

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
MESTRADO EM NEUROCIÊNCIAS E COMPORTAMENTO

**PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO
AUTÔNOMO NA ATIVAÇÃO DA LIPÓLISE
INDUZIDA PELA INJEÇÃO INTRAVENTRICULAR
DE CARBACOL EM POMBOS**

DENISE MARIA SOUSA DE MELLO

FLORIANÓPOLIS, MAIO, 1996.

DENISE MARIA SOUSA DE MELLO

**PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO
AUTÔNOMO NA ATIVAÇÃO DA LIPÓLISE
INDUZIDA PELA INJEÇÃO INTRAVENTRICULAR
DE CARBACOL EM POMBOS**

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Santa Catarina, para obtenção do
grau de *Mestre em Neurociências e
Comportamento*.**

Orientador: Prof^a Dr^a *Marta Aparecida Paschoalini*

FLORIANÓPOLIS, MAIO, 1996.

**PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO NA ATIVAÇÃO
DA LIPÓLISE INDUZIDA PELA INJEÇÃO INTRAVENTRICULAR DE
CARBACOL EM POMBOS**

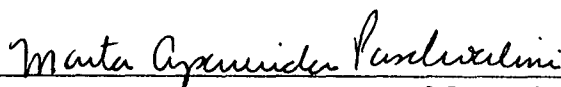
DENISE MARIA SOUSA DE MELLO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS E COMPORTAMENTO

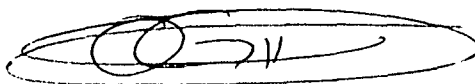
na área de Neurofisiologia e Comportamento Aprovada em sua forma final
pelo Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento.

Orientador



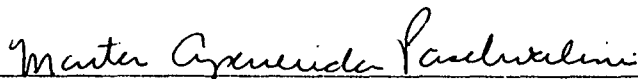
Marta Aparecida Paschoalini

Coordenador do Curso

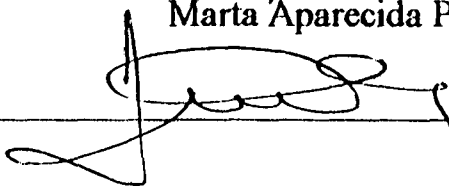


Odival Cezar Gasparotto

Banca Examinadora



Marta Aparecida Paschoalini (Presidente)



José Marino Neto

Candido Celso Coimbra

*"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se a ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda em vão, que sentar-se fazendo nada até
o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver..."*
(Martin Luther King)

Dedico este trabalho aos meus pais, *Antonio e Irene*, que entre muitas lições, ensinaram-me a conduzir a vida com humildade e coragem.

Agradeço especialmente,

meu esposo, *Evilásio*, que soube compreender as ausências, compartilhar deste meu ideal, e principalmente, a participar dessa caminhada.

minha irmã *Susana*, que me acolheu em seu lar e compartilhou de todos os esforços para a realização deste trabalho.

minha irmã *Rosana*, que sempre encontrou as palavras certas, de carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À Profa. *MARTA APARECIDA PASCHOALINI* pela orientação, apoio e dedicação em todos os momentos da realização deste trabalho.

Ao Prof. *ADELMAR TADEU WOLFF* (CAV/UDESC) pela amizade, cooperação e importante colaboração durante o meu período de afastamento para o mestrado.

Ao Prof. *JOSÉ MARINO NETO*, pela convivência, pelo auxílio e sugestões na confecção deste trabalho.

Ao Prof. *VALFREDO SCHLEMPER* pela amizade e colaboração na área de farmacologia.

Aos amigos *RAFAEL* e *EDSON*, pelo apoio técnico e principalmente pelos bons momentos passados no Laboratório de Fisiologia da UFSC.

À *LUCIANE* pela amizade e pelo importante auxílio técnico durante a fase experimental.

Aos Diretores do Centro Agroveterinário pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Fisiologia - CCB-UFSC.

*"Não se pode ensinar tudo a alguém, pode-se apenas ajudá-lo a encontrar por si mesmo".
(Galileu Galilei)*

.. e neste momento, só posso agradecer a DEUS, o Único que poderia criar tantos amigos e fatores que convergiriam neste trabalho. Espero ter cumprido este desígnio.

"Quando Deus quer, o homem sonha, a obra nasce".
(Fernando Pessoa)

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	13
1 ANIMAIS	14
2 IMPLANTAÇÃO DAS CÂNULAS NO VENTRÍCULO LATERAL	14
3 INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR	15
4 IMPLANTAÇÃO DE CÂNULAS NA ARTÉRIA BRAQUIAL	15
5 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE	16
6 SOLUÇÕES ADMINISTRADAS NO VENTRÍCULO LATERAL	16
7 SOLUÇÕES ADMINISTRADAS POR VIA INTRAPERITONEAL	16
8 DETERMINAÇÃO DOS AGL PLASMÁTICOS	17
9 REAGENTES	17
10 HISTOLOGIA	17
11 ANÁLISE DOS RESULTADOS	18
RESULTADOS	19
1 BLOQUEIO GANGLIONAR	20
1.1- Efeito da administração icv de carbacol em pombos pré-tratados com hexametônio sobre o aumento nos níveis plasmáticos de AGL	20
2 - BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO PARASSIMPÁTICO	23
2.1 Efeito da administração icv de carbacol em pombos pré-tratados com atropina ou metil-escopolamina sobre o aumento dos níveis plasmáticos de AGL	23
2.2 Efeito da administração ip de atropina ou metilescopolamina sobre a concentração plasmática de AGL em pombos acordados.	26
3 - BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO	29
3.1 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados com guanetidina por via ip sobre o aumento da concentração plasmática de AGL.	29
3.2 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados por via ip com bloqueadores α ou β -adrenérgicos sobre o aumento da concentração plasmática de AGL	30
3.3 Efeito da administração ip de propranolol ou fentolamina sobre a concentração plasmática de AGL em pombos acordados.	32
4 BLOQUEIO DA SECREÇÃO ENDÓCRINA DO PÂNCREAS	34
4.1 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados por via ip com somatostatina sobre o aumento na concentração de AGL plasmático.	34
5 PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA LIPOMOBILIZAÇÃO EM POMBOS	36
5.1 Efeitos da administração ip de adrenalina, noradrenalina ou salina sobre a concentração de AGL no plasma de pombos acordados.	36
DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	52

RESUMO

Várias evidências indicam que o sistema nervoso central (SNC) é capaz de influenciar a mobilização de ácido graxos livres (AGL) do tecido adiposo em várias espécies de mamíferos. Após a estimulação elétrica do hipotálamo de coelhos, macacos, cães, gatos e ratos, foi observado um aumento na concentração plasmática de AGL. Tem sido demonstrado em ratos, que a desconexão hipotalâmica anterior interfere na mobilização de AGL em situações fisiológicas que requerem aumento na atividade simpática, como durante a exposição ao frio, atividade muscular forçada ou um período relativamente longo de jejum. Experimentos posteriores indicaram uma via longitudinal conectando a área pré-óptica, o hipotálamo lateral e o hipotálamo posterior e que participa do processo de mobilização de AGL em ratos. Entretanto, em aves, não existem dados diretos da possível existência e natureza da participação do SNC na lipomobilização, enquanto que os AGL circulantes representam uma importante fonte de energia em situações fisiológicas que exigem grandes demandas calóricas. Como primeiro passo para explorar os mecanismos de regulação central da lipomobilização em aves, foi efetuado a estimulação química do SNC por intermédio da injeção de carbacol no interior do ventrículo lateral (icv) de pombos acordados, e foram determinados os níveis plasmáticos de AGL. A injeção icv de carbacol (27nmol) produziu um aumento gradual nos níveis plasmáticos de AGL. Os resultados obtidos após a injeção de carbacol, além de indicarem a existência de um mecanismo central controlando a mobilização de AGL do tecido adiposo de pombos, sugerem que um componente colinérgico central pode estar envolvido em tal mecanismo.

O presente estudo teve por objetivo investigar o efeito da injeção icv de carbacol para induzir a lipólise em pombos. A participação do sistema nervoso autônomo (SNA) foi examinada por intermédio da utilização de um bloqueador ganglionar. Quando os animais

foram pré-tratados com hexametônio (36,5 μmol), através de injeção intraperitoneal (ip) 20 min antes da administração icv de carbacol (27nmol), o aumento na concentração dos AGL no plasma induzido pelo carbacol foi abolido. No experimento seguinte, o pré-tratamento com um bloqueador colinérgico muscarínico, atropina (14,4 μmol) ou metil-escopolamina (1,5 μmol), seguido pela injeção icv de carbacol, não modificou a resposta de mobilização dos AGL do tecido adiposo, provocada pelo agonista colinérgico. No entanto, quando a atropina ou a metil-escopolamina foram administradas por via ip, não acompanhadas pela injeção icv de carbacol, pode-se observar uma elevação na concentração plasmática de AGL semelhante àquela induzida pela injeção icv de carbacol. Esses resultados indicam que a lipólise induzida pela injeção icv de carbacol pode envolver a supressão do tônus parassimpático, com um predomínio ou um aumento na atividade simpática. O sistema nervoso simpático (SNS) possui duas vias por onde o seu efeito é mediado para o tecido adiposo: uma é a inervação simpática dirigida diretamente ao tecido adiposo e a outra por intermédio do controle humoral do tecido adiposo pela medula adrenal. O pré-tratamento (ip) com propranolol (17 μmol) bloqueou completamente a elevação na concentração plasmática de AGL, enquanto que o tratamento prévio com guanetidina (100 μmol) ou fentolamina (9,4 μmol) provocou uma inibição parcial e tardia da mobilização de AGL provocada pelo carbacol. Estes dados demonstram que o SNS está envolvido no mecanismo da lipólise induzido pela administração de carbacol. Além disso, os dados obtidos com a injeção ip de guanetidina, sugerem que a ativação do SNS envolve essencialmente a estimulação da secreção das catecolaminas pela medula adrenal. No experimento seguinte, o objetivo foi verificar o possível papel do glucagon e da insulina na lipólise induzida pelo

carbacol. Para isso, a secreção destes hormônios foi suprimida pelo pré-tratamento com somatostatina (15nmol ou 30nmol). Quando os animais foram pré-tratados com a dose maior de somatostatina (30 nmol) o aumento na concentração plasmática de AGL induzida pelo carbacol foi abolida. Portanto, as catecolaminas circulantes poderiam interagir com receptores α ou β -adrenérgicos, localizados nas células pancreáticas, para aumentar, possivelmente, a secreção de glucagon. O glucagon é considerado um potente hormônio lipolítico em aves . Dessa forma, o glucagon liberado no sangue agiria sobre o tecido adiposo provocando a ativação da lipólise em resposta à injeção icv de carbacol em pombos.

ABSTRACT

Several evidences indicate that central nervous system (CNS) is capable of influencing free fatty acid (FFA) mobilization from adipose tissue in many mammalian species. After electrical stimulation of the hypothalamus of the rabbit, monkey, dogs, cats and rats, increases in the concentration of plasma FFA were repeatedly observed. In addition, it has been shown that anterior hypothalamic deafferentation in rats impairs FFA mobilization, in a number of physiological situations requiring increased sympathetic activity, as during cold exposure, forced muscular activity or a relatively long period of fasting. Subsequent studies indicated that a longitudinal pathway connecting the preoptic, lateral and posterior hypothalamic areas participates in the process of FFA mobilization in rats. However, in avian species, there are no data concerning the possible existence and nature of the CNS participation in lipomobilization, while circulating FFA represent a crucial fuel in a number of physiological situations where important demands energy hold. As a first step to explore the central regulatory mechanisms for FFA mobilization in avian species were made central chemical stimulation by injecting carbachol into the brain lateral ventricle (icv) of conscious pigeons, and were determined plasma FFA levels. ICV injection of carbachol (27 nmol) to conscious pigeons produced a gradual increase in the plasma FFA levels. The results obtained after ICV injection of carbachol, besides indicating the existence of central mechanisms controlling FFA mobilization from adipose tissue of pigeons, suggested that central cholinergic components could be importantly involved in such mechanisms.

The present study was designed to investigate the effect of icv injection of carbachol to induce lipolysis in pigeons. The autonomic nervous system (ANS) route was examined by using a ganglionic blocker. When the animals were pretreated with

hexamethonium (36.5 μmol) through the intraperitoneal (ip) injection 20 min before the icv administration of carbachol (27 nmol), the increase of plasma FFA concentration induced by carbachol was abolished. In the next experiment, the pretreatment with a cholinergic blockers muscarinics, atropine (14.4 μmol) or methyl scopolamine (1.5 μmol), followed by icv injection of carbachol did not change the FFA mobilization response to cholinergic agonist. When atropine or methyl scopolamine were administered (ip) alone, the lipolytic response observed was similar to that induced by icv injection of carbachol. These results indicate that the lipolysis induced by icv carbachol could be involved the suppression of parasympathetic tone, associated with either a predominance of or an increase in the sympathetic activity. The sympathetic nervous system (SNS) has two pathways through which its effect is mediated to adipose tissue. One is direct sympathetic innervation of adipose tissue and the other is humoral control of adipose tissue by the adrenal medulla. The treatment (ip) with propranolol (17 μmol) previously to carbachol completely blocked the elevation in plasma FFA concentration, while the pretreatment with guanethidine (100 μmol) or phentolamine (9.4 μmol) provoked a delayed, partial inhibition of FFA mobilization response to carbachol. These data show that, the SNS is involved in the mechanism of lipolysis induced by icv administration of carbachol. Besides, the results obtained for injection (ip) of guanethidine, suggested that such an activation of SNS involves essentially an stimulation of catecholamine secretion from adrenal medulla. In the next experiment the purpose was to estimate the possible role of glucagon and insulin in mediating the lipolysis response to carbachol. Therefore, secretion these hormones were suppressed by ip injection of somatostatin (15 nmol e 30 nmol) previously to the icv injection of carbachol. When the

animals were pretreated with the higher dose of somatostatin (30 nmol) the increase of plasma FFA concentration induced by carbachol was abolished. Therefore, there is the possibility that blood-borne catecholamines then interacts with pancreatic cell α and β adrenoceptors to increase glucagon secretion. In turn, FFA mobilization from adipose tissue is induced by this increase in glucagon, known to be a potent lipolytic hormone in avian species.

INTRODUÇÃO

O tecido adiposo tem se revelado como um local de um metabolismo ativo capaz de sintetizar e armazenar triacilgliceróis, e liberar ácidos graxos livres (AGL) e glicerol para o sangue, em situações de demanda energética. O triacilglicerol sofre hidrólise por ação da enzima lipase hormônio sensível (Cherel e cols., 1988). Os AGL liberados no sangue se ligam à albumina e são transportados aos vários tecidos, onde são utilizados como combustível (Goodman, 1958).

Uma parte dos AGL, formados pela lipólise, pode ser reesterificada no tecido adiposo (Cahill e cols., 1960; Leboeuf e cols., 1959) sendo que a reesterificação depende da disponibilidade de α -glicerofosfato, produto do metabolismo da glicose no tecido adiposo, para formar o triacilglicerol (Shapiro e cols., 1957; Leboeuf e cols., 1959). Pelo fato da gliceroquinase ter pouca atividade no tecido adiposo, o glicerol não é utilizado na reesterificação. O glicerol livre, então, difunde-se para o sangue, sendo utilizado pelo fígado, que possui a gliceroquinase ativa (Hagen, 1961).

A concentração plasmática de AGL em condições de repouso é de cerca de 2-5% dos ácidos graxos totais (Hales e cols., 1978). Apesar da pequena quantidade de AGL no sangue, sua velocidade de renovação é extremamente rápida, o que torna possível o transporte de grandes quantidades de AGL aos tecidos. A vida média dos AGL no plasma é de 2-3 minutos e a velocidade de sua renovação é em torno de 30% por minuto (Bierman e cols., 1957; Fredrickson e Gordon, 1958 ; Havel e Frederickson, 1956; Laurell, 1957).

Durante o jejum, exercício físico ou exposição aguda ao frio, a concentração plasmática de AGL pode aumentar cerca de cinco vezes, tornando-se a principal fonte de

energia, responsável por mais de 60% do total de calorias consumidas pelo organismo (George e Berger, 1966; Berthold, 1975; Ramenofsky, 1990; Carlson e cols., 1965).

A captação dos AGL pelos tecidos parece ser proporcional a sua concentração no plasma (Armstrog e cols., 1961a e b; Frederickson e Gordon, 1958; Issekutz e cols., 1967), sendo o aumento de AGL no plasma acompanhado por aumento na sua velocidade de renovação (Frederickson e Gordon, 1958; Laurell, 1957). Assim, a concentração dos AGL no plasma depende essencialmente do grau de sua mobilização. Por isso, o aumento da concentração plasmática AGL, geralmente indica aumento da lipomobilização e vice-versa (Carlson e cols., 1965).

Fatores nutricionais controlam a lipomobilização principalmente por meio da oferta de glicose para o tecido adiposo. Um aumento na disponibilidade de glicose pode elevar o nível de α -glicerofosfato e aumentar a velocidade de reesterificação. Como resultado, a liberação de AGL pelo tecido adiposo diminui. Ao contrário, uma queda da disponibilidade de glicose reduz o nível de α -glicerofosfato, favorecendo uma maior mobilização de AGL.

