

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM NEUROCIÊNCIAS E COMPORTAMENTO

**PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS
TIPO NMDA E AMPA/KAINATO NA HIPOFAGIA INDUZIDA
PELA INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE
GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM POMBOS**

NESTOR ANTONIO SCHMIDT DE CARVALHO

FLORIANÓPOLIS(SC), JANEIRO DE 1998

NESTOR ANTONIO SCHMIDT DE CARVALHO

**PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS
TIPO NMDA E AMPA/KAINATO NA HIPOFAGIA INDUZIDA
PELA INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE
GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM POMBOS**

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

Orientadora Prof^a. Dr^a. Marta Aparecida Paschoalini

FLORIANÓPOLIS(SC), JANEIRO DE 1998

“PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS TIPO NMDA E
AMPA/KAINATO NA HIPOFAGIA INDUZIDA PELA INJEÇÃO
INTRACEREBROVENTRICULAR DE GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM
POMBOS”.

NESTOR ANTONIO SCHMIDT DE CARVALHO

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

Marta Aparecida Paschoalini

Coordenador do Curso

Nelson Horácio Gabilan

Nelson Horácio Gabilan

Banca Examinadora

Marta Aparecida Paschoalini

Marta Aparecida Paschoalini (Presidente)

Geraldo Morgado Fagundes

Geraldo Morgado Fagundes

José Marino Neto

José Marino Neto

“O universo é belo e complexo demais para ser obra do acaso... e neste momento, só posso agradecer ao Supremo Senhor do Universo... Deus, o único que poderia criar tantos amigos e fatores que convergiram neste trabalho”.

Aos meus pais, Nestor e Dulce

À minha esposa, Maria Helena

Aos nossos filhos, Eliziane e Fernando,

*que souberam compartilhar deste meu ideal,
pelo incentivo constante e pela participação
nessa caminhada”*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Professora Dr^a. Marta Aparecida Paschoalini pela orientação, apoio e dedicação em todos os momentos da realização deste trabalho, contribuindo de forma relevante para o meu crescimento científico, através da confiança e desta oportunidade em que pude realizar tudo o que sempre acreditei.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), instituição fundamental na minha formação técnico-profissional e no meu crescimento científico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Marino Neto, pela convivência e pelas valiosas sugestões com que contribuiu para este trabalho.

Ao Prof. Cândido Geraldo Freitas, pela amizade, pelas sugestões e auxílio técnico.

Ao Prof. Nelson Horácio Gabilan, pelo incentivo e apoio prestados.

Ao Prof. Geraldo Morgado Fagundes, pela amizade e pelo apoio durante este trabalho.

Aos Professores Telmo Mezadri, Henri Stuker, Elizabete Rabaldo Bottan, Nair Therezinha Pereira da Silva, Rinaldo Ferreira, David Rivero Tames, Adgar Z. Bittencourt, Mabel P. Ramos, Márcia L. Gonçalves, José Erno Taglieber, Salete M. Rebello e Ricardo Ferreira, pela amizade, estímulo e apoio dispensados.

Ao secretário do curso, Nivaldo Manuel Vicente, pela amizade, sugestões e auxílio.

Aos colegas e amigos do curso, principalmente a amiga Márcia Mezadri, pelos momentos de alegria e de companheirismo.

Aos funcionários e técnicos do Laboratório de Fisiologia, a cada um de forma individualizada, pelos momentos de alegria e de companheirismo e pelo auxílio na execução dos trabalhos de pesquisa.

À Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), pelo incentivo e pelo apoio contribuindo para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que, de alguma maneira, de forma direta ou indireta, contribuíram para o êxito deste trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| RESUMO | vii |
| ABSTRACT | ix |
| FIGURAS..... | x |
| TABELAS | xi |
| ABREVIATURAS | xiii |
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 2. OBJETIVOS..... | 19 |
| 2.1. <u>Objetivo Geral</u> | 19 |
| 2.2. <u>Objetivos Específicos</u> | 19 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 20 |
| 3.1. <u>Animais</u> | 20 |
| 3.2. <u>Implantação da Cânula no Ventriculo Cerebral Lateral</u> | 20 |
| 3.3. <u>Injeção Intracerebroventricular</u> | 22 |
| 3.4. <u>Soluções Administradas</u> | 22 |
| 3.5. <u>Procedimento Experimental Geral</u> | 24 |
| 3.6. <u>Protocolo Experimental</u> | 24 |
| 3.7. <u>Critérios de Caracterização do Comportamento</u> | 27 |
| 3.8. <u>Registro Alimentar</u> | 28 |
| 3.9. <u>Reagentes</u> | 28 |
| 3.10. <u>Histologia</u> | 28 |
| 3.11. <u>Análise dos Resultados</u> | 29 |
| 4. RESULTADOS..... | 30 |
| 5. DISCUSSÕES | 68 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 78 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 79 |

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo investigar neurotransmissores do sistema nervoso central que possam interferir no mecanismos da fome e da saciedade em pombos. Até o presente momento, os aminoácidos excitatórios em termos quantitativos constituem o principal grupo de neurotransmissores e o glutamato monossódico é encontrado em maior quantidade entre estes. Nas investigações foram utilizadas injeções de glutamato intracerebroventriculares em variadas doses de 50 , 150 , 300 e 600 nmol ou líquor , em diferentes grupos de pombos e diferentes estados nutricionais (saciados ou em jejum de 24 ,48 ou 96 horas). No transcorrer dos experimentos confirmou-se que o glutamato interferia na capacidade dos pombos de ingerir alimentos, provocando a diminuição da ingestão de alimentos. Procurou-se observar também os comportamentos (auto-limpeza, imobilidade alerta, sono e locomoção) dos pombos após injeção i.c.v. de glutamato, notando-se que não ocorrem alterações significativas nos comportamentos. Foi pesquisada a participação dos subtipos de receptores que interferem na ingestão de alimentos, através de injeções i.c.v. de bloqueadores (MK- 801, CNQX e AP - 3), específicas para receptores glutamatérgicos, indicando que os subtipos de receptores NMDA e AMPA/KAINATO parecem estar envolvidos neste controle da saciedade nos pombos. Verificou-se a toxicidade do glutamato nas doses

utilizadas, comparando a hiperfagia provocada quando injetou-se adrenalina por via i.c.v., bem como em pesquisas realizadas por outros autores com a mesma substância. A resposta foi idêntica em ambas as pesquisas. Os dados sugerem que o glutamato monossódico parece estar envolvido no controle neural da ingestão de alimento em pombos, não interferindo na ingestão de água e também não interferindo em outros comportamentos como sono, imobilidade alerta, autolimpeza e locomoção.

ABSTRACT

This present work was aimed at investigating neurotransmitters of the central nervous system that may interfere with the appetite and satiety mechanisms of pigeons. Up to this moment, the excitatory amino acids, in quantitative terms, make up the main group of neurotransmitters, and the monosodium glutamate is found in great quantities among these. During the investigation process, it was used intracerebroventricular glutamate injections at different doses of 50, 150, 300, and 600 nmol or liquor, in different groups of pigeons and at different nutritional stages (satiated or under a 24-, 48-, or 96-hour fasting). Throughout the experiments, it was confirmed that the glutamate would interfere in the pigeons' capability of food intake, causing a decrease in the food intake. It has been attempted to observe the pigeons' behaviors (self-cleaning, alert immobility, sleep, and locomotion) after the i.c.v. glutamate injection, and it was noticed that significant alterations in their behaviors took place. It has been examined the participation of receptor subtypes which interfere in the food intake, through the i.c.v. injections of blockers (MK-801, CNQX and AP-3), specific for the glutamatergic receptors, thus indicating that the NMDA and AMPA/KAINATO receptor subtypes seem to be involved in the pigeons' satiety control. It has been observed the toxicity of glutamate in the utilized doses, comparing the hyperphagia caused by the injection of adrenaline via i.c.v., as well as in researches done by other authors with the same substance. The response was identical in both researches. The data suggest that the monosodium glutamate seems to be involved in the neural control of food intake of pigeons, not interfering in the water intake nor in other behaviors such as sleep, alert immobility, self-cleaning, and locomotion.

FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1: Ingestão de Alimento - Animais Saciados..... | 32 |
| FIGURA 2: Ingestão de Água - Animais Saciados | 34 |
| FIGURA 3: Ingestão de Alimento - Jejum 24h..... | 37 |
| FIGURA 4: Ingestão de Água - Jejum 24h | 39 |
| FIGURA 5: Ingestão de Alimento - Jejum 48h..... | 44 |
| FIGURA 6: Ingestão de Água - Jejum 48h | 46 |
| FIGURA 7: Ingestão de Alimento - Jejum 96h..... | 49 |
| FIGURA 8: Ingestão de Água - Jejum 96h | 51 |
| FIGURA 9: Ingestão de Alimento - Adrenalina..... | 58 |
| FIGURA 10: Ingestão de Alimento | 61 |
| FIGURA 11: Ingestão de Água | 64 |

TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1: Latência e Duração da Resposta de Ingestão de Alimento | |
| Animais Saciados | 33 |
| TABELA 2: Latência e Duração da Resposta de Ingestão Hídrica | |
| Animais Saciados | 35 |
| TABELA 3: Latência e Duração da Resposta de Ingestão de Alimento | |
| Animais Jejum de 24h | 38 |
| TABELA 4: Latência e Duração da Resposta de Ingestão Hídrica | |
| Animais Jejum de 24h | 40 |
| TABELA 5: Efeitos do Glutamato nos Comportamentos | 42 |
| TABELA 6: Latência e Duração da Resposta de Ingestão de Alimento | |
| Animais Jejum de 48h | 45 |
| TABELA 7: Latência e Duração da Resposta de Ingestão Hídrica | |
| Animais Jejum de 48h | 47 |
| TABELA 8: Latência e Duração da Resposta de Ingestão de Alimento | |
| Animais Jejum de 96h | 50 |
| TABELA 9: Latência e Duração da Resposta de Ingestão Hídrica | |
| Animais Jejum de 96h | 52 |
| TABELA 10: Porcentagem da Redução na Ingestão de Alimentos..... | 54 |

| | |
|---|----|
| TABELA 11: Porcentagem da Redução na Ingestão Hídrica..... | 55 |
| TABELA 12: Quadro Comparativo entre a Latência para Iniciar a Alimentação e a Duração do Comportamento Alimentar - Bloqueadores..... | 62 |
| TABELA 13: Quadro Comparativo entre a Latência para Iniciar a Ingestão Hídrica e a Duração do Comportamento Dipsogênico - Bloqueadores..... | 65 |
| TABELA 14: Quadro Comparativo dos Comportamentos de Locomoção, Imobilidade Alerta, Autolimpeza e Sono - Bloqueadores..... | 67 |

ABREVIATURAS

| | |
|---------|--|
| AAE: | Aminoácido excitatório |
| ACPD: | 1-aminociclopentano-1, 3-dicarboxilato |
| Ampa: | Ácido-alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-isoxosol-4-propionico |
| AP-3: | Amino-3 fosfonopropionico |
| CNQX: | Derivado de Dihidroxiquinolina |
| GABA: | Ácido Gama-Aminobutílico |
| Gli: | Glicina |
| Glu: | Glutamato monossódico |
| i.c.v.: | Intracerebroventricular |
| i.p.: | Intraperitoneal |
| Ka: | Ácido caínico |
| LAP-3: | Ácido L-2-Amino-3-Fosfonopropionico |
| LTP: | Pontencialização pós-tetânica |
| Mg: | Magnésio |
| MK-801: | Dizolcipine Maleate |
| Na: | Sódio |
| Nbox: | 6-nitro-7-sulfamobenzoquinolina-2-3diona |
| NMDA: | N-metil-D-aspartato |
| Qa: | Quisqualato |
| SNC: | Sistema Nervoso Central |
| Zn: | Zinco |

1. INTRODUÇÃO

O glutamato é o aminoácido livre encontrado em maior quantidade no sistema nervoso central dos mamíferos (CUTLER e DUDZINSKI, 1974), sendo particularmente elevado no cerebelo, córtex cerebral e tálamo (SHANK e APRISON, 1970). O glutamato é atualmente reconhecido como o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central (COTMAN et al, 1995; TEBECIS, 1974).

A posição do mesmo como neurotransmissor no cérebro dos mamíferos foi incerta por muitos anos. Isto é em parte explicável pelo fato de que ele é uma substância que está envolvida no metabolismo intermediário, no tecido nervoso. Pode-se citar o glutamato atuando em uma função como a desintoxicação de amônia no cérebro, ou como um importante fator na síntese de proteínas e peptídeos. Também atua no papel de um precursor para o neurotransmissor inibitório gaba (BENJAMIN e QUASTEL, 1972). Por estes motivos, tem sido extremamente difícil dissociar as funções que este aminoácido faz, atuando como uma substância transmissora. Embora CURTIS et al (1959) tenham sido um dos primeiros a obter evidências concludentes sobre a poderosa ação excitatória do glutamato monossódico (glu) e do aspartato sobre os neurônios, somente há poucos anos esses aminoácidos foram considerados neurotransmissores no sistema nervoso central (SNC).

MORGANE e STERN (1974) concluíram suas pesquisas dizendo que há uma grande quantidade de evidências recentes sobre os mecanismos transmissores no córtex cerebral indicando não ser a acetilcolina o principal transmissor relacionado à excitação ou inibição pós sináptica. Na verdade, há maior probabilidade de que o principal transmissor excitatório seja um aminoácido como o L-glutamato, enquanto que o mais importante transmissor inibitório provavelmente seja o ácido gama-aminobutírico(gaba).

No presente momento, os aminoácidos, em termos quantitativos, parecem constituir o principal grupo de substâncias químicas de ações neurotransmissoras no sistema nervoso dos mamíferos (SNYDER e YOUNG, 1975). Segundo BRADFORD (1987), existem cinco aminoácidos participando da transmissão sináptica do sistema nervoso central: glutamato, aspartato, gaba, glicina e taurina.

Atualmente, sabe-se que um grande número de sinapses no sistema nervoso central utiliza os aminoácidos como neurotransmissores (MONAGHAN et al, 1989; WATKINS et al, 1990; ERDO, 1995; NICHOLLS, 1992).

Para que uma determinada substância seja aceita como neurotransmissora necessita preencher alguns requisitos básicos (WERMAN, 1966; DAVIDSON, 1987), que podem ser resumidos nos seguintes itens:

- 1) Sua presença necessita ser detectada nos terminais nervosos estudados;

2) Os precursores e sistemas enzimáticos necessários à sua síntese devem, também, estar presentes nos neurônios da região sob investigação;

3) É necessária a existência de algum sistema para inativação da substância imediatamente após sua liberação na fenda sináptica;

4) Após estimulação adequada, a substância precisa ser liberada nos terminais nervosos e detectada no líquido extra-celular;

5) Aplicada à membrana pós-sináptica, a substância deve mimetizar os efeitos do mediador natural e deve, também, interagir com agentes farmacológicos do mesmo modo como faz aquele.

Deve-se, porém, ter em mente que, em função das dificuldades técnicas e/ou de interferências não identificadas, não significa que uma substância seja obrigada a cumprir todos os itens para ser considerada neurotransmissor.

Os critérios utilizados na identificação dos mediadores do sistema nervoso central têm sido lentamente satisfeitos pela seqüência de trabalhos isolados e desenvolvidos por diferentes grupos de investigação.

O glutamato parece satisfazer os princípios para ser classificado como um neurotransmissor excitatório, no sistema nervoso central, em mamíferos. Esta ação excitatória do glutamato foi observada pela primeira vez no córtex cerebral por HAYASHI, em 1954. Desde então, a ação excitatória deste aminoácido tem sido demonstrada em praticamente todos os níveis do

sistema nervoso central dos mamíferos, chegando a ser considerado o mais importante neurotransmissor excitatório central (CHUJO et al, 1975; COTMAN e HAMBERGER, 1978; GAHWILER, 1976; GELLER e WOODWORD, 1974).

A retirada do glutamato da fenda sináptica ocorre pela:

1) grande afinidade aos ions sódio (Na^+). Assim, serve-se deste como um co-transporte, indo para o interior do neurônio e acumulando-se dentro das vesículas.

2) captura por células gliais, vizinhas ao neurônio, seguida de sua conversão em glutamina.

Foram, também, identificados no sistema nervoso central receptores específicos para o glutamato. Estes receptores estão organizados em vários subtipos, que incluem ambas as famílias de receptores ionotrópicos e metabotrópicos.

Os receptores ionotrópicos dividem-se em:

NMDA: recebem este nome pelo fato de também terem afinidade agonista ao N-metil-d-aspartato.

KA: são receptores sensíveis ao ácido caínico.

QA/AMPA: são receptores sensíveis ao quisqualato e ao ácido-alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-isoxosol-4-propiónico.

Os receptores metabotrópicos recebem esta denominação por estarem ligados à proteína transdutora (G), produzindo alteração nos segundos

mensageiros intracelulares e gerando respostas sinápticas mais lentas (COTMAN et al, 1995).

O subtipo NMDA, dentre os receptores de glutamato, tem sido o mais exaustivamente estudado (LEESON, 1993). O complexo receptor é constituído de sítios de ligação acoplados a um canal iônico que é permeável ao sódio e ao cálcio, embora o canal não seja do tipo voltagem-dependente.

