do que nos animais controle [F(2,15)=14,024, P=0,0002]. Todavia, a dose 3,9 nmol não afetou o consumo de ração. Já o consumo de água foi diminuído em relação ao controle por ambas as doses [F(2,15)=7,416, P=0,002] (Tabela 11; Figura 22).

No que diz respeito aos demais escores comportamentais, como duração, latência, tempo do pico, interseção entre as curvas e intervalo entre os picos dos comportamentos de comer, beber, autolimpeza e sono não foram afetados pelo tratamento com m-CPP (Tabela 11) Esses resultados sugerem que a SCS é preservada (Figura 23, Figura 7 apêndice).

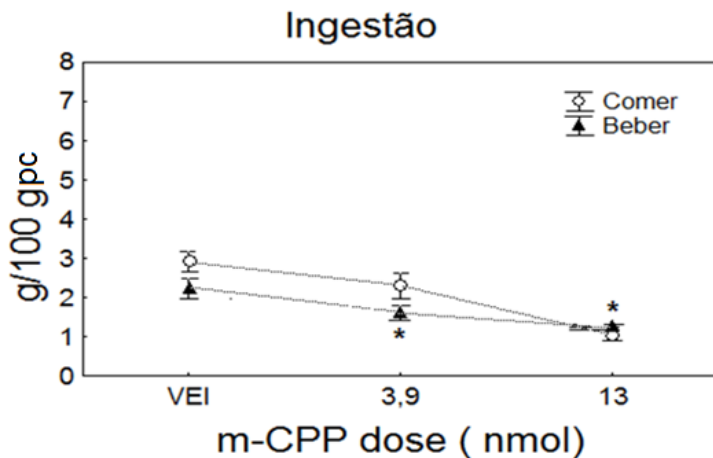


FIGURA 22 – Gráfico representando a ingestão total de ração e de água após o tratamento com veículo (salina), ou 3,9 nmol, ou 13 nmol de Norfenfluramina. (\*)  $p < 0,05$  comparado com os animais que receberam veículo

TABELA 11 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do tratamento com m-CPP. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e interseções (I) são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	Veículo (n=6)	3,9 nmol (n=6)	13 nmol (n=6)
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g pc)	2.90 $\pm$ 0.62	2.30 $\pm$ 0.82	1.04 $\pm$ 0.30*
<b>Comer</b> (duração)	1203 $\pm$ 638	1363 $\pm$ 989	947 $\pm$ 527
Latência (s) #	20 (10, 138)	17 (9, 56)	76 (6, 172)
Tempo do pico (bins)	2 (1,4)	8 (5, 10)	8 (4,11)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2.23 $\pm$ 0.61	1.61 $\pm$ 0.43*	1.29 $\pm$ 0.06
<b>Beber</b> (duração)	76.44 $\pm$ 78.78	56.69 $\pm$ 34.93	32.81 $\pm$ 18.07
Latência(s)	1190(506, 1225)	644(188, 1215)	353 (233, 1270)
Tempo do pico (bins)	6 (4,7)	4 (3, 6)	5 (2 , 8)
<b>Autolimpeza</b> (duração)	336.79 $\pm$ 432.91	372.66 $\pm$ 116.63	436.12 $\pm$

Latência (s)	569(289, 1040)	470(416, 714)	405.94 513 (320 , 726)
Tempo do pico (bins)	14 (7, 20)	11 (6, 13)	7 (7, 13)
<b>Sono</b> (duração)	2597.56 ± 1338.57	2083.79 ± 1235.22	2426.36 ± 1311.33
Latência (s)	1684 (1096,2708)	1375 (961, 1680)	2273 (1795, 4559)
Tempo do pico (bins)	10 (6, 14)	12 (8, 14)	10 (9, 20)
<b>Exploração</b> (duração)	1266 ± 570	1516 ± 883	1615 ± 1202
<b>IPI Comer/Beber</b> (bins)	3 (1, 4)	-4 (-9, 2)	-4 (-9, 3)
<b>IPI Comer/Autolimpeza</b> (bins)	12 (3, 17)	2 (-4, 8)	-0.5(-4, 8)
<b>IPI Comer/Sono</b> (bins)	8 (5, 10)	6 (-2, 10)	8 (5, 9)
<b>IntersecçãoComer/Beber</b> (bins)	6 (3, 6)	4 (1, 6)	3 (1, 6)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza</b> (bins)	6 (4, 7)	6 (4, 7)	7 (7, 9)
<b>Intersecção Comer/Sono</b> <b>(bins)</b>	9 (6, 12)	8 (7, 13)	10 (9, 20)

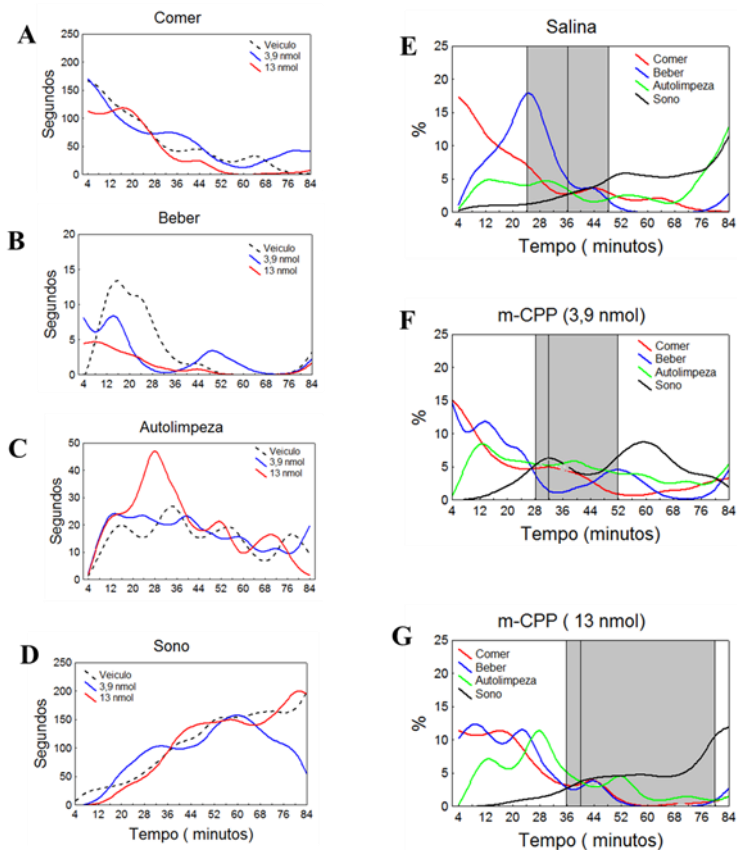


FIGURA 23 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação em animais tratados com salina, ou 3,9, ou 13 nmol de m-CPP. (A-D) durações de cada comportamento e (E-G), durações relativas de comer, beber, autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados, e a área escura nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono.

#### 4.3.4 Experimento D – Protocolo MS-SCS: descrição dos efeitos de injeções ICV de metergolina (MET)

Os animais tratados com Metergolina responderam de forma diferente dos animais controle com um aumento do tempo dispendido no comedouro. Esse aumento foi seguido por um aumento no consumo de água e, posteriormente, pela autolimpeza e o sono.

As injeções ICV de Metergolina afetaram o consumo e a duração do tempo gasto comendo, e a ingestão de água. Já a duração do beber, assim como a duração do sono não foi afetada. O consumo de ração aumentou de forma dose dependente [ $F(2,15)=23,262$ ,  $P=0,0001$ ] e a duração de comer diminuiu de forma dose dependente [ $F(2,15)=4,477$ ,  $P=0,02$ ]. O consumo de água foi aumentado relativamente ao animal tratado com veículo em animais que receberam MET 300 nmol [ $F(2,15)=21,752$ ,  $P=0,0001$ ]. A duração da autolimpeza igualmente foi afetada de forma dose dependente pelo tratamento com MET. A sua duração foi reduzida em relação aos animais controle [ $F(2,15)=4,054$ ,  $P=0,02$ ] (Tabela 12; Figura 24).

A latência e os demais índices comportamentais, como tempo do pico, intersecção entre os comportamentos e intervalo entre os picos relacionados aos comportamentos de comer, beber, autolimpeza e sono, não foram afetados pelo tratamento com MET (Tabela 11, Figura 8 apêndice). Esses resultados, demonstram que, apesar do aumento na duração do consumo de ração e água, a SCS é conservada após o tratamento com MET, como se observa na Figura 25.