Os fatores hormonais podem agir no tecido adiposo modulando diretamente a hidrólise dos triacilgliceróis (lipólise) ou controlando a entrada de glicose para o interior dos adipócitos (esterificação).

A insulina é o principal hormônio antilipolítico de importância fisiológica em mamíferos. A insulina estimula o transporte de glicose para o interior da célula, aumentando o provimento de α -glicerofosfato, bem como, a velocidade de reesterificação dos AGL (Bally e cols., 1965). Esse hormônio exerce, além disso, uma ação antilipolítica direta,

impedindo a hidrólise dos triacilgliceróis já formados (Fain e cols., 1966; Jungas e Ball, 1963; Zierler e Rabinowitz, 1964).

As catecolaminas (Gordon e Cherkes, 1958; White e Engel, 1958), o glucagon (Steinberg e cols., 1959), o hormônio do crescimento (GH) e os glicocorticóides (White e Engel, 1958; Raben e Hollenberg, 1959), e os hormônios tireoidianos (Hales, 1978) também participam na regulação da lipomobilização. O glucagon e catecolaminas são hormônios de ação rápida e aceleram a hidrólise dos triacilgliceróis dentro de minutos produzindo AGL e glicerol.

A ação do glucagon sobre o tecido adiposo *in vitro* é qualitativamente semelhante ao efeito induzido pelas catecolaminas, promovendo aumento da liberação de AGL e glicerol para o meio de incubação (Hagen, 1961; Leboeuf e cols., 1959; Lynn e cols., 1960; Vaughan e Steinberg, 1963; Vaughan, 1961; Steinberg e cols., 1959); no entanto, quantitativamente, difere das catecolaminas porque seu efeito máximo é muito menor. Além disso, o seu papel fisiológico no controle da lipólise em mamíferos parece ser de pequena importância (Lefebvre, 1966).

O GH e os glicocorticóides apresentam uma ação mais lenta sobre a ativação da lipólise. A liberação de AGL pelo tecido adiposo na presença desses dois hormônios ocorre após um período de latência de 1 a 2 horas, sendo considerado um controle a longo prazo (Fain e cols., 1965).

O aumento da mobilização de AGL induzido pelo GH é maior durante o jejum, e pode ser completamente suprimido quando aumenta a disponibilidade de glicose ou após a ingestão de alimentos (Doorenbos e col., 1964; Jansz e cols., 1963; Raben, 1959; Raben e

Hollenberg, 1959). Por outro lado, o aumento da lipólise verificado na presença do GH não está associado com alterações na velocidade de conversão da glicose marcada em CO_2 , α -glicerofosfato ou ácido graxo, sugerindo uma ação direta desse hormônio sobre a ativação da lipomobilização no tecido adiposo (Fain e cols., 1965; Galton e Bray, 1967).

A maneira pela qual os glicocorticóides promovem elevação da mobilização de AGL, envolve inibição da captação e da utilização de glicose pelo tecido adiposo (Czech e Fain, 1972; Fain e cols., 1963; Leboeuf e cols., 1962; Linder e Migliorini, 1974; Munck e Koritz, 1962; Shafrir e Kerpel, 1964), que provoca uma redução na taxa de reesterificação, favorecendo a liberação de AGL pelo adipócito. Além disso, parece haver um efeito direto dos glicocorticóides sobre a ativação da lipomobilização, independentemente de modificações da velocidade de utilização de glicose pelo tecido adiposo. Mahler e Stafford (1963) verificaram que a adição de glicocorticóides a fragmentos de tecido adiposo isolados *in vitro* aumentava a liberação de glicerol para o meio de incubação, mesmo na ausência de glicose. Embora esse fato nem sempre tenha sido observado (Fain e cols., 1965), ou somente com altas concentrações de glicocorticóides (Jeanrenaud, 1967), não se pode excluir a possibilidade de uma elevação da velocidade de lipólise contribuir para a liberação de AGL, na presença desse hormônio.

Os hormônios do córtex da adrenal também são necessários para a atividade lipolítica das catecolaminas (Shafrir e Steinberg, 1960). Tecido adiposo de ratos adrenalectomizados mostram uma menor capacidade de responder aos hormônios lipolíticos (Allen e Beck, 1972; Reshef e Shapiro, 1960) e esse defeito pode ser corrigido pelo tratamento com glicocorticóides.

Os hormônios tireoideanos não têm um efeito lipolítico direto *in vitro* mas parece que estão relacionados com a manutenção da sensibilidade lipolítica do tecido adiposo (Debons e Schwartz, 1961). Os hormônios tireoideanos são essenciais para o aumento na lipomobilização induzido pelas catecolaminas (Debons e Schwartz, 1961; Deykin e Vaughan, 1963; Harlan e cols., 1963).

Mudanças rápidas da liberação de AGL, como as exigidas durante a exposição ao frio ou em exercício, são mediadas diretamente por impulsos nervosos. Vários estudos apontam o sistema nervoso simpático como o principal regulador da mobilização de AGL no tecido adiposo. A estimulação elétrica *in vitro* de nervos simpáticos que inervam o tecido adiposo epididimal de ratos ou coelhos, provoca rapidamente liberação de AGL para o meio de incubação (Correl, 1961, 1963a), sendo esta uma evidência direta de que a inervação simpática promove lipomobilização. Os níveis de AGL no plasma apresentam uma queda após a administração de bloqueadores ganglionares ou adrenérgicos (Goodman e Knobil, 1959; Havel e Godfien 1959a e b), sugerindo uma atividade tônica de nervos simpáticos estimulando a lipólise. A noradrenalina liberada pelas terminações simpáticas no tecido adiposo aumenta a mobilização de AGL primariamente por acelerar a hidrólise dos triacilgliceróis.

As catecolaminas circulantes não desempenham papel importante na lipomobilização: os níveis da AGL no plasma não são reduzidos em cães adrenalectomizados mantidos com cortisona (Havel e Golfien, 1959a e b). Durante o exercício prolongado ocorre a elevação da concentração de AGL no plasma de indivíduos normais (Basu e cols., 1960; Cobb e Johnson, 1963; Friedberg e cols., 1963; Havel e cols., 1963). A adrenalectomia não

modifica essa resposta durante o exercício (Basu e cols., 1960). Gilgen e cols., (1962) observaram que ratos adrenomedulectomizados expostos ao frio conseguiam manter a temperatura corporal e a elevação dos níveis plasmáticos de AGL tão bem como os animais intactos. O pré-tratamento com drogas inibidoras da liberação de noradrenalina das terminações nervosas ou depletoras do conteúdo de noradrenalina, no tecido adiposo, bloqueia o aumento na concentração de AGL no plasma e causa queda da temperatura corporal. Esses fatos indicam que a regulação da lipomobilização envolve primariamente a ativação direta e contínua dos terminais pós-ganglionares simpáticos diretamente no tecido adiposo, não sendo limitada pelos níveis circulantes de catecolaminas de origem adrenal.

Há várias evidências de que o hipotálamo também está envolvido no controle neural da mobilização de AGL no tecido adiposo. A estimulação elétrica do hipotálamo de coelhos (Correl, 1963b; Kumon e cols., 1976 e 1977), macacos (Correl, 1963b), cães (Oro e cols., 1965), ratos (Barkai e Allweis, 1972b) e gatos (Barkai e Allweis, 1972a) provoca aumento dos níveis de AGL e glicerol no plasma dessas espécies.

A desconexão hipotalâmica anterior interfere na mobilização de AGL do tecido adiposo durante o jejum, o exercício físico e durante a exposição ao frio (Gross e Migliorini, 1977) situações fisiológicas durante as quais o sistema nervoso simpático (SNS) intervém amplamente. Esses estudos indicam que as áreas do SNC responsáveis pelo controle neural da lipólise se situa rostralmente ao hipotálamo médio ou ainda no próximo local da lesão causada pela faca utilizada na desconexão hipotalâmica.

Coimbra e Migliorini (1983) sugeriram a existência de uma via longitudinal que vincula a área pré-óptica, o hipotálamo lateral e o hipotálamo posterior e que participa do

processo de mobilização de AGL em ratos. A ativação de glicorreceptores, sensíveis à insulina, localizados na área pré-óptica enviariam impulsos à fibras simpáticas que inervam o tecido adiposo, por meio de projeções às áreas hipotalâmica lateral e hipotalâmica posterior (Coimbra e Migliorini, 1986).

Também foi demonstrado que centros sensíveis à insulina no SNC participam no controle da mobilização de AGL durante o jejum, em coelhos submetidos a estimulação química do SNC com glicose ou substâncias que afetam o metabolismo da glicose, provavelmente modulando o tônus simpático ao tecido adiposo (Paschoalini e Migliorini, 1990)

O conjunto de informações relatadas até o momento foram extraídas de experimentos realizados em diferentes espécies de mamíferos. Em aves, o controle hormonal do metabolismo de lipídios parece ser muito diferente daquele descrito para mamíferos. É geralmente relatado na literatura que, em aves (sendo o *Gallus domesticus* a espécie mais estudada), o tecido adiposo é pouco responsivo às catecolaminas, sendo intensamente sensível ao efeito lipolítico do glucagon. Além disso, a insulina é considerada um hormônio sem ação anti-lipolítica (ver revisões de Hales, 1978; Hissa, 1988).

Entretanto, a participação das catecolaminas na ativação da lipólise em aves é variável de acordo com a idade, o estado nutricional, as condições experimentais ou a espécie de ave estudada. As catecolaminas provocam um aumento significativo na concentração de AGL no plasma em galinhas alimentadas, o que não ocorre em galinhas submetidas a jejum de 18 horas (Freeman e Manning, 1974).

A adrenalina e a noradrenalina não são lipolíticas em embriões de pintos (Freeman, 1969; Freeman e Manning, 1971), devido provavelmente à imaturidade funcional do tecido. A noradrenalina é moderadamente ativa em pintos de um dia e a sensibilidade do tecido aumenta até a 4ª semana (Freeman, 1969). Essa sensibilidade é reduzida na 8ª semana e é rapidamente perdida em aves mais velhas (Carlson e cols., 1964). A adrenalina não tem atividade lipolítica em pintos de um dia (Freeman e Manning, 1971), exercendo porém alguma atividade em aves de 3 a 4 semanas de idade (Langslow e Hales, 1969; Freeman e Manning, 1974) e nenhuma ação a partir da 5ª semana (Langslow e cols., 1970).

Carlson e cols. (1964) registraram que a administração de noradrenalina, tanto quanto *in vivo* como *in vitro*, não afeta a concentração de AGL em galinhas. No entanto, a adrenalina estimula, *in vitro*, a lipólise no tecido adiposo de pombos (Goodbridge e Ball, 1965). Foi verificado um aumento de AGL no plasma após infusão de noradrenalina e adrenalina em gansos acordados, e uma progressiva redução em gansos e patos anestesiados (Grande, 1969). Em perus acordados, a infusão de noradrenalina não provocou modificações na concentração dos AGL no plasma (Grande, 1969).

Em relação à insulina evidências na literatura também são conflitantes. Experimentos realizados em galinhas, intactas ou pancreatectomizadas, mostram que em ambas as situações, a injeção de insulina aumenta a concentração plasmática de AGL (Heald e cols., 1965; Pearce, 1977; Hazelwood, 1986; Lepkovsky e cols., 1967; Langslow e Hales, 1969; Langslow e Hales, 1971; Grande e cols., 1972). Em patos, a pancreatectomia suprime o aumento na concentração de glucagon e na concentração de AGL no plasma em resposta à injeção de insulina (Hazelwood, 1973). Em gansos e corujas, a injeção de insulina não

provoca alterações na concentração plasmática de AGL (Grande, 1969, 1970). Portanto, a insulina pode apresentar efeitos distintos sobre a regulação da atividade lipolítica do tecido adiposo em aves, dependendo da espécie estudada ou das condições experimentais.

O glucagon é considerado o principal hormônio no controle fisiológico da lipólise em aves. Várias evidências contribuem para isso: a) o glucagon exerce um intenso efeito lipolítico tanto *in vivo* como *in vitro* em todas as espécies de aves estudadas, sendo considerada essa ação muito mais poderosa do que aquela observada em mamíferos (Heald e cols., 1965; Freeman e Manning, 1971; John e George, 1973; Palokangas e cols., 1973; Barre e cols., 1987; Hazelwood, 1973); b) após pancreatectomia em aves granívoras ocorre uma redução na concentração plasmática de AGL (Hohtola e cols., 1977; O'Neill e Langslow, 1978); c) alterações na concentração plasmática de AGL acompanham alterações na concentração de glucagon circulante (Harvey e cols., 1982); d) a concentração de glucagon no pâncreas de aves é maior do que em mamíferos; (Hazelwood, 1973).

A participação de mecanismos neurais no controle da lipomobilização em aves tem sido sugerida em situações fisiológicas de demanda energética, como o jejum, exposição aguda ao frio e exercício. A literatura é bastante extensa em demonstrar que, nessas condições, em diferentes espécies de aves, há um aumento na mobilização de AGL no plasma.

Um aumento na concentração de AGL no plasma foi observado durante o voo em pombos (John e cols., 1988; John e George, 1973; McKeown e cols., 1974) e pequenos pássaros (Davison e cols., 1983); em pombos submetidos ao exercício pela estimulação elétrica do músculo peitoral (John e George, 1973), e em aves durante vôos migratórios

(Jenni-Eiermann e Jenni, 1991). Parker e George (1974) demonstraram a oxidação de AGL em pombos submetidos a exercícios prolongados. Os AGL são considerados as principais fontes de energia para a atividade muscular durante o voo (George e Berger, 1966; George e Vallyathan, 1964).

Também foi demonstrado em frangos (Freeman, 1967,1970; Wagner e cols., 1971), pintos (Davison, 1973), em pombos adultos (Parker, 1978), ou pequenos pássaros (Davison e cols., 1983), quando expostos ao frio, um aumento significativo da concentração de AGL plasmático. John e George (1973) observaram uma maior concentração de AGL no plasma durante o inverno em pombos.

Além disso, em frangos machos, submetidos ao jejum de 16 horas, foi observado um aumento na concentração dos AGL plasmáticos (Lepkovsky e cols., 1967; Vallyathan e cols., 1970). Goodridge e Ball (1967) registraram um resultado similar também em pombos.

As observações descritas acima mostram que a concentração de AGL no plasma varia em situações fisiológicas que exigem ajustes rápidos na liberação de substratos energéticos, como os AGL, para atender as necessidades metabólicas do organismo. Portanto, seria razoável pensar que o SNC de aves, como o de mamíferos, exerceria influências diretas sobre os mecanismos fisiológicas que regulam a lipólise, assegurando o fornecimento de energia para os diferentes tecidos.

Experimentos conduzidos em nosso laboratório mostram que a administração intraventricular (icv) de carbacol, em pombos, provoca um aumento na concentração de AGL no plasma. Esse resultado sugere a participação de circuitos colinérgicos centrais no controle neural da lipomobilização em pombos (Padilha-Filho e cols., 1993).

Dando continuidade a essa linha de investigação, o presente trabalho teve por objetivo investigar o efeito da injeção icv de carbacol no aumento da concentração plasmática de AGL em pombos.

Pelo menos, quatro vias poderiam estar envolvidas no mecanismo de ativação da lipólise em pombos:

1) hormônios hipofisários, que chegariam ao tecido adiposo através da circulação sanguínea;

2) a ativação de fibras pós-ganglionares simpáticas dirigidas diretamente ao tecido adiposo;

3) catecolaminas de origem adrenal que seriam liberadas no sangue após ativação do sistema nervoso simpático;

4) glucagon pancreático, que seria liberado no sangue após a ativação do sistema nervoso simpático.

Neste trabalho foi investigada a participação do SNA, incluindo a liberação de catecolaminas pela medula da adrenal, e seu papel sobre a modulação da secreção de hormônios pancreáticos. Parte dos dados do presente trabalho foi recentemente aceita para publicação no *Journal of the Autonomic Nervous System* (ver ANEXO 1).

MATERIAL E MÉTODOS

1 ANIMAIS

Foram utilizados pombos de ambos os sexos com peso corporal variando entre 300-400g e mantidos em gaiolas individuais com água e alimento *ad libitum*, em uma sala com temperatura controlada entre 22-24^o, e um ciclo claro-escuro de 12 horas (luz das 7-19 h).

2 IMPLANTAÇÃO DAS CÂNULAS NO VENTRÍCULO LATERAL

Os pombos foram anestesiados com uma solução de Equitesin (0,15 ml/100g) injetada por via intraperitoneal (ip). Em seguida, os animais foram adaptados ao aparelho estereotáxico tendo a cabeça fixada por intermédio de barras posicionada no conduto auditivo e no bico, com uma distância entre os dois pontos ajustada para 16 mm e formando um ângulo de 45^o. Após a assepsia com álcool iodado, uma incisão longitudinal foi realizada no escalpo para exposição da calota craniana. A seguir, uma cânula guia feita a partir de um segmento de uma agulha hipodérmica, com 0,7 mm de diâmetro externo e 15 mm de comprimento, foi posicionada no ventrículo cerebral lateral de acordo com as 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

O contato da ponta da cânula com o ventrículo foi indicada pela queda de pressão registrada em um manômetro contendo solução fisiológica. Após a entrada no

ventrículo, a cânula foi fixada à calota craniana por meio de parafusos e envolvida por acrílico autopolimerizável, formando um conjunto sólido capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola ou durante a manipulação para injeções icv. Em cada cânula foi ajustado um mandril de aço inoxidável para evitar sua obstrução. A injeção icv das diferentes substâncias foi realizada em animais despertos, uma semana após a implantação da cânula-guia no ventrículo lateral.

