

VÂNIA MARIA ABREU ANDRIANI

EFEITOS DA INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE
SEROTONINA SOBRE O SONO E SOBRE O
ELETROSCILOGRAMA HIPOCAMPAL EM POMBOS
(*Columba livia*)

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Curso de pós-graduação em Neurociências e
Comportamento, Centro de Ciências
Biológicas, Universidade Federal de Santa
Catarina.
Orientador: Prof. Dr. José Marino Neto.

FLORIANÓPOLIS-SC
2000

**"EFEITOS DA INJEÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE SEROTONINA
SOBRE O SONO E SOBRE O ELETROSCIOGRAMA HIPOCAMPAL EM
POMBOS (*Columba livia*)".**

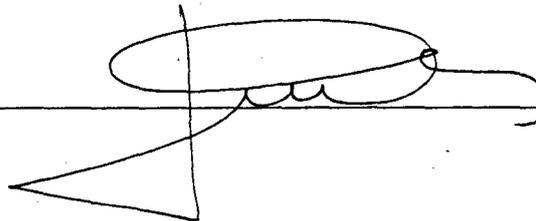
VÂNIA MARIA ABREU ANDRIANI

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS

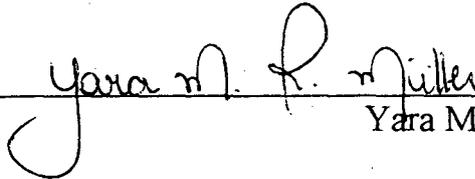
na área de Neurofisiologia e Comportamento Aprovada em sua forma final
pelo Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Orientador



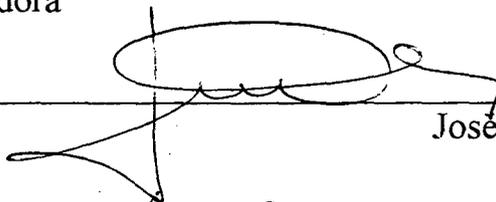
José Marino Neto

Coordenadora do Curso

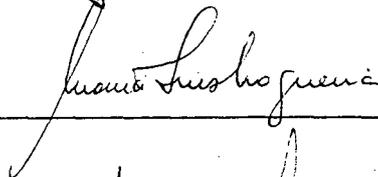


Yara Maria Rauh Müller

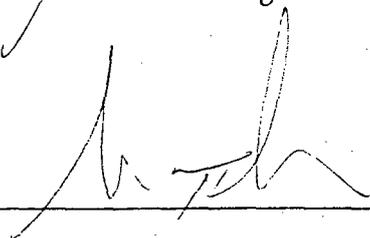
Banca Examinadora



José Marino Neto (Presidente)



Maria Inês Nogueira



Emílio Takase

Para Gustavo e Maria Fernanda.
Que, o que o convívio criou, nunca
a ausência possa destruir.

*"Nada deriva do acaso, mas tudo de uma razão e sob a
necessidade".*

(Leucipo de Abdera)

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS

1. INTRODUÇÃO	01
1.1 O Eletroscilograma	02
O EOsG e os estados comportamentais	03
O EOsG de mamíferos	05
O EosG de pombos	07
1.2. O Hipocampo	08
1.3. Os Sistemas de neurotransmissores	11
O sistema serotoninérgico em mamíferos	14
O sistema serotoninérgico em aves	16
2. MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Preparação	20
Implantação dos eletrodos	20
Eletrodos e cânulas-guia	21
2.2 Registro	24
2.3 Aquisição e análise do sinal	27
2.4 Análise dos registros	28
Análise qualitativa	28
Análise quantitativa	31
2.5 Análise estatística	33
3. RESULTADOS	35
3.1 Efeitos comportamentais da 5-HT	36

3.2 Efeitos eletroscilográficos após a 5-HT	42
Análise qualitativa do EOsG-HP	42
Análise espectral do EOsG-HP	46
4. DISCUSSÃO	51
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

RESUMO

O presente trabalho descreve os efeitos comportamentais e sobre o eletroscilograma hipocampal (EOsG-HP) da injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de serotonina (5-HT) em pombos domésticos (*Columba livia*). Foram registrados EOsG-HP, o eletroculograma (EOG), o eletromiograma (EMG) da musculatura posterior do pescoço e eventos comportamentais, por 20 minutos antes e 1 hora após a injeção de 5-HT (155 nmol) ou de veículo. A administração de 5-HT provocou uma intensa ingestão de água, que ocorreu logo após a aplicação da droga. Além disso, seguida ou concomitante à ingestão de água, os animais tratados apresentaram um aumento do tempo em postura semelhante ao sono e marcha atáxica. Contudo, durante esses períodos de sono aparente, observou-se aumento dos movimentos da cabeça sem, no entanto, abertura dos olhos. Esses efeitos foram agudos, durando em média 30 minutos. O EOsG-HP mostrou que a 5-HT não muda o tempo em vigília ativa (VA), nem a duração dos episódios de sono de ondas lentas (SOL), sono paradoxal (SP) e vigília relaxada (VR). Durante o sono comportamental induzido pela injeção de 5-HT, apareceu uma atividade eletrográfica de frequência alta, baixa amplitude e ausência de ondas PGAs (típicas da VR e do SOL), semelhante ao SP, porém de duração prolongada (S-SP). A análise espectral do EOsG-HP do estado S-SP permitiu identificar que a distribuição das potências relativas nas frequências de 0 a 30 Hz desse estado é muito semelhante àquela observada no SP e diferente dos demais estados (VA, VR, SOL). Os espectrogramas de VA, VR, SOL e do SP