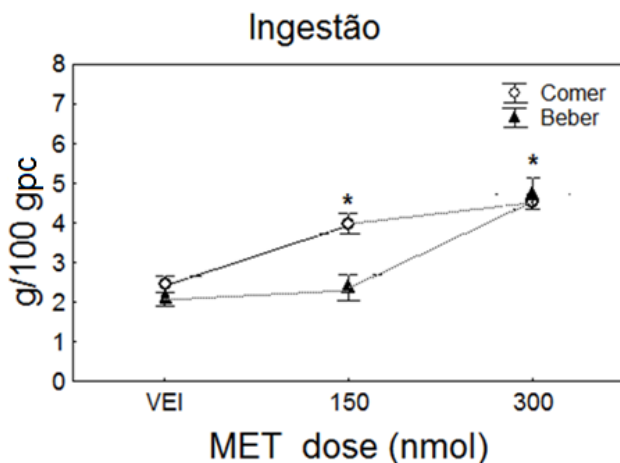


FIGURA 24 – Gráfico representando a ingestão total de ração e de água após o tratamento com veículo (ácido ascórbico), ou 150 nmol, ou 300 nmol de Norfenfluramina. (\*) $p < 0,05$  comparado com os animais tratados com veículo

TABELA 12 – Protocolo MS-SCS: Descrição dos efeitos do tratamento com Metergolina. # valores da latência, tempo para o pico (P), intervalo entre picos (IP) e intersecções (I), são expressos em valores da mediana + quartis; já valores da ingestão de ração e água, e as durações são expressos em valores da média  $\pm$  EPM

	<b>Veículo (n=6)</b>	<b>150 nmol (n=6)</b>	<b>300 nmol (n=6)</b>
<b>Ingestão de ração</b> (g/100 g pc)	2.42 $\pm$ 0.59	3.98 $\pm$ 0.63*	4.54 $\pm$ 0.44*
<b>Comer</b> (duração)	3078 $\pm$ 1652	1356 $\pm$ 640*	1518 $\pm$ 703*
Latência (s) #	33(5, 41)	33 (22, 117)	8 (0, 29)
Tempo do pico (bins)	8 (1,18)	3 (2, 10)	2 (2,3)
<b>Ingestão de água</b> (ml/100 g pc)	2.08 $\pm$ 0.42	2.37 $\pm$ 0.79	4.73 $\pm$ 0.97*
<b>Beber</b> (duração)	47.06 $\pm$ 45.18	45.58 $\pm$ 17.95	58.11 $\pm$ 27.98
Latência(s)	608(25, 926)	603(546, 1082)	1417 (659, 1508)
Tempo do pico (bins)	4 (1,22)	6(4, 11)	15 (3 , 16)
<b>Autolimpeza</b> (duração)	511,39 $\pm$ 350,52	222.98 $\pm$ 156.70	119.66 $\pm$ 188.59*
Latência (s)	781 (452, 1110)	923 (653, 1102)	328 (176, 374)
Tempo do pico (bins)	11 (8, 22)	8(6, 11)	8 (7, 9)
<b>Sono</b> (duração)	972.68 $\pm$ 1096.28	2575.26 $\pm$ 1115.78	2439.43 $\pm$ 1314.96
Latência (s)	1511 (1445,1813)	926 (885, 987)	1633 (818, 3767)
Tempo do pico (bins)	10 (7, 16)	9 (5, 14)	11 (6, 19)

<b>Exploração (duração)</b>	<b>2010 ± 1140</b>	<b>1131 ± 586</b>	<b>1309 ± 608</b>
<b>IPI Comer/Beber (bins)</b>	2 (-14, 8)	2 (-6, 9)	12 (1, 11)
<b>IPI Comer/Autolimpeza (bins)</b>	6 (-6, 12)	2 (-4, 8)	4(4, 6)
<b>IPI Comer/Sono (bins)</b>	2 (-7, 7)	4 (3, 4)	9 (5, 16)
<b>IntersecçãoComer/Beber (bins)</b>	4 (1, 22)	4(4, 5)	5 (3, 15)
<b>Intersecção Comer/Autolimpeza (bins)</b>	6 (3, 7)	8(5, 17)	6 (4, 7)
<b>Intersecção Comer/Sono (bins)</b>	7 (6, 8)	5 (4, 6)	10 (6, 18)



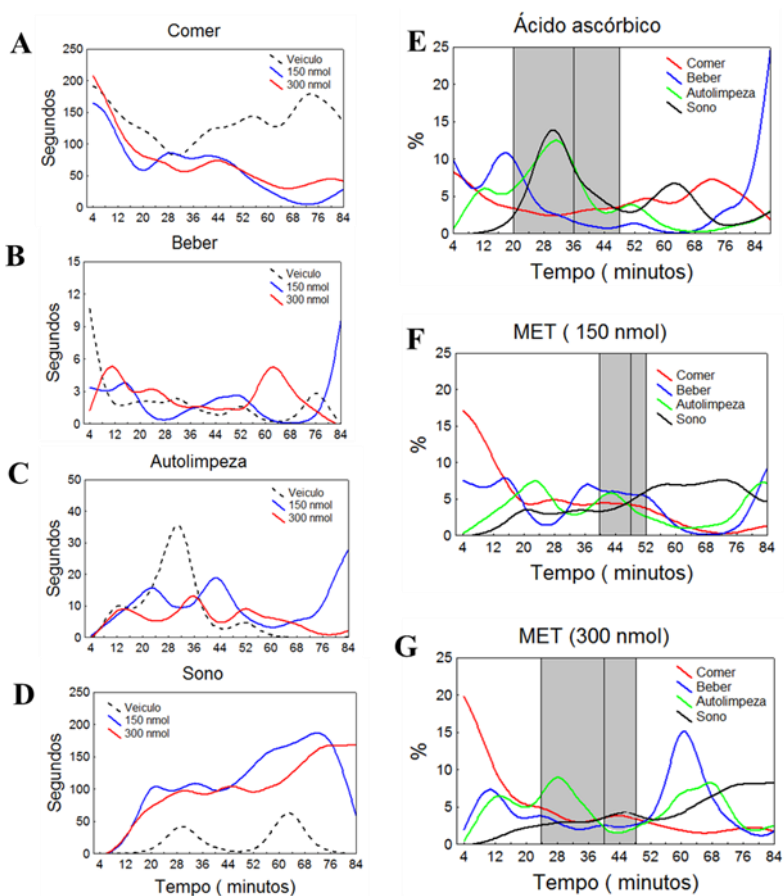


FIGURA 25 – (A-G) Representação gráfica das mudanças temporais nos comportamentos registrados em 84 minutos após a apresentação em animais tratados com ácido ascórbico, ou 150, ou 300 nmol de MET. (A-D) durações cada comportamento e (E-G) durações relativas de comer, beber autolimpeza e sono dentro de cada condição experimental. Cada linha é uma representação dos mínimos quadrados, e a área escura nas figuras (E-G) representam a mediana + os quartis da intersecção entre o comer e o sono



## 5 DISCUSSÃO

Depois de uma refeição, mamíferos e aves apresentam seqüências definidas de comportamentos com um aumento no beber, comportamento de manutenção e um aumento nas respostas de repouso, conhecidos como SCS. Uma das principais conclusões do presente trabalho foi que a alimentação, posteriormente ao jejum, e a mera apresentação de um alimento palatável MS podem provocar mudanças consistentes em magnitude (durações), bem como nos aspectos sequenciais e temporais dos comportamentos pós-consumatórios.

Essas alterações parecem seguir tendências previsíveis com o aumento da intensidade do estímulo alimentar (de RC+MS para J24+MS). A latência e o tempo para o pico para autolimpeza são adiados, enquanto a latência e o tempo para o pico do sono tendem a ser reduzidos com o aumento do estímulo alimentar (de RC+MS para J24+MS).

Os animais, tanto sob o regime RC+MS como no J24+MS, apresentam uma seqüência clara de eventos temporalmente organizados (como pode ser observado mediante as latências), formados pelo comer seguido do beber e, em seguida, ocorrendo um período em que comportamentos ativos (como autolimpeza) predominam sobre os comportamentos ingestivos. Esse curto predomínio do comportamento alerta sobre o comportamento ingestivo é substituído por períodos de imobilidade e posturas típicas do sono.

Vale a pena ressaltar que a média de consumo de ração no protocolo MS-SCS ( $4.57 \pm 0.18$  em 84 min) é comparável ao consumo médio observado após um jejum de 24 horas ( $4.22 \pm 1.04$  em 120 min) e maior do que o consumo durante a simples apresentação da mistura de sementes ao animal com consumo livre ( $3.11 \pm 0.68$  em 120 min) no Experimento 1.

O perfil da SCS gerado pelo protocolo MS-SCS é indistinguível do perfil observado após o jejum de 24 horas, indicando que esse protocolo pode fornecer dados semelhantes ao perfil da SCS produzido após o jejum de 24 horas, mas com menor impacto sobre o bem-estar do animal sobre os parâmetros fisiológicos como sono e sede. Isso ocorre, pois o jejum prolongado provoca uma série de alterações fisiológicas no animal, entre elas aumentada vigília, diminuição do sono paradoxal, stress e retardo do ciclo circadiano, como é demonstrado em vários estudos (BORBELY, 1977; DANGUIR e NICOLAIDIS, 1979, RASHOTTE, et al., 1997; RASHOTTE, et al., 1998; RASHOTTE, et al., 1999).

Apesar de o consumo total de ração ser diferente entre as condições J24+MS, MS e a condição RC+MS, isso não parece afetar a expressão da sequência de saciedade, uma vez que ambas as situações desencadeiam uma SCS semelhante entre si. Essa SCS é caracterizada por um aumento da ingestão de ração na primeira hora seguindo-se o beber, autolimpeza e, por fim, o sono. Já os animais, quando tinham ração comum e água *ad libitum*, não apresentaram uma sequência organizada de saciedade. Esse fato sugere que, para a SCS ser desencadeada, é necessário um aumento no consumo de ração. É importante ressaltar que o consumo na primeira hora na condição RC é de  $0,89 \pm 0,34$  g/100g PC, enquanto na condição RC+MS é de  $2,88 \pm 1,08$  g/100g pc e na condição J24+MS é de  $3,99 \pm 1,17$  g/100g pc.

Em razão dos dados brutos do Experimento 1, propôs-se o uso de uma série de indicadores das relações temporais e sequenciais. Esses indicadores não foram utilizados para estudos em ratos, pois estudiosos da SCS em roedores como Rodgers, Halford, Ishii, entre outros se utilizam meramente de parâmetros qualitativos para avaliar a sequência. Por exemplo, para se avaliar o fim da sequência, é medido o tempo em que ocorreu o cruzamento entre o comer e o sono. Baseado nesse dado, é avaliado, comparando-se com o veículo, se o tratamento abreviou ou aumentou a SCS (HALFORD et al., 1997).