3 INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR

A injeção icv foi realizada por meio de uma agulha injetora (Mizzy-Slide-Park), com 0,3 mm de diâmetro, introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno a uma microsseringa Hamilton (10 μ l). Seu tamanho excedeu o da cânula-guia em 1,0 mm. Com o objetivo de minimizar variações na pressão intraventricular as soluções foram administradas num período de 1 min. O volume injetado foi sempre de 1 μ l.

4 IMPLANTAÇÃO DE CÂNULAS NA ARTÉRIA BRAQUIAL

Para a coleta de sangue, um tubo de polietileno (PE-50) foi introduzido na artéria braquial dos pombos, após anestesia com uma solução de Equitesin (0,15ml/100g) por via ip, 2 dias antes do experimento.

5 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE

Para a avaliação das modificações na concentração de AGL, amostras de aproximadamente 0,6 ml de sangue foram retiradas imediatamente antes (tempo 0), 15, 30, 45 e 60 minutos após a injeção icv de salina ou carbacol. O sangue coletado foi colocado em tubo heparinizado e centrifugado a 2000 r.p.m. durante 10 minutos. O plasma resultante foi utilizado para determinação dos AGL.

6 SOLUÇÕES ADMINISTRADAS NO VENTRÍCULO LATERAL

a) Solução de cloreto de sódio 0,15 M: 1 μ l dessa solução foi administrada no ventrículo lateral dos animais utilizados como controle.

b) Carbacol: uma solução contendo 5mg/ml diluída em cloreto de sódio 0,15 M- 5 μ g/animal (27nmol).

7 SOLUÇÕES ADMINISTRADAS POR VIA INTRAPERITONEAL

a) Hexametônio - 10 mg/Kg (36,5 μ mol)

b) Atropina - 10 mg/Kg (14,4 μ mol)

c) Propranolol -5 mg/Kg (17 μ mol)

d) Fentolamina - 3 mg/Kg (9,4 μ mol)

e) Guanetidina - 50 mg/Kg (100 μ mol)

f) Somatostatina - 25 μ g/ml (15 nmol) e 50 μ g/ml (30 nmol)

g) Metilescopolamina - 0,6 mg/Kg (1,5 μ mol)

* Todas as soluções mencionadas, acima, foram administradas em um volume de 1,0 ml por via ip, 20 minutos antes da injeção icv de carbacol. Alguns grupos receberam uma injeção única de propranolol, fentolamina, atropina ou metilescopolamina, por via ip

g) Adrenalina - 25 $\mu\text{g/ml}$ (80 nmol)

h) Noradrenalina - 25 $\mu\text{g/ml}$ (80 nmol)

i) Solução de cloreto de sódio 0,15M

* As soluções, acima, foram administradas em um volume de 1,0 ml por via ip. A solução salina foi administrada aos animais do grupo controle dessa série de experimentos.

8 DETERMINAÇÃO DOS AGL PLASMÁTICOS

Os AGL plasmático foram determinados de acordo com o método descrito por Dole e Meinertz (1960), adaptado por Santoro (1967) para pequenos volumes de plasma.

9 REAGENTES

Os solventes utilizados foram adquiridos no comércio local e eram de pureza analítica. As drogas utilizadas eram todas produtos da Sigma Chemical Company, Saint Louis, Mo, USA, com exceção do sulfato de atropina, cuja origem era Merck.

10 HISTOLOGIA

Completados os experimentos, os animais foram sacrificados por injeção de Equitesin (2,5 ml via ip). O posicionamento correto das cânulas no ventrículo lateral foi

verificado por meio da injeção de 1 µl de azul de Evans no local, pouco antes da injeção de Equitesin, e da observação em um microscópio óptico dos cortes sem coloração histológica.

11 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados de cada tratamento, em todos os intervalos de tempo estudados, foram analisados estatisticamente por intermédio de uma análise de variância. Comparações entre grupos e seus respectivos controles foram analisados pelo teste *t* de Student. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

RESULTADOS

1 BLOQUEIO GANGLIONAR

1.1- Efeito da administração icv de carbacol em pombos pré-tratados com hexametônio sobre o aumento nos níveis plasmáticos de AGL.

A injeção icv de carbacol (27 nmol) em pombos previamente tratados com salina por via ip provocou um aumento, ($p < 0,05$), na concentração plasmática de AGL (Fig. 1A). A ativação da lipólise foi detectada já aos 15 min após injeção icv de carbacol (cerca de 30% acima do valor basal), apresentandoum aumento gradativo nos tempos 30 e 45, atingindo o valor máximo aos 60 min (aproximadamente 91% acima do valor basal). A elevação da concentração de AGL no plasma induzida pela administração central de carbacol foi significativamente mais intensa do que aquela observada no grupo de aves tratadas previamente com salina por via ip seguida pela injeção icv de salina (controle geral) durante todo o período experimental.

A administração de salina no ventrículo lateral de pombos pré-tratados com a injeção ^{icv} ip de salina (controle geral) não causou alterações significativas na mobilização de AGL do tecido adiposo para o sangue dos 15 aos 30 min do experimento. No entanto, a concentração de AGL no plasma apresentou um ligeiro aumento (em torno de 12 % acima do valor basal), aos 45 e 60 min após a administração icv de salina (Fig. 1A).

Com o objetivo de verificar a possível participação do SNA na lipomobilização induzida pela injeção icv de carbacol, por intermédio da utilização de um bloqueador ^{central} ganglionar, os animais foram pré-tratados com hexametônio. O hexametônio é um bloqueador colinérgico de receptores nicotínicos, isto é, ele inibe a transmissão ganglionar

por se ligar ao receptor nicotínico, impedindo a atuação da acetilcolina (Ach) liberada pelas fibras pré-ganglionares, tendo portanto a capacidade de bloquear toda a atividade autonômica.

A administração ip de hexametônio realizada 20 min antes da injeção i.c.v de carbacol em pombos, impediu a elevação da concentração plasmática de AGL induzida pelo carbacol, durante todo o período experimental (Fig. 1B). Observou-se um pequeno aumento na liberação de AGL pelo tecido adiposo dos 30 aos 60 min do período experimental (cerca de 18% acima do valor basal). Essa resposta não diferiu estatisticamente daquela observada após a injeção icv de salina (controle geral).

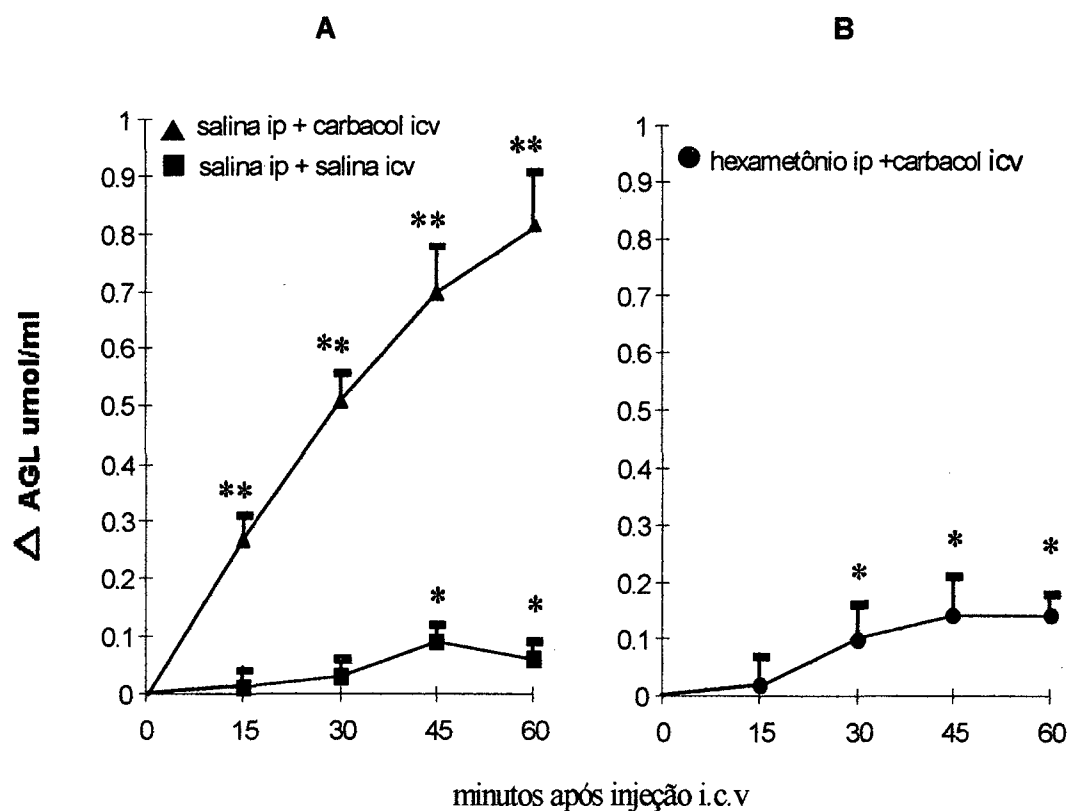


FIGURA 1 - A: Efeito da injeção i.c.v. de carbacol (27 nmol, basal = $0,89 \pm 0,02 \mu\text{mol/ml}$) ou salina (1 μl , basal = $0,82 \pm 0,05 \mu\text{mol/ml}$) sobre os níveis plasmáticos de AGL em pombos tratados 20 min antes com salina i.p. (1 ml). B: Efeito do tratamento prévio i.p. com hexametônio (36,5 μmol , basal = $0,82 \pm 0,09 \mu\text{mol/ml}$) sobre o aumento de AGL no plasma induzido pela injeção i.c.v. de carbacol. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal e aos dados obtidos em animais pré-tratados com salina i.p. seguido da injeção i.c.v. de salina no mesmo intervalo de tempo.

2 BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO PARASSIMPÁTICO

2.1 Efeito da administração icv de carbacol em pombos pré-tratados com atropina ou metil-escopolamina sobre o aumento dos níveis plasmáticos de AGL.

Para determinar a possível participação da divisão parassimpática do SNA na lipomobilização induzida pela injeção icv de carbacol, foi efetuado o tratamento prévio dos animais com atropina por via ip. A atropina impede que a Ach liberada pelas fibras pós-ganglionares parassimpáticas se ligue com receptores muscarínicos localizados nos órgãos alvo. As respostas fisiológicas aos impulsos nervosos parassimpáticos são portanto bloqueadas.

O tratamento prévio com a atropina não suprimiu a resposta de lipomobilização provocada pelo carbacol. O aumento da concentração plasmática de AGL foi observado já aos 15 min após injeção icv de carbacol (cerca de 45% acima do valor basal). O valor máximo, em torno de 90% acima do valor basal, foi obtido aos 60 min do experimento (Fig. 2B). Essa resposta foi semelhante em magnitude e duração àquela observada no grupo controle (animais pré-tratados com salina por via ip seguido da injeção icv de carbacol; Fig. 2A).

No experimento seguinte foi realizado o pré-tratamento das aves com metil-escopolamina, com o objetivo de verificar um possível efeito central da atropina que pudesse modificar a lipomobilização induzida pela injeção icv de carbacol em pombos. A metil-escopolamina é um bloqueador colinérgico de receptores muscarínicos, sendo que a

diferença em relação à atropina está na sua menor capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica.

O tratamento prévio com metil-escopolamina por via ip não impediu a ativação da lipólise induzida pela injeção icv de carbacol. O aumento da concentração de AGL plasma foi detectado a partir dos 15 min (cerca de 32% acima do valor basal), sofrendo acréscimos adicionais até o final do período experimental (atingindo aproximadamente 69% acima do valor basal). Somente aos 45 min o valor obtido foi significativamente menor do que aquele observado no grupo controle (pombos tratados com salina ip seguido de carbacol icv, Fig. 2A). Os resultados desse tratamento não diferiram estatisticamente daquele obtido em animais pré-tratados com atropina .

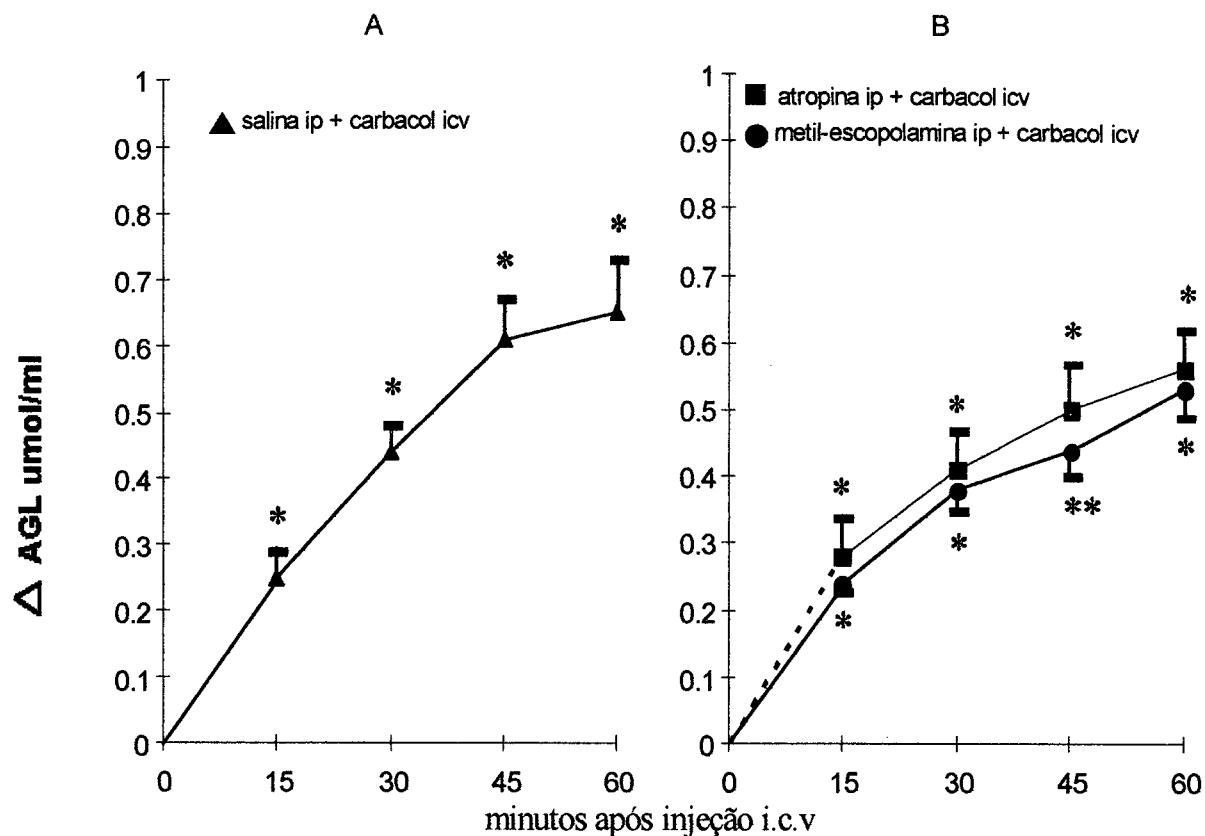


FIGURA 2 - A: Efeito da injeção i.c.v. de carbacol (27 nmol, basal = $0,76 \pm 0,06 \mu\text{mol/ml}$) sobre os níveis plasmáticos de AGL em pombos tratados 20 min antes com salina i.p. (1 ml). B: Efeito do tratamento prévio i.p. com atropina (14,4 μmol , basal = $0,78 \pm 0,07 \mu\text{mol/ml}$) ou metil-escopolamina (1,5 μmol , $0,62 \pm 0,04 \mu\text{mol/ml}$) sobre o aumento de AGL no plasma induzido pela injeção i.c.v. de carbacol. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizadas 9 aves por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal e aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. seguida pela injeção i.c.v. de carbacol no mesmo intervalo de tempo.

2.2 Efeito da administração ip de atropina ou metilescopolamina sobre a concentração plasmática de AGL em pombos acordados.

O objetivo desse experimento foi o de verificar se com a supressão do tônus parassimpático haveria modificações na liberação de AGL pelo tecido adiposo em condições basais. Para isso, inicialmente foi utilizada a atropina e depois a metilescopolamina por via ip.

Com a administração de atropina foi observado um aumento gradativo na concentração de AGL no plasma, a partir dos 15 min (cerca de 30% acima do valor basal) até o final do experimento, quando atingiu o seu valor máximo, em torno de 87% acima do valor basal (Fig. 3). Essa resposta foi semelhante àquela obtida com animais pré-tratados com atropina, seguida da injeção icv de carbacol (ver Fig. 2B).

A injeção i.p de metil-escopolamina também provocou uma elevação gradativa na liberação de AGL do tecido adiposo para o plasma, evidente aos 15 min (cerca de 18% acima do valor basal) e atingindo o seu valor máximo aos 60 min (cerca de 49% acima do valor basal ; Fig. 3). O grau de aumento na concentração plasmática de AGL, após injeção ip de metil-escopolamina, foi significativamente menor aos 45 e 60 min do período experimental, quando comparado com aquele observado nas aves que receberam atropina por via ip Além disso, os resultados desse grupo foram significativamente menores, com exceção aos 45 min, que os dados obtidos com os animais pré-tratados com metilescopolamina, seguido da administração central de carbacol (ver Fig. 2B).