Os receptores NMDA sofrem modulação por um grupo de compostos quimicamente diferentes tais como a glicina, as poliaminas, a fenciclidina, a quetamina e o MK-801 (REYNOLDS et al, 1987; YEH et al, 1990; IVERSEN, 1994) e o canal iônico também é bloqueado por zinco (Zn^{++}), o qual ocuparia um sítio de ligação distinto ao de ligação do Magnésio (Mg^{++}).

Em resumo, o complexo receptor ionóforo NMDA possui vários sítios de ligação:

1) Um sítio para os agonistas (GLU e NMDA) e antagonistas competitivos como o ácido-2-amino-fosfanopentanóico (AO 5), 3-(2-carboxipiperazin-4) propifosfanato (CPP), D-2-amino-5-fosfanoverato (D-APV) e D-aminociclopentano-1-3-dicarboxilato (GAMP);

2) Um sítio regulatório para a GLI, insensível à estricnina;

3) Um sítio para o Mg^{++} ;

4) Um sítio para a fenciclidina e drogas correlatas;

5) Um sítio para o Zn^{++} ;

6) Um sítio regulatório alostérico para as poliaminas (JOHNSON e ASCHER, 1987; RANSOM e DESCHENES, 1990; SONG e HUANG, 1990; BETZ, 1991; LEESON, 1993).

A fisiologia dos múltiplos sítios regulatórios desse receptor ainda não foi bem esclarecida. Sua presença, no entanto, parece ser necessária, pois o receptor NMDA medeia não só a transmissão excitatória neural como também está envolvido no processo de excito-toxicidade do tecido nervoso. Então, o conhecimento das funções atribuídas a este receptor, bem como a todos os receptores de glutamato, é crucial para o entendimento de funções cerebrais básicas como a aprendizagem e a memória, assim como para o tratamento racional de algumas doenças relacionadas ao excito-toxicidade do glutamato (HARRIS et al, 1984; CHOI, 1988).

O aminoácido glicina parece exercer tanto ações inibitórias quanto excitatórias no sistema nervoso central. Por muitos anos estes aminoácido têm sido conhecidos como um dos principais neurotransmissores inibitórios das regiões cerebrais inferiores, atuando em receptores sensíveis à estriquina no mesencéfalo e medula espinhal. O receptor inibitório oferece um potencial ilimitado como alvo para a intervenção terapêutica. Porém, um interesse maior sobre as funções do aminoácido só ocorreu em 1987, quando lhe foi atribuída uma função excitatória no SNC.

JOHNSON e ASCHER (1987) demonstraram que a glicina amplifica acentuadamente as respostas do receptor NMDA. Este efeito da glicina

não é bloqueado por estriçnina, o que sugeriu a existência de um sítio de ligação para glicina no receptor NMDA. A ocupação do sítio para a glicina parece ser absolutamente requerida para ativar o receptor e tem lhe conferido o conceito de “co-agonista” do neurotransmissor de glutamato (KLECKNER e DINGLEDINE, 1988).

Os mecanismos que regulam o papel fisiológico da glicina com relação ao receptor NMDA não são ainda totalmente conhecidos. Entretanto, as concentrações de glicina nos fluidos extracelulares e líquido estão em proporções acima de micromolares e estudos *in vivo* com agonistas de glicina sugerem que o seu sítio parece estar totalmente saturado. Em adição, tem sido observado que a liberação física de glutamato pelas terminações nervosas, somadas a alterações nas concentrações extracelulares de glicina, pode modular as respostas mediadas pelo receptor NMDA (LEESON, 1993; SCHMITT et al, 1995).

As evidências acumuladas nas pesquisas sugerem que o sistema glutamato está envolvido não somente na transmissão sináptica rápida, mas também na plasticidade e funções cognitivas superiores (COTMAM et al, 1995), tornando-se, cada vez mais claro que o sistema dependente do neurotransmissor glutamato é organizado em alto nível de sofisticação.

A localização do sistema glutamatérgico com seus respectivos receptores tem sido possível graças ao emprego de técnicas eletrofisiológicas e autorradiográficas que detectam a densidade destes receptores no S.N.C. bem como nas vias neuronais que utilizam aminoácido excitatório como

neurotransmissores.

Em ratos, análises autorradiográficas indicam uma grande concentração dos receptores do tipo NMDA no córtex cerebral (MARAGOS et al, 1986) neocórtex (ADDAE e STONE, 1986), hipocampo (TAXT e STORM-MATHISEN, 1984; BASKYS, 1992), hipotálamo (SHIBATA et al, 1989) e na amígdala, mesencéfalo e bulbo (HALPAIN et al, 1984). No mesencéfalo, todos os tipos de receptores do glutamato foram encontrados na substância cinzenta periaquedutal dorsal, havendo, porém, diferenças de concentração desses receptores nas várias regiões dessa estrutura (MONAGHAN e COTMAN, 1982; ALBIN et al, 1990).

Em humanos, JANSEN et al (1989) mostraram que no córtex cerebral, os receptores NMDA e AMPA têm concentrações similares; porém, para os receptores CAINATO as concentrações são mais baixas. As concentrações de receptores CAINATO, NMDA e AMPA no hipocampo, são praticamente iguais.

Várias evidências indicam, também, que os receptores de glutamato estão associados a diversas neuropatologias e aos danos decorrentes de lesões cerebrais (SCHOEPP e CONN, 1993; SCHOEPP e SACAN, 1994). Além disso, experimentos mostram que os receptores de glutamato medeiam os efeitos tóxicos em neurônios, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (CHOI et al, 1987; CHOI, 1988; CHOI e ROTHAN, 1990). Tais observações têm levado investigadores a sugerir que muitos acidentes neurológicos originados da falta de oxigênio ou glicose, ou ainda por crises epiléticas, resultam em danos cerebrais

devido à estimulação excessiva dos receptores de glutamato (DINGLELINE et al 1990; DINGLELINE e McBAIN, 1994; ETIENNE e BAUDRY, 1990; SMITH et al, 1993).

Tem sido proposto, também, que doenças neurodegenerativas como Alzheimer (MELDRUN e GARTHWAITE, 1990), mal de Parkinson (CARLSSON e CARLSSON, 1990), esclerose lateral amiotrófica (APPEL, 1993) e lesões neurológicas da AIDS (LIPTON, 1992) estejam relacionadas com a ativação excessiva do sistema glutamatérgico.

Os processos fisiológicos como plasticidade sináptica (COLLINGRIDGE et al, 1991; FAZELI, 1992; NESTLER et al, 1993), desenvolvimento neuronal (LISY et al, 1994), aprendizagem e memória (MORRIS, 1989; IZQUIERDO, 1991; McENTEE e CROOK, 1993) também estariam relacionados com os aminoácidos excitatórios.

Foi demonstrado que microinjeções de baixas doses de glutamato na região da substância cinzenta peridontal dorsal (SCPD) induziam respostas comportamentais e neurovegetativas características da reação de defesa e ansiedade (KRIEGER e GRAEFF, 1985; GRAEFF et al, 1988). Resultados de pesquisas recentes envolvendo vários modelos animais de ansiedade têm sugerido a participação do receptores NMDA nesse fenômeno. Antagonistas desses receptores, microinjetados na substância cinzenta perioquedutal dorsal, reduzem comportamentos relacionados com a ansiedade nos animais (DUNN et al, 1989; SCHMITT et al, 1995).

A regulação do comportamento alimentar é um processo complexo (MORLEY, 1987) e um requisito básico para a sobrevivência de todos os animais (KUENZEL, 1994). O controle da ingestão de alimentos parece ser mediado por vários fatores originados tanto do meio interno quanto do meio externo, os quais são integrados principalmente no hipotálamo para gerar o comportamento alimentar (WANDJI et al, 1989). O controle dessa resposta pode ser considerado um sistema de retroalimentação com aferências que fornecem informações da periferia para o sistema nervoso central, e eferências que fornecem instruções adequadas do sistema nervoso central para a periferia no sentido de estimular ou inibir a ingestão de alimento (BRAY e CAMPFIELD, 1975; BRAY, 1987; BRAY et al, 1989).

A possibilidade de o glutamato estar envolvido no controle neural da ingestão de alimento foi sugerida pela evidência de que a administração sistêmica do mesmo produz uma estimulação dose-dependente na ingestão de alimento em ratos intactos (REDDY et al, 1986; STRICKER-KRONGRAD et al, 1992; WIRTSHAFTER e TRIFUNOVIC, 1988). Por outro lado, a ingestão sistêmica de glutamato em ratos com lesão da área postrema não aumentou a ingestão de alimento, sugerindo que ele estimularia a alimentação atuando neste distrito (ONLEY, 1969; RITTER e STONE, 1987).

Em ratos saciados, a injeção de glutamato diretamente dentro do hipotálamo lateral produziu uma resposta de ingestão de alimento de forma dose-dependente (STANLEY et al, 1993a; STANLEY et al, 1993b).

Injeções neonatais, subcutâneas, de glutamato monossódico produziram hiperfagia e obesidade em ratos e camundongos através da destruição de células no núcleo arqueado do hipotálamo (SIMSON et al, 1977; WALAAS e FONNUM, 1978). Pintos machos que receberam 1mg/g de peso corpóreo de glutamato monossódico incorreram em destruição dos núcleos hipotalâmicos, mas não ocorreram alterações óbvias no peso corpóreo ou consumo de alimentos (CAREW e FOSS, 1971).

Injeções intrahipotalâmicas de grandes doses de glutamato também induziram um leve aumento na ingestão de alimento em ovelhas saciadas (WANDJI et al, 1989). A ação intracerebroventricular do glutamato mostrou que ele pode agir em áreas próximas aos ventrículos cerebrais (STANLEY et al, 1993a).

Em conjunto com outros dados, REDDY et al (1986), comentam que os resultados indicam que os neurônios fora da barreira hemato-encefálica (possivelmente dentro dos núcleos circunventriculares) são capazes de estimular o consumo de alimentos e que tais neurônios podem ser diretamente ativados pelo glutamato circulante. Suposições anteriores afirmavam que o glutamato monossódico, como um aditivo de alimento, promove o consumo de alimentos realçando o sabor da comida. Entretanto, os resultados sugerem que a estimulação do consumo de alimento pode ser, em parte, devido a efeitos pós-absortivos da ação do glutamato diretamente sobre os neurônios do cérebro.

RITTER e STONE (1987) também chegaram a uma conclusão

semelhante, afirmando em seu trabalho que o glutamato monossódico é amplamente usado para alimentação aditiva e que se imagina agir pré-absortivamente para realçar o paladar dos alimentos. Entretanto, os autores sugerem que o glutamato circulante é capaz de estimular o consumo de alimentos. Isto pode ocorrer através da interação dos aminoácidos com neurônios ou no sistema nervoso central ou no periférico. Porém, o glutamato não cruza a barreira hemato-encefálica e, portanto, a ação central do glutamato de origem sangüínea deveria estar restrita àquelas partes do sistema nervoso central com uma barreira cérebro-sanguínea deficiente, isto é, os órgãos circunventriculares.

Pesquisas realizadas por vários autores estabeleceram que no hipotálamo lateral (STANLEY et al, 1993a e b) e ventromedial (WANDJI et al, 1989), bem como na área postrema (RITTER e STONE, 1987) e no núcleo arqueado (STRICHER-KONGRAD et al, 1992), assim identificados como sítios onde microinjeções de glutamato monossódico estimulam o consumo de alimento em mamíferos.

O hipotálamo lateral é um local básico para o glutamato e seus agonistas estimularem a alimentação. Outras evidências sugerem que os aminoácidos excitatórios também podem agir em locais fora do hipotálamo lateral para influenciar este comportamento. Também a área postrema foi sugerida como sendo o local de ação devido a lesões que bloqueiam a alimentação provocada através do glutamato sistemicamente injetado (RITTER e

STONE, 1987; STANLEY et al, 1993a).

Os aminoácidos excitatórios endógenos podem agir tonicamente em outros sítios do cérebro para suprimir a alimentação. Isto foi sugerido primeiramente por WIRTSHAFTER e TRIFUNOVIC (1987), que demonstraram que injeções de antagonistas dos aminoácidos excitatórios na rafe mediana provocam alimentação. Mais recentemente, foi demonstrado que a alimentação é provocada por injeção i. c. v. do ácido -7-cloroquinurênico antagonista ao aminoácido excitatório, que compete pelo local de ligação co-agonista glicínia sobre o receptor NMDA. Estas descobertas coletivamente sugerem que o glutamato pode ter modos múltiplos de ação dentro dos diferentes sítios do cérebro para ou estimular ou suprimir a alimentação (STANLEY et al, 1993a).

A injeção intraperitoneal de MK-801 aumentou a ingestão de alimentos em ratos saciados ou realimentados após 16 horas de jejum (BURNS e RITTER, 1997). Esse antagonista não competitivo do receptor glutamatérgico, tipo NMDA, também aumentou o consumo da ração sólida em ratos realimentados após 16 horas de jejum. Entretanto, esses animais não apresentaram uma elevação no consumo de alimento sólido quando estavam saciados. De conformidade com essas observações, esses autores chegaram à conclusão de que o bloqueio dos receptores NMDA pelo MK-801 deve diminuir ou retardar os sinais de saciedade, ao invés de iniciar a ingestão de alimento.

Têm sido acumuladas evidências consideráveis indicando que o sistema nervoso central dos mamíferos tem um importante papel na regulação da

ingestão de alimento, pois as informações relatadas até o momento foram extraídas de experimentos realizados em diferentes espécies de mamíferos. Partindo-se do princípio de que regulação do processo de alimentação é um requisito básico para a sobrevivência de todos os animais (KUENZEL, 1994), é possível que estes mecanismos, em aves (pombos) e mamíferos, possam compartilhar, no mínimo, dos seus atributos fundamentais, sendo que, em aves, a regulação neural da ingestão de alimento parece ser muito semelhante àquela descrita em mamíferos.

Foram feitas várias tentativas para descrever e quantificar o comportamento alimentar das aves, com o propósito geral de esclarecer alguns dos mecanismos básicos de controle de consumo de alimentos (DUNCAN, et al 1970; DUNCAN e HORNE, 1972; SAVORY, 1980). A dificuldade sempre foi descobrir como derivar uma compreensão da fisiologia e dos mecanismos alimentares a partir dos padrões comportamentais.

Uma das primeiras respostas a esta questão veio do trabalho de LE MAGNEN e TALLON (1966) que teorizaram um relacionamento entre a estrutura temporal e o tamanho das refeições consumidas por animal, bem como a duração dos intervalos entre as refeições.

É importante salientar que o consumo de alimentos é o estímulo mais eficaz para desencadear a saciedade. LE MAGNEN (1992) mostrou que, em ratos, a quantidade de alimentos ingerido durante uma refeição está relacionada com a duração do intervalo pós-refeição, ou seja, grandes refeições produzem,

em média, longa saciedade.

SAVORY (1980) relatou uma correlação positivo - consistente entre o tamanho da refeição e o intervalo após a refeição e correlações positivas “leves e inconsistentes” entre o tamanho da refeição e o intervalo precedente. Isto sugeriu que os mecanismos de ativações das refeições estavam presentes nas aves, mas mecanismos de saciedade estavam ausentes ou eram de pouco efeito durante o consumo *ad libitum*.

Entretanto, BARBATO et al (1980) e BARBATO et al (1982), relatam correlações consistentes e altamente significantes entre qualquer refeição e seu intervalo posterior, bem como seu intervalo anterior. Isto sugere que ambos os mecanismos de ativação e término das refeições funcionam nas aves, embora os mecanismos que influenciam a saciedade sejam de menor importância, o que é semelhante com os resultados mostrados por DUNCAN et al, (1970).

Em vários trabalhos, tais como os de LINDENMAIER e KARE (1959) identificaram-se botões de paladar localizados na base da língua e da faringe, em pintos recém nascidos e em frangos de 3 meses. Foi encontrado uma média de 8 botões gustativos em pintos de um dia, enquanto foram identificados aproximadamente 24 em aves mais velhas.

Estes botões gustativos têm uma morfologia similar àquela encontrada em tipos mamíferos primitivos (LINDERNMAIER e KARE, 1959).

Em comparação com os mamíferos, o pequeno número de células sensoriais implica na existência de um sentido primitivo de paladar nas aves.

Entretanto, as galinhas podem distinguir entre dextrose e xilose, sacarose e xilose, mas não entre dextrose e sacarose (KARE e MEDWAY, 1959). Estes experimentos bem como outros (KARE e MALLER, 1967; GENTLE e HARKIN, 1979), suportam a hipótese de que as aves, em especial as galinhas, têm um sentido gustativo altamente desenvolvido, embora exista a falta de correspondência entre a aparência sensorial das aves e dos mamíferos (KARE et al, 1957; GENTLE, 1972).

Para investigar o controle neural do consumo de alimento e de água é fundamental que se investigue os neurotransmissores que estão envolvidos neste processo.

Estudos mostraram que a injeção i.c.v. de adrenalina aumentou significativamente a ingestão de alimento em galinhas selecionadas geneticamente para crescimento rápido (DENBOW et al, 1981), todavia, esse efeito não foi observado em galinhas tipo *Leghorn*, selecionadas geneticamente para postura de ovos (DENBOW et al, 1983). Experimentos de nosso laboratório mostraram que a injeção i.c.v. dessa catecolamina aumenta o consumo de nutrientes em pombos saciados (RAVAZIO e PASCHOALINI, 1992; CANELLO et al, 1993).