Porém, acredita-se ser possível extrair mais informações se forem usadas medições entre os comportamentos que permitam ver as relações comportamentais existentes dentro da sequência de saciedade.

Esses índices propostos admitiram um avanço neste tipo de estudo, pois pela primeira vez na literatura sobre o estudo das SCS, foi possível fazer uma comparação estatística dos efeitos de tratamentos farmacológicos, manipulações fisiológicas, ambientais ou de palatabilidade, permitindo assim a extração de mais elementos do que simplesmente saber se a sequência foi abreviada ou estendida.

Como relatado, as condições experimentais RC+MS e J24h+MS são suficientes para se desencadear uma SCS nítida dentro das duas horas de avaliação. Todavia, para sobre essas condições variáveis não controláveis que podem estar influenciando os resultados como, por exemplo, a quantidade de alimentos que o animal comeu antes do início do experimento na condição RC+MS, já que aves são animais que vivem constantemente ingerindo alimento (TOLKAMP, 2012). Além dos efeitos do jejum prolongado sobre o sono na condição J24h+MS, procurando diminuir a influência dessas variáveis não controláveis, foi proposto um protocolo denominado MS-SCS, que consiste na retirada

da água e da comida por uma hora, seguido da apresentação da ração comum, da água e apresentação da mistura de sementes. É importante salientar que esse protocolo foi capaz de provocar um consumo comparável com a condição J24h+MS.

O que leva ao aumento no consumo com um período breve da ausência de água e comida a tal ponto de ser comparado com a privação de alimento por 24 horas ainda é uma incógnita. Mas acredita-se, com base em Harrold et al. (2012) que se trata da combinação de dois fatores: o fator hedônico pelo cheiro, e da palatabilidade e do fator homeostático. Estudos não publicados do nosso laboratório mostraram que a ausência de água e ração por uma hora é suficiente para que haja um esvaziamento do conteúdo do papo do animal, sugerindo que talvez esse seja um local de controle homeostático para a ingestão de alimento.

Além do consumo, a sequência expressa por intermédio do protocolo MS-SCS também foi semelhante à encontrada na condição J24h+MS; no entanto, a resolução temporal se resolve em menos tempo no protocolo MS-SCS (84 minutos) do que no J24H+MS, no qual são necessárias duas horas de avaliação. A SCS desencadeada por esse protocolo é semelhante à que ocorre em roedores, ou seja, uma ingestão de alimentos que afeta de forma temporal e previsível comportamentos pós-prandiais, como beber, autolimpeza e sono (ZAMMIT et al., 1991, HALFORD et al., 1997, RODGERS et al., 2010). Entretanto, embora haja essa semelhança entre mamíferos e aves, os mecanismos de ativação e controle do arranjo estrutural da SCS em pombos podem divergir profundamente dos mecanismos envolvidos em mamíferos.

Um exemplo disso são os resultados dos experimentos de palatabilidade e do experimento com pré-carga que, não obstante terem reduzido o consumo total de ração, não alteraram a estrutura da SCS, isto é, ela acontece da mesma forma tanto no animal controle como nos animais tratados; por outro lado, em roedores, submetidos aos mesmos tipos de experimentos, houve alteração da expressão da SCS. Já roedores submetidos ao experimento de palatabilidade (adulteração do sabor da ração com quinino) tiveram uma redução no tempo de consumo e uma antecipação da ocorrência do sono, e uma aceleração da SCS, quer dizer, todos os comportamentos acontecem mais cedo que no controle quando submetidos ao experimento de pré-carga (BLUNDELL et al., 1985, COOPER e FRANCIS, 1993; KITCHENER e DOURISH, 1994 ISHII et al., 2003).

É imprescindível ressaltar que a diferença encontrada em relação ao experimento de pré-carga pode ser por causa da metodologia empregada, já que foi utilizada, como base para quantificação da pré-

carga, a quantidade de alimento, enquanto o protocolo empregado em roedores leva em consideração o tempo em que a comida fica disponível. Sendo assim, não se tem um controle da quantidade ingerida pelos ratos, dificultando-se, dessa forma, a comparação dos resultados.

Em resumo, a simples retirada de alimento e da água por uma hora, seguida pela apresentação da MS, é capaz de produzir um consumo equivalente ao consumo do animal privado de alimento por 24 horas. Além da equivalência quanto ao consumo, o protocolo MS-SCS foi capaz de desencadear uma SCS semelhante à SCS desencadeada pelo J24h+MS, porém com menor tempo de resolução. A SCS em pombos, diversamente do que ocorre em roedores, não parece ser afetada pela diminuição no consumo em decorrência da pré-alimentação e da adulteração do sabor com quinino.

A SCS desencadeada pelo protocolo propostão foi afetada pela repetição. Esse fato mostra que esse protocolo pode ser usado em experimentos sequenciais sem afetar os dados, facilitando a experimentação animal em tempos que se faz críticas ao uso de animais em laboratório, já que pode reduzir o número de animais utilizados.

A sequência também não foi afetada pelo gênero dos animais, o que é importante principalmente em se tratando de pombos, animais com pouco dimorfismo sexual, em que seu sexo é verificado quase sempre pós-morte, poderia ser assim uma variável a princípio não controlável. No entanto, apesar de a SCS ser exaustivamente estudada em roedores, experimentos envolvendo a repetição e a influência do gênero não foram encontrados na literatura. Todos os experimentos são sempre realizados com ratos machos, perdendo-se, assim, uma grande oportunidade para esclarecer mais sobre a sequência e a relação entre os seus comportamentos (HALFORD et al., 1997; RODGERS et al., 2010)

O comportamento de beber parece estar firmemente fixado em magnitude, posição e relação temporal com a ingestão de alimentos. Apesar da grande variação na quantidade ingerida de ração, o pico de beber ocorreu sempre em um ponto após o pico de comer. A relação significativa e quase linear entre a ingestão total diária de ração e a ingestão diária de água (ZEIGLER, 1976) não foi observada no curto período do estudo. Além disso, a ausência de água durante o experimento de ausência de água ou ração não altera a ingestão de alimentos ou atributos sequenciais da SCS, sugerindo que a água pode não ser importante para a ativação da SCS em pombos.

Contudo, no experimento de ausência de ração ou água, quando foi retirada a comida, houve uma redução drástica no beber, sugerindo

que a água faz parte do comportamento ingestivo; portanto, deve ser avaliada dentro do protocolo de SCS. A água como integrante do comportamento ingestivo do mesmo modo foi observada em roedores (ZORRILLA et al., 2005); desse modo, deveria ser avaliada dentro do protocolo de SCS em roedores. No entanto, não é isso o que acontece. Com exceção de Zorrilla, os demais pesquisadores que trabalham com SCS não levam em consideração o comportamento de beber, perdendo com isso oportunidades preciosas para se estudar dentro desse protocolo a relação entre comer e o beber.

Já o comportamento de autolimpeza parece ser um comportamento que flutua dentro da sequência. Na maioria das vezes, acontece entre o comportamento de beber e o de sono, como no experimento de palatabilidade, em outras vezes, ocorre logo depois do sono, como no experimento de pré-carga.

Os dados mostram que a autolimpeza é um comportamento integrante da SCS em pombos. A proximidade com a proximidade temporal entre picos de autolimpeza e sono pode adicionar suporte à noção de que autolimpeza pode ser um comportamento de conforto das aves, associada com a antecipação do reforço (agradável) com eventos ou estados de relaxamento e desativação (ZIMMERMAN et al., 2011; SPRUIJT et al., 1992; SAVORY e KOSTAL, 2006; DELIUS et al., 1967). Em roedores, esse comportamento tem picos bem observáveis entre o declínio do comer e o início do repouso (HALFORD et al., 1997; BLUNDELL et al., 1995).

Os dados do J24h+MS indicam a existência de uma relação direta entre o conteúdo ingerido e a duração do sono. Esses resultados são apoiados em informações prévias obtidas em pombos (DARIO et al., 1996), mostrando que a ingestão de rações muito diferentes ocasionada por diferentes estímulos ( $11,2 \pm 3,1$  g e animais tratados com injeções ICV de adrenalina versus  $19,6 \pm 2,7$  g após um período de jejum de 96 h) desencadeia uma quantidade similar de sono pós-prandial e semelhantes perfis temporais posteriormente à reexposição ao alimento. Mas, neste caso, em pombos, não fica claro se o sono é inerente à quantidade ingerida ou se é um efeito do jejum prolongado.

Entretanto, em ambas as condições referidas, esse aumento do sono pode estar sendo muito mais um efeito do jejum prolongado do que propriamente do aumento do consumo. Isso porque os dados dos experimentos que reduziram o consumo de ração, como o experimento com quinino ou o experimento de pré-carga, não reduziram a duração do sono, tampouco sua latência.

Esses dados sugerem que o sono é parte integrante da SCS em pombos; porém, na parece ser sensível à quantidade de ração ingerida. Em roedores, o sono também é integrante da SCS; no entanto, é proporcional à quantidade de ração ingerida, como mostram Danguir et al. (1979) e de Sant-Hilaire et al. (1992).

A administração de 5-HT demonstrou que a serotonina tem um papel importante sobre a ingestão de alimento e a saciedade em pombos. O tratamento com esse fármacopostergou o comer para depois do sono e abreviou a SCS, ou seja, fez com que todos os comportamentos acontecessem antes do que no controle. O referido tratamento, além disso, causa uma redução na ingestão de ração e um aumento no consumo de água. Resultados semelhantes foram encontrados tanto em pombos saciados como em pombos privados de alimento (STEFFENS et al., 1997; DOS SANTOS et al., 2011).