Nos animais do grupo controle , tratados com salina por via ip houve um pequeno aumento da mobilização de AGL do tecido adiposo para o plasma, aos 30 e 45 min

do período experimental (aproximadamente 10% acima do valor basal). No entanto, esse aumento foi sempre significativamente menor quando comparado aos animais que receberam atropina ou metil-escopolamina por via ip (Fig.3).

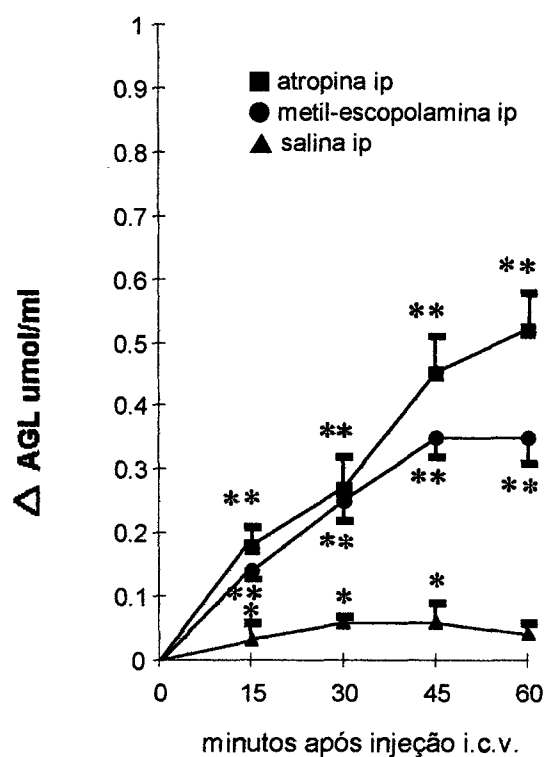


FIGURA 3 - Efeito da injeção (i.p.) de atropina ($14,4\mu\text{mol}$, basal = $0,60 \pm 0,03\mu\text{mol/ml}$) ou metil-escopolamina ($1,5\mu\text{mol}$, basal = $0,72 \pm 0,03\mu\text{mol/ml}$) ou salina (1 ml , basal = $0,68 \pm 0,06$) sobre a concentração plasmática de AGL no plasma em pombos. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparados com o valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparados com o valor basal e aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. no mesmo intervalo de tempo.

3 BLOQUEIO DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO

3.1 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados com guanetidina por via ip sobre o aumento da concentração plasmática de AGL.

Nesse experimento, com o objetivo de investigar a participação de fibras pós-ganglionares simpáticas na lipomobilização induzida pela administração icv de carbacol, foi realizado o pré-tratamento das aves com a guanetidina, uma droga que impede a liberação de noradrenalina pelas fibras pós-ganglionares simpáticas na chegada do impulso nervoso, deixando intacta a liberação de catecolaminas pela medula da adrenal.

O pré tratamento (ip) dos pombos com guanetidina, não impediu a lipomobilização induzida pela administração i.c.v de carbacol. O aumento na concentração de AGL foi observado, pela primeira vez aos 15 min (em torno de 33% acima do valor basal). O valor máximo foi obtido aos 30 min (cerca de 55% acima do nível basal), mantendo-se inalterado até o final do experimento (Fig.4B). As alterações observadas na mobilização de AGL do tecido adiposo para o plasma, aos 60 min, foram significativamente menores do que àquelas obtidas no grupo controle (animais pré-tratados com salina ip seguido de carbacol icv, Fig. 4A).

3.2 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados por via ip com bloqueadores α ou β -adrenérgicos sobre o aumento da concentração plasmática de AGL.

O objetivo desse experimento foi verificar se o bloqueio da interação das catecolaminas liberadas pela adrenal ou por fibras pós-ganglionares simpáticas com receptores α ou β -adrenérgicos, localizados nos tecidos alvo, provocaria alterações na resposta de ativação da lipólise induzida pela de injeção i.c.v de carbacol. Para isso, realizamos, 20 min antes da injeção icv de carbacol, o tratamento prévio das aves com antagonistas de receptores β (propranolol) ou α (fentolamina) adrenérgicos por via ip

Os resultados mostram que o tratamento prévio, com propranolol, provocou um bloqueio completo da lipomobilização induzida pela droga (Fig. 4B). O pequeno acréscimo de aproximadamente 9 % em relação ao valor basal, observado na concentração de AGL no plasma, dos 15 aos 45 min não diferiu estatisticamente daquelas alterações provocadas pela injeção ip. de salina seguida de salina icv (controle geral, ver Fig. 1A.)

O tratamento prévio com fentolamina não impediu o aumento na concentração de AGL no plasma induzido pelo carbacol, no período inicial do experimento (aos 15 e 30 min). Por outro lado, aos 45 e 60 min, a liberação de AGL do tecido adiposo para o plasma foi menor do que aquela verificada no grupo controle (animais tratados com salina ip seguido de carbacol icv, Fig. 4A). Essa diferença foi estatisticamente significativa (Fig.4B).

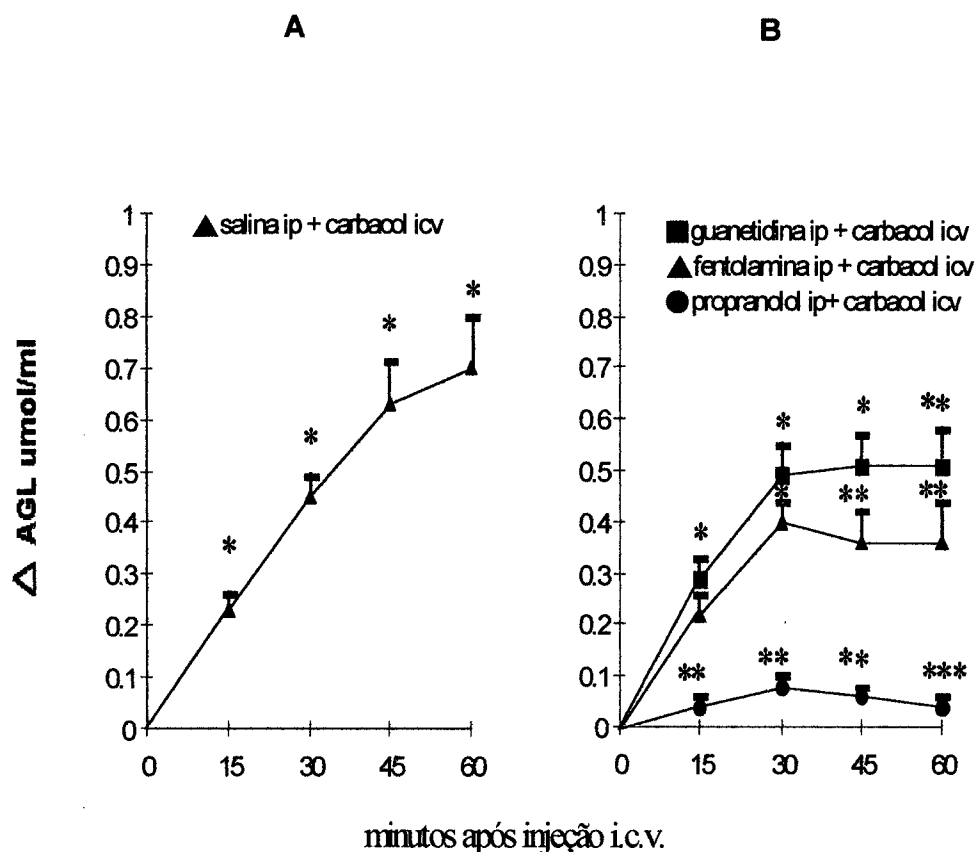


FIGURA 4 - A: Efeito da injeção i.c.v. de carbacol (27 nmol, basal = $0,81 \pm 0,04 \mu\text{mol/ml}$) sobre os níveis plasmáticos de AGL em pombos tratados 20 min antes com salina i.p. (1 ml) . B: Efeito do tratamento prévio i.p. com guanetidina (μmol , basal = $0,89 \pm 0,10 \mu\text{mol/ml}$) , propranolol ($17 \mu\text{mol}$, $0,86 \pm 0,03 \mu\text{mol/ml}$) ou fentolamina ($9,4 \mu\text{mol}$, basal = $0,67 \pm 0,06 \mu\text{mol/ml}$) sobre o aumento de AGL no plasma induzido pela injeção i.c.v. de carbacol. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparando-se ao valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal e aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. após injeção i.c.v. de carbacol no mesmo intervalo de tempo. (***) significam as diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) comparadas aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. após injeção i.c.v. de carbacol no mesmo intervalo de tempo.

3.3 Efeito da administração ip de propranolol ou fentolamina sobre a concentração plasmática de AGL em pombos acordados.

O objetivo desse experimento foi determinar se o impedimento da ligação das catecolaminas liberadas pela adrenal ou fibras pós-ganglionares simpáticas com seus respectivos receptores α ou β -adrenérgicos nos órgãos alvo modificaria a liberação de AGL pelo tecido adiposo em condições basais, isto é, na ausência do estímulo central desencadeado pelo carbacol. Para isso, a injeção de propranolol ou fentolamina foi efetuada por via ip, não acompanhada pela injeção icv de carbacol.

Embora o propranolol provocasse um aumento significativo da concentração de AGL no plasma dos 15 min aos 60 min (aproximadamente 20% acima do valor basal em todo período experimental), esses valores não foram diferentes daqueles obtidos após a injeção ip de salina, com exceção da concentração plasmática de AGL observada aos 60 min, quando a elevação provocada pelo propranolol foi significativamente maior do que aquela induzida pela salina (Fig. 5).

Os animais que receberam salina por via ip (grupo controle, Fig.5) apresentaram um pequeno aumento na lipomobilização (cerca de 15% acima do valor basal), dos 15 aos 45 min do período de observação.

A injeção ip de fentolamina não provocou alterações significativas na mobilização de AGL do tecido adiposo (Fig. 5).

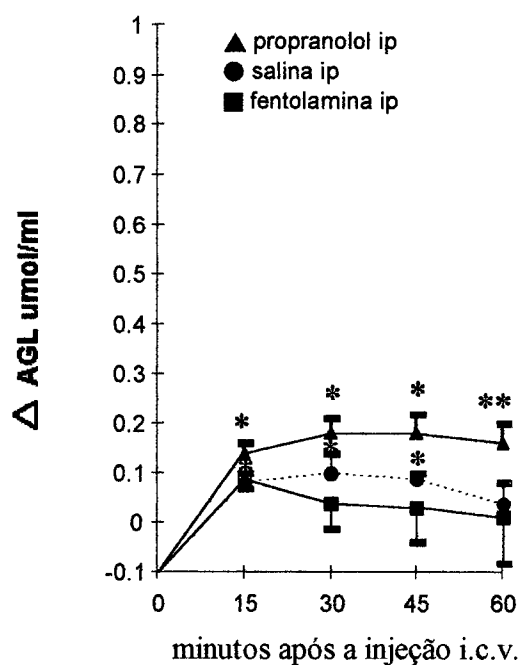


FIGURA 5 - Efeito da injeção de (i.p.) de propranolol ($17\mu\text{mol}$, basal = $0,69\pm 0,04\mu\text{mol/ml}$), fentolamina ($9,4\mu\text{mol}$, basal = $0,56\pm 0,09\mu\text{mol/ml}$) ou salina (1 ml , basal = $0,68\pm 0,06$) sobre a concentração plasmática de AGL em pombos. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.05$) comparadas com o valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.05$) comparados com o valor basal e com os animais tratados com salina i.p. no mesmo intervalo de tempo.

4 BLOQUEIO DA SECREÇÃO ENDÓCRINA DO PÂNCREAS

4.1 Efeito da injeção icv de carbacol em pombos pré-tratados por via ip com somatostatina sobre o aumento na concentração de AGL plasmático.

Esse experimento teve por objetivo verificar a participação dos hormônios pancreáticos, insulina e glucagon, na ativação da lipólise induzida pela injeção icv de carbacol. Para isso, foi realizado o tratamento prévio das aves com a somatostatina, substância que bloqueia a liberação de insulina e glucagon pelo pâncreas.

A somatostatina foi administrada nas doses de 25 $\mu\text{g/ml}$ e 50 $\mu\text{g/ml}$, 20 min antes da injeção i.c.v de carbacol . A dose de 25 $\mu\text{g/ml}$ provocou um aumento inicial na concentração de AGL no plasma, semelhante àquele observado no grupo controle (animais pré-tratados com salina ip seguido pela injeção icv de carbacol, Fig. 6A). No entanto, aos 45 e 60 min do período experimental, essa elevação foi significativamente menor (cerca de 43% acima do valor basal) quando comparada com aquela desencadeada pela injeção icv de carbacol (aproximadamente 88 % acima do valor basal) , no mesmo intervalo de tempo. Com o emprego da dose mais alta (50 $\mu\text{g/ml}$), o pré-tratamento com a somatostatina provocou um bloqueio total na resposta de lipomobilização induzida pela injeção icv de carbacol. A elevação na concentração plasmática de AGL (em torno de 24% acima do valor basal), observada dos 30 aos 60 min , após injeção icv de carbacol, foi estatisticamente semelhante àqueela verificada anteriormente no grupo controle geral (ver Fig. 1A).

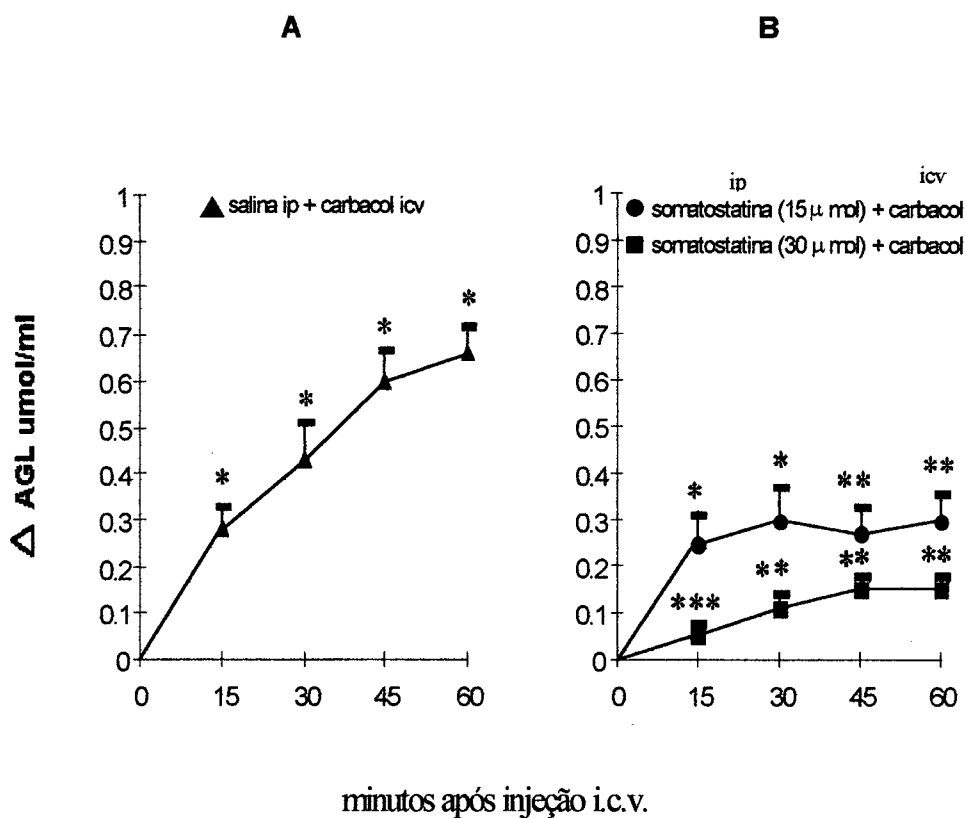


FIGURA 6 - A: Efeito da injeção i.c.v. de carbacol (27 nmol, basal = $0,72 \pm 0,04 \mu\text{mol/ml}$) sobre os níveis plasmáticos de AGL em pombos tratados 20 min. antes com salina i.p. (1 ml) . B: Efeito do tratamento prévio i.p. com somatostatina (15nmol, basal = $0,61 \pm 0,03 \mu\text{mol.ml}$ e 30nmol, $0,70 \pm 0,02 \mu\text{mol/ml}$) sobre o aumento de AGL no plasma induzido pela injeção i.c.v. de carbacol. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparadas ao valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas ao valor basal e aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. após injeção i.c.v. de carbacol no mesmo intervalo de tempo. (***) significam as diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$) comparadas aos dados obtidos dos animais pré-tratados com salina i.p. após injeção i.c.v. de carbacol no mesmo intervalo de tempo.

5 PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA LIPOMOBILIZAÇÃO EM POMBOS

5.1 Efeitos da administração ip de adrenalina, noradrenalina ou salina sobre a concentração de AGL no plasma de pombos acordados.

As catecolaminas possuem efeitos importantes e conhecidos sobre o metabolismo intermediário, como a ativação da lipólise, em muitas espécies de mamíferos. Como existem muitas controvérsias em relação ao seu papel na lipomobilização em aves, o objetivo desse experimento foi verificar a possível participação das catecolaminas na mobilização de AGL do tecido adiposo em pombos, por intermédio da administração de noradrenalina ou adrenalina por via ip, e posterior dosagem da concentração de AGL no plasma.