foram semelhantes nos animais tratados com veículo e com 5-HT. O aparecimento de uma atividade eletrográfica hipocampal, com características de SP concomitante a um estado semelhante ao sono, após a injeção i.c.v. de 5-HT, sugere um possível envolvimento de sistemas serotoninérgicos nos mecanismos do SP em pombos.

ABSTRACT

This paper describes the effects of the administration intracerebroventricular (i.c.v.) of serotonin (5-HT) on the behavioural sleep and on the hippocampal electroscilogram (EOsG-HP) in domestic pigeons (*Columba livia*). The EOsG-HP, the electroculogram (EOG), the electromiogram (EMG) of the posterior musculature of the neck and behaviour enventos, were recorded during twenty minutes before and one hour after the injection of 5-HT (155 nmol) or of vehicle. The administration of 5-HT caused an immediate and intense increase in water intake. In addition, these animals showed an increase time spent in a sleep-like posture and ataxic gait, either after or during the water intake. Closed eyes and an increase in head movements were observed during these sleep-like periods. These effects were intense and lasted about thirty minutes. Visual analysis of the EOsG-HP showed that 5-HT does not change the time in alert wakefulness (AW), in slow wave sleep (SWS), in paradoxical sleep (PS) or in quiet waking (QW). However, during this sleep-like behaviour a high frequency electrographic activity, with low amplitude and the absence of PGAs (typical of QW and SWS) was recorded. This activity was show to be electrographically similar to PS but of longer duration (PS-like). The spectral analysis of the EOsG-HP during this PS-like state showed a distribution of relative potencies in the frequencies from 0 and 30 Hz similar to that observed during espontaneos PS episodes and was different from the spectral profile of other states (AW, QW, SWS). The spectrograms of AW,

QW, SWS and PS periods were similar in animals treated with vehicle and with 5-HT. The emergence of a hippocampal electrographic activity with characteristics of PS during a state similar to sleep after the i.c.v. injection of 5-HT, suggests a probable involvement of the serotonergic systems and PS mechanisms in pigeons.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HIAA	5-hidroxindolacético
5-HT	serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptamina
Ach	acetilcolina
Adr	adrenalina
APH	área parahipocampal
CDL	corticoidea dorso lateral
CLN	núcleo linear caudal
DRN	núcleo dorsal da rafe
EEG	eletroencefalograma
EMG	eletromiograma
EOG	eletroculograma
EOsG	eletroscilograma
EOsG-HP	eletroscilograma hipocampal
EOsGráficos	eletroscilográficos
FFT	transformada rápida de Fourier
HP	hipocampo
HPD	hipocampo direito
HPE	hipocampo esquerdo
i.c.v.	intracerebro ventricular
i.p.	intra peritonial
i.t.	intra tecal
IMAO	inibidor da monoaminoxidase
ISRS	inibidor seletivo da recaptção da serotonina
IT	imobilidade tônica
L-TPE	l-triptofano
MDN	núcleo mediano da rafe
NC	neostriado caudal
PCPA	para-clorofenilalamina
PGA(s)	onda(s) ponta(s) de grande amplitude
PGO	ondas ponto-genículo-ocipital
POS1	1º período de 20 minutos pós injeção da droga
POS2	2º período de 20 minutos pós injeção da droga
POS3	3º período de 20 minutos pós injeção da droga
PRE	período experimental pre injeção da droga
S-SP	semelhante ao sono paradoxal
SNC	sistema nervoso central
SOL	sono de ondas lentas
SP	sono paradoxal
v.o.	via oral
VA	vigília ativa
VR	vigília relaxada

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Eletroscilograma

Desde de 1929, quando Hans Berger (BERGER, 1929; apud WILLIANS, KARACAN e HURSCH, 1974) relatou o registro da atividade elétrica cerebral no escalpo de humanos, tem-se observado que os padrões de origem elétrica podem nos fornecer dados da base neuronal de comportamentos específicos. Os registros eletrográficos têm mostrado um padrão que tem sido associado a uma variedade de condições, patológicas ou não, e à atividade elétrica de regiões específicas do cérebro. As mais dramáticas mudanças nas formas das ondas ocorrem em resposta à flutuação dos estados de vigília e sono. Mudanças significantes no eletroencefalograma (EEG) também ocorrem em uma variedade de doenças cerebrais, alterações metabólicas, por drogas e pela idade (NIEDERMEYER, 1982a).