Os dados indicando que a 5-HT posterga o comer emantém a relação dos demais comportamentos conservada sugerem que, após a ingestão de ração, há um aumento da concentração de 5-HT no ventrículo, que é responsável por controlar os demais comportamentos pós-prandiais. Essa sugestão é reforçada pelo trabalho de Santos (2011), em que injeções ICV de 5-HT resultaram uma redução da ingestão de ração, aumento da latência para comer, aumento da ingestão de água e diminuição da latência para beber, autolimpeza e sono, e pelo trabalho de Hoeller et al. (2013) mediante técnicas de imunohistoquímica com dupla marcação para triptofano/Fos, mostrando uma maior ativação dos neurônios serotoninérgicos quando o animal bebia.

Hirugani et al. (1992) e Meneghelli et al. (2009) mostraram que a região em torno do ventrículo de pombos é rica em fibras serotoninérgicas e que esses neurônios têm contato entre si. As injeções ICV de Fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptação de 5-HT, indicaram resultados semelhantes ao ocorrido após injeções ICV de 5-HT. Houve uma redução no consumo de ração e aumento no consumo de água. No entanto, esses efeitos não foram suficientes para afetar as relações temporais entre os comportamentos típicos da SCS, como a latência, tempo do pico, intervalo entre os picos e a intersecção entre o comer e o sono. Isso sugere que o efeito da fluoxetina é secundário ao aumento de 5-HT no ventrículo. Resultados semelhantes foram encontrados por Mcguirk et al. (1992), Halford et al. (1995) e Currie et al. (1998) em roedores, quando administrado por via intraperitoneal o tratamento com esse fármaco acarreta uma redução da ingestão de alimentos saborosos (sacarose) e mantém a SCS inalterada. Todavia, os



resultados opostos obtidos quanto à ingestão de água confirmam que a 5-HT tem uma função oposta no controle da ingestão de água entre aves e roedores. Enquanto o aumento na transmissão serotoninérgica em aves aumenta ingestão de água, em roedores diminui, como já foi demonstrado em Mcguirk et al. (1992) e em Santos et al. (2011).

O tratamento com a Norfenfluramina, um metabólito ativo da degradação da Fenfluramina, tem entre as suas funções ser um inibidor da recaptação 5-HT e estimulador da liberação de 5-HT na fenda sináptica, além de ser um agonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub> (INVERNIZZI et al., 1982, MENNINI et al., 1985, GIBSON et al., 1993 e CLAUSING et al., 1997). Os resultados indicaram uma redução na ingestão de ração, porém isso não afetou a ingestão de água e os demais escores comportamentais, como: latência, tempo do pico, intervalo entre os picos e a intersecção entre as curvas dos comportamentos típicos da SCS. Esses resultados sugerem que a ação da Norfenfluramina nas doses utilizadas neste estudo tem seu efeito mais pronunciado como agonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub>. O resultado mencionado é condizente com o trabalho desenvolvido por Gibson et al. (1993), que demonstrou por meio de experimentos farmacológicos que o efeito hipofagiante da Norfenfluramina é causado pela sua ação sobre os receptores 5-HT<sub>2C</sub>. Vickers et al. (2001) reforçaram a ideia, demonstrando em roedores que o uso de um antagonista do receptor 5-HT<sub>2C</sub> reverte o efeito hipofagiante causado pela Norfenfluramina.

O tratamento com o m-CPP, um fármacoagonista do receptor 5-HT<sub>2B/2C</sub>, (GRAF et al., 2003 e DALTON et al., 2004), indicou uma redução na ingestão de ração e de água. No entanto, essa redução não afetou os demais escores dos comportamentos típicos da SCS, como latência, tempo do pico, intervalo entre picos e intersecção entre as curvas dos comportamentos que fazem parte da SCS. Em resumo, o tratamento com 5-HT postergou o comer e abreviou a SCS; já o tratamento com FLX, apesar de indicar resultados semelhantes ao tratamento com 5-HT, quanto à ingestão de alimento e água, não afetou a SCS. Os tratamentos com NOR e com m-CPP reduziram o consumo de ração, mas não afetaram a SCS, o que reforça a ideia de que a SCS em pombos não seja sensível à redução na ingestão.

Por fim, o tratamento com a Metergolina, um antagonista não específico dos receptores serotoninérgicos, indicou um aumento no consumo de ração e na duração do tempo gasto com esse comportamento. Esse resultado sugere que o sistema serotoninérgico possui um controle inibitório tônico sobre o controle da ingestão de alimentos em pombos. Como foi observado no experimento

com 5-HT, o aumento da transmissão serotoninérgica origina hipofagia, enquanto os resultados deste experimento mostram que a diminuição da transmissão serotoninérgica acarreta hiperfagia. O tratamento com a Metergolina também indicou um aumento no consumo de água.

Dados encontrados por Campanella et al. (2009) sugerem que tal resposta seja em virtude da diminuição da transmissão serotoninérgica em diferentes áreas do *arcopallium*. Injeções do mencionado fármaco na região *TnA* ocasionaram um aumento de consumo de ração, sem afetar a ingestão de água; já as injeções na região *AI* aumentaram o consumo de água, sem afetar a ingestão de alimento em pombos (CAMPANELLA et al., 2009). Dados de Silva et al. (2007) sugerem que esse efeito da MET não seja por difusão ventricular do fármaco, já que quando esse fármaco quando foi aplicado por via intraventricular em pombos não alterou a ingestão de ração nem de água em uma hora de observação. O aumento no consumo de ração acarretado pela diminuição da transmissão serotoninérgica em razão do tratamento com Metergolina também foi observado em roedores. Injeções ICV indicaram um aumento dose dependente no consumo ingestivo (COSCINA et al., 1999). Apesar do aumento no consumo de ração e água, o tratamento com Metergolina não afetou os índices da SCS; sendo assim, ela foi preservada. A Metergolina, quando aplicada por via periférica, também não alterou a SCS em roedores (VICKERS et al., 1996).

Em síntese, os tratamentos farmacológicos, assim como nos experimentos comportamentais que afetaram o consumo de diferentes formas, tanto aumentando como diminuindo, não afetaram de forma significativa a SCS, reforçando a ideia de que a SCS em pombos não é afetada por mudança no consumo da ração.

## 6 CONCLUSÃO

Os dados indicam que pombos apresentam uma SCS bem caracterizada e composta por um aumento no consumo de ração seguido pelo beber, autolimpeza e sono. Essa seqüência é comparável à seqüência encontrada em roedores, sugerindo que eles podem representar um conservado traço plesiomórfico funcional do cérebro dos amniotas.

No entanto, a SCS gerada em pombos diverge da SCS em roedores em alguns aspectos, como, por exemplo, na sensibilidade a alterações no conteúdo ingerido. Em pombos, essa SCS parece ser composta por comportamentos fixos de forma temporalque, uma vez iniciados, ocorrerão sempre da mesma forma, independentemente do tratamento ao qual o animal está sendo submetido.

Já em roedores, a SCS na expressão temporal dos comportamentos é afetada pelo consumo e pelos tratamentos. Vale ressaltar que em pombos parece existir um gatilho (uma quantidade de alimento ingerida) para que SCS possa ser desencadeada; contudo, esse “gatilho” ainda precisa ser determinado.

Apesar dessa divergência em aves e roedores quanto à sensibilidade da expressão da SCS, ambos parecem compartilharum mecanismo comum de controle da saciedade pelo sistema serotoninérgico.



## REFERÊNCIAS

- ANTIN, J.; GIBBS, J.; HOLT, J.; YOUNG, R. C.; SMITH, G. P.: Cholecystokinin elicits the complete behavioural sequence of satiety in rats. **J. Comput. Physiol. Psychol.** v. 89, p.748–760, 1975.
- AURELI, F. YATES, K. Distress prevention by grooming others in crested black macaques, **Biol. Lett**, v.6, p.27-29, 2010.
- BLAIR-WEST JR, Brook AH. Circulatory changes and renin secretion in sheep in response to feeding, **J. Physiol**, p.15-30. 1969.
- BLUNDELL, J. E. Serotonin manipulations and the structure of feeding-behaviour. **Appetite.** v. 7, p.39–56, 1986.
- BLUNDELL, J.E.; ROGERS, P.J.; HILL, A.J. Behavioural structure and mechanisms of anorexia: Calibration of natural and abnormal inhibition of eating. **Brain Research Bulletin.** v. 15, p. 371-376, 1985.
- BOLLES, R. C.: Grooming behaviour in the rat. **J. Comput. Physiol. Psychol.** v.53, p. 306–310, 1960.
- BORBELY A.A., Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food, **Brain Research.** v. 124, p. 457–471, 1977.
- BOULOS, Z; THERMAN, M. Food Availability and Daily Biological Rhythms.. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 4, p. 11-31., 1979.
- BRUN, S.R.M; LUZ V.; FERNANDEZ M.F; PASCHOALINI M.A; MARINO-NETO J. Atypical angiotensin receptors may mediate water intake induced by central injections of angiotensin II and of serotonin in pigeons. **Reg. Peptides.** Ed.98, v..3, p. 127-135, 2001.
- CAMPANELLA, L.C.A; DA SILVA, A.A; GELLERT, D.S.; PARREIRA, C.; RAMOS, M.C.; PASCHOALINI, M.A; MARINO-NETO, J. Tonic serotonergic control of ingestive behaviours in the pigeon (*Columba livia*): The role of the arcopallium. **Behavioural Brain Research.** v. 205, p.396-405, 2009.