Os resultados apresentados na Fig. 7 mostram que a noradrenalina provoca um aumento na lipomobilização. A elevação da concentração de AGL no plasma após a injeção da catecolamina foi observada a partir dos 15 min, atingindo o valor máximo aos 60 min, sendo duas vezes maior que o valor basal, nesse momento. Os dados obtidos neste grupo foram significativamente maiores do que aqueles observados no grupo controle (salina ip; Fig. 7).

Da mesma forma, a administração de adrenalina em pombos causou um aumento gradativo na concentração plasmática de AGL, evidenciado inicialmente aos 15 min (cerca de 36% acima do valor basal), atingindo o valor máximo aos 60 min (cerca de 71% acima do valor basal; Fig.7). Os dados obtidos nesse grupo ficaram sempre acima daqueles verificados no grupo controle (salina ip).

Nos animais do grupo controle (salina ip, Fig. 7) , observou-se um pequeno aumento na liberação de AGL pelo tecido adiposo (aproximadamente 5 % acima do valor basal) aos 30 min do período experimental.

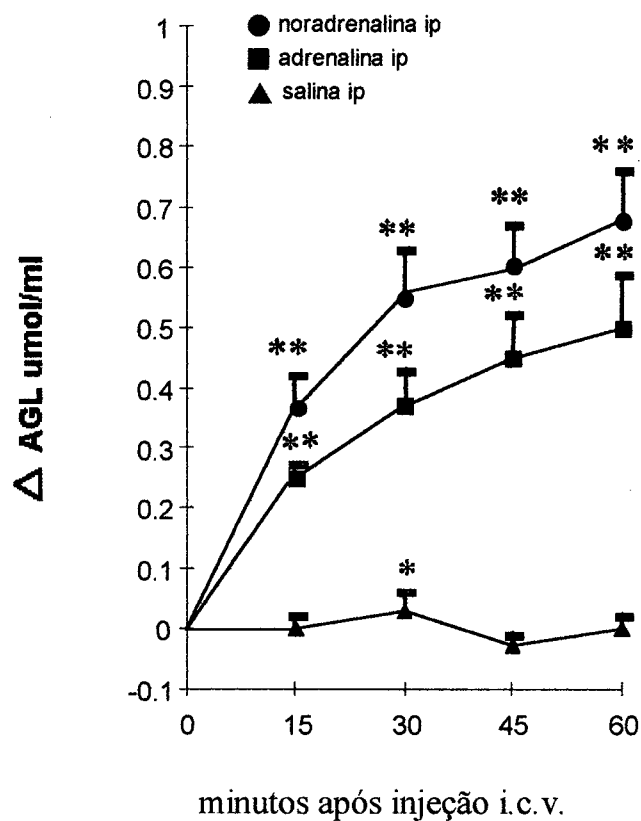


FIGURA 7 - Modificações na concentração plasmática de AGL observadas após a injeção i.p. de noradrenalina ($25\mu\text{g/ml}$, basal= $0,68\pm 0,04\mu\text{mol/ml}$), adrenalina ($25\mu\text{g/ml}$, basal= $0,70\pm 0,06\mu\text{mol/ml}$), ou salina (1ml , basal= $0,68\pm 0,06$) em pombos. Dados (média \pm erro-padrão da média) representam as diferenças entre o valor experimental e o valor basal. Foram utilizados 9 animais por grupo. (*) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparados ao valor basal. (**) significam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) comparado ao valor basal e aos animais tratados com salina i.p. no mesmo intervalo de tempo.

DISCUSSÃO

Os dados do presente trabalho mostram que o sinal gerado pelo carbacol no SNC, provocando ativação da lipólise em pombos, é transmitido aos órgãos alvo por intermédio da ativação do sistema nervoso autônomo (SNA), uma vez que o hexametônio bloqueou a resposta de elevação na concentração plasmática de AGL induzida pelo agonista colinérgico.

O experimento seguinte foi realizado com o objetivo de determinar a participação da divisão parassimpática do SNA na estimulação da lipólise induzida pela injeção icv de carbacol. Para isso, foi feito o pré-tratamento com atropina, cujo emprego não alterou o aumento da concentração de AGL no plasma provocado pela administração central de carbacol. Isto sugere que a divisão parassimpática do SNA, possivelmente, não estivesse contribuindo para o surgimento dessa resposta.

No entanto, a administração da atropina, na ausência do estímulo central provocado pela injeção icv de carbacol, provocou uma resposta de mobilização de AGL do tecido adiposo semelhante, em magnitude e duração, àquela observada no grupo de aves pré-tratadas com atropina por via ip, e em seguida, tratadas com carbacol por via icv. Este dado indica que a supressão do tônus parassimpático pode estar envolvido no mecanismo neural, acionado pela injeção icv de carbacol, para provocar a ativação da lipólise.

Como a atropina atravessa a barreira hematoencefálica (BHE), a ativação da lipólise observada após a sua administração por via ip, poderia ser consequência de uma possível ação no SNC. Os resultados obtidos descartam essa possibilidade, porque a metil-escopolamina, uma droga que não atravessa a BHE, quando administrada sozinha por via ip, manteve a resposta de elevação da concentração plasmática de AGL (a intensidade de elevação dos AGL no plasma, após injeção ip de metil-escopolamina, foi significativamente menor do

que a obtida com a injeção de atropina, provavelmente pela diferença nas doses empregadas). Esse fato fortalece a idéia de que a supressão do tônus parassimpático pode contribuir com a elevação na concentração do AGL no plasma, em resposta a injeção i.c.v de carbacol.

Dados da literatura mostram que a vagotomia em pombos provoca elevação na lipomobilização, o que foi atribuído ao aumento do tônus simpático em consequência da redução do tônus parassimpático (John e cols., 1989). Viswanathan e cols., (1987) verificaram em pombos, com vagotomia cervical bilateral, um aumento na concentração de noradrenalina e redução dos níveis de adrenalina. Além disso, a vagotomia (bloqueio colinérgico cervical) provocou um aumento de AGL e glicose no plasma, em pombos, o que foi atribuído a um aumento na liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e/ou da noradrenalina (John e cols., 1985).

Se a vagotomia causa um aumento do tônus simpático, então a lipomobilização observada após injeção ip de atropina poderia ser uma consequência desse efeito, e o mecanismo neural pelo qual o carbacol ativaria a lipólise poderia incluir uma redução do tônus parassimpático, acompanhado por um predomínio ou um aumento na ativação do SNS.

Os dados obtidos nesse trabalho confirmam a participação do SNS nessa resposta. Quando foi realizado o tratamento prévio dos pombos com propranolol, constatou-se um bloqueio total na elevação de AGL no plasma induzido pelo carbacol. O pré-tratamento com fentolamina provocou uma redução de aproximadamente 34 % na lipomobilização provocada pelo carbacol ao final do período experimental (45 e 60 min). Esses dados sugerem que a ativação de receptores α ou β -adrenérgicos em órgãos alvo, seria importante para desencadear a ativação da lipólise induzida pelo carbacol.

O sistema nervoso simpático possui duas vias por onde a informação gerada pela aplicação de carbacol no SNC poderia trafegar para chegar ao órgão alvo, provocando ativação da lipólise: 1) por intermédio da ativação de fibras pós-ganglionares simpáticas dirigidas diretamente ao órgão alvo ; 2) por intermédio da liberação de catecolaminas, no sangue, pela medula da adrenal.

Os resultados mostram que a liberação de catecolaminas pela medula adrenal é necessária e importante para que ocorra a elevação na lipomobilização, verificada após a injeção central de carbacol em pombos, porque quando se efetuou o tratamento prévio dos animais com guanetidina, não houve alteração da ativação da lipólise induzida pela droga dos 15 aos 45 min. Ocorreu um bloqueio parcial (29 % de redução da resposta) no aumento dos AGL plasmático, apenas ao final do período de observação.

Então, a lipomobilização provocada pela injeção icv de carbacol parece envolver uma redução do tônus parassimpático, que em consequência levaria a um predomínio ou aumento da atividade do SNS. A ativação da lipólise pelo SNS seria mediada essencialmente pelas catecolaminas de origem adrenal. No entanto, a noradrenalina liberada de pelas fibras pós-ganglionares simpáticas, também teriam uma pequena e tardia contribuição na elevação da concentração de AGL, no plasma induzida pelo carbacol.

As catecolaminas, liberadas pela medula adrenal ou por fibras pós-ganglionares simpáticas poderiam ativar a lipólise por sua atuação direta sobre o tecido adiposo ou por intermédio de suas ações na regulação da liberação de insulina e glucagon pelo pâncreas.

Está bem documentado , em mamíferos, que o SNA influencia a secreção endócrina do pâncreas (Yamaguchi, 1992). A célula β , responsável pela síntese e liberação de

insulina, possui receptores α - e β -adrenérgicos. A ativação dos receptores α - e β -adrenérgicos provoca, respectivamente, inibição e estimulação da liberação de insulina pela célula β (Yamaguchi, 1992; Loubatières-Mariani, 1986).

A célula α , secretora de glucagon, parece possuir receptores α - e β -adrenérgicos, e a ativação de ambos os receptores provoca aumento na liberação de glucagon (Holst e cols., 1986; Yamaguchi, 1992). Em experimentos com pâncreas isolado de porcos, com inervação autonômica intacta, foi demonstrado que a estimulação do nervo esplâncnico aumenta a secreção de glucagon. Essa resposta foi abolida pelo propranolol (antagonista β -adrenérgico) e também por um α -bloqueador, a fenoxibenzamina (Holst e cols., 1986). O bloqueio total da liberação, do glucagon do pâncreas de porco, foi verificado com a combinação de ambos, α - e β - antagonistas adrenérgicos (Holst e cols., 1986). A ativação parassimpática estimula a secreção tanto de insulina, como de glucagon pelo pâncreas (Yamaguchi, 1992; Ahrén e Taborsk, 1986; Miller, 1981).

A inervação do pâncreas de aves tem sido pouco estudada. Em estudos realizados com frangos (Japanese Bantam), foi observado que o tecido acinar recebe uma maior inervação do que as ilhotas pancreáticas (Hiramatsu e cols., 1988; Watanabe e Yasuda, 1977). No entanto, o suprimento nervoso para as células β foi marcadamente mais abundante do que para as células α do pâncreas (Hiramatsu e cols., 1988; Watanabe e Yasuda, 1977). Não foi detectada nenhuma inervação para as ilhotas pancreáticas em pâncreas de pombos (Kobayashi e Fujita, 1969; Trandaburu, 1974), de codornas [*Coturnix coturix japonica*] (Smith, 1974) ou *Euodice cantans* (Trandaburu, 1974).

Hiramatsu e Watanabe (1989) verificaram que o pâncreas de frangos (Brown Leghorn), apresenta inervação dupla: nervos simpáticos do tronco simpático, via plexo celíaco e nervos parassimpáticos da medula oblonga, via ramo vagal.

A estimulação vagal e/ou a administração de acetilcolina (Ach) não tem efeito sobre o mecanismo de liberação da insulina em frangos (Hazelwood, 1986) e exerce uma pequena influência sobre a liberação da insulina em pombos (John e cols., 1989). No entanto, as células ganglionares intra-pancreáticas de frangos (Hiramatsu e cols., 1988), pombos (Trandaburu, 1974) e *Euodice cantans* (Trandaburu, 1974), exibiram grande atividade para acetilcolinesterase e foram indentificadas como neurônios colinérgicos pertencentes ao sistema nervoso parassimpático.

Foi demonstrado também, que a atividade das enzimas inativadoras de catecolaminas, monoamino-oxidase (MAO) e catecol-orto-metil-transferase (COMT) é relativamente alta na parte endócrina do pâncreas de aves, sugerindo uma alta taxa de renovação das catecolaminas nesse local (Aleyassine e Gardiner, 1975). Dessa forma, o controle da secreção pancreática poderia ocorrer por intermédio da atividade simpática dirigida sobre as células α e β .

Outro mecanismo de controle das ilhotas pancreáticas em aves (*Gallus domesticus*) foi sugerido por Watanabe e Yasuda (1977). De acordo com esses autores, o pâncreas endócrino desses animais seria regulado principalmente pelo SNA, e postularam que as células D da ilhota, secretoras de somatostatina, teriam um papel importante no controle da atividade endócrina do pâncreas, uma vez que este tipo de célula é ricamente inervada. Em patos, a somatostatina administrada, *in vivo*, estimula a liberação de glucagon e inibe a

secreção de insulina pelo pâncreas (Strosser e cols., 1980). No entanto, outros dados da literatura não confirmam essa observação, indicando que a ação da somatostatina sobre o pâncreas de aves seria semelhante àquela descrita para mamíferos, promovendo supressão da liberação de insulina e do glucagon. Seu efeito inibitório sobre a secreção do glucagon seria mais efetivo do que aquele exercido sobre a secreção de insulina (Honey e Weir, 1979; Cieslak e Hazelwood, 1986; Hazelwood e Cieslak, 1989).

Os dados obtidos no presente trabalho indicam que o pré-tratamento com a somatostatina bloqueou completamente a elevação na mobilização de AGL do tecido adiposo induzida pelo carbacol. Sugerem também que a modulação pancreática exercida pelo SNS seria fundamental para o desencadeamento dessa resposta. Assim, as catecolaminas liberadas pela adrenal, após injeção icv de carbacol, atuariam sobre o pâncreas, possivelmente sobre as células α , promovendo a liberação do glucagon. Corrobora essa idéia, dados descritos na literatura, indicando que a adrenalina, em patos, pode estimular a secreção de glucagon *in vivo* (Tyler et al, 1972) ou em pâncreas isolado (Gross e Mialhe, 1986). É possível que os dois tipos de receptores adrenérgicos possam estar localizados na célula α , uma vez que o propranolol inibiu a resposta de ativação de lipólise, e a fentolamina, suprimiu parcial e tardiamente essa resposta. Fenômeno semelhante foi descrito em pâncreas isolado de porco (Holst e cols., 1986).

A importância fisiológica da modulação da liberação do glucagon pelo SNS baseia-se no fato de que esse hormônio exerce um poderoso efeito lipolítico em todas as espécies de aves estudadas, sendo o seu efeito sobre a lipólise em aves (Hazelwood, 1973; Leprovsky e cols., 1967; Karmann e Mialhe, 1976; Sitbon e Mialhe, 1978; Laurent e Mialhe,

1976; 1978; Hissa, 1988; Langslow e Hales, 1969; Heald e cols., 1965; Freeman e Manning, 1971; John e George, 1973; Palokangas e cols., 1973; Barre e cols., 1987; Ballantyne e cols., 1988) mais efetivo do que em mamíferos (Barbosa e Migliorini, 1982).

No entanto, é importante ressaltar que a insulina, em galinhas, atua diretamente no tecido adiposo, ativando a lipólise (Langslow e cols., 1971; Grande e cols., 1972; Heald e cols., 1965; Lepkowsky e cols., 1967). Em patos seu efeito lipolítico é mediado por sua ação no pâncreas, provocando a liberação do glucagon (Hazelwood, 1973), enquanto que em gansos, este hormônio não induz alterações na lipólise (Grande 1969; 1970).

Na ausência de informações sobre a participação da insulina na regulação da mobilização de AGL em pombos, não podemos excluir a possibilidade de que este hormônio também esteja envolvido na ativação da lipólise pela injeção icv de carbacol.

No entanto, para esclarecer efetivamente a participação dos hormônios pancreáticos na resposta de lipomobilização provocada pelo carbacol, é necessário a realização de futuros experimentos, semelhantes aos descritos no presente trabalho, mas acompanhados pelas dosagens de suas concentrações no sangue.

O efeito central do carbacol sobre a lipomobilização, descrito neste trabalho, também poderia ser mediado pelo aumento da secreção do hormônio do crescimento (GH). Existem evidências na literatura mostrando que a adrenalina possui efeitos estimuladores, e a noradrenalina efeitos inibidores sobre a concentração plasmática de GH em galinhas e em outras espécies de aves (Buonomo e cols., 1984; Scanes e cols., 1984).

Além disso, John e cols. (1988) em seus trabalhos com pombos, observaram um aumento na secreção do GH e na concentração de AGL no plasma após uma hora de vôo. Um

aumento na concentração plasmática de adrenalina (62%) e noradrenalina (42%), também foi observado uma hora após o vôo em pombos (Viswanathan e cols., 1987). De acordo com essas observações, John e cols., (1988) sugeriram, que o aumento na concentração do GH no plasma de pombos decorreria da liberação do hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH), cuja secreção seria mediada pela elevação da adrenalina e noradrenalina verificada durante o vôo.

Em nossos experimentos o pré-tratamento com somatostatina bloqueou totalmente a resposta lipolítica desencadeada pelo carbacol. A somatostatina em aves, além de inibir a secreção de insulina e glucagon pelo pâncreas (Honey e Weir, 1979; Cieslak e Hazelwood, 1986; Hazelwood e Cieslak, 1989), também poderia agir na hipófise, de forma semelhante àquela observada em mamíferos (Fain e cols., 1965; Hales e cols., 1978), suprimindo a liberação do GH. Portanto, poder-se-ia assumir que um mecanismo semelhante àquele sugerido para pombos durante o vôo, fosse acionado pela injeção icv de carbacol em pombos, sendo que, o aumento da liberação de catecolaminas pela adrenal poderia levar a uma elevação de GH no sangue. O GH, então, atuaria no tecido adiposo, estimulando a lipólise.