Esta atividade elétrica cerebral é resultante da somação de potenciais pós-sinápticos excitatórios e inibitórios decorrentes de processos bioquímicos ao nível da membrana celular em grupos neuronais (SCHAUL, 1998). Desta forma, o EEG contém informações relacionadas a mudanças nos potenciais elétricos do cérebro obtidas de um dado conjunto de eletrodos. Os registros eletrográficos podem ser obtidos em diferentes regiões do sistema nervoso; sendo assim, o termo eletroscilograma (EOSG), que pode mais adequadamente designar os registros das oscilações elétricas cerebrais, é utilizado no

presente estudo (VALLE, 1992).

A análise desta atividade elétrica cerebral pode ser feita através da inspeção visual do EOsG, análise qualitativa, com a descrição das características da onda com sua variação na amplitude, frequência, fase, etc., e a ocorrência de breves padrões elétricos, tais como os fusos de sono. A análise quantitativa do EOsG, através da análise espectral, por exemplo, a transformada rápida de Fourier (FFT- fast Fourier transform), permite uma avaliação mais detalhada do registro eletrográfico com uma medida quantitativa da distribuição e padrões de frequência do EOsG. A análise espectral não só fornece um sumário do EOsG de forma gráfica como também facilita a análise estatística dos dados que não ficam evidentes na simples inspeção dos registros (BRONZINO, 1984).

O EOsG e os estados comportamentais

Em humanos e vários outros mamíferos, a análise do EOsG tem sido usada para estudar a regulação dos comportamentos vigília-sono. Os estados vigília-sono têm sido distinguidos pela associação de comportamentos ou posturas particulares com padrões predominantes de EOsG, tanto em mamíferos (NIEDERMEYER, 1982b; CAMPBELL e TOBLER, 1984; GOTTESMANN, 1992; LANCEL, 1993; ZEPELIN, 1994) como em aves (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972; WALKER e BERGER, 1972; AMLANER e BALL, 1994;

SZYMCZAK *et al.*, 1996). A postura muitas vezes reflete o estado fisiológico subjacente, provendo um meio de observar a fisiologia animal. O sono animal é definido por um estado quiescente, uma postura espécie-específica acompanhada por uma diminuição da responsividade a estímulos externos, além da rápida reversão ao estado de vigília e por características eletrográficas (ZEPELIN, 1994). Em todas as espécies de mamíferos estudadas, o EOsG é caracterizado por ondas lentas e de grande amplitude observadas durante vigília relaxada (VR) e sono de ondas lentas (SOL); e uma atividade de alta frequência e baixa amplitude que surgem concomitantemente aos estados comportamentais de vigília ativa (VA) e de sono paradoxal (SP).

Os estudos eletroscilográficos (EOsGráficos) realizados em aves são menos numerosos e menos detalhados, quando comparados aos estudos realizados em mamíferos. Os relatos dos padrões EOsGráficos associados aos estados comportamentais mostram que estes traçados apresentam uma constância. Os comportamentos típicos de vigília, e atividade motora, e EOsG de ondas de baixa amplitude e alta frequência (dessincronizado) caracterizam a VA; na sonolência (ou VR), a atividade dessincronizada do EOsG, típica da vigília, é gradativamente substituída por uma atividade de ondas sincronizadas com menor frequência e maior amplitude; a continuidade desta atividade elétrica cerebral lenta, com grande amplitude associada a uma postura típica de sono e menor atividade motora, distingue o

SOL. Esta atividade elétrica lenta, característica de sono, é intercalada por breves períodos de atividade de alta frequência e baixa amplitude, semelhante à vigília, mas ainda associada à postura de sono, e com hipotonia muscular episódica, próprias do SP (WALKER e BERGER, 1972; AYALA-GUERRERO, 1989; AMLANER e BALL, 1994; BRUNO-NETO *et al.*, 1996). Estes períodos de SP (sono dessincronizado, sono ativo), nas aves, são de curta duração (cerca de 11 segundos), ocupando de 1 a 10% do tempo total de sono (Van TWYVER e ALLISON, 1972; WALKER e BERGER, 1972; AYALA-GUERRERO, 1989). Por critérios comportamentais e EOsGráficos, tais estados são similares, respectivamente, ao SOL e SP de mamíferos (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972; CAMPBELL e TOBLER, 1984).

O EOsG de mamíferos

O EOsG hipocampal (EOsG-HP) em mamíferos mostra um padrão de atividade rítmica (ondas θ) que ocorre em correlação temporal com certas atividades motoras em várias espécies diferentes de animais de laboratório. O ritmo teta pode ser dividido em dois tipos. Em ratos, uma atividade rítmica lenta, ritmo- θ tipo I, ocorre associada a comportamentos voluntários tais com caminhar, mudança de postura, manipulação de objetos com as patas dianteiras, e ao estado comportamental de VR (VANDERWOLF, 1992). Outro tipo de atividade hipocampal, ritmo- θ

tipo II, é irregular, entremeado por ondas em pontas isoladas ou em salvas é observado durante vigília imóvel, movimentos de autolimpeza ou vocalização, e com estado comportamental de VA (VANDERWOLF, 1992). Outros estudos sugerem que o ritmo- θ não caracterize comportamentos específicos, mas a atenção que precede e acompanha um dado comportamento (VALLE, 1992). Outros experimentos, ainda, indicam uma forte correlação entre EOsG-HP e vários aspectos do comportamento social (FONTANI e VEGNI, 1990) e uma mudança no padrão de ativação hipocampal acompanhando eventos respiratórios transitórios (POE *et al.*, 1996).