CANELLO M; RAVAZIO MR; PASCHOALINI MA; MARINONETO J. Food deprivation-vs.intraventricular adrenaline-induced feeding and postprandial behaviors in the pigeon (*Columba livia*). **Physiol Behav.** V.54, p. 1075-1079, 1993.

CARR, J.A; BROWN, C.L.; MANSOURI, R.; VENKATESAN, S. Neuropeptides and amphibian prey-catching behavior, **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 132 ,p 151–162, 2002.

CASTRO L.; ATHANAZIO R.; BARBETTA M. ;, RAMOS A.C.; ÂNGELO A.L; CAMPOS I., VARJÃO B., FERREIRA H.S.; FREGONEZE J.B.; DE CASTRO, SILVA E. Central 5-HT<sub>2B/2C</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. **Brain Res.** v.981, p.151-159,2003.

CASTRO, J.H.A Microregulatory Analysis of Spontaneous Fluid Intake by Humans: Evidence That the Amount of Liquid Ingested and its Timing is Mainly Governed by **Feeding Physiology & Behavior**, v. 43, p. 705-714, 1988.

CASTRO, L;MALDONADO, I; CAMPOS, I;VARJÃO, B.; ANGELO, A.L. et alCentral administration of mCPP, a serotonin 5-HT 2B/2C agonist,decreases water intake in ratsPharmacology. **Biochemistry and Behavior**, v. 72, p. 891–898, 2002.

CLAUS ING, P, RUHING, L, G. NEWPORT, G.D, BOWYER, J.F. Determination of D-fenfluramine, D-norfenfluramine and fluoxetine in plasma, brain tissue and brain microdialysate using high-performance liquid chromatography after precolumn derivatization with dansyl chloride **Journal of Chromatography B**, v. 692, p. 419-426, 1997.

CLIFTON P.G, BARN FIELD A.M.C, PHILCOX L. A behavioural profile of fluoxetine-induced anorexia. **Psychopharmacology.** v. 97, p. 89 – 95, 1989.

CLIFTON, P.G.; SOMERVILLE, E.M Disturbance of meal patterning following nucleus accumbens lesions in the rat. **Brain Research.** v. 667, p.123-128, 1994.

COOPER S.J, DESA A. Benzodiazepines and putative 5-HT<sub>1A</sub> agonists increase hypertonic saline consumption in rehydrating rats. **PharmacolBiochem Behav.** V. 28, p.187-191, 1987.

COOPER S.J, FRYER M.J, NEILL J.C Specific effect of putative 5-HT<sub>1A</sub> agonists, 8-OH-DPAT and gepirone, to increase hipertonic saline consumption in the rat: evidence against a general hyperdipsic action. **Physiol. Behav.** v. 43, p.533-537, 1988.

COSCINA D. V. , D. FEIFEL, J. N. NOBREGA, CURRIE P. J. Intraventricular but not intraparaventricular nucleus metergoline elicits feeding in satiated rats, **Am. J. Physiol.** v..266, p. R1562–R1567, 1994.

CRISPIM JUNIOR CF, PEDERIVA CN, BOSE RC, GARCIA VA, LINO-DE-OLIVEIRA C, MARINO-NETO J ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals.**Computers in Biology and Medicine**, v.12, p.257-264, 2012.

CURRIE PJ, COSCINA DVMetergoline potentiates natural feeding and antagonizes the anorectic action of medial hypothalamic 5-hydroxytryptamine, **Pharmacol. Biochem Behav.** v. 53, p. 1023–1028, 1996.

CURRIE, P.J.;COSCINA, D.V; FLETCHER, P.J.Reversal of fenfluramine and fluoxetine anorexia by 8-OH-DPAT is attenuated following raphe injection of 5,7-dihydroxytryptamine.**Brain Research.**v.800, p.62-68, 1998.

DA SILVA R.A; DA SILVA A.S.S; POFFO M. J, RIBAS D.C; FARIA M.S , MARINO-NETO J., PASCHOALINI M.AFeeding behavior after metergoline or GR-46611 injections into the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the pigeon. **Behavioural Brain Research.**v. 179, p. 248–257, 2007.

DA SILVA, R.A. Ingestive behaviors and metabolic fuels after central injections of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1D/1B</sub> receptors agonists in the pigeon. **Brain Research.** v. 1026. p. 274-283, 2004.

DALTON, G.L. et. al. Serotonin 1B and 2C receptor interactions in the modulation of feeding behaviour in the mouse. **Psychopharmacology**.v. 185. p. 45-57, 2006.

DALTON, G.L.; LEE, M.D.; KENNETT, G.A. DOURISH, C.T.; CLIFTON, P. GmCPP-induced hyperactivity in 5-HT 2C receptor mutant mice is mediated by activation of multiple 5-HT receptor subtypes, **Neuropharmacology**, v. 46, p. 663–671, 2004.

DANGUIR, J.; NICOLAIDIS, S. Feeding, metabolism and sleep: Peripheral and central mechanisms of their interaction. In: McGinty, D. J., et al., eds. Brain mechanisms of sleep. New York: **Raven Press**. p. 321-340, 1985.

DANGUIR, J.; NICOLAIDIS, S. Dependence of sleep on nutrients availability. **Physiol. Behav.** v. 22, p.735-740, 1979.

DANGUIR, J.; NICOLAIDIS, S; GERARD, H. Relations between feeding and sleep patterns in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** v. 93, p. 820-830; 1979.

DARIO AJS; LOPES PRC; FREITAS CG; PASCHOALINI MA; MARINO-NETO J. Electrographic patterns of postprandial sleep after food deprivation or intraventricular adrenaline injections in pigeons. **Brain Res. Bull.** v. 39, p. 249-254, 1996.

DE CASTRO, J.M. A Microregulatory Analysis of Spontaneous Fluid Intake by Humans: Evidence That the Amount of Liquid Ingested and its Timing is Mainly Governed by Feeding **Physiology & Behavior**, V.43, p705-714, 1988.

DE SAINT-HILAIRE, Z.; CHARNAY, Y.; MIKOLAJEWSKI, R.; GAILLARD, J.-M. Active immunization against insulin affects sleep and feeding in rats. **Physiol. Behav.** v. 57, p. 803-806, 1995.

DE SAINT-HILAIRE, Z.; NICOLAIDIS, S. Enhancement of slow wave sleep parallel to the satiating effect of acidic fibroblast growth factor in rats. **Brain Res. Bull.** v. 29, p.525-528, 1992.

DELIUS JD. Displacement Activities and Arousal. **Nature**, v. 214, p. 1259 – 1260, 1967.



DOS SANTOS, M.M.; ARAÚJO, B.B.; SILVA, E.S.; FELISBINO, M.B.; HERDT, M.A.; FARIA, M.S.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Efeitos comportamentais de injeções sistêmicas de 8-OH-DPAT (8OH) em pombos (*Columba livia*). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 20, **Anais...** Águas de Lindóia, São Paulo, 2005.

DOS SANTOS, M.M.; ARAÚJO, B.B.; SILVA, E.S.; FELISBINO, M.B.; HERDT, M.A.; FARIA, M.S.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Efeitos comportamentais de injeções sistêmicas de 1-(M-CHLOROPHENYL) PIPERAZINE (MCP) em pombos (*Columba livia*). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 20, **Anais...** Águas de Lindóia, São Paulo, 2005 b.

DOS SANTOS, M.M.; HOELLER A.A.; DOS SANTOS T.S.; FELISBINO M.B.; HERDT M.A.; DA SILVA E.S., PASCHOALINI M.A.; MARINO-NETO J. Behavioural and electroencephalographic effects of systemic injections of 8-OH-DPAT in the pigeon (*Columba livia*). **Behav Brain Res.** V. 201. p. 244–256, 2009.

DOS SANTOS, T.S. et al. Behavioral profile and Fos activation of serotonergic and non-serotonergic raphe neurons after central injections of serotonin in the pigeon (*Columba livia*). **Behavioural Brain Research.** v.220, p 173-184, 2011.

FITZSIMONS, T. J.; LE MAGNEN, J. Eating as a regulatory control of drinking in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology.** V.67, 1969.

GIBBS, J.; SMITH, G. P.: Gut peptides and food in the gut produce similar satiety effects. **Peptides** v. 3, p. 553–557, 1982.

GIBSON, E.L.; KENNEDY, A.J.; CURZON, G. d-norfenfluramine- and d-norfenfluramine-induced hypophagia: differential mechanisms and involvement of postsynaptic 5-HT receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 242, p. 83-90, 1993.

GLENNON RA; DUKAT M. Serotonin receptor subtypes. in: F.E. Bloom e D.J. Kupfer (eds.) "Psychopharmacology: the fourth generation of progress", New York: **Raven Press**. p 415-429,1985.

GRAF, M; KANTOR, S;ZSUZSANNA, E; ANHEUER E. A;BAGDY, Gm-CPP-induced self-grooming is mediated by 5-HT 2C receptors **Behavioural Brain Research** v. 142, p. 175–179, 2003.

HÄCKL L.P.N; RICHTER, G.O, FARIA, M.S; PASCHOALINI, M.A, MARINO-NETO J. Behavioral effects of 8-OH-DPAT injections into pontine and mesencephalic areas containing 5-HT-immunoreactive perikaria in the pigeon. **Brain Research**. v. 1035, p. 154-167, 2005.