No entanto, é importante ressaltar que o GH, é tido como um hormônio lipolítico de ação lenta [1-2 horas] em mamíferos (Fain e cols., 1965). Considerando uma mesma latência de resposta de mobilização de AGL na presença de GH em aves, seria pouco provável que este hormônio contribuisse com a elevação plasmática de AGL provocada pela injeção icv de carbacol. Para esclarecer essa dúvida é necessário efetuar experimentos,

semelhantes aos descritos neste trabalho, avaliando as alterações na concentração do GH no sangue.

As catecolaminas estimulam a lipólise em quase todas as espécies de mamíferos estudadas, incluindo cães, hamster, porcos, cobaias, coelhos, ruminantes (Rudman e cols., 1963; Langslow e Hales, 1971; Pejoan e Desbals, 1973; Mersman e cols., 1976; Bauman, 1976; Rosak e Hittleman, 1977). No entanto, sobre aves, a literatura existente é muito contraditória quanto ao papel das catecolaminas no aumento da lipólise. Fatores como a espécie, a idade, o estado nutricional e as condições experimentais, que contribuem para a variação dessa resposta (Freeman e Manning, 1974; Freeman, 1969; Freeman e Manning, 1971; Carlson e cols., 1964; Langslow e Hales, 1969; Langslow e cols., 1970; Goodbridge e Ball, 1965; Grande, 1969), foram bem detalhados na introdução deste trabalho.

Os dados obtidos no presente trabalho, mostram que tanto a injeção ip de adrenalina como a de noradrenalina, aumentam a concentração de AGL no plasma, indicando que as catecolaminas em pombos participam da ativação da lipólise. Tais evidências, sustentam a nossa hipótese de que o aumento do tônus simpático seria importante para a ativação da lipólise provocada pela injeção icv de carbacol. No entanto, esses dados ainda não esclarecem se a ação lipolítica das catecolaminas se daria por intermédio de seus efeitos reguladores sobre os hormônios pancreáticos.

Dados da literatura apontam a presença de neurônios noradrenérgicos no circuito central envolvido na ativação da lipólise em ratos, sem a participação de sinapses colinérgicas (Barbosa e Migliorini, 1982). Os resultados obtidos neste trabalho mostram a presença de neurônios colinérgicos nos circuitos que controlam a atividade lipolítica do tecido adiposo,

em aves. Neurônios noradrenérgicos também fariam parte de circuitos centrais que ativam a lipólise nessa espécie, uma vez que a injeção icv de noradrenalina, em pombos, provoca um aumento na concentração de AGL no plasma (Padilha-Filho e cols., 1993).

Ao contrário das evidências obtidas em mamíferos (Barbosa e Migliorini, 1982; Brown e cols., 1979; Iguchi e cols., 1985, 1986; Ishikawa e cols., 1982), a ativação central de neurônios colinérgicos não provoca hiperglicemia em aves, uma vez que a injeção icv de carbacol, em pombos, não causa alterações significativas nas concentração sanguínea de glicose (Paschoalini, 1990).

Um aspecto central do mecanismo proposto para o controle final da lipólise, em ratos, seria por intermédio da liberação de catecolaminas pelas terminações simpáticas dirigidas ao tecido adiposo. A regulação da lipólise, nesta espécie, dar-se-ia por meio de um mecanismo de controle com sua origem na área pré-óptica e cujas fibras incorporadas ao fascículo prosencefálico medial, fariam suas conexões com o hipotálamo lateral e posterior. Glicorreceptores, sensíveis à insulina, localizados nessa área enviariam impulsos às fibras pós-ganglionares simpáticas que inervam o tecido adiposo, com possível passagem pela área hipotalâmica lateral e hipotálamo posterior (Coimbra e Migliorini, 1983,1986; Gross e Migliorini, 1977). Mecanismo semelhante ainda não foi descrito em aves.

No entanto, os dados do nosso trabalho mostram que a ativação de sinapses colinérgicas localizadas no SNC de pombos envolveria uma supressão do tônus parassimpático, cuja consequência seria um predomínio ou aumento do tônus simpático, provocando uma elevação na secreção de catecolaminas pela medula adrenal. As catecolaminas liberadas no sangue poderiam atuar sobre o pâncreas, possivelmente sobre as células α , promovendo a liberação de glucagon. Este hormônio, por sua vez, agindo sobre o

tecido adiposo, ativaria a lipólise, promovendo assim o aumento na concentração de AGL no plasma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEYASSINE, H. ; GARDINER, R.J. Dual action of antidepressant drugs (MAO inhibitors) in insulin release. *Endocrinology*, 96:702-710, 1975.
- AHRÉN, B. ; TABORSKY, G.J.Jr. The mechanism of vagal nerve stimulation of glucagon and insulin secretion in the dog. *Endocrinology*, 118: 1551-1557, 1986.
- ALLEN, D.O. ; BECK, R.R. Alterations in lipolysis, adenylate cyclase and adenosine 3', 5'- monophosphate levels in isolated fat cells following adrenalectomy. *Endocrinology*, 91:504-510, 1972.
- ARMTRONG, D.T. ; STEELE, R. ; ALTSZULER, N. ; DUNN, A. ; BISHOP, J.S. ; DeBODO, R.C. Regulation of plasma fatty acid turnover. *Am. J. Physiol.*, 201:9-15, 1961a.
- ARMTRONG, D.T. ; STEELE, R. ; ALTSZULER, N. ; DUNN, A. ; BISHOP, J.S. ; DeBODO, R.C. Plasma free fatty acid turnover during insulin induced hypoglycemia. *Am. J. Physiol.*, 201:535-539, 1961b.
- BALLANTYNE, J.S. ; JOHN, T.M. ; GEORGE, J.C. The effects of glucagon on hepatic mitochondrial metabolism in the pigeon, *Columba livia*. *Gen. Comp. Endocr.*, 72:130-135, 1988.
- BALLY, P.R. ; KAPPELER, H. ; FROESCH, E.H. ; LABHART, A. Effect of glucose on spontaneous limitation of lipolysis in isolated adipose tissue: a potential regulatory mechanism. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 131:143-156, 1965.
- BARBOSA, M.C. ; MIGLIORINI, R.H. Free fatty acid mobilization in rats following intracerebroventricular norepinephrine. *Am. J. Physiol.*, 242:E242-E252, 1982.
- BARKAI, A. ; ALLWEIS, C. Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma free fatty acid concentration in cats. *J. Lipid. Res.*, 13:725-732, 1972a.
- BARKAI, A. ; ALWEIS, C. Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma levels of free fatty acids and glucose in rats. *Metabolism*, 21:921-927, 1972b.
- BARRE, H. ; COHEN-ADAD, F. ; ROUANET, J. Two daily glucagon injections induce non shivering thermogenesis in Muscovy ducklings. *Amer. J. Physiol.*, 252:E616-

E620, 1987.

BASU, A. ; PASSMORE, R. ; STRONG, J.A. The effect of exercise in the level of nonesterified fatty acids in the blood. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 45:312-317, 1960.

BERTHOLD, P. Migration: control and metabolic physiology. In. *Avian Biology*. D.S. Farner and J.R King (Eds.). Academic Press, New York, 77-128, 1975.

BIRMAN, E.L. ; SCHWARTZ, I.L. ; DOLE, V.P. Action of insulin on release of fatty acids from tissue stores. *Am. J. Physiol.*, 191:359-362, 1957.

BROWN, M. ; RIVIER, J. ; VALE, W. Somatostatin: central nervous system actions on glucoregulation. *Endocrinology*, 104:1709-1715, 1979.

BUONOMO, F.C. ; ZIMMERMAN, N.G. ; LAUTERIO, T.J. ; SCANES, C.G. Catecholamine involvement in the control growth hormone secretion in the domestic fowl. *Gen. Comp. Endocr.*, 54:360-371, 1984.

CAHILL, G.F.Jr. ; LEBOEUF, B. ; RENOLD, A.E. Factors concerned with the regulation of fatty acid metabolism by adipose tissue. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 8:733-739, 1960.

CARLSON, L.A. ; BOBERG, J. ; HÖGSTEDT, B. Some physiology and clinical implications of lipid metabolism from adipose tissue. In: Handbook of Physiology, section 5: Adipose Tissue. A.E. Renold and G.F. Cahill, Jr. (Eds.). *American Physiological Society*. Washington, D.C., 625-644, 1965.

CARLSON, L.A. ; LILJEDAHN, S.O. ; VERDY, M. ; WIRSÉN, C. Unresponsiveness to the lipid mobilizing action of catecholamines *in vivo* and *in vitro* in the domestic fowl. *Metabolism*, 13(3):227-231, 1964.

CHEREL, Y. ; ROBIN, J.P. LeMAHO, Y. Physiology and biochemistry of longterm fasting in birds. *J. Zool.*, 66:159-166, 1988.

CIESLAK, S.R. ; HAZELWOOD, R.L. The role of the splenic pancreatic lobe in regulating metabolic normalcy following 99% pancreatectomy in chickens. *Gen. Comp. Endocr.*, 61: 476-489, 1986.

- COBB, L.A. ; JOHNSON, W.P. Hemodynamic relationships of anaerobic metabolism and plasma free fatty acids during prolonged, strenuous exercise in trained and untrained subjects. *J. Clin. Invest.*, 42:800-810, 1963.
- COIMBRA, C.C. ; MIGLIORINI, R.H. Evidence for a longitudinal pathway in rat hypothalamus that controls FFA mobilization. *Am.J. Physiol.*, 245:E332-337, 1983.
- COIMBRA, C.C. ; MIGLIORINI, R.H. Insulin-sensitive glucoreceptors in rat preoptic area that regulate FFA mobilization. *Am.J. Physiol.*, 251(Pt.1):E703-E706, 1986.
- COLCA, J.R. ; HAZELWOOD, R.L. Insulin, pancreatic polypeptide, and glucagon release from the chicken pancreas *in vitro*: responses to changes in medium glucose and free fatty acid content. *Gen. Comp. Endoc.*, 45:482-490, 1981.
- CORRELL, J.W. Central neural structures and pathways important for free fatty acid (FFA) mobilization demonstrated in chronic animals. *Fed. Proc.* 22:574 (abstract), 1963.
- CORRELL, J.W. Mobilization of unesterified fatty acids (UFA) from isolated rat adipose tissue by nerve stimulation *in vitro*. *Fed. Proc.*, 20:275 (abstract), 1961.
- CORRELL, J.W. Adipose tissue: ability to respond to nerve stimulation *in vitro*. *Science*, 140:387-388, 1963a.
- CORRELL, J.W. Central neural structures and pathways important for free fatty acid (FFA) mobilization demonstrated in chronic animals. *Fed. Proc.*, 22:574 (abstract), 1963b.
- CZECH, M.P. ; FAIN, J.N. Antagonism of insulin action on glucose metabolism in white fat cells by dexamethasone. *Endocrinology*, 91:518-522, 1972.
- DAVISON, T.F. Metabolic changes in the neonate fowl in response to cold stress. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44A:979-989, 1973.
- DAVISON, W.R. ; MARSH, R.L. ; MARSHALL, E.Y. Metabolic adjustments of small passerine birds for migrations and cold. *Am. J. Physiol.*, 245:R755-R767, 1983.

- DEBONS, A.F. ; SCWARTZ, I.L. Dependence of the lipolytic action of epinephrine *in vitro* upon the thyroid hormone. *J. Lipid. Res.*, 2:86-89, 1961.
- DEYKIN, D. ; VAUGHAN, M. Release of free fatty acids by adipose tissue from rats treated with triiodothyronine or propylthiouracil. *J. Lipid Res.*, 4:200-207, 1963.
- DOLE, P. ; MEINERTZ, H. Microdetermination of long chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.*, 235:2595-2599, 1960.
- DOORENBOS, H. ; REITSMAN, W.D. ; STRACKEE, J. ; JANSZ, A. Effect of fasting and food intake on serum growth hormone, free fatty acids and blood sugar levels. *Acta Endocrinol. Suppl.*, 89:14, 1964.
- FAIN, J.N. ; KORACEV, V.P. ; SCOW, R.O. Effect of growth hormone and dexamethasone on lipolysis and metabolism in isolated fat cells of rat. *J. Biol. Chem.*, 240:3522-3529, 1965.
- FAIN, J.N. ; KORACEV, V.P. ; SCOW, R.O. Antilipolytic effect of insulin in isolated fat cells of the rat. *Endocrinology*, 78:773-778, 1966.
- FAIN, J.N. ; SCOW, R.O. ; CHERNICK, S.S. Effects of glucocorticoids on metabolism of adipose tissue *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, 238:54-58, 1963.
- FREDRICKSON, D.S. ; GORDON, R.S. The metabolism of albumin bound C-labeled unesterified fatty acids in normal human subjects. *J. Clin. Invest.*, 37:1504-1515, 1958.
- FREEMAN, B.M. Effect of noradrenaline on the plasma free fatty acid glucose levels in *Gallus domesticus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 30:993-996, 1969.
- FREEMAN, B.M. Some effects of cold on the metabolism of the fowl during perinatal period. *Comp. Biochem. Physiol.*, 20: 179-193, 1967.
- FREEMAN, B.M. Some aspects of thermoregulation in the adult Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 34:871-881, 1970.

- FREEMAN, B.M. ; MANNING, A.C.C. The prandial state and the glycaemic and lipolytic responses of *Gallus domesticus* to catecholamines and glucagon. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47A:1145-1152, 1974.
- FREEMAN, B.M. ; MANNING, A.C.C. Glycogenolysis and lipolysis in *Gallus domesticus* during the perinatal period. *Comp. Gen. Pharmacol.*, 2:198-204, 1971.
- FRIEDBERG, S.J. ; SHER, P.B. ; BOGDONOFF, M.D. ; ESTES, E.H.Jr. Changes in emotional state and in plasma free fatty acid metabolism during exercise. *J. Lipid Res.*, 4:34-41, 1963.
- GALTON, D.J. ; BRAY, G.A. Studies on lipolysis in human adipose cells. *J. Clin. Invest.*, 46:621-629, 1967.
- GEORGE, J.C. ; BERGER, A.J. Avian myology. *Academic Press*, New York, 1966.
- GEORGE, J.C. ; VALLYATHAN, N.V. Effect of exercise on free fatty acid levels in the pigeon. *J. Appl. Physiol.*, 19:619-622, 1964.
- GILGEN, A. ; MAICKEL, R.P. ; NIKODIJEVIC, O. ; BRODIE, B.B. Essential role of catecholamines in the mobilization of free fatty acids and glucose after exposure to cold. *Life Sci.*, 1:709-715, 1962.
- GOODMAN, D.S. The interaction of human serum albumin with long chain fatty acid anions. *J. Amer. Chem. Soc.*, 80:3892-3898, 1958.
- GOODMAN, H.M. ; KNOBIL, E. The effects of adrenergic blocking agents of fatty acid mobilization during fasting. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 102:493-495, 1959.
- GOODRIDGE, A.G. Conversion of [U-¹⁴C] glucose into carbon dioxide, glycogen, cholesterol, and fatty acids in liver slices from embryonic and growing chicks. *Biochem. J.*, 108:655-661, 1968.
- GOODRIDGE, A.G. ; BALL, E.G. Lipogenesis in the pigeon: *in vivo* studies. *Am. J. Physiol.*, 213:245-249, 1967.

- GOODRIDGE, A.G. ; BALL, E.G. Studies on the metabolism of adipose tissue - XVIII. *In vitro* effects of insulin, epinephrine and glucagon on lipolysis and glycolysis in pigeon adipose tissue. *Comp. Biochem. Physiol.*, 16:367, 1965.
- GORDON, R.S.Jr. ; CHERKES, A. Production of unesterified fatty acids from isolated rat adipose tissue incubated *in vitro*. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 97:158, 1958.
- GRANDE, F. ; PRIGGE, W.F. ; AYA, M.de. Influence of theophylline on the adipogenic effect of glucagon *in vivo*. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 141:774, 1972.
- GRANDE, F. Effect of catecholamines on plasma free fatty acids and blood sugar in birds. *Society for Experimental Biology and Medicine.*, 131:740-744, 1969.
- GRANDE, F. Effect of glucagon and insulin on plasma free fatty acids and blood sugar in owls. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 133:540-543, 1970.
- GROSS, J.L. ; MIGLIORINI, R.H. Further evidence for a central regulation of free fatty acid mobilization in the rat. *Am. J. Physiol.*, 232(2):E165-E171, 1977.
- GROSS, R. ; MIALHE, P. Free fatty and pancreatic function in the duck. *Acta endocrinologica*, 112:100-104, 1986.
- HAGEN, J.H. Effect of glucagon on the metabolism of adipose tissue. *J. Biol. Chem.*, 236:1023-1027, 1961.
- HALES, C.N. ; LUZIO, J.P.; SIDDLE, K. Hormonal control of adipose-tissue lipolysis. *Biochem. Soc. Symp.*, 43:97-135, 1978.
- HARLAN, W.R. ; LASZLO, J. ; BOGDONOFF, M.D. ; ESTES, E.H. Alterations in free fatty acid metabolism in endocrine disorders. Part II. Sequential studies and the effects of 2-deoxy-D-glucose. *J. Clin. Endocr. Met.*, 23:41, 1963.
- HARVEY, S. ; KLANDORF, H. ; FOLTZER, C. ; STROSSER, M. ; PHILLIPS, J.G. Endocrine responses of ducks (*Anas platyrhynchos*) to treadmill exercise. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 48:415-420, 1982.