A análise espectral do EOsG-HP de todos os estados comportamentais realizada em ratos (GAZTELU *et al.*, 1994) e em coelhos (HARPER, 1971), evidenciou a presença do ritmo θ -hipocampal durante todos os estados, mesmo durante o SOL, apesar de muitas vezes estar mascarado por outras frequências do EOsG ou com a amplitude diminuída. Em humanos adultos, o ritmo θ -hipocampal é raro ou infrequente durante a vigília, mas é observado na infância, bem como nos estados de sonolência e sono dessincronizado no adulto (4-7 Hz) (NIEDERMEYER, 1982a). Em mamíferos, a atividade θ -hipocampal tipo II é dependente parcialmente de aferências colinérgicas para hipocampo (HP) (VANDERWOLF, 1992), originadas na região septal média sob influência de células não serotoninérgicas da rafe medial do

tronco encefálico (KOC SIS and VERTES, 1996) e pode ser modulada pelos sistemas noradrenérgico, GABAérgico e serotoninérgico (BOGUSZEWICZ *et al.*, 1996).

O EOsG de pombos

Van TWYVER e ALLISON (1972) realizaram um estudo sistemático do EOsG do telencéfalo de pombos (*Columba livia*) com eletrodos colocados superficialmente sobre diferentes áreas dos hemisférios cerebrais e profundamente no HP, visando identificar a presença de atividade de ondas lentas e de ondas θ -hipocampal durante os diferentes estados de alerta. Este autores identificaram a área posterior do HP como o local de maior incidência de atividade lenta. Durante a VR, períodos curtos de ondas lentas se alternavam com atividade rápida, que em seguida davam lugar a um padrão de baixa frequência e grande amplitude, característico do SOL. No entanto, não encontraram um padrão semelhante ao ritmo θ -hipocampal de mamíferos.

O EOsG-HP de pombos foi descrito em detalhes por esse laboratório (BRUNO-NETO, 1996; ANDRÉ, 1997) e apresenta variações ao longo do ciclo vigília-sono com características nítidas e próprias dos distintos estados. Além das características de amplitude e frequência das ondas do EOsG, já descritas e comuns às aves, BRUNO-NETO (1996) descreve ondas em

ponta de grande amplitude (PGA). Durante VR e SOL elas surgem em surtos de até 8 ondas, com frequências entre 6 a 10 Hz e amplitudes que atingem até 150 μ V. Durante VA, as PGAs são mais raras, surgindo isoladamente ou aos pares, com amplitudes chegando a atingir 100 μ V e incidência média de 3,5 ondas a cada 20s. Durante a VA provocada por estimulação sensorial (luminosa ou sonora) as PGAs desaparecem; com o retorno do animal a estados comportamentais mais relaxados, paulatinamente as PGAs retomam seu aspecto característico. No SP, as PGAs desaparecem por completo (BRUNO-NETO, 1996; BRUNO-NETO *et al.*, 1996). Tais tributos não puderam ser descritos no hiperestriado acessório, uma área telencefálica funcional e hodologicamente distinta do HP, mas localizada imediatamente adjacente a este na superfície telencefálica do pombo (BRUNO-NETO, 1996). Também nesses estudos, um padrão semelhante ao ritmo θ -hipocampal não pôde ser observado.

1.2. O Hipocampo

Numerosos estudos têm caracterizado no telencéfalo de aves grupamentos comparáveis a estruturas corticais e subcorticais específicas de mamíferos (REHKÄMPER, FRAHM e ZILLES, 1991; REHKÄMPER e ZILLES, 1991; VEENMAN, WILD e REINER, 1995), incluindo o HP (BINGMAN, 1992). O HP de mamíferos compreende quatro regiões corticais: o giro denteado, o HP propriamente

dito (que pode ser dividido em três regiões, CA3, CA2, CA1), o complexo subicular (subdividido em três partes: o subículo, pré-subículo e para-subículo) e córtex entorrinal (AMARAL e WITTER, 1989). Apesar da aparente diferença estrutural entre o HP de mamíferos e de aves, há várias evidências de que o HP de aves é uma estrutura anatomicamente homóloga ao HP de mamíferos. Estudos do ponto de vista embriológico e de anatomia comparativa indicam que o HP de aves pode ter derivado do córtex dorsomedial de um ancestral comum tanto aos mamíferos quanto aos répteis e às aves (CASINI, BINGMAN e BAGNOLI, 1986). Como nos mamíferos, o HP de aves tem uma organização trilaminar, uma relação característica com o ventrículo lateral, uma grande diversidade de tipos celulares e, pelo menos, algumas conexões aferentes e eferentes aparentemente homólogas (BENOWITZ e KARTEN, 1976; SZÉKELY e KREBS, 1996).