HALFORD J. C.; WANNINAYAKE, S.C.; BLUNDELL J.E. Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **PharmacolBiochemBe**. v. 61, p. 159-168, 1998.

HALFORD J.C; BLUNDELL J.E .Mergolineantagonises fluoxetine-induced suppression offood intake but not changes in the behavioural satiety sequence. **PharmacolBiochem Behav**. v. 54, p.745 –51, 1996a.

HARROLD J. A.;DOVEY, T.M; BLUNDELL, J. E; HALFORD, J.C.G CNS regulation of appetite**Neuropharmacology**, v. 63, p.3-17, 2012.

HEWITT K.N;LEE M.D; DOURISH C.T; CLIFTON P.G. Serotonin 2C receptor agonists and the behavioural satiety sequence in mice . **PharmacolBiochem Behav**. v. 71, p. 691-700, 2000.

HILLEBRAND, J.J.G.; WIED, D; ADAN, R.A.H. Neuropeptides, food intake and body weightregulation: a hypothalamic focus, **Peptides**, V. 23, p 2283–2306, 2002.

HIRINAGI, K;HASEGAWA,M; VIGH,B; VIGH-TEICHMANN, I. Immunocytochemical demonstration of serotonin-immunoreactive cerebrospinal fluid-contacting neuron in the paraventricular organ of pigeons and domestic chickens. **Progress in Brain Research**, v. 91, 1992.

HOELLER AA, DOS SANTOS TS, BRUXEL RR, DALLAZEN AR, SILVA HTA, ANDRÉ ES,et al. Serotonergic control of ingestive and

post-ingestive behaviors in pigeons (*Columba livia*): The role of 5-HT1A receptor-mediated central mechanisms. **Behav Brain Res**, v. 236, p. 118–130, 2013.

HOSODA,N;GORB,S, N. Friction force reduction triggers feetgroomingbehaviour in beetles. **Proc. R. Soc. B**, v.278, p. 1748-1752, 2011.

INVERNIZZI,R; KMIĘCIAK-KOLADA, K;SAMANIN, S. Is receptor activation involved in the mechanism by which (+)-fenfluramine and (+)-norfenfluramine deplete 5-hydroxytryptamine in therat brain?**Br. J. Pharmac**, v. 75, p. 525-530, 1982.

ISHII Y, BLUNDELL J.E, HALFORD J.C.G, RODGERS R.J. Palatability, food intake and the behavioural satiety sequence in male rats. **Physiol Behav**. v. .80, p.37 – 47, 2003.

JACKSON KG, ABRAHAM EC, SMITH AM, MURRAY P, O’MALLEY B, WILLIAMS CM,et al. Impact of age and menopausal status on the postprandial triacylglycerol response in healthy women. **Atherosclerosis**, v. 208, p.246–252, 2010.

KARTEN, H.J.; HODOS, W. **A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (*Columba livia*)**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins Press, 1967

KITCHENER S.J; DOURISH C.T. An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT 1B, 5-HT 1C and 5-HT2 receptor agonists using the post-prandial satiety sequence in rats. **Psychopharmacology**.v..113, p. 369 – 77, 1994.

KRALY, F.S. Drinking elicited by eating.**ProgPsychobiol Physiol Psychol**. v.14.p. 67 –133, 1990.

KULKOSKY P.J; GIBBS J; SMITH G.P. Behavioral effects of bombesin administration in rats.**Physiol Behav**. v. 28, p.505 – 12, 1982.

LAURILA M, HOHTOLA E, SAARELA S, RASHOTTE Me. Adaptive timing of digestion and digestion-related thermogenesis in the pigeon.**Physiol. Behav**, v. 78, p. 441–448, 2003.

LEIBOWITZ, S.F. Brain monoamines and peptides: Role in the control of eating behavior. **Fed.Proc.**, v. 45, p.1396-1403, 1986.

LÓPEZ-ALONSO, V.E; MANCILLA-DIAZ, J.N; RITO-DOMINGO, M; GONZALEZ-HERNANDEZ, B; ESCARTIN-PEREZ, R.E. The effects of 5-HT 1A and 5-HT 2C receptor agonists on behavioral satiety sequence in rats, **Neuroscience Letters**, v. 416, p. 285–288, 2007.

LOPEZ-MIRANDA J, WILLIAMS C, LAIRON D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. **Briti. J. Nutri**, v. 98, p. 458-73, 2007.

LORENZ DN, POPPE CJ, QUAIL C, SEIPEL K, STORDEUR SA, JOHNSON E. Filling the gut activates paradoxical sleep in suckling rats. **DevPsychobiol.** v. 32, p. 1-12, 1998.

MACLARNON, A; HEISTERMANN, M; SEMPLE, S. Grooming in Barbary macaques: better to give than to receive? **Biol. Lett** , v.3, p.231-233, 2007.

MANSBACH RS, LORENZ DN. Cholecystikinin (CCK-8) elicits prandial sleep in rats. **Physiol Behav.** v..30, Ed. 2, p.179-183, 1983.

Martens EAP, Lemmens SGT, Adam TCM, Westerterp-Plantenga MS. Sex differences in HPA axis activity in response to a meal. **Physiol. Behav.**, v.106, p. 272–277, 2012.

McCue MD. Specific dynamic action: A century of investigation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **A Mol. Integr. Physiol**, v.144, p. 381–394, 2006.

McFARLAND, D.J. The effect of hunger on thirst motivated behaviour in the barbary dove, **Animal Behaviour**, v.13, p.286-292, 1965.

MCGUIRK J, MUSCAT R, WILLNER P. Effects of chronically administered fluoxetine and fenfluramine on food intake, body weight and the behavioural satiety sequence. **Psychopharmacology**, v. 106, p.401–7, 1992.

MENEGHELLI, C. ROCHA N.H, MENGATTO V; HOELLER A.A; SANTOS T.S; LINO-DE-OLIVEIRA C.; MARINO-NETO J.et.al.

Distribution of tryptophan hydroxylase-immunoreactive neurons in the brainstem and diencephalon of the pigeon (*Columba livia*) **J ChemNeuroanat; In Press**, doi:10.1016/j.jchemneu.2009.03.007 Available online in 5 April 2009.

MORGAN, C.A; EMMANS, G.C; TOLKAMP,B.J; KYRIAZAKIS,L.Analysis of the feeding behavior of pigs using different models. **Physiology &Behavior** ,v.68, p 395-403, 2000.

MORGAN, L, HAMPTON S, GIBBS M, ARENDT J. Circadian aspects of postprandial metabolism. **ChronobiolInt** , v. 20, p. 795-808, 2003.

MORRIS H.V ; NILSSON S; DIXON C.J; STEPHENS D.N; DOURISH C.T.  $\alpha 1$ - and  $\alpha 2$ -containing GABA A receptor modulation is not necessary for benzodiazepine -induced hyperphagia **Appetite**, v. 52, p.675 –83, 2009.

NIN,M.S;COUTO-PEREIRA,N.S;SOUZA,M.F.et.al. Anxiolytic effect of clonazepam in female rats: Grooming microstructure and elevated plus maze tests. **European Journal of Pharmacology**, v.684, p.95-101, 2012.

NORMILE, H. J; BARRACO,R.A Relation Between Food and Water Intakein the Pigeon (*Columba livia*)**Journal of\* Comparative Psychology** V.98; p.76-90,1984.

NORTON, W.H., FOLCHERT, A., BALLY-CUIF, L. Comparative analysis of serotonin receptor (HTR1A/HTR1B families) and transporter (slc6a4a/b) gene expression in the zebrafishbrain. **J Comp Neurol**. v. 511, p. 521-542, 2008.

ORR WC, SHADID G, HARNISH MJ, ELSENBRUCH S. Meal Composition and Its Effect on Postprandial Sleepiness.**Physiol. Behav**, v. 62, p. 709 -712, 1997.

PARENT, A. Comparative anatomy of the serotonergic systems.**J Physiol**. v. 77, p. 147-156, 1981.

PARKER GC, BALBOUL R, HOBDDAY JA, COSCINA D.V. 5-HT receptor blockade in the posterior amygdala elicits feeding in female rats, **NeuroReport**, v. 12, p. 911–914, 2001.

PHILLIPS, D. H., RASHOTTE, M.E. HENDERSON, R.P Energetic Responses of Pigeons During Food Deprivation and Restricted Feeding. **Physiology & Behavior**, V. 50. p. 195-203, 1990.

RADFORD, A.N; PLESSIS, M. A. D. Dual function of allopreening in the cooperatively breeding green woodhoopoe, **Phoeniculus purpureus Behav Ecol Sociobiol**, v. 61, p.221-230, 2006.

RASHOTTE M.E., PASTUKHOV I.F., POLIAKOV E.L., HENDERSON R.P., Vigilance states and body temperature during the circadian cycle in fed and fasted pigeons (*Columba livia*), **The American Journal of Physiology** 275, p. R1690–R1702, 1998.

RASHOTTE, M. E., PHILLIPS D. L., HENDERSON R. P.. Nocturnal digestion, cloacal excretion, and digestion-related thermogenesis in pigeons (*Columba livia*). **PHYSIOL BEHAV** v..61, p. 83-92, 1997.

RASHOTTE, M.E., SAARELA, S., HENDERSON, R.P., HOHTOLA, E. Shivering and digestion-related thermogenesis in pigeons during dark phase. **Am. J. Physiol.** v.. 277, p.R1579–R1587, 1999.

RAUBENHEIMER, D. GUIDE, J Hunger-thirst Interactions in the Locust, **Locust migratoria J. Insect Physiol**, v. 40, p. 631-639, 1994.