Experimentos relacionados com noradrenalina mostram que dentro de locais cerebrais específicos, como a área pré-óptica medial, núcleo hipotalâmico medial anterior, núcleo paraventricular ou núcleo septal medial, a injeção de noradrenalina aumenta a ingestão de alimento em galinhas (DENBOW

e SHEPPARD, 1993). Porém, quando administrada perto do órgão septal lateral, dentro do núcleo reticular superior ou no cérebro anterior lateral, essa catecolamina reduz a alimentação (DENBOW e SHEPPARD, 1993). Dados do nosso laboratório mostraram que a injeção i.c.v. de noradrenalina estimula a ingestão de alimento em pombos saciados (RAVAZIO e PASCHOALINI 1991 e 1992).

Nas pesquisas realizadas por RAVAZIO e PASCHOALINI (1991 e 1992) o consumo de alimento, em pombos saciados, foi modificado pela injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de adrenalina, noradrenalina e dopamina. Foi observado que, após injeção de adrenalina e noradrenalina, durante uma hora, houve aumento da ingestão de alimento, enquanto que com a dopamina, ocorreu um decréscimo da ingestão de alimento em 2 e 3 horas. Entretanto, os dados apresentados mostram que o aumento induzido no consumo de alimentos por injeção i.c.v. de adrenalina ou noradrenalina foi seguido de um subsequente decréscimo na resposta alimentar. Em contraste, o decréscimo do consumo de alimentos causados pela administração i.c.v. de dopamina foi seguido por um aumento no consumo de alimentos.

Assim, o total de alimentos consumidos pelos pombos no período de 6 horas foi similar nos grupos experimentais e de controle (injetado i.c.v. solução salina), sugerindo, portanto, um ajustamento adequado do consumo de alimento pelo sistema nervoso central.

Foi também demonstrado que a administração i.c.v. do 6-hidroxidopamina em frangos saciados (KUENZEL et al, 1987) ou de

serotonina em galinhas em jejum de 24 horas (DENBOW et al, 1982) diminui o consumo de alimentos. Experimentos realizados em nosso laboratório mostram que a injeção i.c.v. de serotonina diminui a ingestão de alimento em pombos saciados ou submetidos ao jejum de 24 horas (STEFFENS et al, 1997).

Embora existam dados independentes sobre os sistemas fisiológicos que controlam a ingestão de alimento e de água, foi desenvolvido um modelo em pombos, no qual observou-se o efeito do neurotransmissor glutamato monossódico conhecido por alterar o consumo de alimento em mamíferos.

Vários trabalhos, tais como os de BARBATO et al (1980); BARBATO et al (1982); BARBATO (1994), apontam diversos sistemas de neurotransmissores presentes no sistema nervoso central em aves, notadamente na região do hipotálamo, tendo sido sugerido que mecanismos glutamatérgicos exercem atividades nesta região.

Quanto ao glutamato, sua atuação nos mecanismos reguladores da ingestão de alimento em vertebrados não mamíferos ainda não é bem conhecida. Acredita-se, pelas fortes evidências apresentadas, que este aminoácido também esteja envolvido na regulação central da ingestão de alimentos em pombos, à semelhança do que ocorre em mamíferos.

Os mecanismos reguladores da ingestão de alimento em vertebrados não-mamíferos está longe de ser entendido. Portanto, o presente projeto tem como objetivo investigar a possibilidade do envolvimento do glutamato no controle neural da ingestão de alimento e de água nos pombos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Demonstrar a possível interferência do glutamato na ingestão de alimento e de água em pombos, através de injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de glutamato, em diferentes doses.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Observar as alterações na ingestão de alimento e de água, quando injetado glutamato por via i.c.v.
- b) Observar alterações de comportamento nos pombos , quando injetado glutamato por via i.c.v.
- c) Identificar tipos de receptores glutamatérgicos envolvidos .
- d) Observar alterações na ingestão de alimento e de água, quando injetado adrenalina por via i.c.v.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados pombos domésticos (Columba livia), adultos, de ambos os sexos, com peso corporal variando entre 300 - 400 gramas, proveniente do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os pombos foram mantidos em gaiolas individuais com água e alimento ad libitum, em uma sala própria para manutenção de aves, com temperatura controlada entre 22-24°C. A iluminação desta sala foi mantida artificialmente através de lâmpadas fluorescentes com ciclo claro-escuro de 12 horas, o período de luz iniciando às 7 horas e o de escuro às 19 horas.

3.2. Implantação da Cânula no Ventrículo Cerebral Lateral

Os pombos foram anestesiados com uma solução de Equitesin (0,15ml/100g), injetada por via intraperitoneal (i.p.). 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 16mm e formando um ângulo de 45°C. Após a assepsia

com álcool iodado, uma incisão longitudinal foi realizada no escalpo para expor a calota craniana. O periósteo foi removido, o crânio raspado e secado para facilitar a adesão do acrílico. Ato contínuo, foi marcada a região de introdução da cânula guia no cérebro. A seguir, foi realizada a trepanação da calota craniana, usando brocas esféricas de uso odontológico. A cânula guia foi feita a partir de um segmento de uma agulha hipodérmica, com 0,7mm de diâmetro externo e 15mm de comprimento, e esta foi fixada à torre móvel do aparelho estereotáxico. A cânula foi posicionada no ventrículo cerebral lateral de acordo com as coordenadas descritas por KARTEN & HODOS (1967):

- * plano frontal - 6,0mm anterior à linha interaural
- * plano sagital - 1,0mm lateral à sutura sagital
- * plano horizontal - 6,0mm abaixo da dura mater

A confirmação de que a cânula guia estava no ventrículo lateral foi indicada pela queda da pressão registrada em um manômetro contendo solução fisiológica. Após a constatação da correta posição da cânula dentro do ventrículo, o orifício de trepanação foi preenchido com fibrina (Fibrinol[®] comercializado por Baldacci), para prevenir hemorragias e evitar o contato do acrílico com o tecido cerebral. A cânula foi fixada à calota craniana por meio de parafusos de pequeno tamanho, compatíveis com as estruturas ósseas do crânio das aves e envolvida por acrílico autopolimerizável, formando um conjunto sólido capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola e permitir a manipulação dos animais para as injeções no ventrículo lateral cerebral. Em

cada cânula foi colocado um mandril de aço inoxidável para impedir sua obstrução por detritos.

As injeções i.c.v. das diferentes substâncias foram realizadas em animais despertos, uma semana após a implantação da cânula-guia no ventrículo lateral.

3.3. Injeção Intracerebroventricular

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

3.4. Soluções Administradas

Foram usadas as seguintes soluções:

a) Solução de líquido (líquido cerebrospinal) artificial, estéril: foi administrada 1 μ l desta solução via i.c.v. em todos os animais utilizados como controle. A composição desta solução foi a seguinte:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| Na ⁺ | 155mM |
| K ⁺ | 3,7mM |
| Ca ⁺⁺ | 3,0mM |
| Mg ⁺⁺ | 1,05mM |
| Cl ⁻ | 140mM |
| HCO ₃ ⁻ | 23mM |

b) Solução de Glutamato de Sódio: na dose de 50,150,300 e 600 nmol; diluídas em líquor;

c) Soluções Bloqueadoras dos Receptores de glutamato: CNQX na dose de 390nmol; MK-801 na dose de 14,8nmol e L-AP3 na dose de 500nmol, diluídas em líquor. Estas soluções foram injetadas, por i.c.v., 20 minutos antes da injeção i.c.v. de 1 µl da solução de glutamato de sódio 300 nmol.

d) Solução de Adrenalina: na concentração de 30nmol, diluída em líquor.

3.5. Procedimento Experimental Geral

Os experimentos foram iniciados, no mínimo, sete dias após a cirurgia de implantação da cânula guia. Nos dias de experimento, os pombos foram transferidos a uma sala apropriada, com uma hora de antecedência, para permitir a habituação ao ambiente experimental.

Os registros e a monitoração visual do comportamento dos pombos foram feitas através de uma janela de vidro pequena, de forma a permitir que o animal fosse observado sem perceber a presença do observador.

3.6. Protocolo Experimental

* **Experimento 1 - Teste com Glutamato de Sódio:** este experimento foi planejado com o objetivo de verificar se a injeção i.c.v. de glutamato de sódio induziria modificações na ingestão de alimento em pombos, grupos com 9 animais que passaram pela mesma experiência. Para isso, animais alimentados ad libitum ou submetidos ao jejum por 24,48 ou 96 horas foram tratados com glutamato de sódio em sequência aleatória (doses variando entre 50 e 600 nmol) ou líquor por via i.c.v.. O alimento e a água, previamente quantificados, foram introduzidos na gaiola dez minutos após a injeção i.c.v. da solução de líquor artificial (grupo controle) ou de glutamato de sódio. Durante

uma hora após este procedimento, foram avaliadas a duração e a latência para iniciar a ingestão de alimento e ingestão hídrica em todos os grupos experimentais. Ao final deste tempo, foram verificadas as quantidades consumidas de alimento e água.

*** Experimento 2 - Padrão Comportamental Observado após a Injeção i.c.v. de Glutamato de Sódio:** o objetivo deste experimento foi determinar se a injeção i.c.v. de glutamato de sódio afetaria outras categorias comportamentais, modificando, desta forma, a ingestão de alimento.

Nesse grupo o glutamato de sódio na dose de 600nmol ou líquor (grupo controle) foram administrados no ventrículo cerebral lateral de pombos submetidos ao jejum por 24 horas. O alimento e a água, previamente quantificados, foram introduzidos dez minutos após injeção i.c.v. das soluções. Em seguida, teve início a observação das diferentes categorias comportamentais.

Durante uma hora, em todos os grupos experimentais, foram avaliadas a duração e a latência dos comportamentos de comer, beber, de locomoção, auto-limpeza, imobilidade alerta e postura típicas de sono.

Ao final deste tempo, foram verificadas as quantidades consumidas de alimento e água.

*** Experimento 3 - Caracterização Farmacológica do Sub-Tipo de Receptores Glutamatérgicos:** diferentes antagonistas glutamatérgicos foram

injetados no ventrículo cerebral lateral de pombos submetidos ao jejum de 24 horas. Estes antagonistas foram usados em experimentos por REYNOLDS et al, 1987; WATKINS et al, 1990; IVERSEN, 1994; BURNS e RITTER, 1997 e utilizados também em experimentos no laboratório de Fisiologia da UFSC. Chegando-se a conclusão que as doses ideais a serem utilizadas são:

MK - 801(14,8 nmol)Bloqueador de receptores NMDA

CNQX (390nmol).....Bloqueador de receptores QA / AMPA e KA

L- AP 3(500nmol).....Bloqueador de receptores metabotrópicos

Após 24 horas de jejum, os pombos foram tratados com 1 μ l de uma das diferentes soluções de antagonistas de glutamato de sódio ou líquor, sendo a administração desse volume realizada 20 minutos antes da injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300nmol) ou líquor.

Dez minutos após esse procedimento, o alimento foi introduzido na gaiola, iniciando-se o registro comportamental apresentado pelos animais. Durante uma hora, em todos os grupos experimentais, foram avaliadas a duração e a latência para iniciar a ingestão de alimento e de água.

A duração de outras categorias comportamentais como locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e postura típicas de sono também foram registradas durante este intervalo de tempo. Ao término de uma hora foram avaliadas as quantidades consumidas de alimento e água. Os animais submetidos a diferentes períodos de jejum sempre tiveram livremente à sua disposição um recipiente contendo água.

* **Experimento 4 - Injeção de Adrenalina:** experimentos realizados em nosso laboratório mostram que a injeção de adrenalina ou noradrenalina por via i.c.v. provoca um aumento na ingestão de alimento em pombos (RAVAZIO e PASCHOALINI, 1991, 1992; CANELLO et al, 1993). Assim, um possível efeito neurotóxico de glutamato poderia afetar a resposta de ingestão de alimento às catecolaminas. Portanto, para avaliar a integridade funcional de sistemas adrenérgicos circunventriculares envolvidos com a ingestão de alimento, foi realizada a injeção i.c.v. de 1 µl de adrenalina (30nmol), 1 hora após o término dos experimentos com glutamato.

3.7. Crítérios de Caracterização do Comportamento

* **Comer:** São os comportamentos de deglutição, quando o pombo esta ingerindo alimento sólido.

* **Beber:** Movimentos rápidos com bico, semelhantes aos da ingestão de alimento, porém associados à ingestão de água.

* **Locomoção (andar):** Qualquer deslocamento do pombo dentro da gaiola

* **Autolimpeza:** São os movimentos de esfregar o bico (ou bicar) nas penas de qualquer parte do corpo.

* **Imobilidade Alerta:** O pombo permanece imóvel com a cabeça

elevada, olhos abertos e fixos, com movimentos de piscar rápidos, sem fechar os olhos.

* Sono (postura típica de sono): O pombo fica imóvel com os olhos fechados, cabeça fletida e apoiada sobre o peito, retração do pescoço, penas do peito arrepiadas, eventualmente apoiado sobre apenas uma das pernas ou deitado sobre o piso da gaiola ou no poleiro.

3.8. Registro Alimentar

Ao final de uma hora de observação, o consumo de alimento e água foram quantificados pela diferença entre a quantidade inicial e final, sendo padronizada a colocação de 100 gramas de comida e 100ml de água.

3.9. Reagentes

As drogas utilizadas eram todas da Research Biochemical International (Nastick, MA, USA), com exceção do glutamato de sódio, cuja origem era de Sigma Chemical Company; (Saint Louis, MO, USA).

3.10. Histologia

Completados os experimentos, os animais foram sacrificados por injeção de Equitesin (2,5ml i.p.). O posicionamento correto da cânula no ventrículo lateral foi verificado por meio da injeção de 1 μ l de azul de Evans no local, pouco antes da injeção de Equitesin, e da observação em um microscópico óptico dos cortes sem coloração histológica.

3.11. Análise dos Resultados

Os dados foram analisados inicialmente aplicando-se uma análise de variância para fator único (bloqueio farmacológico) ou fator duplo com repetição (diferentes períodos de jejum versus diferentes doses de glutamato de sódio). A seguir, foram realizadas comparações entre os grupos, utilizando-se o teste de Duncan. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Alterações na ingestão de alimento e na ingestão hídrica observada após a injeção intraventricular de glutamato de sódio em pombos saciados

A análise estatística dos dados referentes à quantidade de alimento ingerido após injeção i.c.v. de glutamato de sódio nas doses de 50, 150, 300 e 600 nmol ou líquor mostra uma diferença significativa [F(4,160)= 22,11; p = 10⁻⁷].

Indica também que o estado nutricional modifica a resposta de ingestão de alimento após o tratamento com glutamato de sódio [F (3, 160) = 183,68; p = 10⁻⁷], e que existe uma interação entre estados nutricionais e o tratamento com as diferentes doses de glutamato de sódio [F (12, 160) = 3,40; p = 0,0002].

Da mesma forma, para o consumo de água, a análise estatística mostra uma diferença significativa entre as diferentes doses de glutamato de sódio [F (4, 160) = 6,04; p = 0,0001]; entre os diferentes estados nutricionais [F (3, 160) = 219,3; p = 10⁻⁷] e indica também uma interação significativa entre os estados nutricionais e as diferentes doses de glutamato de sódio [F (12, 160) = 3,13; p = 0,0005].

Em pombos saciados *ad libitum*, a injeção i.c.v. de glutamato de sódio nas doses, 50, 150, 300 e 600 nmol não provocou alterações na quantidade

de alimento ingerida significativamente diferentes daquelas verificadas no grupo controle ao final de uma hora de observação (Figura 1). O tempo de latência para iniciar a ingestão de alimento sofreu uma diminuição após tratamento com glutamato nas doses de 150 e 600 nmol, comparando-se com grupo em que foi injetado líquor (Tabela 1). A duração do comportamento alimentar não foi alterada por nenhuma das doses de glutamato de sódio (Tabela 1).

Em relação à ingestão de água o glutamato de sódio não provocou alterações no volume de água ingerida pelos pombos ao final de uma hora de observação (Figura 2). A latência para iniciar a resposta dipsogênica apresentou uma redução quando foi injetado glutamato de sódio nas doses de 150, 300 e 600 nmol, comparando-se com grupo controle (Tabela 2). A duração dessa resposta não foi alterada por nenhuma das doses de glutamato de sódio.