O HP de aves, assim como o de mamíferos, tem sido considerada parte do sistema límbico, participando de funções como comportamento emocional e sexual, orientação espacial, regulação visceral, memória e aprendizado (CASINI, BINGMAN e BAGNOLI, 1986; KREBS, ERICHSEN e BINGMAN, 1991). Apesar de estudos de neuroanatomia funcional em humanos terem pouco sucesso em relacionar memória episódica e a função hipocampal (FLEATHER, FRITH e RUGG, 1997), o HP parece particularmente envolvido em processos de memória e aprendizagem nos mamíferos (VANDERWOLF e CAIN, 1994). Um dos aspectos mais investigados

desta função hipocampal em pombos está relacionado ao envolvimento do HP na orientação espacial no meio ambiente (CASINI *et al.*, 1997). Após lesões hipocampais experimentais, os pombos diminuem a sua capacidade em voltar para casa a partir de áreas onde podem marcar e identificar referenciais familiares (BINGMAN *et al.*, 1988; BINGMAN e MENCH, 1990; GAGLIARDO, MAZZOTTO e BINGMAN, 1996).

O HP de pombos domésticos parece ter um papel crítico no aprendizado da relação espacial entre múltiplos estímulos que podem ser usados para reconhecimento do alvo, ou criar mapas cognitivos (STRASSER e BIGMAN, 1997). O envolvimento do HP, na memória espacial, fica evidente também quando a variação do tamanho da estrutura hipocampal associado à mudança sazonal pode ser observada em pássaros migratórios ou estocadores de alimento (JACOBS, 1996). Estas aves (e.g., corvo, pardal, pica-pau) estocam comida em diferentes locais e, após certo tempo, conseguem localizar com facilidade os locais de estocagem. Lesões no HP destas aves provocam déficits na localização dos locais de estocagem, sugerindo uma disfunção na memória de trabalho bem como na orientação espacial (GAGLIARDO, MAZZOTTO e BINGMAN, 1996).

Diversos estudos têm demonstrado que acetilcolina (Ach) e serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) são necessárias para a formação e manutenção sináptica no HP (DRINGENBERG e

VANDERWOLF, 1997; MATSUKAWA *et al.*, 1997). Esses estudos têm mostrado que a ativação dos sistemas colinérgicos e serotoninérgicos no HP resulta em efeitos fisiológicos que a manipulação de cada um destes sistemas em particular é incapaz de mimetizar (DRINGENBERG e VANDERWOLF, 1997). As funções colinérgicas centrais parecem ser moduladas pela 5-HT e esta modulação pode, em alguns aspectos, influenciar funções cognitivas, principalmente aquelas relacionadas ao processo de memória e aprendizado (CASSEL e JELTSCH, 1995; STANCAMPIANO *et al.*, 1999).

1.3. Os sistemas de neurotransmissores

Evidências experimentais indicam que a Ach tem um importante papel na indução da dessincronização cortical juntamente com a 5-HT por aferências do prosencéfalo basal, do núcleo colinérgico basal, e por aferências do tronco cerebral, do núcleo mediano da rafe, respectivamente (DRINGENBERG e VANDERWOLF, 1997). A liberação de Ach no córtex varia nos diferentes estados de vigília-sono com aumento de sua liberação durante o EOsG dessincronizado da VA e do SP, sendo que no HP sua liberação está aumentada durante SP, talvez relacionado à atividade θ desta área durante esta fase do sono (MARROSU *et al.*, 1995). Em nosso laboratório, a administração intraperitônea de bloqueadores muscarínicos (escopolamina e

metilbrometo de escopolamina), de um antagonista nicotínico (mecamilamina) e um anticolinesterásico (eserina) não provocam alterações no EOsG-HP de pombos (*Columba livia*), sugerindo assim que é discreta a participação da Ach na regulação do EOsG-HP de pombos (ANDRÉ, 1997).

Registros EOsGráficos do córtex cerebral têm demonstrado que alterações em seus padrões representam mudanças fundamentais na atividade de neurônios talamocorticais, em resposta à atividade de sistemas de neurotransmissores ascendentes (Ach, noradrenalina, 5-HT e histamina), cujos corpos celulares estão localizados no tronco encefálico, hipotálamo e prosencéfalo basal (WILLIAMS, LESTER e COUTER, 1969; VERZEANO e MAHNKE, 1972; McCORMICK, 1992; CAPE e JONES, 1998). A mudança na atividade de cada um dos sistemas de neurotransmissores ascendentes é crítica no controle da atividade talamocortical. Durante os períodos de SOL, a atividade de neurônios colinérgicos, noradrenérgicos, histaminérgicos e serotoninérgicos é baixa. A mudança para SP está associada à inibição da atividade dos sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e histaminérgico e uma ativação de neurônios colinérgicos (JONES, 1991; McCORMICK, 1992).