RAVAZIO M.R; PASCHOALINI M.A. Participation of alpha receptors in the neural control of food intake in pigeons. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v.24, p.943–946, 1991.

REINER A, YAMAMOTO K, KARTEN HJ. Organization and evolution of the avian

REIS L.C; RAMALHO M.J.P; ANTUNES-RODRIGUES J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by water deprivation: effect of a serotonergic agonist ( MK-212 ) administered intracerebroventricularly. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v. 23, p.1335-1338, 1990a.

REIS L.C; RAMALHO M.J.P; ANTUNES-RODRIGUES J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by angiotensin II, and carbachol in normally hydrated rats: effect of intracerebroventricular injection of MK-212. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v. 23, p. 1339-1342, 1990b.

RIAL RV, Akaârir M, Gamundí A, Nicolau C, Garau C, Aparicio S, et al. Evolution of wakefulness, sleep and hibernation: from reptiles to mammals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 34, p. 1144-1160, 2010.

RODGERS R.J; HALFO R.D. J.C.G; NUNES DE SOUZA R.L; CANTO DE SOUZA A.L; PIPER D.C, ARCH J.R.S, Dose –response effects of orexin-A on food intake and the behavioural satiety sequence in rats. **Regul Pept.** v. 96. p. 71 –84, 2000.

RODGERS R.J; HALFO R.D. J.C.G; NUNES DE SOUZA R.L; CANTO DE SOUZA A.L; PIPER D.C, ARCH J.R.S SB-334867, a selective orexin-1 receptor antagonist, enhances behavioural satiety and blocks the hyperphagic effect of orexin-A in rats. **Eur J NeuroSci.** v.13, p.1444 –52, 2001.

RODGERS RJ, Holch P, Tallett AJ. Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 97, p. 3-14, 2010.

ROWLAND. N.E. et al. Dexfenfluramine and norfenfluramine: comparison of mechanism of action in feeding and brain Fos-ir studies. **Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.** v..278, p. 390-399, 2000.

RUBNER M Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Franz Deuticke, **Lepizig**, 1902.

SAMANIN, R; GRIGNASCHI G. Drug Receptor Subtypes and Ingestive Behaviour. In: COOPER, S. J ; CLIFTON, P. G. **Role of 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in satiety and animal models of eating disorders.** London: Academic Press, 1996. p. 39-58.

SANEYASU, T. et. al. Neuropeptide Y effect on food intake in broiler and layer chicks **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A. v. 159, p.422-426, 2011.

SAVORY CJ, Kostal L. Is expression of some behaviours associated with de-arousal in restricted-fed chickens? **Physiology & Behavior**, v. 88, p. 473–478, 2006.

SECOR SM. Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response. **Comp. Physiol. B.**, v. 179, p. 1–56, 2009.

SHUTT, K, MacLarnon, A.; Heistermann, M.; Semple, S. Grooming in Barbary macaques: better to give than to receive? **Biol. Lett**, v. 3, p. 231–233, 2007.

SIMANSKY K.J; VAIDYA A.H . Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonists. **Brain Res Bull**, v. 25, p.953 – 60, 1990.

SPRUIJT, B.M; VAN HOOFF A.M.; GISPEN, W.H. Ethology and neurobiology of grooming behavior. **Physiological Reviews**, v. 72; p.825-841, 1992.

STEFFENS S.M. HACKL L.P.N; MARINO-NETO J; PASCHOALINI M.A .Efeitos do tratamento prévio com antagonistas de receptores serotoninérgicos 5-HT1a, 5-HT2/1c e 5-HT3 sobre a resposta dipsogênica desencadeada pela administração central de serotonina em pombos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 24 , 1999, Caxambu. **Anais...** São Paulo: FESBE, 1999.

STEFFENS, S.M.; CASAS D.C; MILANEZ B.C; FREITAS C.G; PASCHOALINI M.A; MARINO-NETO J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. **Brain Res. Bull**, v. 44, p. 681-688, 1997.

STEFFENS, S.M.; CASAS D.C; MILANEZ B.C; FREITAS C.G; PASCHOALINI M.A; MARINO-NETO J. Participação de receptores 5-HT2a-2c e 5-HT-3 na regulação da ingestão de alimentos e água em



pombos. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, 19, 1997, v. 19, p. 22, Caracas, Venezuela, *Anales...*, Caracas: ALACF, 1995.

TAKEI Y. Comparative physiology of body fluid regulation in vertebrates with special reference to thirst regulation. **Japanese Journal of Physiology**, v. 50, p. 171-186, 2000.

TOLKAMP, B.J.; HOWIE, J.A.; BLEY, T.A.G.; KYRIAZAKIS, I. Prandial correlations and the structure of feeding behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 137, p. 53–65, 2012.

VALENSI P, Cosson E. Hemodynamic changes in postprandial state. **Diabetes Metab.**, v.32, p. 37-41, 2006.

VAN DEN BUUSE M, Malpas SC. 24-Hour recordings of blood pressure, heart rate, and behavioral activity in rabbits by radio-telemetry: effects of feeding and hypertension. **Physiol. Behav.** v.62, p.83-87, 1997.

VENTURA, R., Majolo, B., Koyama, N.F., Hardie, S., Schino, G., Reciprocity and interchange in wild Japanese macaques: grooming, co-feeding, and agonistic support. **Am. J. Primatol**, v.68, p. 1138–1149, 2006.

VICKERS SP, CLIFTON PG, DOURISH CT. Behavioural evidence that D-fenfluramine- induced anorexia in the rat is not mediated by the 5-HT 1A receptor subtype. **Psychopharmacology**. v. 125, p.168 – 75, 1996.

VICKERS, S.P.; DOURISCH, C.T.; KENNET, G.A. Evidence that hypophagia induced by d-fenfluramine and norfenfluramine in the rat is mediated by 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Neuropharmacology**. v. 41, p. 200-209, 2001.

WITHERS PC Comparative animal physiology. **Saunders College Publishing**, Fort Worth, 1992.

YAMADA, K.O.K.; NAKAMICHI, M. Grooming-related feeding motivates macaques to groom and affects grooming reciprocity and episode duration in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) **Behavioural Processes**, v.92, p.125-130, 2013.

YOU Y, Kim J, Raizen DM, Avery L. Insulin, cGMP, and TGF- $\beta$  Signals Regulate Food Intake and Quiescence in *C. elegans*: A Model for Satiety. **Cell Metabolism.**, v. 7, p.249–457, 2008.

ZAMMIT GK, Ackerman SH, Shindledecker R, Fauci M, Smith GP. Postprandial sleep and thermogenesis in normal men. **Physiol. Behav.**, v. 52, p. 251-59, 1992.

ZEIGLER HP, Green HL, Lehrer R. Patterns of feeding behavior in the pigeon. *J Comp Physiol Psychol*, v. 76, p.468-477, 1971.

ZIMMERMAN PH, Buijs SAF, Bolhuis JE, Keeling LJ. Behaviour of domestic fowl in anticipation of positive and negative stimuli, **Animal Behaviour**, v. 81, p.569–577, 2011.

ZORRILLA, E.P; INOUE, K; FEKETE, E.M; et al Measuring meals: structure of prandial food and water intake of rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** V.288; p. 1450-1467, 2005.

## APÊNDICE

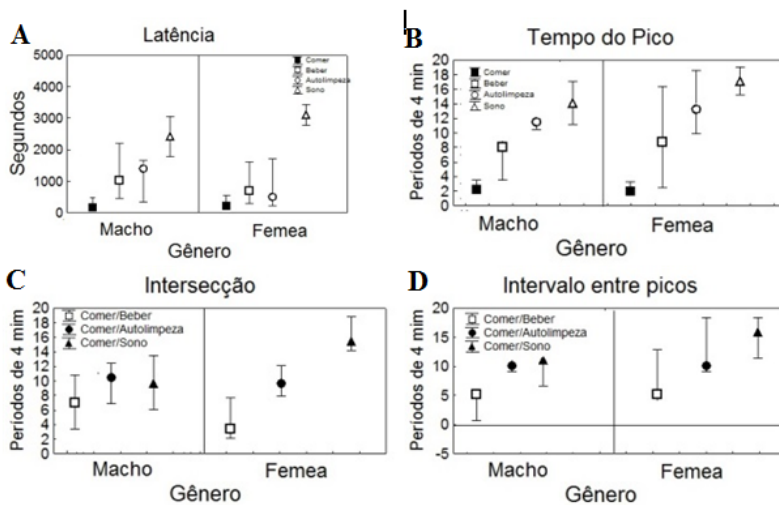


Figura 1- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos gênero macho comparado com as fêmeas submetidos ao protocolo MS-SCS. Dados expressos em mediana + percentil (25-75%). (\*) $p < 0,005$  comparado com a condição (RC).

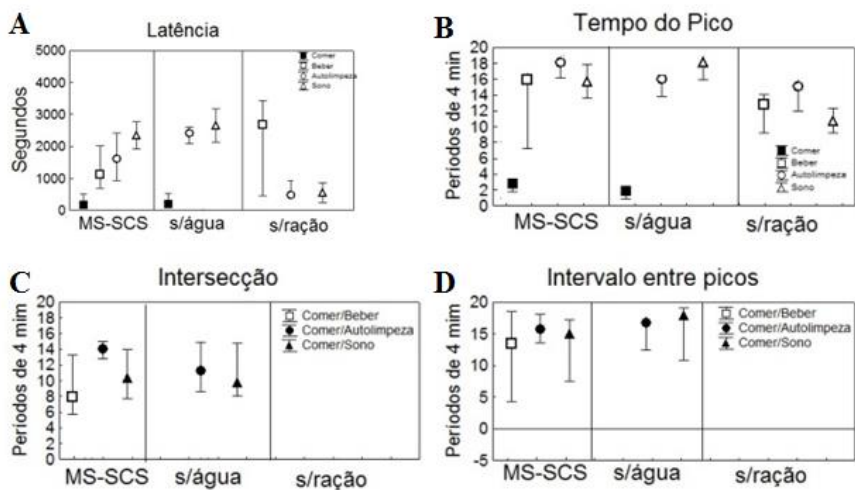


Figura 2- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C), e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais submetidos a ausência de água ou ausência de ração ou protocolo MS-SCS. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75%).