INGESTÃO DE ALIMENTO - ANIMAIS SACIADOS

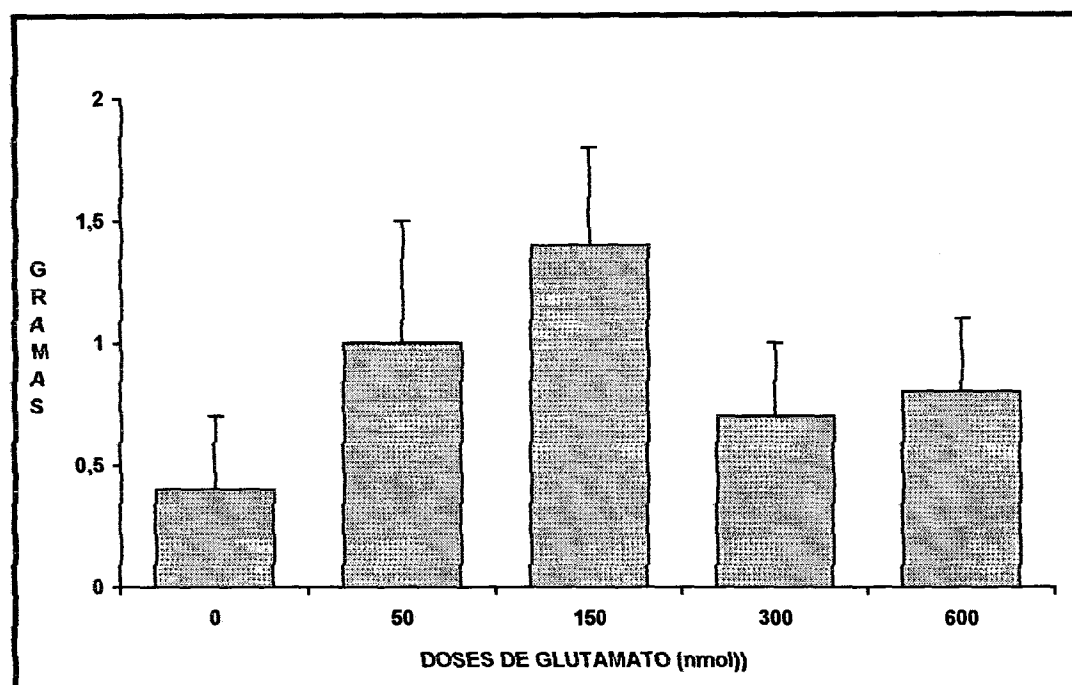


Figura 1 - Quantidade de alimento ingerido durante uma hora após a injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos alimentados ad libitum. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo.

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO DE ALIMENTO

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Líquor | 2875 ± 480 | 12 ± 8 |
| glu 50 | 2261 ± 532 | 45 ± 29 |
| glu 150 | 1134 ± 471* | 25 ± 8 |
| glu 300 | 2282 ± 522 | 17 ± 8 |
| glu 600 | 1996 ± 411* | 45 ± 16 |

Tabela 1 - Efeitos da injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou líquor sobre a latência para iniciar a ingestão de alimentos e a duração desta resposta em pombos alimentados ad libitum. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo.

** p < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle.*

INGESTÃO DE ÁGUA- ANIMAIS SACIADOS

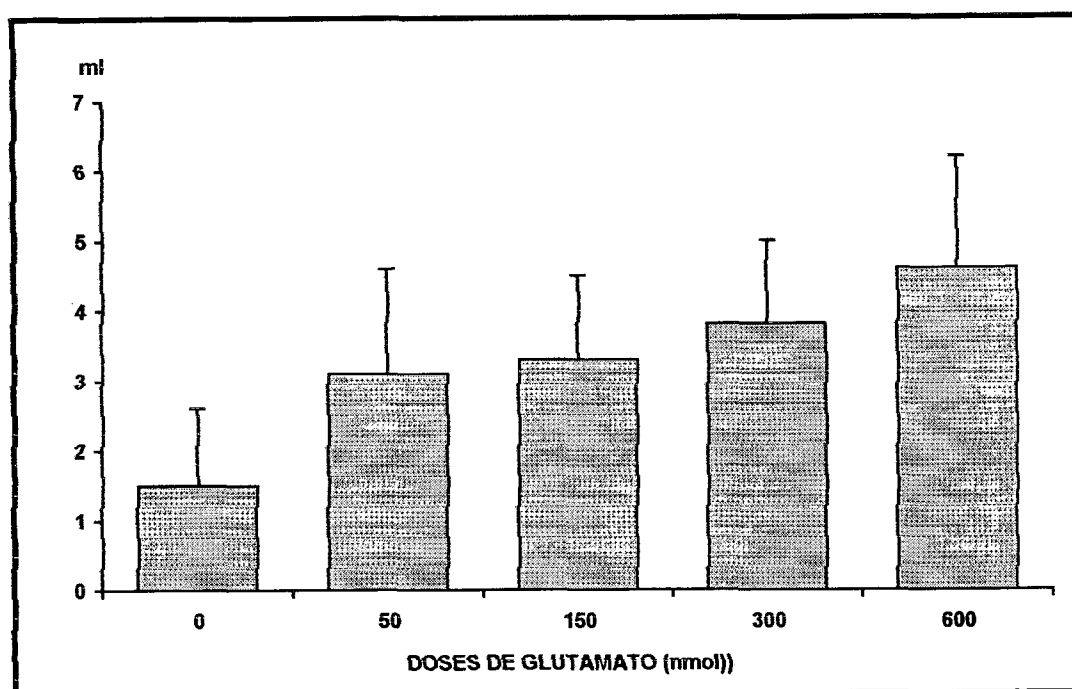


Figura 2 - Quantidade de água ingerida durante uma hora após a injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos alimentados ad libitum. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo.

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO HÍDRICA

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Liquor | 3076 ± 370 | 7 ± 6 |
| glu 50 | 2692 ± 453 | 8 ± 5 |
| glu 150 | $1837 \pm 562^*$ | 10 ± 3 |
| glu 300 | $1872 \pm 461^*$ | 24 ± 9 |
| glu 600 | $2067 \pm 494^*$ | 12 ± 4 |

Tabela 2 - Efeitos da injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou liquor sobre a latência para iniciar a resposta dipsogênica e a duração desta resposta em pombos alimentados ad libitum. Os valores representam a média \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo.

** $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle.*

4.2. Alterações na ingestão de alimento e na ingestão hídrica observadas após a injeção intraventricular de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 24 horas.

A injeção i.c.v. de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 24 horas provocou uma redução na ingestão de alimento em todas as doses usadas nos experimentos (50, 150, 300 ou 600 nmol) ao final de uma hora de observação, comparando-se com o grupo que recebeu líquido (Figura 3). Após 600 nmol, aumentou também a latência para iniciar a ingestão de alimentos. Nas outras doses não ocorreu alteração significativa de ingestão de alimento. A duração da resposta alimentar foi menor que aquela observada no grupo controle, quando se injetou glutamato de sódio i.c.v. na dose de 600 nmol (Tabela 3).

Os mesmos experimentos mostraram que os pombos também apresentaram uma diminuição na ingestão hídrica (Figura 4). Tal redução foi significativa nas concentrações de glutamato de sódio de 300 e 600 nmol em relação à quantidade líquida ingerida pelo animal tratado com líquido. A latência para iniciar a ingestão hídrica não apresentou alterações significativas. A duração da resposta dipsogênica foi menor com glutamato nas doses de 300 e 600 nmol. (Tabela 4).

INGESTÃO DE ALIMENTO - JEJUM 24H

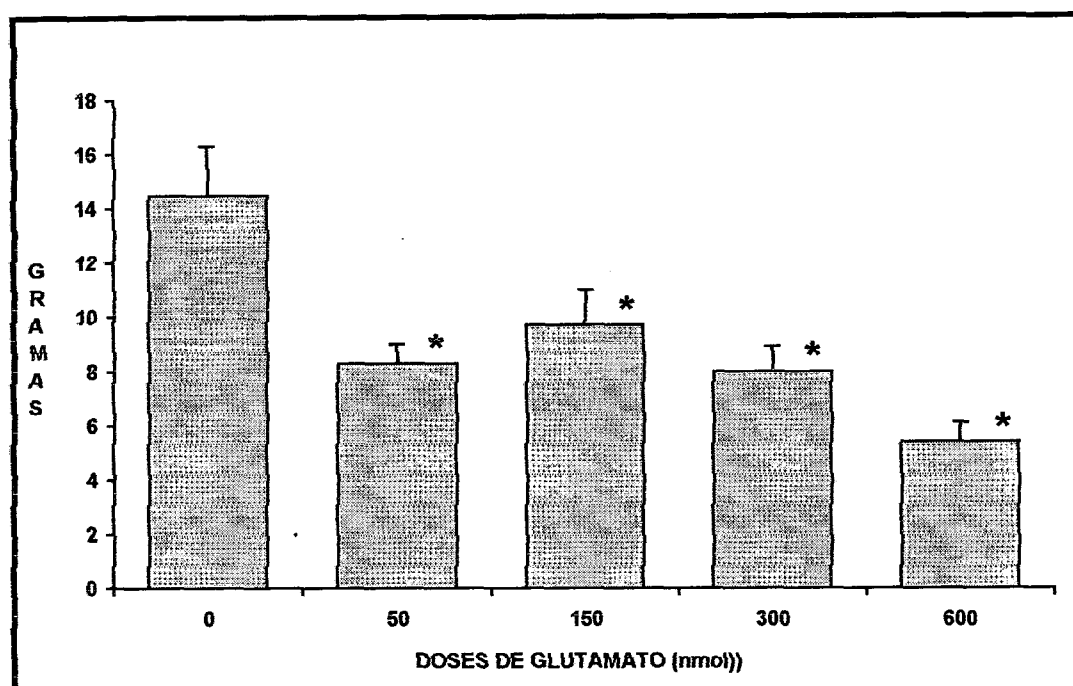


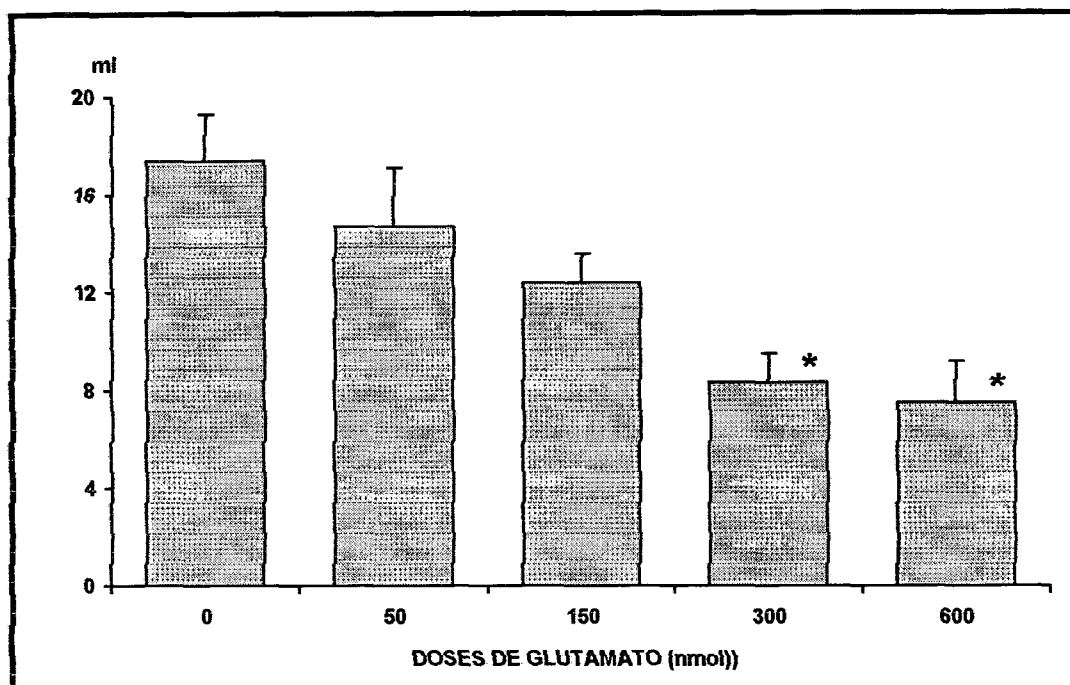
Figura 3 - Quantidade de alimento ingerido após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos submetidos ao jejum por 24 horas. A mensuração da comida ingerida foi realizada uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO DE ALIMENTO

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Líquor | 64 ± 30 | 250 ± 25 |
| glu 50 | 136 ± 52 | 167 ± 20 |
| glu 150 | 118 ± 32 | 168 ± 14 |
| glu 300 | 146 ± 34 | 117 ± 14 |
| glu 600 | $446 \pm 164^*$ | $87 \pm 15^*$ |

*Tabela 3 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou líquido sobre a latência para iniciar a ingestão de alimentos e a duração desta resposta em pombos submetidos ao jejum por 24 horas. A avaliação do comportamento alimentar foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle.*

INGESTÃO DE ÁGUA- JEJUM 24 H



*Figura 4 - Quantidade de água ingerida após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos submetidos ao jejum por 24 horas. A mensuração do volume ingerido foi feita uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.*

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO HÍDRICA

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Líquor | 460 ± 55 | 75 ± 23 |
| glu 50 | 514 ± 85 | 42 ± 13 |
| glu 150 | 496 ± 36 | 48 ± 6 |
| glu 300 | 662 ± 122 | 27 ± 6* |
| glu 600 | 1022 ± 170 | 30 ± 5* |

*Tabela 4 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou líquido sobre a latência para iniciar a resposta dipsogênica e sua duração em pombos submetidos ao jejum por 24 horas. A avaliação do comportamento da ingestão de água foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle.*

4.3. Alterações nos comportamentos de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono observadas após injeção intraventricular de glutamato de sódio (600nmol) ou líquido, em pombos realimentados após jejum de 24 horas.

A avaliação das durações dos comportamentos como locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e postura típica de sono realizadas após injeção i.c.v. de 600 nmol de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 24 horas, mostrou que a duração do comportamento de locomoção teve alterações significativas [$F(1,16) = 5,93$; $p = 0,02$], comparadas com os que receberam líquido, pois os pombos que receberam glutamato de sódio 600 nmol sofrem uma redução quando comparados com o grupo controle (Tabela 5).

As durações dos demais comportamentos, como imobilidade alerta, autolimpeza e sono não foram afetadas pelo tratamento por nenhuma das doses de glutamato de sódio.

EFEITOS DO GLUTAMATO NOS DEMAIS COMPORTAMENTOS

| DURAÇÃO DOS COMPORTAMENTOS (Segundos) | LÍQUOR | GLUTAMATO |
|---|-----------|------------|
| Locomoção | 154 ± 20 | 92 ± 16* |
| Imobilidade alerta | 2466 ± 97 | 2573 ± 166 |
| Autolimpeza | 213 ± 48 | 198 ± 61 |
| Sono | 346 ± 106 | 286 ± 99 |

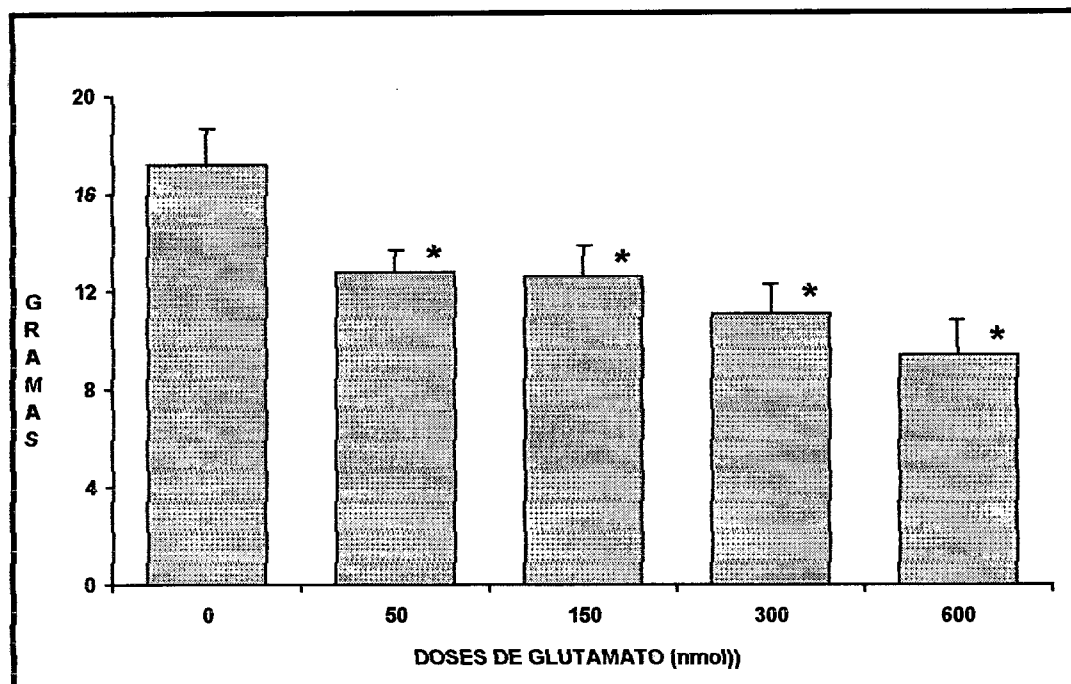
*Tabela 05 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio (600 nmol) ou de liquor na durações dos comportamentos de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono em pombos submetidos ao jejum de 24 horas. A avaliação foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle.*

4.4. Alterações na ingestão de alimento e na ingestão hídrica observadas após injeção intraventricular de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 48 horas.

A administração i.c.v. de glutamato de sódio em pombos submetidos previamente a jejum de 48 horas e realimentados após este período, provocou uma redução na ingestão de alimento em todas as doses usadas nos experimentos (50, 150, 300 e 6500 nmol), ao final de uma hora de realimentação, comparando-se com o grupo que recebeu líquido (Figura 5), sem modificar a latência para o início da ingestão de alimento (Tabela 6). A comparação da duração do comportamento alimentar entre os pombos que receberam injeção i.c.v. de glutamato de sódio nas doses de 50, 150, 300 e 600 nmol e o grupo que recebeu líquido (grupo controle) não apresentou diferenças significativas, sendo uma exceção os pombos que receberam o tratamento com glutamato de sódio na dose de 600 nmol. Neste caso existiu uma redução significativa na duração do comportamento alimentar (Tabela 6).

Foi constatado que o volume de água ingerido não se alterou significativamente após o tratamento com as diferentes doses de glutamato de sódio (Figura 6), o mesmo acontecendo com a latência para iniciar a resposta dipsogênica e a duração deste comportamento (Tabela 7).