Vários estudos têm estabelecido que o SP é gerado no tronco cerebral, mais particularmente na ponte (VERTES, 1984; JONES, 1991), e estudos farmacológicos indicam a Ach como um

neurotransmissor essencial na geração deste estado, assim como um possível papel facilitatório dos neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos (JONES, 1991). Com o silêncio dos neurônios monoaminérgicos, os neurônios colinérgicos encontrariam condições necessárias para ativar neurônios reticulares e de tronco encefálico durante o sono (JONES, 1991; STERIADE, 1992; JOUVET, 1994). O SP é caracterizado por uma constelação de eventos, gerados em grupos celulares distintos, que inclui: 1) um padrão dessincronizado no EOG neocortical; 2) um ritmo θ no HP; 3) uma atonia da musculatura postural; 4) ondas ponto-genículo-ocipital (PGO); 5) movimentos rápidos dos olhos; 6) contrações musculares; e 7) alterações cardiorrespiratórias. Dessincronização cortical, θ -hipocampal e atonia muscular são eventos tônicos, enquanto os demais ocorrem fasicamente (VERTES, 1984; JONES, 1991).

A transição do SOL para vigília está associada ao aumento na atividade neuronal em todos os sistemas de neurotransmissores ascendentes, incluindo os sistemas colinérgicos do tronco encefálico e prosencéfalo basal, os sistemas serotoninérgico e noradrenérgico do tronco encefálico (GAILLARD, NICHOLSON e PASCOE, 1994) e neurônios histaminérgicos do hipotálamo posterior, os quais projetam difusamente para áreas corticais e subcorticais (JONES, 1991; McCORMICK, 1992). Neste nível de ativação tônica do estado de vigília, alguns sistemas de neurotransmissores mudam seu padrão

de atividade em resposta a mudanças comportamentais.

Registros de unidades neuronais do tronco encefálico e do sistema límbico têm estabelecido o papel dessas regiões na regulação de vários comportamentos e o grau de seletividade da descarga neuronal principalmente em relação ao estado (McGINTY e SZYMUSIAK, 1988). A atividade de neurônios adrenérgicos do locus ceruleus parece estar relacionada ao nível de atenção do animal e pode estar associada à ativação do sistema nervoso periférico (PAGE e VALENTINO, 1994). Os neurônios serotoninérgicos da rafe dorsal têm um padrão de atividade relacionado ao ciclo vigília-sono, exibindo descargas lentas, altamente regulares e máximas durante a vigília, diminuindo com o início do SOL, e mínimas durante SP (JACOBS, HEYM e TRULSON, 1981; LYDIC, MCCARLEY and HOBSON, 1987b; McGINTY e SZYMUSIAK, 1988).

O sistema serotoninérgico em mamíferos

A grande maioria dos neurônios 5-HT está localizada nos núcleos da rafe do tronco cerebral na, ou próximo da, linha média e em grupos nucleares adjacentes, e podem ser divididos em grupos superiores e inferiores (JACOBS e AZMITIA, 1992). Esta divisão é baseada no aparecimento de grupos mesencefálicos e grupos mieloencefálicos. A classificação original denomina os grupos de células contendo 5-HT do tronco cerebral como B1 a

B9 (JACOBS e AZMITIA, 1992).

De todos os sistemas de neurotransmissores no sistema nervoso central (SNC) de vertebrados, o sistema 5-HT é o mais extenso emitindo projeções para praticamente todas as estruturas encefálicas (PARENT, 1981; JACOBS e AZMITIA, 1992; OKADO *et al.*, 1992). Em mamíferos, os grupos rostrais (núcleo dorsal da rafe - DRN, e núcleo linear caudal - CLN) projetam principalmente para sistemas motor-gânglios da base, além de emitir amplas projeções para mesencéfalo e prosencéfalo (VERTES, 1991). Os grupos caudais (núcleo mediano da rafe - MDN e a parte interfascicular do DRN) projetam principalmente para estruturas límbicas (lobo temporal, hipocampo e septo). Os neurônios 5-HT do DRN mostram um índice de atividade consistente com a hipótese de seu envolvimento na regulação da vigília e do sono, contribuindo para a manutenção da vigília e permissivos na expressão de ondas PGO e do SP (LYDIC, MCCARLEY and HOBSON, 1987a). Estudos têm demonstrado que um subgrupo de neurônios 5-HT do DRN e do MRN modificam o grau de sua atividade em relação à atenção dirigida a uma atividade motora: aumentando a atividade, em relação aos demais neurônios 5-HT, durante atividades motoras repetitivas mediadas no tronco cerebral e medula espinhal (mastigação, correr, etc.), ou diminuindo sua atividade durante a atenção a um estímulo, sugerindo uma função integrativa do sistema 5-HT nas aferências sensitivas e motoras (JACOBS e FORNAL, 1995). A atividade dos

neurônios 5-HT do DRN pode também estar envolvida na regulação dos ciclos do sono, pois estudos têm demonstrado que mudanças do seu índice de atividade, determinada pela atividade motora forçada, modificam também a organização do ciclo do sono (LYDIC, McCARLEY e HOBSON, 1987b).