- HAVEL, J. ; FREDRICKSON, D.S. The metabolism of chylomicra. I. The removal of palmitic acid-I-C labeled chylomicra from dog plasma. *J. Clin. Invest.*, 35:1025-1032, 1956.
- HAVEL, R.G. ; GOLDFIEN, A. The role of the sympathetic nervous system in the metabolism of free fatty acids. *J. Lipid. Res.*, 1:102-108, 1959a.
- HAVEL, R.G. ; GOLDFIEN, A. Evidence for control of unesterified fatty acids metabolism by sympathetic nervous system. *Clin. Res.*, 7:116-123, 1959b.
- HAVEL, R.J. ; NAIMARK, A. ; BORCHGREVINK, C.F. Turnover rate and oxidation of free fatty acids of blood plasma in man during exercise: studies during continuous infusion of palmitate-I-C¹⁴. *J. Clin. Invest.*, 42:1054-1063, 1963.
- HAZELWOOD, R.L. Carbohydrate metabolism. In. Avian Physiology .P.D. Sturkie, (ed.). *Springer-Verlog*, New York, 4:303-325, 1986.
- HAZELWOOD, R.L. The avian endocrine pancreas. *Amer. Zool.*, 13:699-709, 1973.
- HAZELWOOD, R.L. ; CIESLAK, S.R. *In vitro* release of pancreatic hormones following 99% pancreatectomy in the chicken. *Gen. Comp. Endocr.*, 73:308-317, 1989.
- HEALD, R.J. ; McLACHAN, P.M. ; ROOKLEDGE, K. A. The effects of insulin, glucagon and adrenocorticotrophic hormone on the plasma glucose and free fatty acids of the domestic fowl. *J. Endocr.*, 33:83-95, 1965.
- HIRAMATSU, K.; WATANABE, T. Immunihistochemical study on the distribution of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) containing nerve fibers in the chicken pancreas. *Z. Mikrosk. -Anat. Forsch. Leipzig.*, 103:689-699, 1989.
- HIRAMATSU, K.; WATANABE, T.; FUJIOKA, T. The distribution of acetylcholinesterase (AChE)-positive nerves in chicken pancreas demonstrated by light and electron microscopy. *Arch. Histol. Cytol.*, 51:159-168, 1988.
- HISSA, R. Controlling mechanisms in avian temperature regulation: a review. *Acta Physiol. Scand.*, 132(Suppl 567):1-148, 1988.

- HOHTOLA, E. ; HISSA, R. ; SAARELA, S. Effect of glucagon on thermogenesis in the pigeon. *Am. J. Physiol.*, 232 (5):E451-E455, 1977.
- HOLST, J.J. ; SCHWARTZ, T.M. ; KNUHTSEN, S. ; JENSEN, S.L. ; NIELSEN, O.V. Autonomic nervous control of the endocrine secretion from the isolated, perfused pig pancreas *J. Auton. Nerv. Syst.*, 17:71-84, 1986.
- HONEY, R.N. ; WEIR, G.C. Insulin stimulates somatostatin and inhibits glucagon secretion from the perfused chicken pancreas-duodenum. *Life Sci.*, 24:1747-1750, 1979.
- IGUCHI, A. ; GOTOH, M. ; MATSUNAGA, H. ; YATOMI, A. ; HONMURA, A. ; YANASE, M. ; SAKAMOTO, N. Mechanism of central hyperglycaemic effect of cholinergic agonists in fasted rats. *Am. J. Physiol.*, 251:E431-E437, 1986..
- IGUCHI, A. ; MATSUNAGA, H. ; GOTOH, M. ; NOMURA, T. ; YATOMI, A. ; SAKAMOTO, N. Central hyperglycaemic effect of adrenaline and carbachol. *Acta Endocrinol.*, 109:440-445, 1985.
- ISHIKAWA, K. ; SUZUKI, M. ; SHIMAZU, T. Effects of acetylcholine injection into the hypothalamus of the insulin and glucagon release. *Neuroendocrinology*, 34:310-314, 1982.
- ISSEKUTZ, B.Jr. ; BORTZ, W.M. ; MILLER, H.I. ; PAUL, P. Turnover rate of plasma FFA in humans and in dogs. *Metabolism*, 16:1001-1009, 1967.
- JANSZ, A. ; DOORENBOS, H. ; REITSMAN, W.D. Effect of food intake on growth hormone level. *Lancet.*, 1:250-254, 1963.
- JEANRENAUD, B. Effect of glucocorticoid hormones on fatty acid mobilization and re-esterification in rat adipose tissue. *Biochem. J.*, 103:627-633, 1967.
- JENNI-EIERMANN, S. ; JENNI, L. Metabolic responses to flight and fasting in night migrating passerines. *J. Comp. Physiol.*, 161B:465-474, 1991.
- JOHN, T.M. ; GEORGE, J.C. Effect of prolonged exercise on levels on plasma glucose, free fatty acids and corticosterone and muscle free fatty acids in the pigeon. *Arch.*

Inter. Physiol. Bioch., 81:421-425, 1973.

JOHN, T.M. ; VISWANATHAN, M. ; GEORGE, J.C. ; SCANES, C.G. Flight effects on plasma levels of free fatty acids, growth hormone in homing pigeons. *Horm. Metabol. Res.*, 20:271-273, 1988.

JOHN, T.M. ; PILO, B. ; GEORGE, J.C. ; SCANES, C.G. Effect of vagotomy on plasma levels of growth hormone, free fatty acids and glucose in the pigeon. *Arch. Internat. Physiol. Biochem.*, 93:24-253, 1985.

JOHN, T.M. ; PILO, B. ; HAZELWOOD, R.L. ; GEORGE, J.C. Circulating levels of insulin and avian pancreatic polypeptide in pigeons under different experimental conditions. *Gen. Comp. Endocr.*, 75: 71-77 1989

JUNGAS, R.L. ; BALL, E.G. Studies on the metabolism of adipose tissue. XII. The effects of insulin and epinephrine on free fatty acids and glycerol production in the presence and absence of glucose. *Biochemistry*, 2:383-388, 1963.

KARMANN, H. ; MIALHE, P. Glucose, insulin and glucagon in the diabetic goose. *Horm. Metab. Res.*, 8:419-426, 1976.

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

KOBAYASHI, S.; FUJITA, T. Fine structure of mammalian and avian pancreatic islets with special reference to D cells and nervous elements. *Z. Zellforsch.*, 100:340-363, 1969).

KUMON, A. ; TAKAHASHI, A. ; KÓRI-HARA, T. Epinephrine: a mediator of plasma glycerol elevation by hypothalamic stimulation. *Am. J. Physiol.*, 233:E369-E373, 1977.

KUMON, A. ; TAKAHASHI, A. ; KÓRI-HARA, T. ; SHIMAZU, T. Mechanism of lipolysis induced by electrical stimulation of hypothalamus in the rabbit. *J. Lipid. Res.* 17:551-558, 1976a.

LANGSLOW, D.R. ; HALES, C.N. Lipolysis in chicken adipose tissue *in vitro*. *J.*

Endocr., 43:285-294, 1969.

LANGSLOW, D.R. ; HALES, C.N. The role of the endocrine pancreas and catecholamines in the control of carbohydrate and lipid metabolism. In.: Physiology and Biochemistry of Domestic Fowl. D.J Bell and B.M. Freeman (Eds.). *Academic Press*, London, 1:521-547, 1971.

LANGSLOW, P.R. ; BUTLER, E.J. ; HALES, C.N. ; PEARSON, A.W. The response of plasma insulin, glucose and nonesterified fatty acids to various hormones, nutrients and drugs in the domestic fowl. *J. Endocr.*, 46:243-260, 1970.

LAURELL, S. Turnover rate of unesterified fatty acids in human plasma. *Acta Physiol. Scand.*, 41:158-167, 1957.

LAURENT, F. ; MIALHE, P. Insulin and glucose-glucagon feedback mechanism in the duck. *Diabetologia*, 12:23-33, 1976.

LAURENT, F. ; MIALHE, P. Effect of free fatty acids and amino on glucagon and insulin secretions in normal and diabetic duck. *Diabetologia*, 15:315-321, 1978.

LEBOEUF, B. ; RENOLD A.E. ; CAHILL, G.F.Jr. Studies of rat adipose tissue *in vitro*. IX. Further effects of cortisol on glucose metabolism. *J. Biol. Chem.*, 237:988-991, 1962.

LEBOEUF, B. ; FLINN, R.B. ; CAHILL, G.F.Jr. Effect of epinephrine on glucose uptake and glycerol release by adipose tissue *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 102:527-529, 1959.

LEFEBVRE, P. The physiological effect of glucagon on fat-mobilization. *Diabetologia*, 2:130-132, 1966.

LEPKOVSKY, S. ; DIMICK, M.K. ; FURUTA, F. ; SNAPIR, N. ; PARK, R. ; NARITA, N. ; KOMATSU, K. Response of blood glucose and plasma free fatty acids to fasting and injection of insulin and testosterone in chickens. *Endocrinology*, 81:1001-1006, 1967.

LINDER, C. ; MIGLIORINI, R.H. Effect of adrenalectomy on adipose tissue and liver in

rats with acute insulin deficiency. *Diabetes*, 23:143-149, 1974.

LOUBATIÉRES - MARIANI, M.M. Données actuelles sur l'insulino-sécrétion et sa régulation. *J. Pharmacol.*, 17:83-103, 1986.

LYNN, W.S. ; MacLEOD, R.M. ; BROWN, R.H. Effects of epinephrine, insulin and corticotrophin on the metabolism of rat adipose tissue. *J. Biol. Chem.*, 235:1904-1911, 1960.

MAHLER, R.F. ; STAFFORD, W.L. The lipolytic effect of glucocorticoids. In: The control of lipid metabolism. J.K. Grant (ed.). Academic Press, New York, 155, 1963. Cit. by STEINBERG, D. and VAUGHAN, M. In: Handbook of Physiology, Adipose Tissue, Section 5, A.E. RENOLD and G.F. CAHILL, Jr. (eds.). American Physiological Society, Washington, 335-347, 1965.

McKEOWN, B.A. ; JOHN, T.M. ; GEORGE, J.C. Effect of exercise on levels of plasma growth hormone, free fatty acids and glucose in the pigeon. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 82:55-62, 1974.

MERSMANN, H.J. ; BROWN, L.J. ; BEUVING, R.de. ; ARAKELIAN, M.C. *Am. J. Physiol.*, 230:1439-1443, 1976.

MILLER, R.E. Pancreatic neuroendocrinology: peripheral neural mechanisms in the regulation of the islets of Langerhans. *Endocr. Ref.*, 2:471-494 1981

MUNCK, A. ; KORITZ, S.B. Studies on the mode of action of glucocorticoids in rats. I. Early effects of cortisol on blood glucose and glucose entry into muscle, liver and adipose tissue. *Biochem. Biophys. Acta*, 57:310-317, 1962.

O'NEILL, I.E. ; LANGSLOW, D.R. The action of hydrocortisone, insulin, and glucagon on chicken liver hexokinase and glucose-6-phosphatase and on the plasma glucose and free fatty acid concentrations. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 34:428-437, 1978.

ÖRO, L. ; WALLENBERG, L.R. ; BOLME, P. Influence of electrical supramedullary stimulation on the plasma level of free fatty acids, blood pressure and heart rate in the dog. *Acta Med. Scand.*, 178:697-711, 1965.

PADILHA-FILHO, O. ; ALBINO-NETO, L. ; PASCHOALINI, M.A. Efeitos da injeção

intraventricular de carbacol e de catecolaminas sobre a concentração plasmática de ácidos graxos livres (AGL) em pombos. 1.130:33, FESBE, Caxambu, 1993.

PALOKANGAS, R. ; VIHKO, V. ; NIUJA, I. The effects of cold and glucagon on lipolysis, glucogenolysis and oxygen consumption in young chicks. *Comp. Biochem. Physiol.*, A45:489-495, 1973.

PAOLETTI, R. ; SMITH, R.L. ; MAIKEL, R.P. ; BRODIE, B.B. Identification and physiological role of norepinephrine in adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 5:424, 1961.

PARKER, G.H. Changes in muscle liver and plasma free fatty acid levels in the pigeon on acute exposure to cold. *Arch. Intern. Physiol. Bioch.*, 86:771-777, 1978.

PARKER, G.H. ; GEORGE, J.C. Effect of exercise on the respiratory metabolism of [1-C] palmitate labelled pigeons. *Int. J. Biochem.*, 5:167-172, 1974.

PASCHOALINI, M.A. Central glucoregulation in the pigeon (*Columba livia*). Effects of intraventricular injections of carbachol and catecholamines on blood glucose concentration. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 23:815-818, 1990.

PASCHOALINI, M.A.; MIGLIORINI, R.H. Participation of the CNS in the control of FFA mobilization during fasting in rabbits. *Physiol. Behav.* 47(3), 1990.

PEARCE, J. Some differences between avian and mammalian biochemistry. *Int. J. Biochem.*, 8:269-275, 1977.

PEJOAN, C. ; DESBALS, B. Le contrôle hormonal de la lipolyse des cellules adipeuses isolés chez quelques mammifères domestiques et sauvages. *J. Physiol.*, 66:653-666, 1973.

RABEN, M.S. Human growth hormone. *Diabetes*, 8:232-233, 1959.

RABEN, M.S. ; HOLLENBERG, C.H. Effect of growth hormone on plasma fatty acids. *J. Clin. Invest.*, 38:484-488, 1959.

RAMENOFSKY, M. Fat storage and metabolism in relation to migration. In: E. Gwinner

(ed.) Bird migration - physiology and ecophysiology. Springer, Berlin Heidelberg, 214-231, 1990.

RESHEF, L. ; SHAPIRO, B. Effect of epinephrine, cortisone and growth hormone on release of unesterified fatty acids by adipose tissue *in vitro*. *Metabolism*, 9:551-555, 1960.

RUDMAN, D. ; BROWN, S.J. ; MALKIN, M.F. Adipokinetic actions of adrenocorticotropin, thyroid-stimulating hormones, fraction H, epinephrine and norepinephrine in the rabbit, guinea pig, hamster, rat, pig and dog. *Endocrinology*, 72:527-543, 1963.

SANTORO, J.R. Tireóide e metabolismo de ácidos graxos no rato. Estudos in vivo e com tecido adiposo in vitro. Tese de Doutorado, FMRPUSP, 1967.

SCANES, C.G. ; HALL, T.R. ; HARVEY, S. The physiology of growth hormone in poultry. *Domest. Anim. Endocr.*, 1:201-215, 1984.

SHAFRIR, E. ; KERPEL, S. Fatty acid esterification and release as related to the carbohydrate metabolism of adipose tissue: effect of epinephrine, cortisol and adrenalectomy. *Arch. Biochem. Biophys.*, 105:237-246, 1964.

SHAFRIR, E. ; STEINBERG, D. The essential role of the adrenal cortex in the response of plasma free fatty acids, cholesterol, and phospholipids to epinephrine injection. *J. Clin. Invest.*, 39:310-319, 1960.

SHAPIRO, B. ; CHOWERS, I. ; ROSE, G. Fatty acid uptake and esterification in adipose tissue. *Biochem. Biophys. Acta.*, 23:115-120, 1957.

SIBTON, G. ; MIALHE, P. Pancreatic hormones and plasma glucose: regulation mechanisms in the goose under physiological conditions. IV. Effects of food ingestion and fasting on pancreatic hormones and gut GLI. *Horm. Metab. Res.*, 11:123-129, 1979.

SMITH, P.H. Pancreatic islets of the Coturnix quail. A light and electron microscopic study with special reference to the islet organ of the splenic lobe. *Anat. Rec.*, 178:567-587, 1974.

- STEINBERG, D. ; SHAFRIR, E. ; VAUGHAN, M. Direct effect of glucagon on release of unesterified fatty acids (UFA) from adipose tissue. *Clin. Res. Proc.*, 7:250-256, 1959.
- STROSSER, M.T. ; COHEN, L. ; HARVEY, S. ; MIALHE, P. Somatostatin stimulates glucagon secretion in ducks. *Diabetologia.*, 18:319-322, 1980.
- TRANDABURU, T. Ultrastructural and acetylcholinesterase investigations on the pancreas intrinsic innervation of two bird species (*Columba livia* Gm. and *Euodice cantans* Gm.). *Gegenbaurs morph.Jahrb.*, 120:888-904, 1974.
- TYLER, J.M. ; KAJINUMA, H. ; MIALHE, P. Stimulation of pancreatic glucagon secretion by epinephrine *in vivo*. *Fed. Proc.*, 31:263, 1972.
- VALLYATHAN, N.V. ; GRINYER, I. ; GEORGE, J.C. Effect of fasting and exercise on lipid levels in muscle: a cytological and biochemical study. *Can. J. Zool.*, 48:377-383, 1970.
- VAUGHAN, M. ; STEINBERG, D. Effect of hormones on lipolysis and esterification of free fatty acids during incubation of adipose tissue *in vitro*. *J. Lipid Res.*, 4:193-199, 1963.
- VAUGHAN, M. The metabolism of adipose tissue *in vitro*. *J. Lipid Res.*, 2:293-316, 1961.
- VISWANATHAM, M. ; JOHN, T.M. ; GEORGE, J.C. ; ETCHE, R.J. Flight effects on plasma glucose, lactate, catecholamines and corticosterone in homing pigeons. *Horm. Metabol. Res.*, 19: 400-402, 1987.
- WATANABE, T. ; YASUDA, M. Electron microscopic study on the innervation of the pancreas of the domestic fowl. *Cell. Tiss. Res.*, 180:453-465, 1977.
- WEIL, R. Pituitary growth hormone and intermediary metabolism. I. The hormonal effect on the metabolism of fat and carbohydrate. *Acta Endocrinologia Periodica*. Copenhagen, 1965.
- WHITE, J.E. ; ENGEL, F.L. Lipolytic action of corticotropin on rat adipose tissue *in vitro*.