INGESTÃO DE ALIMENTO - JEJUM 48H



*Figura 5 - Quantidade de alimento ingerido após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos submetidos ao jejum por 48 horas. A mensuração da comida ingerida foi realizada uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.*

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO DE ALIMENTO

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Liquor | 45 ± 17 | 463 ± 93 |
| glu 50 | 87 ± 15 | 353 ± 29 |
| glu 150 | 146 ± 35 | 370 ± 80 |
| glu 300 | 84 ± 24 | 352 ± 42 |
| glu 600 | 224 ± 67 | 290 ± 79* |

*Tabela 6 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou liquor sobre a latência para iniciar a ingestão de alimentos e a duração desta resposta em pombos submetidos ao jejum por 48 horas. A avaliação do comportamento alimentar foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle.*

INGESTÃO DE ÁGUA- JEJUM 48 H

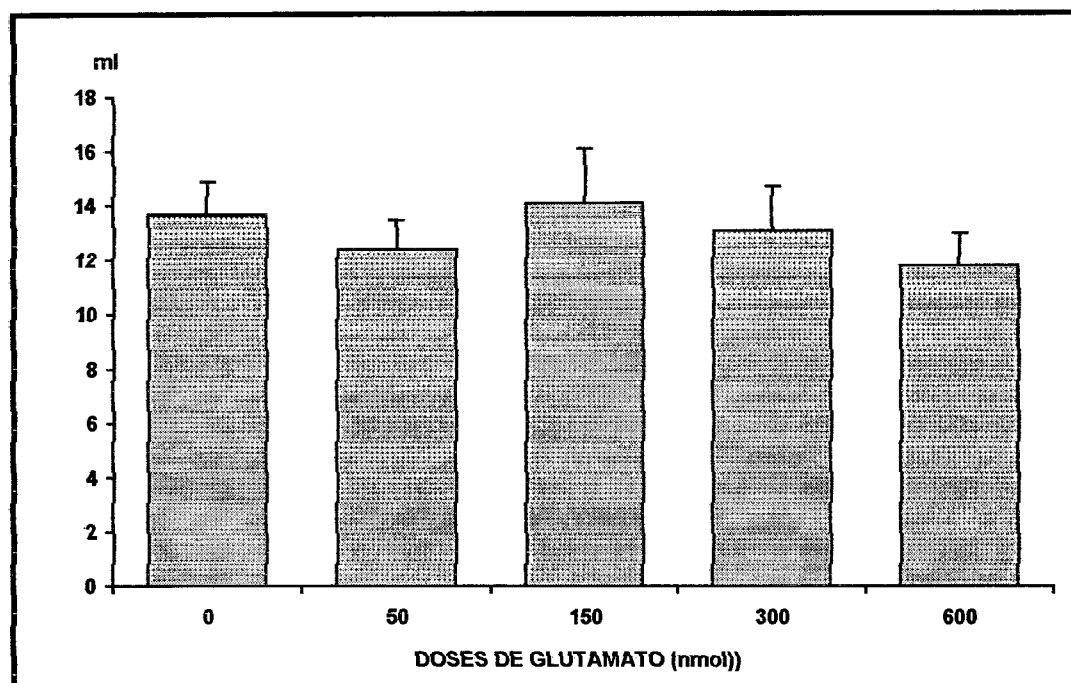


Figura 6 - Quantidade de água ingerida após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou liquor (0), em pombos submetidos ao jejum por 48 horas. A mensuração do volume ingerido foi feita uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo.

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO HÍDRICA

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Líquor | 539 ± 72 | 50 ± 5 |
| glu 50 | 516 ± 68 | 36 ± 7 |
| glu 150 | 582 ± 39 | 45 ± 6 |
| glu 300 | 506 ± 61 | 36 ± 6 |
| glu 600 | 1042 ± 227 | 58 ± 16 |

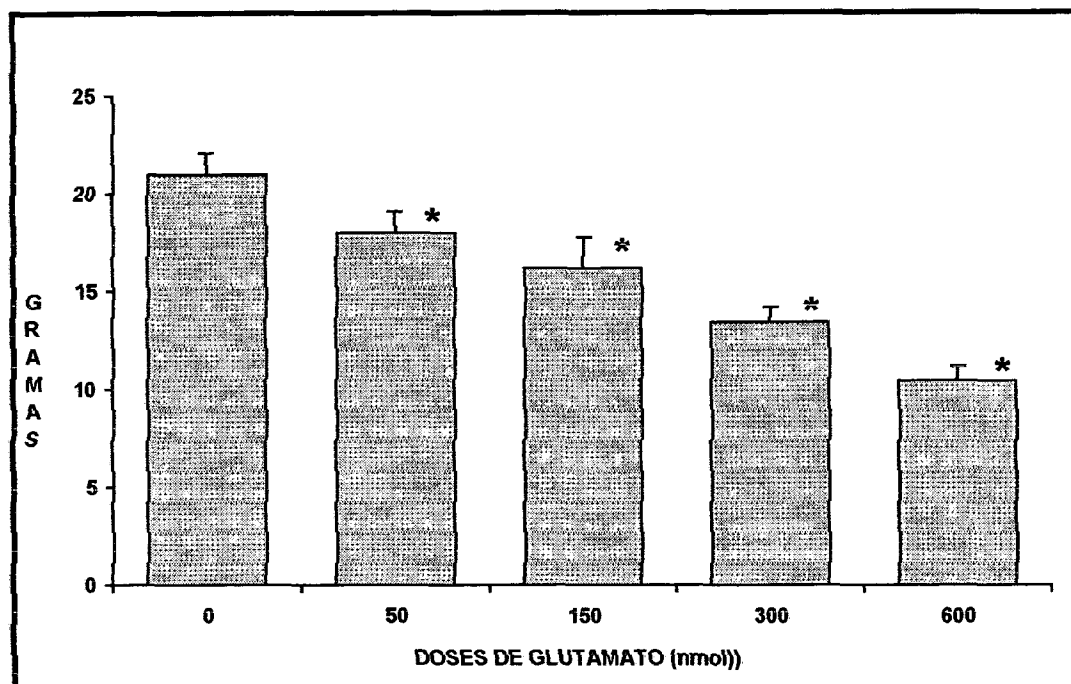
Tabela 7 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou líquido sobre a latência para iniciar a resposta dipsogênica e sua duração em pombos submetidos ao jejum por 48 horas. A avaliação do comportamento da ingestão de água foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo.

4.5. Alterações na ingestão de alimento e na ingestão hídrica observadas após a injeção intraventricular de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 96 horas

Da mesma maneira que os experimentos anteriores, a administração i.c.v. de glutamato de sódio em pombos submetidos previamente a jejum de 96 horas e realimentados após este período provocou uma redução na quantidade de alimento ingerida em todas as concentrações usadas nos experimentos (50, 150, 300 e 600 nmol), ao final de uma hora de observação, comparando-se com o grupo que recebeu líquido (Figura 7). A latência para iniciar a ingestão do alimento não se alterou com nenhuma das doses de glutamato de sódio. A duração do comportamento alimentar também não sofreu alterações significativas (Tabela 8).

O volume de água ingerido foi significativamente menor quando os animais foram tratados com glutamato de sódio nas doses de 150, 300 e 600 nmol em comparação com o grupo que recebeu injeção i.c.v. de líquido (Figura 8). A latência para iniciar a ingestão hídrica e a duração da resposta dipsogênica não foram afetadas por nenhuma das doses de glutamato de sódio (Tabela 9).

INGESTÃO DE ALIMENTO - JEJUM 96H



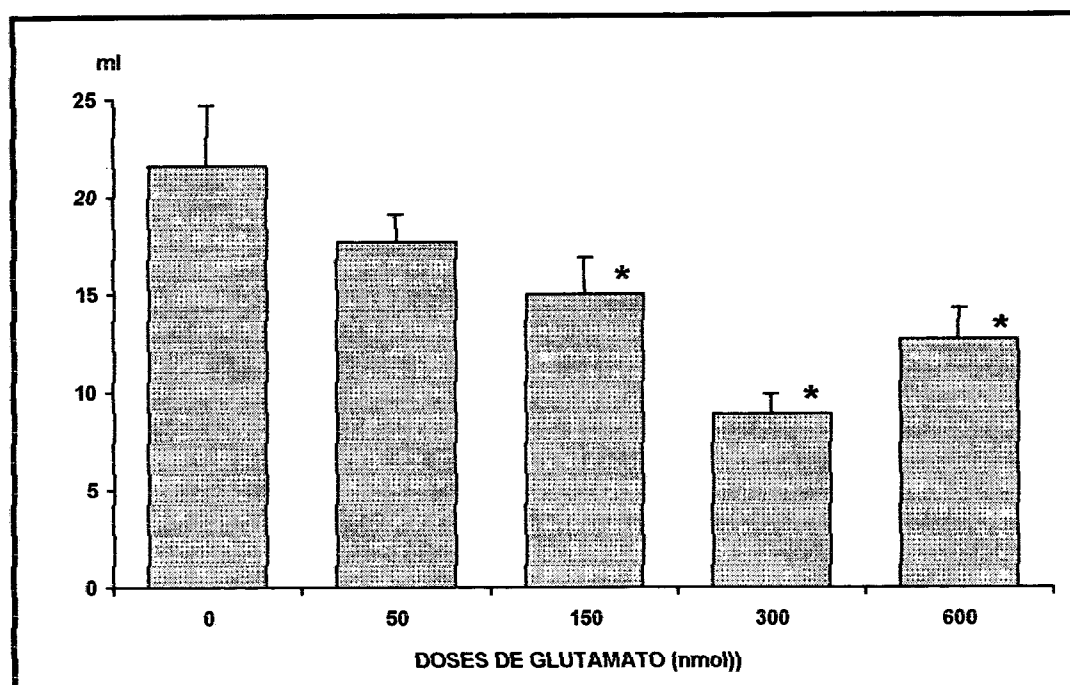
*Figura 7 - Quantidade de alimento ingerido após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou líquido (0), em pombos submetidos ao jejum por 96 horas. A mensuração da comida ingerida foi realizada uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.*

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO DE ALIMENTO

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Liquor | 8 ± 2 | 345 ± 30 |
| glu 50 | 24 ± 2 | 418 ± 39 |
| glu 150 | 21 ± 7 | 302 ± 50 |
| glu 300 | 43 ± 9 | 385 ± 88 |
| glu 600 | 81 ± 14 | 209 ± 33 |

Tabela 8 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou liquor sobre a latência para iniciar a ingestão de alimentos e a duração desta resposta em pombos submetidos ao jejum por 96 horas. A avaliação do comportamento alimentar foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo.

INGESTÃO DE ÁGUA- JEJUM 96 H



*Figura 8 - Quantidade de água ingerida após injeção i.c.v. de glutamato de sódio ou líquor (0), em pombos submetidos ao jejum por 96 horas. A mensuração do volume ingerido foi feita uma hora após a realimentação. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.*

LATÊNCIA E DURAÇÃO DA RESPOSTA DE INGESTÃO HÍDRICA

| SUBSTÂNCIAS (nmol) | LATÊNCIA (Segundos) | DURAÇÃO (Segundos) |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| <i>Liquor</i> | 427 ± 42 | 60 ± 8 |
| glu 50 | 546 ± 99 | 50 ± 15 |
| glu 150 | 513 ± 35 | 68 ± 17 |
| glu 300 | 486 ± 73 | 49 ± 16 |
| glu 600 | 419 ± 65 | 53 ± 7 |

Tabela 9 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio em diferentes concentrações ou liquor sobre a latência para iniciar a resposta dipsogênica e sua duração em pombos submetidos ao jejum por 96 horas. A avaliação do comportamento da ingestão de água foi realizada durante uma hora após a realimentação. Os valores representam a média ± erro padrão da média de 9 animais por grupo.

4.6. Comparações entre o tratamento com glutamato e seus efeitos nos diferentes períodos de jejum

Em todas as doses o glutamato de sódio provocou uma redução na quantidade de alimento ingerido na primeira hora da realimentação após jejum de 24, 48 e 96 horas (Tabela 10), com exceção do grupo de pombos que estavam alimentados que não apresentou alterações significativas.

O comportamento dipsogênico dos pombos não se alterou significativamente com as várias doses de glutamato com exceção das doses 300 e 600 nmol no jejum de 24 e 96 horas, onde a ingestão hídrica sofre uma redução em torno de 50% (Tabela 11).

Notou-se que a quantidade de comida e água ingerida pelos pombos é bastante semelhante nos jejuns de 24 e 48 horas.

A latência para iniciar a alimentação não mudou em nenhum estado nutricional, com exceção nos animais alimentados, que apresentaram uma leve redução. O mesmo ocorreu na latência para iniciar a ingestão de água, também não se alterou entre os diferentes períodos de jejum e pequena diminuição nos animais saciados.

A duração da resposta alimentar reduz no jejum de 24 e 48 horas e não no de 96 horas, e também não se alterou nos animais saciados.

A duração da resposta dipsogênica não se alterou nos animais

saciados, reduziu-se no jejum de 24 horas e não se alterou no jejum de 48 e 96 horas.

O estado nutricional interfere no comportamento alimentar dos pombos que receberam injeção i.c.v. de glutamato. O comportamento dipsogênico parece não sofrer interferência significativa.

PORCENTAGEM DE REDUÇÃO NA INGESTÃO DE ALIMENTOS

| DOSE \ TEMPO | 24 H | 48 H | 96 H |
|--------------|------|------|------|
| Glu 50 | 43% | 25% | 14% |
| Glu 150 | 33% | 27% | 23% |
| Glu 300 | 45% | 35% | 36% |
| Glu 600 | 63% | 45% | 50% |

Tabela 10 - Porcentagem da redução na ingestão de alimentos dos grupos que receberam glutamato comparado com o grupo controle em cada estado nutricional

PORCENTAGEM DA REDUÇÃO NA INGESTÃO HÍDRICA

| DOSE \ TEMPO | 24 H | 48 H | 96 H |
|--------------|------|------|------|
| Glu 50 | 15% | 9% | 18% |
| Glu 150 | 29% | 0% | 31% |
| Glu 300 | 52% | 4% | 59% |
| Glu 600 | 57% | 13% | 41% |

Tabela 11 - Porcentagem da redução na ingestão hídrica dos grupos que receberam glutamato comparando com o grupo controle em cada estado nutricional

4.7. Efeitos da injeção intraventricular de adrenalina sobre a ingestão de alimento em pombos submetidos ao tratamento intraventricular com glutamato de sódio nos diferentes estados nutricionais

Os pombos foram divididos em grupos de diferentes estados nutricionais e semanalmente preparados para o experimento, deixados em jejum de 24, 48 ou 96 horas, ou em alimentação ad. libitum e recebiam uma das doses de glutamato (50, 150, 300 ou 600 nmol) ou líquor.

Os grupo de pombos dos diferentes estados nutricionais, após passarem por todas as doses de glutamato e do líquor (em sequência aleatória) e após serem realimentados, no último experimento de cada grupo, esperaram uma hora e só então foi injetado i.c.v. 1µl de adrenalina 30nmol.

Após a injeção ic.v. de adrenalina, observou-se durante uma hora, e novamente quantificou-se o alimento.

De acordo com a figura 9, os dados mostraram que a quantidade de alimento ingerido ao final de 1 hora após a injeção i.c.v. de adrenalina em pombos que passaram por diferentes estados nutricionais e por todas as doses de glutamato foi semelhante àquela observada anteriormente em trabalho realizado em nosso laboratório ($8,0 \pm 2,7g$) (RAVAZIO e PASCHOALINI, 1992), mantendo o efeito hiperfágico da adrenalina.

A injeção i.c.v. de adrenalina em pombos realimentados, após tratamento com todas as doses de glutamato monossódico nos diferentes estados nutricionais, mostrou que o tratamento com esse aminoácido não interfere na resposta hiperfágica provocada pela injeção i.c.v. de adrenalina (Figura 9). Com esta resposta, eliminamos a possibilidade de lesões nesta região, provocada pela neurotoxicidade do glutamato.