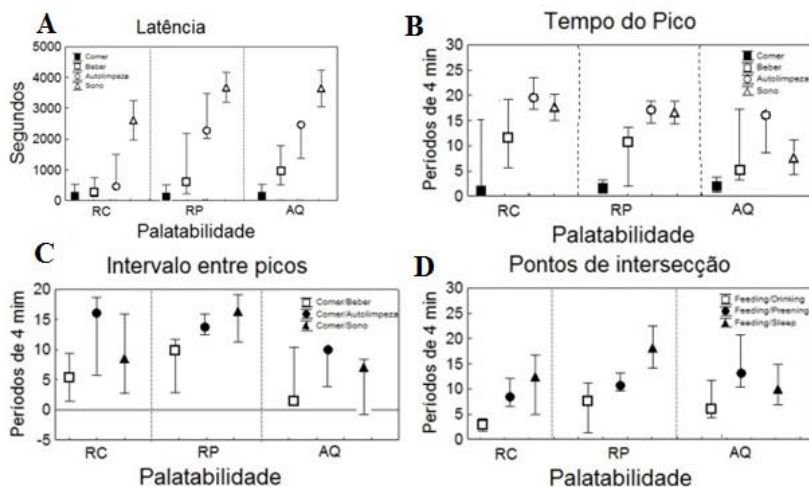


Figura 3- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C), e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais apresentados a ração comum (RC) ou Ração palatável (RP) ou ração palatável adulterada com quinino (AQ). Dados expressos em mediana + percentil (25, 75%).

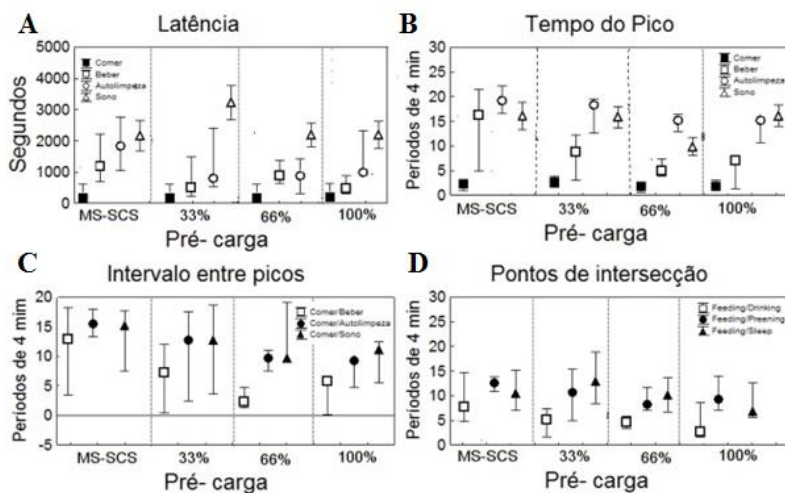


Figura 4- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais apresentados a pr carga de ração palatável equivalente a 33% ou 66% ou 100% do consumo na terceira apresentação mistura de sementes ou ao protocolo MS-SCS. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75).

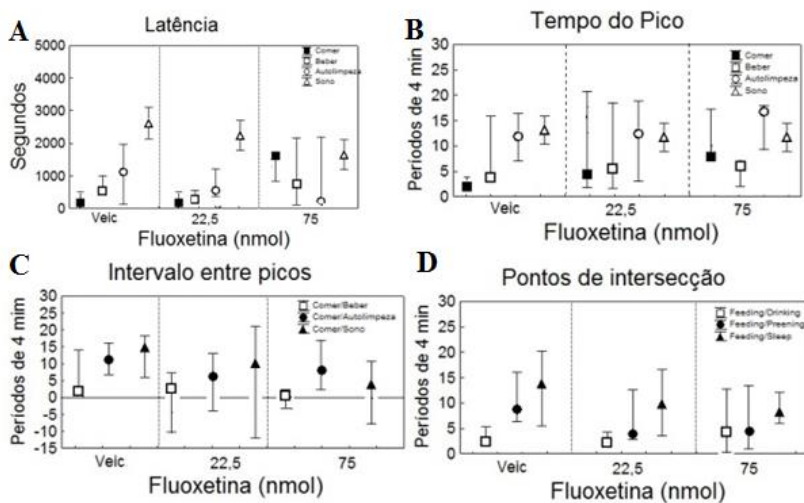


Figura 5- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais tratados com Fluoxetina por via ICV. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75).

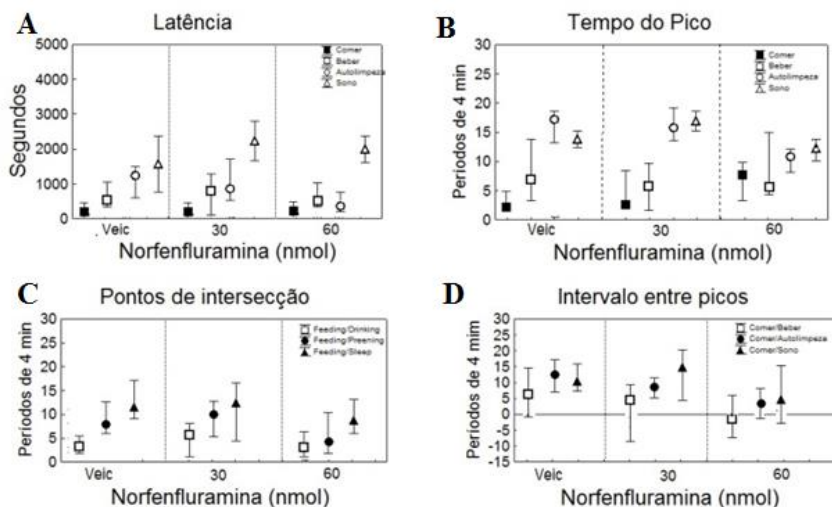


Figura 6- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersección (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais tratados com Norfenfluramina por via ICV. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75).

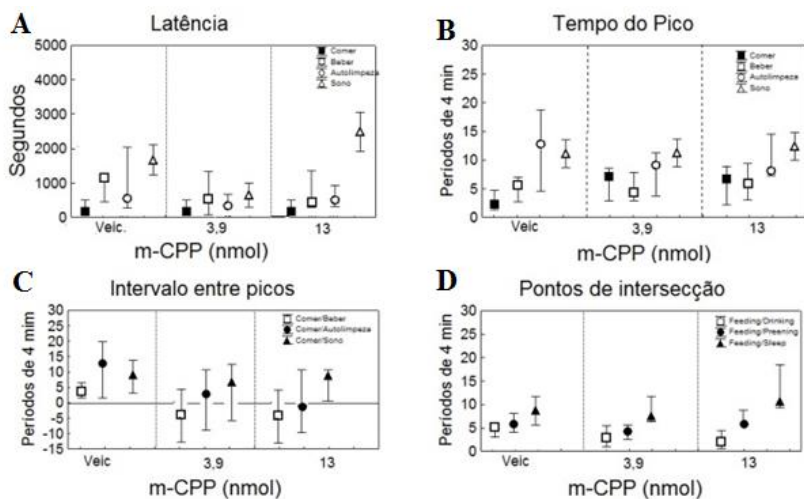


Figura 7- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersección (C) e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais tratados com m-CPP por via ICV. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75).

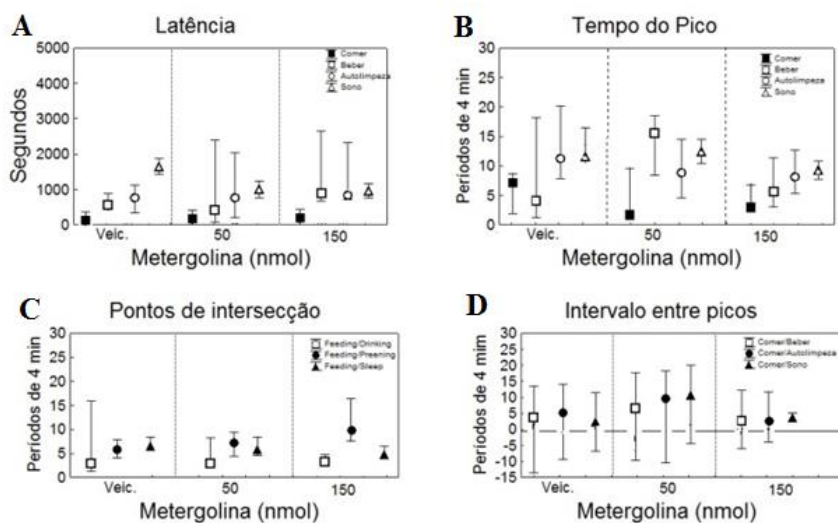


Figura 8- Latência para ocorrência do primeiro evento (A), tempo do pico (B), intersecção (C), e intervalo entre picos (D) dos comportamentos ingestivos em animais tratados com Metergolina por via ICV. Dados expressos em mediana + percentil (25, 75).