O sistema serotoninérgico em aves

Em aves, a distribuição de neurônios 5-HT, suas projeções e terminais no SNC é similar àquela encontrada em répteis e mamíferos (PARENT, 1981; ROLE e KELLY, 1991; CHALLET *et al.*, 1996). Os neurônios 5-HT estão distribuídos principalmente na região da rafe do tronco encefálico, e embora esta distribuição seja mais lateral no tronco encefálico, ela é fundamentalmente similar à dos mamíferos (YAMADA, TAKEUCHI e SANO, 1984; OKADO *et al.*, 1992; CHALET *et al.*, 1996). Estudos do desenvolvimento e distribuição dos neurônios 5-HT no SNC de aves localizaram grupos de neurônios reativos a 5-HT contendo líquido cerebrospinal localizados no órgão periventricular (YAMADA, TAKEUCHI e SANO, 1984; HIRUNAGI *et al.*, 1992; OKADO *et al.*, 1992; CHALET *et al.*, 1996), além de pequenos grupos deste tipo de célula na parede do terceiro ventrículo (HIRUNAGI *et al.*, 1992). As projeções serotoninérgicas apresentam uma extensa distribuição para estruturas cerebrais, com uma alta densidade de fibras e terminais em estruturas como área parahipocampal e

HP (CHALET *et al.*, 1996). A constância na organização estrutural dos neurônios 5-HT sugere que este sistema neuronal é filogeneticamente antigo e está envolvido em funções cerebrais similares entre os diversos vertebrados (PARENT, 1981).

Até o presente, faltam informações eletrográficas sobre a participação do sistema serotoninérgico na regulação do sono em aves. Estudos anteriores deste laboratório (STEFFENS *et al.*, 1997) indicam que injeções intracerebroventricular (i.c.v.) de 5-HT, tanto nos pombos saciados, como nas aves submetidas a jejum de 24h, levam a uma antecipação da postura típica de sono, com duração elevada deste comportamento. A mesma resposta foi observada após o tratamento i.c.v. destas aves com 8-OH-DPAT (8-hidroxi-dipropilaminotetralina HBr - agonista de receptor 5-HT_{1a}) em animais saciados ou realimentados após jejum de 24h, e com DOI (Hidroclorato de 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina - agonista de receptores 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}) em animais saciados mas não naqueles realimentados após jejum de 24h. No entanto, faltam parâmetros eletrográficos que caracterizem adequadamente este estado. Portanto, neste trabalho procuramos 1) caracterizar, por meio do registro da atividade EosGráfica hipocampal, os efeitos hipnogênicos observados após a injeção i.c.v. de 5-HT no pombo doméstico (*Columba livia*); 2) identificar possíveis mudanças nos padrões EosGráficos hipocampal durante os diferentes estados

comportamentais (VA, VR, SOL e SP) em função do tratamento com 5-HT, utilizando a análise visual do traçado e a análise espectral de potência do EOsG-HP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação

Implantação dos eletrodos

Os experimentos foram realizados em pombos (*Columba livia*) de ambos os sexos, pesando entre 300 e 500 g., provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS/CCB) com água e ração *ad libitum*, à temperatura ambiente e períodos claro-escuro de 12/12 horas, com o período escuro iniciando às 19 horas. Todos os experimentos seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA.

Para a implantação dos eletrodos, os pombos foram anestesiados com Equithesin (0,15 ml/100g), por via intraperitoneal, em dose única. Em alguns casos, devido ao longo período do procedimento, foi necessário completar a dose 1 ou 2 vezes durante a cirurgia. Os pombos foram fixados a um aparelho estereotático (Kopf Instruments, Inc.) adaptado para aves. Em seguida, realizava-se uma incisão longitudinal sobre a pele da cabeça expondo a calota craniana e a musculatura do pescoço inserida na região occipital. O perióstio foi removido para permitir melhor aderência do acrílico do capacete e as posições para introdução dos eletrodos foram determinadas, seguindo-se coordenadas estereotáticas do atlas para pombos de

KARTEN e HODOS (1967). Em seguida, foram feitos orifícios com cerca de 3 mm na calota craniana do pombo, nos pontos previamente marcados, com uso de uma broca de uso odontológico. Outros três orifícios eram feitos para implantação de parafusos destinados a fixar o capacete de acrílico à calota craniana.

Eletrodos e cânulas-guia

Os eletrodos bipolares para registro do EOsG foram feitos aos pares, confeccionados em grafite, com diâmetro de 0,3 mm montados em agulhas de aço inoxidável (28 x 7 mm). As agulhas foram separadas por um segmento isolante de 0,5 mm, composto de acrílico odontológico e cianoacrilato. As extremidades proximais dos eletrodos foram soldadas aos pinos de um pente conector de computador, cortado para abrigar 4 e 5 conexões. Os eletrodos foram implantados na superfície do hipocampo esquerdo (HPE, coordenadas A= 4,0; L= -1,5) e do hipocampo direito (HPD, A= 4,0; L= 1,5), a partir do bregma. Um terceiro eletrodo foi colocado sobre a área corticóidea dorso lateral (CDL, coordenadas A= 7,0; L= -8,0) para estudos desta região em outro trabalho de nosso laboratório (fig. 1).