INGESTÃO DE ALIMENTO - ADRENALINA

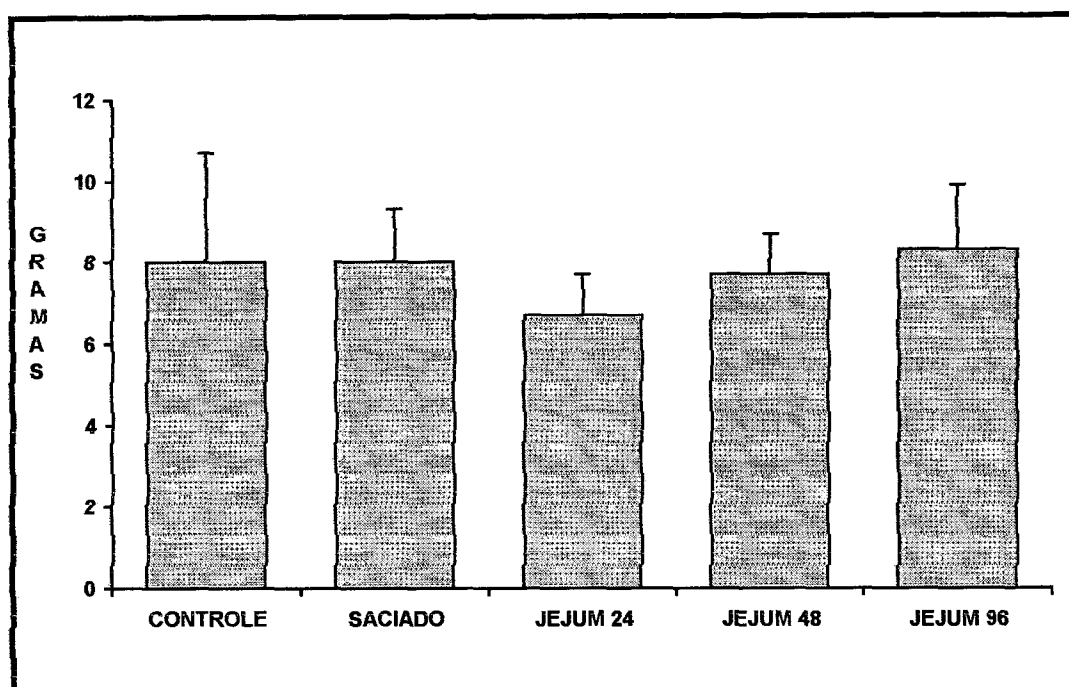


Figura 9 - Quantidade de alimento ingerido durante uma hora após injeção i.c.v. de adrenalina em pombos que foram submetidos a diferentes estados nutricionais e realimentados e também submetidos a diferentes doses de glutamato de sódio por injeção i.c.v. O alimento foi reintroduzido logo após injeção i.c.v. de adrenalina. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. O grupo controle é constituído de pombos saciados, segundo experimentos de RAVAZIO e PASCHOALINI, 1992.

4.8. Efeito da injeção intraventricular de MK-801, CNQX e AP-3 sobre a inibição da ingestão de alimento provocada pela injeção intraventricular de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 24 horas.

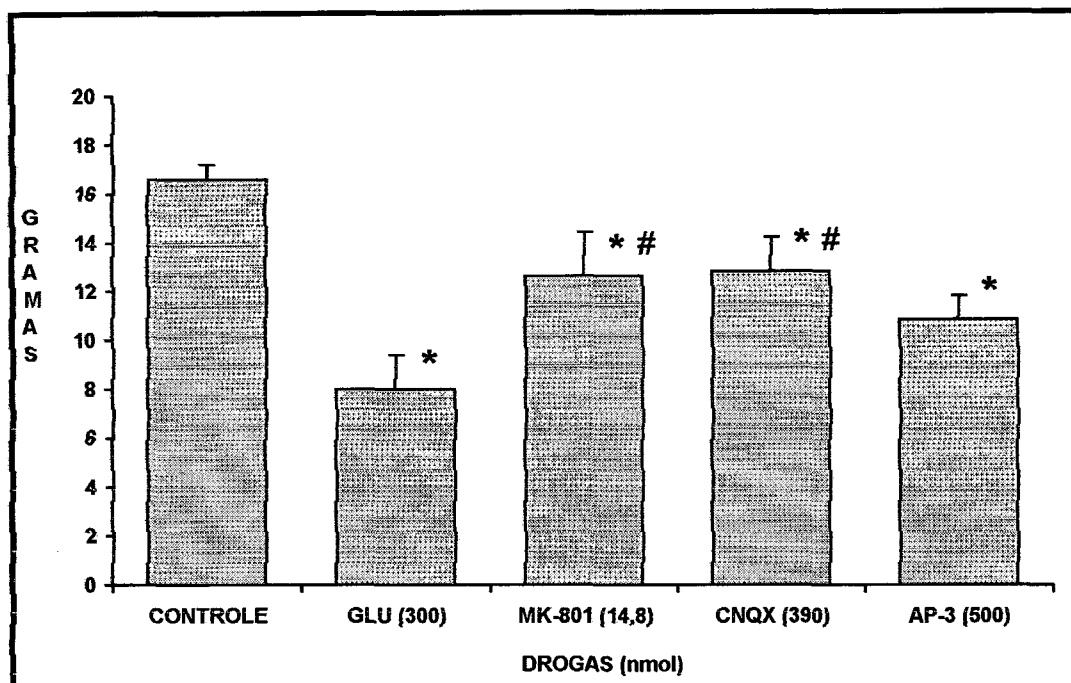
A administração i.c.v. de antagonistas do glutamato, tais como MK-801, CNQX ou AP-3, 20 minutos antes da injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300nmol) provocaram uma atenuação da redução da ingestão de alimento produzidos pelo aminoácido excitatório [$F(4,40) = 7,70$; $p = 0,001$].

Analisando a figura 10, pode-se observar que a injeção i.c.v. de glutamato de sódio provocou uma redução na ingestão de alimento em torno de 55% em relação ao grupo controle. Com o pré-tratamento com MK-801 e CNQX esta redução na quantidade de alimento ingerido ficou em torno de 25%. O antagonista AP-3 não consegue atenuar significativamente a redução induzida pelo glutamato.

O tempo de latência para iniciar a ingestão de alimento foi maior (aproximadamente 4 vezes) no grupo em que foi administrado glutamato, comparando-se com o grupo controle (injetado i.c.v. líquido). Nos grupos de animais em que foram administrados os antagonistas (MK-801, CNQX ou AP-3), o tempo de latência para iniciar a ingestão de alimento foi semelhante, estatisticamente, com o grupo controle.

A duração do comportamento alimentar no grupo de animais em que foi administrado glutamato sofreu uma redução de 59% em comparação ao grupo controle (Tabela 12). Com o pré-tratamento MK-801 e CNQX não houve redução significativa deste comportamento em comparação ao grupo controle.

INGESTÃO DE ALIMENTO



*Figura 10 - Quantidade de alimento ingerido durante uma hora após injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) em pombos que receberam previamente (20 minutos antes) injeção i.c.v. de um bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou líquor. O grupo controle recebeu injeção i.c.v. de líquor nos dois momentos. Todos os animais foram submetidos ao jejum de 24 horas e permitida sua realimentação 10 minutos após a segunda injeção i.c.v. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. # $p < 0,05$ em relação aos animais pré-tratados com líquor e seguido pelo glutamato.*

**QUADRO COMPARATIVO ENTRE A LATÊNCIA
PARA INICIAR A ALIMENTAÇÃO E A DURAÇÃO
DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR**

| SUBSTÂNCIAS | | | LATÊNCIA PARA INICIAR A ALIMENTAÇÃO (Segundos) | DURAÇÃO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR (Segundos) |
|-------------|---|---------|---|--|
| Liquor | + | Liquor | 50 ± 13 | 314 ± 30 |
| Líquor | + | glu 300 | 213 ± 51* | 188 ± 31* |
| MK-801 | + | glu 300 | 61 ± 10 | 239 ± 36 |
| CNQX | + | glu 300 | 36 ± 6 | 257 ± 39 |
| AP-3 | + | glu 300 | 53 ± 10 | 208 ± 26* |

*Tabela 12 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) em pombos que receberam previamente injeção i.c.v. de um bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou liquor sobre a latência para iniciar a ingestão de alimento e na duração do comportamento alimentar. O grupo controle foi pré-tratado com liquor seguido de liquor. * $p < 0,05$ em relação ao controle (animais pré-tratados com liquor seguido por liquor).*

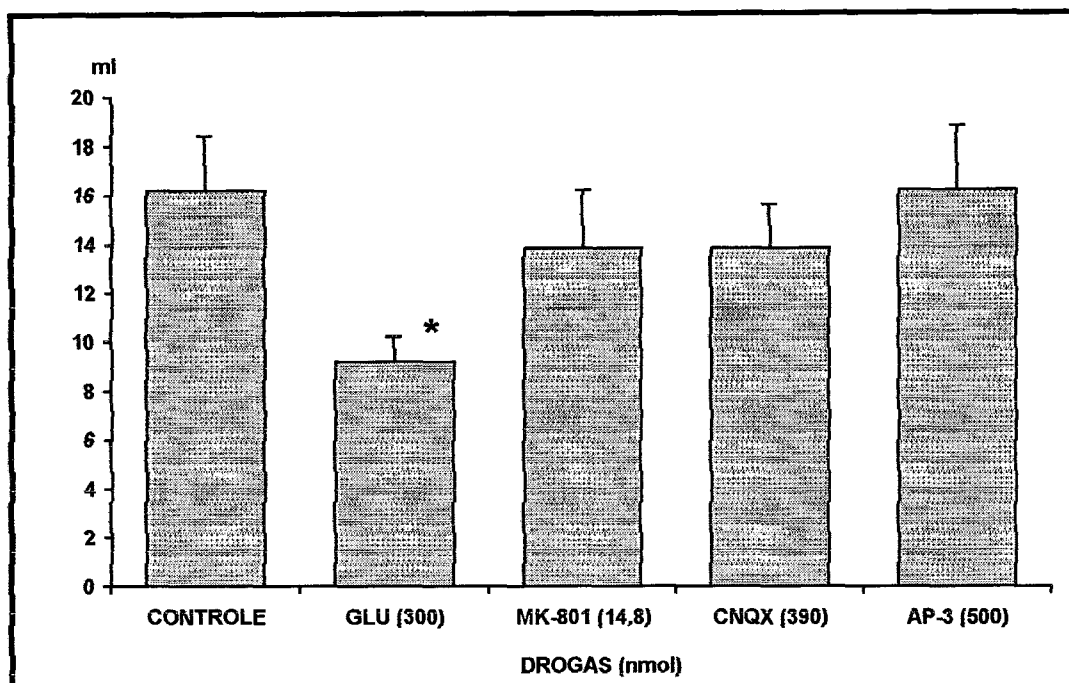
4.9. Efeito da injeção intraventricular de MK-801, CNQX e AP-3 sobre a inibição da ingestão hídrica provocada pela injeção de glutamato de sódio em pombos realimentados após jejum de 24 horas.

A administração i.c.v. de substâncias antagonistas do aminoácido excitatório, tais como: MK-801, CNQX ou AP-3, 20 minutos antes da injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) suprimiram a redução da ingestão hídrica produzida pelo aminoácido excitatório [$F(4,40) = 1,73$; $p = 0,16$]. Pode-se observar na figura 11 que a injeção i.c.v. de glutamato provocou uma redução na ingestão hídrica nos pombos em torno de 48% em relação ao grupo controle e com o pré-tratamento com antagonistas do glutamato não houve redução significativa na ingestão hídrica.

A latência para iniciar a ingestão hídrica não se alterou significativamente em todos os tratamentos com exceção quando previamente injetamos AP-3, que diminuiu a latência em 34% comparando-se com o grupo controle.

A duração do comportamento dipsogênico comparada com o grupo controle não se alterou significativamente, com exceção do grupo que recebeu injeção i.c.v. previamente de AP-3, aumentando a duração do comportamento dipsogênico em aproximadamente 61%, comparando com o grupo controle, (Tabela 13).

INGESTÃO DE ÁGUA



*Figura 11- Quantidade de água ingerida durante uma hora após injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) em pombos que receberam previamente (20 minutos antes) injeção i.c.v. de um bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou liquor. O grupo controle recebeu injeção i.c.v. nos dois momentos. Todos os animais foram submetidos ao jejum de 24 horas e permitida sua realimentação 10 minutos após a segunda injeção i.c.v. Os dados são apresentados como as médias \pm erro padrão da média de 9 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle*

**QUADRO COMPARATIVO ENTRE A LATÊNCIA
PARA INICIAR INGESTÃO HÍDRICA E A
DURAÇÃO DO COMPORTAMENTO
DIPSOGÊNICO**

| SUBSTÂNCIAS | | | LATÊNCIA PARA INICIAR A INGESTÃO HÍDRICA (Segundos) | DURAÇÃO DO COMPORTAMENTO DIPSOGÊNICO (Segundos) |
|-------------|---|---------|--|--|
| Líquor | + | Líquor | 874 ± 195 | 58 ± 7 |
| Líquor | + | glu 300 | 929 ± 176 | 44 ± 9 |
| MK-801 | + | glu 300 | 595 ± 119 | 63 ± 15 |
| CNQX | + | glu 300 | 536 ± 158 | 45 ± 5 |
| AP-3 | + | glu 300 | 292 ± 35* | 94 ± 17* |

*Tabela 13 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) em pombos que receberam previamente injeção i.c.v. de um bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou líquor sobre a latência para iniciar a ingestão hídrica e na duração do comportamento dipsogênico. O grupo controle foi pré-tratado com líquor seguido de líquor. * $p < 0,05$ em relação ao controle (animais pré-tratados com líquor seguido por líquor).*

4.10. Efeitos da injeção intraventricular de MK-801, CNQX, AP-3 sobre os comportamentos de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono em pombos que receberam injeção intraventricular de glutamato de sódio e foram realimentados após jejum de 24 horas.

Esse experimento teve por objetivo investigar a existência de alterações no comportamento de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono em pombos mantidos 24 horas em jejum e injetado i.c.v. de glutamato de sódio precedido em injeção i.c.v. de bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou líquor e 10 minutos após serem realimentados, como também pombos que receberam injeção i.c.v. de líquor seguido de líquor (grupo controle).

Os pombos que receberam injeção i.c.v. de glutamato de sódio e previamente líquor e os pombos que receberam líquor seguido de líquor, apresentaram comportamentos semelhantes.

Os pombos que receberam injeção i.c.v. de MK-801 ou CNQX, bem como AP-3, 20 minutos antes da injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) não apresentaram alterações significativas no tocante aos comportamentos de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono, comparando-se com o grupo controle, tratado com líquor seguido por líquor e também com o grupo tratado com líquor e seguido de glutamato (Tabela 14).

**QUADRO COMPARATIVO DOS COMPORTAMENTOS
DE LOCOMOÇÃO, IMOBILIDADE ALERTA,
AUTOLIMPEZA E SONO**

| COMPORTAMENTOS | | LOCOMOÇÃO | IMOBILIDADE ALERTA | AUTO- LIMPEZA | SONO |
|----------------|-----------|------------|-----------------------|------------------|------------|
| SUBSTÂNCIAS | | (Segundos) | (Segundos) | (Segundos) | (Segundos) |
| Líquor | + Líquor | 55 ± 7 | 2789 ± 195 | 29 ± 9 | 361 ± 91 |
| Líquor | + glu 300 | 63 ± 21 | 2795 ± 191 | 69 ± 29 | 427 ± 150 |
| MK-801 | + glu 300 | 37 ± 5 | 2803 ± 164 | 76 ± 30 | 379 ± 152 |
| CNQX | + glu 300 | 35 ± 9 | 3080 ± 92 | 47 ± 31 | 126 ± 57 |
| AP-3 | + glu 300 | 50 ± 9 | 3000 ± 100 | 87 ± 29 | 162 ± 80 |

Tabela 14 - Efeitos produzidos pela injeção i.c.v. de glutamato de sódio (300 nmol) em pombos que receberam previamente injeção i.c.v. de um bloqueador (MK-801, CNQX ou AP-3) ou líquor sobre o comportamento de locomoção, imobilidade alerta, autolimpeza e sono. Foram utilizados 9 animais por experimento, observados durante uma hora e registrados os comportamentos em segundos. Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média.

5. DISCUSSÃO

Nos experimentos do presente trabalho, o achado principal é que a injeção de glutamato monossódico i.c.v., produz diminuição na ingestão de alimento em pombos, realimentados após jejum de 24, 48 ou 96 horas. Os dados mostraram que em todas as doses de glutamato injetado por via i.c.v. nos animais, após diferentes tempos de privação alimentar, provocaram uma diminuição na quantidade de comida ingerida.

Nos pombos saciados (alimentados *ad libitum*) esse efeito hipofágico do glutamato não foi evidenciado. Pode-se justificar esse resultado pela ausência de efeito ou pelo curto período de observação (1 hora).

Pode-se levantar esta suspeita porque pesquisas feitas no Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com injeção i.c.v. de serotonina, em pombos em jejum de 24 horas, reduz a quantidade de alimento ingerido no período de 1 hora de observação após a realimentação.

Contudo, este efeito não ocorre quando o experimento é realizado em aves alimentadas *ad libitum* e o período de observação é de uma hora após a realimentação (STEFFENS et al, 1997). Quando é estendido o período de observação por 2 horas, verifica-se uma redução na quantidade de alimento ingerido durante este intervalo de tempo (STEFFENS et al, em preparação).

Estes dados indicam que o estado nutricional é um fator fisiológico importante para comprovação dos mecanismos glutamatérgicos no controle da ingestão de alimento, sendo comentado por autores como SAVORIY (1980), BARBATO et al (1980), BARBATO et al (1982) e DUNCAN et al (1970). Sugerem os referidos autores que os mecanismos de ativação e término das refeições também funcionam nas aves.

Pretende-se salientar, também, que a restrição alimentar não é o único requisito para demonstrar o envolvimento de neurotransmissores centrais (por exemplo, o glutamato) no controle do comportamento ingestivo.

Existem hipóteses de que as aves, em especial as galinhas, tem um sentido gustativo altamente desenvolvido (LINDENMAIER e KARE, 1959; KARE e MEDWAY, 1959; KARE e MALLER, 1967; GENTLE e HARKIN, 1979), embora possa existir falta de correspondência entre a aparência sensorial das aves e dos mamíferos (KARE et al, 1957; GENTLE, 1972).

BURNS e RITTER (1997) verificaram que a oferta de uma dieta mais palatável (sacarose 15%) ocasionou uma elevação na quantidade de alimento ingerido tanto em ratos saciados quanto naqueles submetidos à restrição alimentar.