J. Clin. Invest. 37:1556-1563, 1958.

YAMAGUCHI, N. Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanisms involved in the liver pancreas, and adrenal gland under hemorrhagic and hypoglycemic stress. *J.Physiol Pharmacol.*, 80:167-206, 1992.

ZIERLER, K.L. ; RABINOWITZ, D. Effect of very small concentrations of insulin on forearm metabolism. Persistence of its action on potassium and free fatty acids without its effect on glucose. *J. Clin. Invest.*, 43:950-962, 1964.

ANEXOS

Participation of the autonomic nervous system in lipolysis induced by intraventricular injection of carbachol in the pigeon

Denise M.S. de Mello^b, Candido G. Freitas^a, José Marino Neto^a, Marta A. Paschoalini^{a,*}

^a Department of Physiological Sciences, Center of Biological Sciences, Federal University of Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil

^b Center of Agroveterinary Sciences - CAV / UDESC, Av. Luís de Camões 2090, 88520-000 Lages, SC, Brazil

Abstract

The possible involvement of central cholinergic neurotransmission in lipomobilization in avian species was investigated by injecting carbachol into the brain lateral ventricle (ICV) of conscious pigeons (N = 9 per experimental group). ICV injections of carbachol (27 nmol in 1 μ l) induced an intense increase (nearly 91% above baseline levels) in the concentration of plasma free fatty acids (FFA). Previous intraperitoneal administration of hexamethonium (10 mg/kg) completely blocked the lipomobilizing effect of ICV injections of carbachol. These results suggest that cholinergic neurons may be involved in central mechanisms controlling FFA mobilization in pigeons, and that this response is mainly mediated by activation of autonomic nervous system.

Keywords: Free fatty acids; Carbachol; Hexamethonium; Autonomic nervous system; Pigeons

Several lines of evidence indicate that central nervous system is capable of influencing free fatty acid (FFA) mobilization from adipose tissue in many mammalian species. After electrical stimulation of the hypothalamus of the rabbit [15], monkey [6], dogs [18], cats [1] and rats [2], increases in the concentration of plasma FFA were repeatedly observed. In addition, it has been shown that anterior hypothalamic deafferentation in rats impairs FFA mobilization in a number of physiological situations requiring increased sympathetic activity, as during cold exposure, forced muscular activity or a relatively long period of fasting [9]. Subsequent studies indicated that a longitudinal pathway connecting the preoptic, lateral and posterior hypothalamic areas participates in the process of FFA mobilization in rats [5]. However, in avian species, there are no data concerning the possible existence and nature of the central nervous system participation in lipid mobilization, despite the established notion that circulating FFA represents a crucial fuel in a number of physiological situations where important energetic demand holds [11,13,16]. As a first step to explore the central regulatory mechanisms for FFA mobilization in the conscious pigeon, we utilized

intracerebroventricular (ICV) injections of carbachol. 1) to investigate the possible influence of central cholinergic neurotransmission in the regulation of FFA mobilization from adipose tissue in pigeons, and 2) to test the participation of the autonomic nervous system as a mediator of the mechanism of lipolysis induced by ICV injection of a cholinergic receptor agonist.

Adult pigeons (*Columba livia*) of both sexes (300–400 g body weight) were kept in individual cages at 22–24 °C with free access to food and water. At least 7 days before the experiments, each animal was anesthetized with Equithesin (0.15 ml/100 g i.v.) and a guide cannula was stereotaxically implanted into the right lateral ventricle. The cannula was placed 1.0 mm lateral to the midline, 6.0 mm cranially to the interauricular line and lowered to a depth of 6.0 mm below the surface of the skull [14]. With these coordinates, the cannula tip was aimed to the ventro-caudal region of the lateral ventricle. During surgery, the positioning of the cannula inside the ventricular space was monitored through pressure drops in a saline-filled manometer attached to the cannula. Once inside the ventricle, the cannula was anchored firmly to the skull with jeweler's screws and fixed with dental cement. For repeated blood sampling, the brachial artery was also cannulated under general anesthesia 2 days before the experiment. A complete recovery of the normal patterns of food and water intake, locomotion and defaecation was ob-

Correspondence: Marta A. Paschoalini, Departamento de Ciências Fisiológicas - CCB, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil. Phone: 048 231.9352 Fax: 048 231 9672.

served 24 h after surgery in all the animals used for the experiments. In experiment 1, carbachol (27 nmol in 1 μ l of NaCl 0.15 M, pyrogen-free solution) or saline (1 μ l) were administered into the lateral ventricle of conscious pigeons 20 min. after injection of 1 ml of saline by the intraperitoneal (IP) route. In experiment 2, hexamethonium (10 mg/kg in 1.0 ml of saline 0.15 M NaCl) was injected by the IP route, 20 min. before ICV injection of carbachol. The solutions were administered over a period of 60 s to minimize possible alterations in ventricular pressure. Blood samples (0.6 ml) were collected immediately before (time 0), and at 15, 30, 45 and 60 min. after the ICV injections. FFA levels were measured by the method of Dole and Meinertz [7], adapted to allow the utilization of small (200 μ l) amounts of plasma. At the end of the experiments, Evans blue dye (1% in water, 1 μ l) was injected through the guide cannula, to assess for successful placement inside the lateral ventricle. Data for each treatment and at every time interval were statistically tested by one-way ANOVA. Further comparisons were carried out by unpaired (between individual groups and their respective controls) or paired (between baseline and the different sampling times) Student "t" test ($p < 0.05$).

ICV injection of carbachol (27 nmol) to conscious pigeons produced a gradual increase in the plasma FFA

concentration. This increase was apparent 15 min. after the injection, was enhanced at 30 and 45 min., and persisted unchanged throughout the remaining experimental period, when plasma FFA concentrations were approximately 91% higher than basal values (Fig. 1A). Although the ICV injection of saline also induced a small rise in plasma FFA concentration by the end of the experiment, the increases observed after carbachol were always significantly higher than those induced by saline solution (Fig. 1A). Previous treatment with hexamethonium completely blocked the elevation of plasma FFA concentration induced by ICV injection of carbachol (Fig. 1B). The small but significant increase of plasma FFA observed 60 min. after ICV injection of carbachol in pigeons previously treated with hexamethonium was not significantly different from the increase induced by ICV injection of saline at the same interval (Fig. 1B).

Carbachol mimics the muscarinic and nicotinic actions of acetylcholine, and can release endogenous acetylcholine from nerve terminals. It was used in the present experiments because rapid inactivation by cholinesterase might reduce the possibility of detecting the effects of exogenous acetylcholine [17]. The results obtained after ICV injection of carbachol, besides indicating the existence of central mechanisms controlling FFA mobilization from adipose

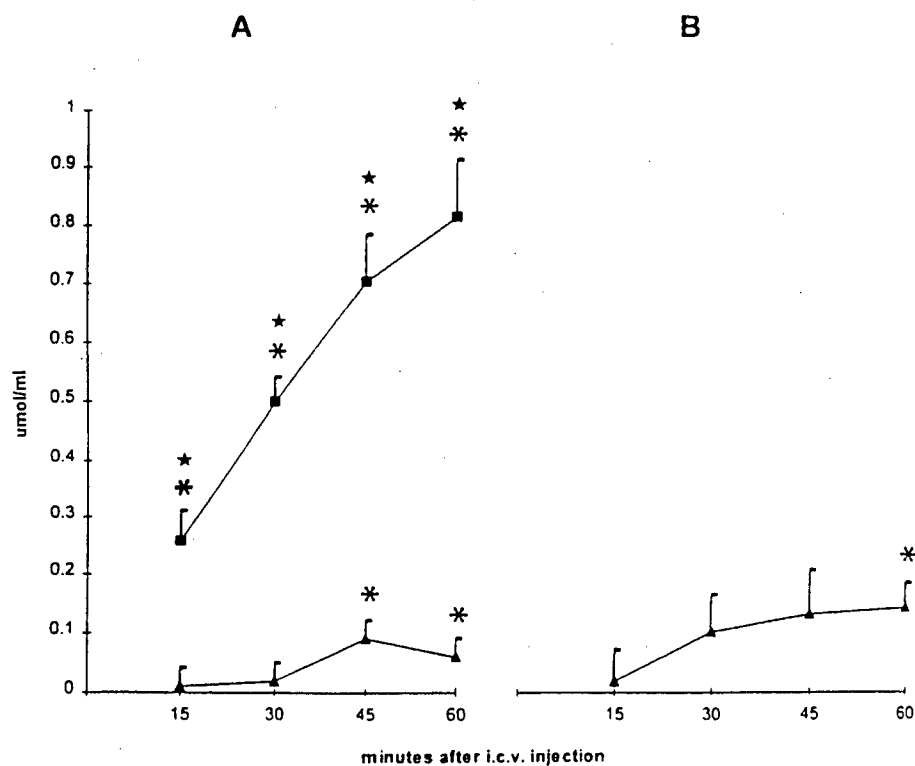


Fig. 1. A: Effect of ICV injection of carbachol (■, 27 nmol, baseline FFA = $0.89 \pm 0.02 \mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$) or saline (▲, 1 μ l, baseline FFA = $0.82 \pm 0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$) on plasma FFA levels in pigeons (vertical axis) treated 20 min. before with saline IP (1 ml). B: Effect of previous IP treatment with hexamethonium (▲, 10 mg/kg, baseline FFA = $0.82 \pm 0.09 \mu\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$) on plasma FFA response to ICV injection of carbachol. Data (mean \pm S.E.M.) represent the differences from baseline values. n = 9 per group. (-) and (▲) indicate significant differences ($p < 0.05$) from baseline values and from corresponding values of saline-treated pigeons, respectively. *

tissue of pigeons, suggest that central cholinergic components could be involved in such mechanisms.

Results obtained by Clough and Thompson [4] in the sheep showed that, during cold exposure, a combined action of sympathetic postganglionic fibers and catecholamines from the adrenal medulla contribute to the increase in plasma FFA concentration induced by ICV injection of acetylcholine. In the present experiments, the hexamethonium (a nicotinic receptor antagonist for both sympathetic and parasympathetic autonomic ganglia) abolishes the plasma FFA concentration increase after central injections of carbachol, suggesting that this response can be mediated by the activation of autonomic nerves supplying adipose tissue in the pigeon. However, in contrast to mammals, catecholamines are reported to play little or no direct stimulatory role in lipolytic activity in birds, and, when an involvement has been proposed, the effects reported were largely dependent on the species examined, the age and the alimentary state of the animals [10]. It is thus apparent that, in avian species, sympathetic nerves supplying adipose tissue may not have a direct action on FFA mobilization, at least through the release of noradrenaline.

On the other hand, glucagon exerts a powerful lipolytic effect in all avian forms examined, both *in vivo* or *in vitro*, and it has been suggested that the release of glucagon might be more effective for lipid mobilization in birds than in mammals [10]. Furthermore, adrenaline was shown to stimulate glucagon secretion both *in vivo* [20] and in the isolated perfused pancreas of ducks [8]. Therefore, it is conceivable that FFA mobilization induced by ICV injection of carbachol in pigeons could be mediated by modulation of glucagon secretion from pancreatic islets, through autonomic activation. The lipid mobilizing effects of central carbachol injections could also be mediated by increased growth hormone (GH) secretion. It has been shown that adrenaline has stimulatory effects on plasma GH concentration in the domestic fowl [3,19], and that exogenous GH increases levels of plasma FFA in pigeons [12]. Such a catecholamine-mediated GH release mechanism is thought to be operative in the increase in FFA plasma concentration during flight in pigeons [13]. Present data, showing that hexamethonium abolishes the carbachol-induced increase in plasma FFA concentration, suggest that these possible pancreatic or pituitary mechanisms depend on autonomic activation, induced by central stimulation of cholinergic circuits. The increased autonomic activity could act (through sympathoadrenal or postganglionic systems) on pancreatic and/or pituitary mechanisms to promote lipolysis. Additional studies are being conducted, 1) to determine if and how sympathoadrenal and sympathetic or parasympathetic postganglionic fibers participate in the process of lipomobilization induced by ICV injection of carbachol, 2) to examine the contributions of glucagon, GH and other possible hormonal mechanisms to this effect, and 3) to investigate the possible involvement of these

phenomena in energetically-demanding physiological circumstances (e.g., during fasting or exercise) in this avian species.

Acknowledgments

The authors are indebted to Luciane P.N. Hackl, Lourenço A. Neto, Vilma N. Sagas and Carlos C. Jacob, for skillful technical assistance. Research supported by CNPq (proc. n° 521239/93-1) and CAPES.

References

- [1] Barkai, A. and Allweis, C.. Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma free fatty acid concentration in cats. *J. Lipid Res.*, 13 (1972) 725-732.
- [2] Barkai, A. and Allweis, C.. Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma levels of free fatty acids and glucose in rats. *Metabolism*, 21 (1972) 921-927.
- [3] Buonomo, F.C., Zimmerman, N.G., Lauterio, T.J. and Scanes, C.G.. Catecholamine involvement in the control of growth hormone secretion in the domestic fowl. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 54 (1984) 360-371.
- [4] Clough, D. P. and Thompson, G. E.. Effect of intraventricular noradrenaline and acetylcholine on plasma unesterified fatty acid concentration in sheep. *Neuroendocrinology*, 9 (1972) 365-474.
- [5] Coimbra, C. C. and Migliorini, R. H.. Evidence for a longitudinal pathway in rat hypothalamus that controls FFA mobilization. *Am. J. Physiol.*, 254 (1983) E322-E337.
- [6] Correll, J. W.. Central neural structures and pathways important for free fatty acid (FFA) mobilization demonstrated in chronic animals. *Fed. Proc.*, 22 (1963) 574.
- [7] Dole, P. and Meinertz, H.. Microdetermination of long chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.*, 235 (1960) 2595-2599.
- [8] Gross, R. and Mialhe, P.. Free fatty acids and pancreatic function in the duck. *Acta Endocrinol.*, 112 (1986) 100-104.
- [9] Gross, J. L. and Migliorini, R. H.. Further evidence for a central regulation of free fatty acid mobilization in the rat. *Am. J. Physiol.*, 232 (1977) E165-E171.
- [10] Hissa, R.. Controlling mechanisms in avian temperature regulation: a review. *Acta Physiol. Scand.*, 132. (Suppl. 567). (1988) 1-148.
- [11] Jeronen, E., Isometsä, P., Hissa, R. and Pyörnilä, A.. Effect of acute temperature stress on the plasma catecholamine, corticosterone and metabolite levels in the pigeon. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55C (1976) 17-22.
- [12] John, T.M., McKeown, B.A. and George, J.C.. Influence of exogenous growth hormone and its antiserum on plasma free fatty acid level in the pigeon. *Comp. Biochem. Physiol. (A)* 46 (1973) 497-504.
- [13] John, T. M., Viswanathan, M., George, J. C. and Scanes, C. G.. Flight effects on plasma levels of free fatty acids, growth hormone and thyroid hormones in homing pigeons. *Hormon. Metab. Res.*, 20 (1988) 271-273.
- [14] Karten, H. J. and Hodós, W.. A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (*Columba livia*). Johns Hopkins Press, Baltimore, 1967.
- [15] Kumon A., Takahashi, A., Hara, T. and Shimazu, T.. Mechanism of lipolysis induced by electrical stimulation of the hypothalamus in the rabbit. *J. Lipid Res.*, 17 (1976) 551-558.
- [16] LeMaho, Y., Vu Van Kha, H., Koubi, H., Dewasmes, G., Girard, J., Ferre, P. and Cagnard, M.. Body composition, energy expenditure, and plasma metabolites in long-term fasting geese. *Am. J. Physiol.*, 241 (1981) E342-E354.
- [17] McKinstry, D. M. and Koelle, G. B.. Acetylcholine release from the

cat superior cervical ganglion by carbachol. J. Pharmacol. Exp. Ther., 157 (1967) 319-327.

- [18] Öro, L., Wallenberg, L. R. and Bolme, P., Influence of electrical supramedullary stimulation on the plasma level of free fatty acid, blood pressure and heart rate in the dog, Acta Med. Scand., 178 (1965) 697-711.

[19] Scanes, C.G., Hall, T.R. and Harvey, S., The physiology of growth hormone in poultry. Domest. Anim. Endocr., 1 (1984) 201-215.

- [20] Tyler, J.M., Kajinuma, H. and Mialhe, P., Stimulation of pancreatic glucagon secretion by epinephrine *in vivo*. Fed. Proc., 31 (1972) 263.