Nos experimentos, a dieta oferecida aos pombos foi sempre igual, balanceada e em forma de grãos. Assim, a presente pesquisa não permitiu evidenciar a existência de fenômenos ligados às qualidades orosensoriais positivas do alimento.

Nota-se também que o glutamato afetou principalmente o tamanho (quantidade) das refeições e em poucas situações alterou a duração da mesma; apenas no jejum de 24 e 48 horas na maior dose de glutamato (600 nmol) reduziu a duração, sem modificar a latência para iniciar a ingestão, com exceção no jejum de 24 horas, também na dose de glutamato 600 nmol que aumentou a latência para iniciar a ingestão de alimento.

Baseado nestes dados, reforça-se a idéia de que esse aminoácido influencia preferencialmente os sinais de saciedade em relação aos de fome, proposta por BURNS e RITTER (1997). Estes autores sugerem que o glutamato endógeno atua, predominantemente, aumentando ou antecipando os sinais de saciedade, ao contrário de modular os sinais de fome.

Seguindo tal proposta, os dados obtidos neste trabalho sugerem que a injeção i.c.v. de glutamato pode ter promovido uma queda no consumo de alimento por antecipação ou estimulação dos sinais de saciedade suspendendo assim o comportamento alimentar.

Alguns autores relatam que o glutamato produz uma estimulação dose-dependente na ingestão de alimento em pequenos mamíferos (REDDY et al, 1986; SORRELS e BOSTOCK, 1992; STRICKER-KRONGRAD et al, 1992; WANDJI et al, 1989; WIRTSHAFTER e TRIFUNOVIC, 1988; STANLEY et al, 1993a). Resposta diferente ocorreu na presente pesquisa, pois diminuiu a ingestão de alimento em todos os estados nutricionais dos pombos, com exceção dos pombos saciados que não provocou alteração.

Percebe-se que as injeções i.c.v. de glutamato em pombos nos vários estados nutricionais provocaram alguma interferência nos mecanismos de controle do comportamento dipsogênico, contudo não chegou a induzir respostas nítidas e constantes.

O glutamato, apenas nas doses mais elevadas (300 e 600 nmol), nos pombos em jejum de 24 e 96 horas, diminuiu a duração e a quantidade de ingestão hídrica e aumentou a latência para iniciar esse comportamento. Sugeriu que o comportamento dipsogênico sofre interferência do comportamento alimentar, porque esta resposta está associada à intensa redução da ingestão de alimento induzida pelo glutamato nestas concentrações, do que a ação direta sobre o mecanismo de beber.

O comportamento dipsogênico em ratos não foi modificado após injeção de glutamato no hipotálamo lateral (STANLEY et al, 1993a). A variação da quantidade de água ingerida, observada após injeção de glutamato, foi relacionada à desidratação celular induzida pelo poder osmótico da solução (REDDY et al, 1986).

Quando foram injetados os antagonistas do glutamato (MK-801, CNQX e AP-3), não houve modificações no volume de água ingerida. O mesmo ocorreu com a injeção dos diferentes agonistas (NMDA, AMPA e CAINATO) utilizados na pesquisa por ZENI (1997).

Estes resultados sugerem que o glutamato não está aparentemente envolvido no controle da ingestão hídrica em mamíferos como também em aves.

No trabalho atual procurou-se evidenciar os subtipos de receptores glutamatérgicos envolvidos na redução da ingestão de alimentos, induzida pelo glutamato.

Na avaliação do experimento pode-se verificar os subtipos de receptores NMDA e AMPA, mas não os metabotrópicos e Kainato, participando na mediação dos efeitos hipofágicos desse aminoácido excitatório. A mesma resposta ocorreu nos experimentos feitos por ZENI (1997).

Observou-se que o MK-801 e o CNQX antagonizaram significativamente o glutamato na ingestão de alimento. Já o AP-3 não antagonizou significativamente o glutamato na sua ação de redução na ingestão de alimento. Demonstrou assim, que os receptores envolvidos com o efeito redutor do glutamato na ingestão de alimento são os bloqueados pelo MK-801 e CNQX, que são os receptores NMDA e AMPA/KAINATO respectivamente.

Na ingestão de líquidos não existiram alterações significativas quando foram injetados os bloqueadores.

ZENI (1997) realizou tratamento em pombos com diferentes doses de NMDA e reduziu a quantidade de alimentos ingerido mas não alterou a duração ou a latência para iniciar esse comportamento.

A pesquisa realizada por ZENI (1997) apresenta dados que estão de acordo com aqueles apresentados por BURNS e RITTER (1997) e com a hipótese criada por eles de que a ativação de receptores do tipo NMDA antecipa o término da alimentação, uma vez que no trabalho de BURNS e

RITTER (1997) o uso do antagonista MK-801 provocou um retardo nesta resposta, o que não foi constatado na presente pesquisa.

Quando foi utilizado CNQX antagonista dos receptores AMPA-KAINATO, notou-se que esta substância atenua, mas não bloqueia totalmente os efeitos hipofágicos do glutamato.

Os experimentos realizados por ZENI (1997), utilizando o AMPA, mostraram que doses pequenas (0,1; 1 e 4 nmol) dessa substância reduziram a quantidade de alimento ingerido, indicando uma possível modulação glutamatérgica dos sinais de saciedade, que devem incluir na ativação dos receptores NMDA e AMPA.

O aumento na ingestão de alimento, constatado após a administração de antagonistas glutamatérgicos, foi atribuído por WIRTSHAFTER et al (1989) a um estado de hiperatividade comportamental.

Neste trabalho a análise comportamental, observada após a injeção i.c.v. das várias doses de glutamato até a mais elevada, evidencia que o resultado hipofágico do glutamato provavelmente não está ligado à ação dos sistemas neurais inespecíficos, com exceção de uma pequena redução do comportamento de locomoção nos pombos que ficaram em jejum de 24 horas e receberam glutamato 600 nmol, e quando ZENI (1997) injetou a dose mais elevada de NMDA (16 nmol) provocou aumento na duração da atividade locomotora.

Os dados apontam que a hipofagia observada após o tratamento com glutamato ou NMDA não pode ser consequência de um estado de

comportamento hiperativo, porque a administração i.c.v. de doses pequenas destas substâncias provocaram a redução na ingestão de alimentos sem desencadear outras alterações de comportamentos. ZENI (1997) relata que, apenas a menor dose do AMPA (0,1 nmol) aumentou a duração da postura típica de sono. Isto indica que o efeito hipofágico do AMPA parece não estar associado às alterações em outros aspectos funcionais, como as doses de 1 e 4 nmol provocaram redução no tamanho da refeição sem alterar outras atividades comportamentais.

A possibilidade do glutamato transformar-se em GABA não constitui um mecanismo plausível para os efeitos observados. Fortalecendo esta idéia, tem-se a evidência da especificidade de ação do glutamato em relação à regulação da ingestão de alimento, quando realizou-se pré-tratamento i.c.v com MK-801, ou com CNQX, antagonistas respectivamente dos receptores NMDA e AMPA-KAINATO. Estas substâncias atenuaram, mas não bloquearam totalmente os efeitos hipofágicos do glutamato, bem como não provocaram outras alterações de comportamento.

Pode-se também utilizar as observações realizadas por ZENI (1997) sobre os efeitos hipofágicos dos agonistas específicos NMDA e AMPA que não provocaram outras alterações de comportamento.

Importantes trabalhos experimentais evidenciam a ação do glutamato injetado sistemicamente (REDDY et al, 1986), por via intracerebroventricular (STRICKER-KRONGRAD, 1992) no hipotálamo lateral

de ratos (STANLEY et al, 1993a; STANLEY et al, 1993b) e ventromedial de ovelhas (WANDJI et al, 1989). Em todos estes trabalhos o glutamato provocou um aumento no consumo de alimento. Esta hiperfagia é uma resposta oposta àquela apresentada no presente trabalho e também no trabalho de ZENI (1997).

De conformidade com os mecanismos possíveis de ação do glutamato, proposto no presente estudo, os sinais de saciedade seriam antecipados pelo glutamato, acontecendo o término da alimentação, não tendo um possível envolvimento nos sinais que desencadeariam a fome.

O glutamato em mamíferos participa na modulação dos sinais de saciedade (BURNS e RITTER, 1997), e também dos circuitos neurais que geram a fome, produzindo a hiperfagia (REDDY et al, 1986; STRICKER-KRONGRAD et al, 1992; STANLEY et al, 1993a; STANLEY et al, 1993b).

Existe a possibilidade, que por enquanto não se pode eliminar, de que os sistemas glutamatérgicos possam produzir respostas hiperfágicas também em pombos quando ativado em outras regiões.

O método utilizado (injeção i.c.v.) e a região onde foi injetado o glutamato e seus diferentes agonistas e antagonistas teriam dificuldades para atingir os circuitos que possam ativar a fome, produzindo a hiperfagia.

Foram encontrados, na literatura, trabalhos que descrevem que, em mamíferos, os locais onde o glutamato provoca aumento na ingestão de alimento seriam o hipotálamo lateral (STANLEY et al, 1993a; STANLEY et al,

1993b), ventromedial (WANDJI et al, 1989), área postrema (REDDY et al, 1986) e o núcleo mediano da rafe (WIRTSHAFTER et al, 1989).

O glutamato é um aminoácido excitatório, que em altas concentrações pode provocar a perda geral dos neurônios em várias regiões do sistema nervoso central devido a sua neurotoxicidade. Isto pode ocorrer principalmente nos órgãos circumventriculares, como área postrema, núcleo arqueado e eminência média (ONLEY, 1969; DAWSON et al, 1989; MEISTER et al, 1989).

Isto indica que neurônios adrenérgicos localizados na região ventricular podem ser destruídos pela neurotoxicidade do glutamato.

Experimentos realizados mostram que tanto a injeção intracerebroventricular (RAVAZIO e PASCHOALINI, 1991; RAVAZIO E PASCHOALINI, 1992) como a injeção de adrenalina no núcleo periventricular do hipotálamo (núcleo homólogo ao paraventricular em mamíferos) provoca aumento na ingestão de alimento em pombos saciados (dados ainda não publicados). Avaliando estes dados, aponta-se para o circuito adrenérgico localizado nas proximidades da parede ventricular e que estão envolvidos na regulação da ingestão de alimentos em pombos.

Com o objetivo de constatar a integridade funcional deste sistema adrenérgico, os animais que passaram por vários estados nutricionais (jejum de 24, 48 e 96 horas) ou saciados e que passaram por todas as doses de glutamato (50, 150, 300 e 600 nmol) ou líquor, no último experimento, após realimentar,

esperou-se uma hora e por via i.c.v., injetava-se adrenalina e observou-se o pombo por mais 1 hora. Por fim, quantificou-se a quantidade de alimento e água ingerida.

Os dados indicam que as doses utilizadas de glutamato não foram suficientes para lesionar os circuitos adrenérgicos envolvidos com a ingestão de alimentos e que a injeção de adrenalina provocou um aumento na quantidade de comida consumida semelhante àquela observada nos animais sem nenhuma manipulação.

A regulação do comportamento alimentar em aves parece estar composta de sistema catecolaminérgico, cuja ação hiperfágica é semelhante à observada em mamíferos (RAVAZIO e PASCHOALINI, 1991; RAVAZIO e PASCHOALINI, 1992) e sistema serotoninérgico, cuja ação hipofágica também ocorre em mamíferos (STEFFENS et al, 1997).

Contudo, o sistema glutamatérgico envolvido neste mecanismo são aparentemente diferentes em aves (pombos) e nos mamíferos estudados. Em pombos, o controle da ingestão alimentar parece estar constituída apenas por circuitos glutamatérgicos que induzem à saciedade. Os circuitos excitatórios podem não existir em aves ou não foram identificados pela abordagem deste experimento.

6. CONCLUSÕES

Os resultados dos experimentos analisados no presente trabalho confirmam pesquisas anteriores, indicando a grande possibilidade de que exista participação do glutamato na mediação sináptica em grupos neurais envolvidos com o sistema de regulação da ingestão de alimento.

Os dados sugerem que o glutamato parece estar envolvido no controle neural da ingestão de alimentos em pombos, sendo que sua liberação ativaria mecanismos centrais que contribuiriam para o fenômeno da saciedade.

A redução na ingestão de água após o tratamento com o glutamato parece ser consequência do efeito inibitório deste neurotransmissor sobre o consumo de nutrientes.

O glutamato monossódico não interferiu em outros comportamentos quando injetado no ventrículo lateral nas concentrações usadas no experimento.

Sugere o experimento que os receptores envolvidos no mecanismo de controle alimentar em pombos são os subtipos NMDA e AMPA.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ADDAE, J.I.; STONE, T.W. Effects of topically applied excitatory amino acid on evoked potentials and single cell activity in rat cerebral cortex. *Eur. J. Pharmacol.*, 121: 337-343, 1986.

ALBIN, R.L.; MAKOWIEC, R.L.; HOLLINGSWORTH, Z.; DURE IV, L.S.; PENNEY, J.B.; YOUNG, A.B. Excitatory amino acid binding sites in the periaqueductal gray of the rat. *Neurosci. Lett.*, 118: 112-115, 1990.

APPEL, S.H. Excitotoxic neuronal cell death in amyotrophic lateral sclerosis. *Research News.*, 16: 3-5, 1993.

BARBATO, G. F.. Genetic control of food intake in chickens. In: Conference: Food intake regulation: neuropeptides, circulating factors and genetics. Pennsylvania: *The Pennsylvania State University*, 1994. p.1341-1346.

BARBATO, G.F.; CHERRY, J.A.; SIEGEL, P.B.; VAN KREY, H.P. Quantitative analysis of the feeding behavior of four populations of chickens. *Physiol. Behav.*, 25: 885-891, 1980.

BARBATO, G.F.; HUEY, D.F.; CHERRY, J.A.; SIEGEL, P.B. A procedure for monitoring continuous feed intake of chickens. *Poult. Sci.*, 61: 1759-1761, 1982.

BASKYS, A. Metabotropic receptors and slow excitatory actions of glutamate agonists in the hippocampus. Apud SOUZA, M. M. *Alteração do efeito ansiolítico do diazepam e ansiogênico do pentilenotetrazol em ratos submetidos à manipulação do sistema glicina/NMDA na substância cinzenta periaqueductal dorsal*. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia. Florianópolis: UFSC, 1995, p. 9-12.

BENJAMIN, A. M.; QUASTEL, J.H. Location of amino acids in brain slices from the rat. Tetrodotoxin-sensitive release of amino acids. *Biochem. J.* 128: 631-646, 1972.

* Normas técnicas segundo ABNT (*Associação Brasileira de Normas Técnicas*). 4ª Edição. Curitiba, UFPR, 1994.

- BETZ, H. Glycine receptors: heterogeneous and widespread in the mammalian brain. Apud SOUZA, M. M. *Alteração do efeito ansiolítico do diazepam e ansiogênico do pentilenotetrazol em ratos submetidos à manipulação do sistema glicina/NMDA na substância cinzenta periaquedutal dorsal*. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia. Florianópolis: UFSC, 1995, p. 9-12.
- BRADFORD, H.F. Chemical Neurobiology. An Introduction to Neurochemistry. Apud BERNARDI, N. *Participação de amino-ácidos neurotransmissores em sistemas responsáveis pelo alerta neocortical*. Monografia apresentada para obtenção do Cargo de Professor Titular. Florianópolis: UFSC, 1987, p. 5-9.
- BRAY, G.A.; CAMPFIELD, L.A. Metabolic factors in the control of energy stores. *Metalolism*, 24: 99-117, 1975.
- BRAY, G.A. Obesity - a disease of nutrient or energy balance? *Nutr. Rev.*, 45: 33-43, 1987.
- BRAY, G.A.; YORK, D.A.; FISLER, J.S. Experimental obesity: a homeostatic failure due to defective nutrient stimulation of the sympathetic nervous system. *Vitam. Horm.*, 45: 1-124, 1989.
- BURNS, G.A.; RITTER, R.C. The non-competitive NMDA antagonist MK-801 increases food intake in rats. *Pharmacol. Bioch. and Bechavior.*, 56: 145-149, 1997.
- CANELLO, M.; RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Food deprivations vs. Intraventricular adrenaline-induced feeding and postprandial behaviors in the Pigeon (*Columba livia*). *Physiol. Behav.*, 94: 1075-1079, 1993.
- CARLSSON, M.; CARLSSON, A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Elsevier Science Publish.*, 13: 272-276, 1990.
- CAREW, L.B.; FOSS, D.C. Monosodium glutamate in chicks. *Poult. Sci.*, 50: 1501-1502, 1971.

- CHOI, D.W.; MAULUCCI-GEDDE, M.A.; KRIEGSTEIN, A. R. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J. Neurosci.*, 7: 357-368, 1987.
- CHOI, D.W. Glutamate toxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1: 623-624, 1988.
- CHOI, D.W.; ROTHAN, S.M. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic neuronal death. *Ann. Ver. Neurol.*, 13: 171-182, 1990.
- CHUJO, T.; YAMADA, Y.; YAMAMOTO, C. Sensitivity of purkinje cell dendrites to glutamic acid. *Exp. Brain Res.*, 23: 293-300, 1975.
- COLLINGRIDGE, G.L.; BLAKE, J.F.; BROWN, M.W. et al. Involvement of excitatory amino acid receptors in long-term potentiation in the schaffer collateral commissural pathway of rat hippocampal slices. *Can. J. Pharmacol.* 69: 1084-1090, 1991.
- COTMAN, C.W.; HAMBERGER, A. Glutamate as a CNS neurotransmitter: properties of release, inactivation and biosynthesis. In: FONNUM, F. (Ed) *Amino Acids as Chemical Transmitters*, New York: Plenum Press, 1978, p.379-412.
- COTMAN, C.W.; KAHLE, J. S.; MILER, S.E.; ULAS, J.; BRIDGES, R. J. Excitatory Amino Acid Neurotransmission. In: BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. (Eds.). *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995, p. 75-84.
- CURTIS, D. R.; PHILLIS, J.W.; WATKINS, J.C. Chemical excitation of spinal neurones. *Nature*, 183: 611-612, 1959.
- CUTLER, R.W.P.; DUDZINSKI, D.S. Regional changes in amino acid content in developing rat brain. *J. Neurochem.*, 23: 1005-1009, 1974.
- DAVIDSON, N. Neurotransmitter Amino Acids. Apud BERNARDI, N. *Participação de amino-ácidos neurotransmissores em sistemas responsáveis pelo alerta neocortical*. Monografia apresentada para obtenção do Cargo de Professor Titular. Florianópolis: UFSC, 1987, p. 14-16.

- DAWSON, R.; WALLACE Jr. D.R.; GABRIEL, S.M. A pharmacological analysis of food intake regulation in rats treated neonatally with monosodium glutamate. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 32: 391-398, 1989.
- DENBOW, D.M.; CHERRY, J.A.; SIEGEL, P.B.; VAN KREY, H.P. Eating, drinking and temperature response of chicks brain catecholamine injections. *Physiol. Behav.*, 27: 265-269, 1981.
- DENBOW, D.M.; CHERRY, J.A.; VAN KREY, H.P. Feeding and drinking responses of young chicks to injections of serotonin into the lateral ventricle of the brain. *Poult. Sci.*, 61: 150-155, 1982.
- DENBOW, D.M.; VAN KREY, H.P.; LACY, M.P.; DIETRICK, T.J. Feeding, drinking and body temperature of Leghorn chicks: effects of i.c.v. injections of biogenic amines. *Physiol. Behav.*, 31: 85-90, 1983.
- DENBOW, D.M.; SHEPPARD, B.J. Food and water intake responses of the domestic fowl to norepinephrine infusion at circumscribed neural sites. *Brain Res. Bull.*, 31: 121-128, 1993.
- DINGLELINE, R.; McBAIN, C.J.; McNAMARA, J.O. Excitatory amino acid receptors in epilepsy. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11: 334-338, 1990.
- DINGLELINE, R.; McBAIN, C.J. Excitatory Amino Acid Transmitters. *Basic Neuroch.*, 17: 367-883, 1994.
- DUNCAN, I.J.H.; HORNE, A.R.; HUGHES, B.O.; WOOD-GUSH, D.G.M. The pattern of food intake in female brown leghorn fowls as recorded in a skinner box. *Anim. Behav.* 18: 245-255, 1970.
- DUNCAN, I.J.H.; HORNE, A.R. Free and operant feeding in domestic fowls. *Anim. Behav.*, 20: 775-777, 1972.
- DUNN, R.W.; CORBETT, R.; FIELDING, S. Effects of 5-HT receptor agonists and NMDA receptor antagonist in the social interaction test and the elevated plus maze. *Eur. J. Pharmacol.*, 169:1-10, 1989.

- ERDO, S.L. Excitatory amino acid receptors in the mammalian periphery. Apud SOUZA, M. M. *Alteração do efeito ansiolítico do diazepam e ansiogênico do pentilenotetrazol em ratos submetidos à manipulação do sistema glicina/NMDA na substância cinzenta periaquedutal dorsal*. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia. Florianópolis: UFSC, 1995, p. 7-20.
- ETIENNE, P.; BAUDRY, M. Role of excitatory amino acid neurotransmission in synaptic plasticity and pathology - an integrative hypothesis concerning the pathogenesis and evolutionary advantages of schizophrenia - related genes. *J. Neural Transm.*, 13:39-48, 1990.
- FAZELI, M.S. Synaptic plasticity: on the trail of the retrograde messenger, *Elsevier Science Publish.*, 15: 115-117, 1992.
- GAHWILER, B.H. Spontaneous bioelectric activity of cultured purkinje cells during exposure to glutamate,glucine and strychnine. *Neurobiol. J.*, 7: 97-107, 1976.
- GELLER, H.M.; WOODWARD, D. J. Responses of cultured cerebellar neurons to iontophoretically applied amino acids. *Brain Res.*, 74: 67-80, 1974.
- GENTLE, M; HARKIN, C. The effect of sweet stimulation oral behaviour in the chicken. *Chem. Senses.* 4: 183-191, 1979.
- GENTLE, M. Taste preference in the chicken. *Br. Poult. Sci.*, 13:141-155, 1972.
- GRAEFF, F.G.; CAROBREZ, A.P.; SILVEIRA, M.C.L. Excitatory amino acids and the brain aversive system. In: CAVALHEIRO, E.A.; LEHMAN, J.; TURSKI L. *Frontiers in excitatory amino acids research.*, New York: Liss, 1988, p. 325-332.
- HALPAIN, S.H.; WIECZOREK, C.M.; RAINBOW, T.C. Localization of L-glutamate receptors in rat brain by quantitative autoradiography. *J. Neurosci.*, 4: 2247-2258, 1984.

- HARRIS, E.W.; GANONG, A.H.; COTMAN, C.W. Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors, *Brain Res.* 323: 132-137, 1984.
- HAYASHI, T. Effects of sodium glutamate on the nervous system. *Keio J. Med.*, 3: 183-192, 1954.
- IVERSEN, L. L. MK-801 (Dizocilpine Maleate) - NMDA receptor antagonist. *Research Bioch. Internat.*, 10: 234-339, 1994.
- IZQUIERDO, I. Role of NMDA receptors in memory. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12: 128-129, 1991.
- JANSEN, K.L.R.; FAULL, R.L.M.; DRAGUNOW, M. Excitatory amino acid receptors in the human cerebral cortex: a quantitative autoradiographic study comparing the distributions of [³H] TCP, [³H] GLYCINE, L-[³H] GLUTAMATE, [³H] AMPA and [³H] KAINIC acid binding sites, *Neurosci.*, 32: 587-607, 1989.
- JOHNSON, J.W.; ASCHER, P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons, *Nature* 325: 529-531, 1987.
- KARE, M; MEDWAY, W. Discrimination between carbohydrates by the fowl. *Poult. Sci.*, 38: 1119-1127, 1959.
- KARE, M; MALLER, O. Taste and food intake in domesticated and jungle fowl. *J. Nutr.*, 92: 191-196, 1967.
- KARE, M.; BALCK, R., ALLISON, E. The sense of taste in the fowl. *Poult. Sci.*, 36:129-138, 1957.
- KARTEN, H.J.; HODOS, W.A. *Stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (Columbia Livia)*. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins Press, 1967.
- KLECKNER, N.W.; DINGLEDINE, R. Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in xenopus oocytes, *Science*, 241: 835-837, 1988.

- KRIEGER, J.E.; GRAEFF, F.G. Defensive behavior and hypertension induced by glutamate in the midbrain central gray of the rat, *Brazilian. J. Med. Biol. Res.*, 18: 61-67, 1985.
- KUENZEL, W.J.; SNAPIR, N.; REXROAD Jr., C.E. Food intake and biogenic amine concentrations in brain regions of chicks following intracerebroventricular injection of six-hydroxydopamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 27: 257-263, 1987.
- KUENZEL, W.J. Central neuroanatomical systems involved in the regulation of food intake in birds and mammals. *J. Nutr.*, 124: 1355S-1370S, 1994.
- LEESON, P.D. Glycine-site N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. In: *Drug Design for Neuroscience*. New York: Raven Press, 1993, p. 339-381.
- LE MAGNEN, J.; TALLON, S. La periodicite spontanee de la prise d'aliments ad libitum de rat blanc. *J. Physiol.*, 58: 323-349, 1966.
- LE MAGNEN, J. *Neurobiology of feeding and nutrition*. San Diego: Academic Press, 1992.
- LINDENMAIER, P.; KARE, M. The taste end-organs of the chicken. *Poult. Sci.*, 38: 545-550, 1959.
- LIPTON, S.A. Models of neuronal injury in AIDS: another role for the NMDA receptor? *Trends Neurosc.*, 15 (3): 75-79, 1992.
- LISY, V.; DVORÁKOVÁ, L.; STANSTNÝ, F. Altered glutamate binding following quinolinate lesions in developing rat brain, *Exper. Neurol.*, 125: 82-86, 1994.
- MARAGOS, W.F.; CHU, D.C.M.; GREENAMYRE, J.T.; PENNEY, J.B.; YOUNG, A.B. High correlation between the localisation of [³H]-TCP binding and NMDA receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 123: 173-174, 1986.

- MEISTER, B.; CECCDATELLI, S.; HOKFELT, T.; ANDEN, N. E.; ANDEM, M.; THEODORSON, E. Neurotransmitters, neuropeptides and binding sites in the rat mediobasal hypothalamus: Effects of monosodium glutamate (MSG) lesions. *Exp. Brain Res.*, 76:343-368, 1989.
- MELDRUM, B.; GARTHWAITE, J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Elsevier Trends J.*, 11: 379-387, 1990.
- McENTEE, W.J.; CROOK, T.H. Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain, *Psychopharmacology*, 111: 91-401, 1993.
- MONAGHAN, D.T.; BRIDGES, R.J.; COTMAN, C.W. The excitatory amino acid receptors: Their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 29: 365-402, 1989.
- MONAGHAN, D.T.; COTMAN, C.W. The distribution of [³H] kainic acid binding in rat CNS as determined by autoradiography. *Brain Res.*, 252: 91-100, 1982.
- MORGANE, P. J.; STERN, W.C. Chemical anatomy of brain circuits in relation to sleep wakefulness. In: *Advances in sleep research*. New York: *Spectrum Publications Inc.* 1974, p. 24-27.
- MORLEY, J.E. Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr. Rev.*, 8: 256-287, 1987.
- MORRIS, R.G.M. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning in rats and blockade of long-term potentiation in vivo by N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *J. Neurosci.*, 9: 3040-3057, 1989.
- NESTLER, E.J.; HOPE, B.T.; WIDNELL, K.L. Drug addiction: A model for the molecular basis of neural plasticity. *Neurosci.*, 11: 995-1006, 1993.
- NICHOLLS, D.G. *The glutamatergic nerve terminal*. Universidade de Dundee. *Escócia*. September 28, 1992.

- ONLEY, J.W. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*. 164: 719-721, 1969.
- RANSOM, R.W.; DESCHENES, N.L. Polyamines regulate glycine interaction with the N-Methy-D-Aspartate receptor, *Synapse*, 5: 294-298, 1990.
- RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A. Modulation of food and water intake by catecholamines injected into the lateral ventricle of the pigeon brain. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 25:841-844, 1992.
- RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A. Participation of alpha receptors in the neural control of food intake in pigeons. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 24: 943-946, 1991.
- REDDY, V.M.; MEHARG, S.S. ; RITTER, S. Dose-related stimulation of feeding by systemic injections of monosodium glutamate. *Physiol Behav.*, 38: 465-469, 1986.
- REYNOLDS, I.J.; MURPHY, S.N.; MILLER, R.J. H-labeled MK801 binding to the excitatory amino acid receptors from rat brain is enhanced by glycine. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84: 7744-7748, 1987.
- RITTER, S; STONE, S.L. Area postrema lesions block feeding induced by systemic injections of monosodium glutamate. *Physiol. Behav*, 41: 21-24, 1987.
- SAVORY, C.J. Diurnal feeding patterns in domestic fowls: a review. *Appl. Anim. Ethol.*, 6: 71-82, 1980.
- SCHMITT, M. L.; COELHO, W.; LOPES-DE-SOUZA, A.S.; GUIMARÃES, F.S. and CAROBREZ, A.P. Anxiogenic-like effect of glycine and D-serine microinjected into dorsal periaqueductal gray matter of rats, *Neurosc. Letters*, 189: 93-96, 1995.
- SCHOEPP, D.D.; CONN, J.P. Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology. *Elsevier Science Publish.*, 14: 13-25, 1993.

- SCHOEPP, D.D.; SACCAAN, A. I. Metabotropic glutamate receptors and neuronal degenerative disorders. *Neurobiol. Aging*, 15: 261-263, 1994.
- SHANK, R.P. & APRISON, M.H. The metabolism *in vivo* of glycine and serine in eight areas of the rat central nervous system. *J. Neurochem.*, 17: 1461-1475, 1970.
- SHIBATA, S.; YAMASHITA, K.; YAMAMOTO, E.; OZAKI, T.; UEKI, S. Effects of benzodiazepines and GABA antagonists on anticonflict effects of antianxiety drugs injected in the rat amygdala in a water-lick suppression test. *Psychopharmacol.*, 98: 38-44, 1989.
- SIMSON, E.L.; STANDISH, L.J.; PELLETT, P.L. Axonsparing brain lesioning technique: the use of monosodium-L-gultamate and other amino acids. *Science.*, 198: 515-517, 1977.
- SMITH, D.H.; OKOYAMA, K.; THOMAS, M. J.; MCINTOSH, T. K. Effects of the excitatory amino acid receptor antagonists kynurenate and indole-2-carboxylic acid on behavioral and neurochemical outcome following experimental brain injury. *J. Neurosci.*, 13: 5383-5392, 1993.
- SNYDER, S.H. & YOUNG, A. B. The glycine synaptic receptor in the mammalian central nervous system. *Br. J. Pharmacol.*, 53: 473-484, 1975.
- SONG, Y.; HUANG, L.Y.M. Modulation of glycine receptor chloride channels by CAMP-dependent protein kinase in spinal trigeminal neurons, *Nature*, 348: 242-245, 1990.
- SORRELS, T.L.; BOSTOCK, E. Induction of feeding by 7-chlorokynurenic and, a strychnine-insensitive glycine binding site antagonist. *Brain Research*, 572: 265-268, 1992.
- STANLEY, B.G.; WILLETT III, V.L.; DONIAS, H.W.; HA, L.H.; SPEARS, L.C. The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatoty amino acid-elicited eating. *Brain Research.*, 630: 41-49, 1993a.

- STANLEY, B. G.; HA, L.H.; SPEARS, L.C.; DEE II, M.G. Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, d, L- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole propionic acid or N-methyl-D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in rats. *Brain Research.*, 613: 88-95, 1993b.
- STEFFENS, S.M.; CASAS, D.C.; MILANEZ, B.C.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, 44(2), 1997. Trabalho no prelo.
- STRICKER-KRONGRAD, A.; BECK, B.; NICOLAS, J.P.; BURLET, C. Central effects of monosodium glutamate on feeding behavior in adult Long-Evans rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43:881-886, 1992.
- TAXT, T.; STORM-MATHISEN, J. Uptake of D-aspartate and L-glutamate in excitatory axon terminals in hippocampus: autoradiographic and biochemical comparison with γ -amino butyrate and other amino acids in normal rats and in rats with lesions. *Neurosci.*, 11: 79-100, 1984.
- TEBECIS, A. K. *Transmitters and identified neurons in the mammalian central nervous system*. Bristol: Sciencetechnica (Publishers) Ltda, 1974.
- WALAAS, L.; FONNUM, F. The effect of parenteral glutamate treatment on the localization of neurotransmitters in the mediobasal hypothalamus. *Brain Research.*, 153: 549-562, 1978.
- WANDJI, S.A.; SEONE, J.R.; ROBERGE, A.G. THIABAULT, L. Effects of intrahypothalamic injections of GABA, muscimol, pentobarbital and L-glutamic acid on feed intake of satiated sheep, *Can. J. Physiol Pharmacol.* 67: 5-9, 1989.
- WATKINS, J.C.; KROGSGAARD-LARSEN, P.; HONORÉ, T. Structure-activity relationships in the development of excitatory amino acid receptor agonists and competitive antagonists, *Trends Pharmacol. Sci.*, 11: 25-33, 1990.

- WERMAN, R. A review - Criteria for identification of a central nervous system transmitter. *Comp. Biochem. Physiol.* 18: 745-766, 1966.
- WIRTSHAFTER, D.; TRIFUNOVIC, R. Production of hyperactivity by injections of excitatory amino acid antagonists into the median raphe nucleus. *Soc. Neurosci. Abst.*, 13: 406, 1987.
- WIRTSHAFTER, D.; TRIFUNOVIC, R. Stimulation of ingestive behaviors following injections of excitatory amino acid antagonists into the median raphe nucleus. *Pharmacol Biochem Behav.* 30: 529-533, 1988.
- WIRTSHAFTER, D.; TRIFUNOVIC, R.; KREBS, J.C. Behavioral and biochemical evidence for a functional role of excitatory amino acid in the median raphe nucleus. *Brain Research.*, 482: 225-234, 1989.
- YEH, G. C.; BONHAUS, D.W.; McNAMARA, J.O. Evidence that zinc inhibits NMDA receptor gated ion channel activation by noncompetitive antagonism of glycine binding, *Med. Pharmacol.*, 38: 14-19, 1990.
- ZENI, L. A. Z. R. *Participação do glutamato monossódico no controle central da ingestão de alimento em pombos (Columba livia)*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Neurociências e Comportamento. Florianópolis: UFSC, 1997, p. 54-59



(047) 348-0552