Um eletrodo para eletromiografia (EMG) foi montado em fio de aço inoxidável tendo uma das extremidades também soldada a um pino conector e tinha a sua extremidade livre implantada na musculatura posterior do pescoço (biventer cervicis), com o

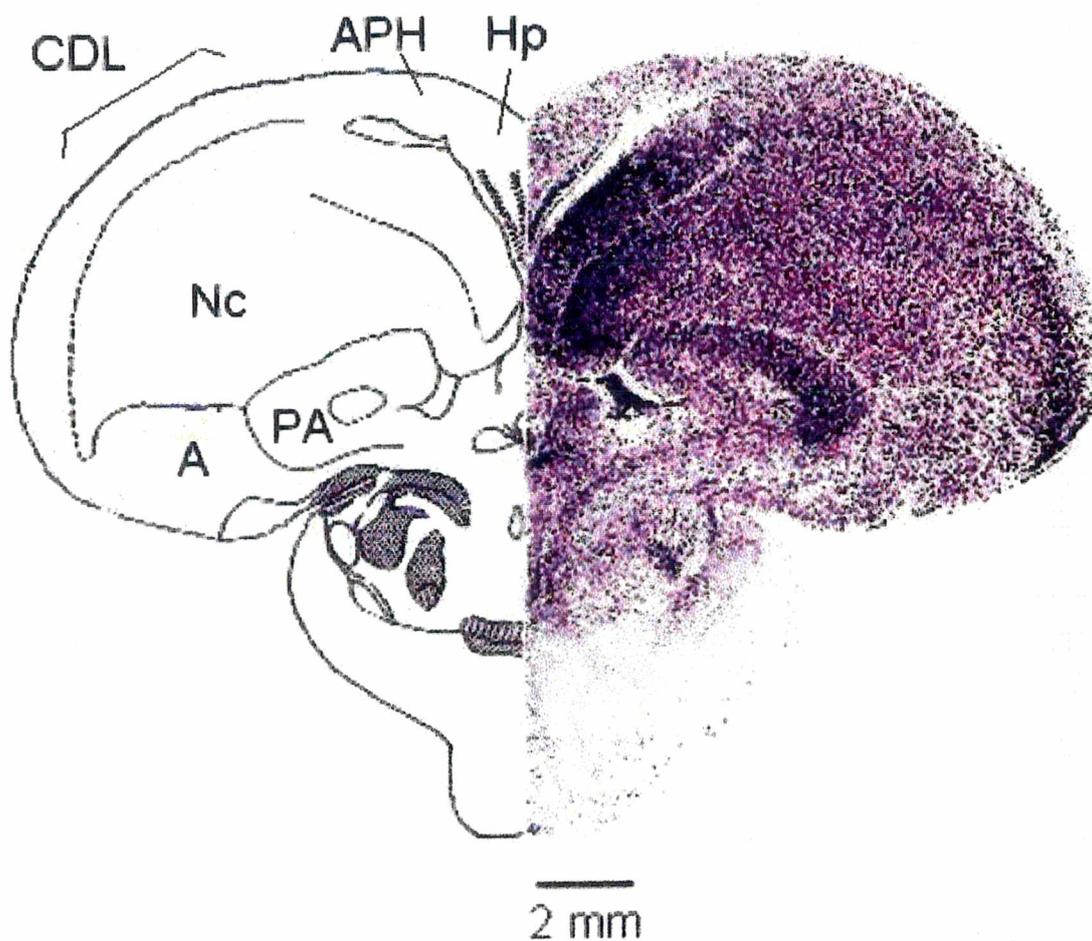


Figura 1 - Desenho esquemático de um corte frontal do cérebro do pombo (AP= +7), mostrando diversas regiões telencefálicas incluindo o hipocampo (HP). Arquiestriado (A); área parahipocampal (APH); área corticóidea dorsolateral (CDL); neostriado caudal (NC). Corte corado pelo método de Nissl.

objetivo de registrar as variações do tônus e atividade muscular durante os diferentes estados de atividade do pombo. Em diversas preparações foram incluídos dois eletrodos para registro de movimentos oculares (EOG). Esses eletrodos foram confeccionados no mesmo material dos eletrodos de EOsG, mas com a extremidade distal em fio de aço inoxidável e de forma espiralada. A extremidade proximal foi também fixada ao pino conector. Os eletrodos para registro de EOG foram implantados no subcutâneo nos cantos anterior e posterior do olho direito.

Uma cânula-guia confeccionada a partir de agulha hipodérmica (20 mm de comprimento, 0,3 mm de diâmetro) foi implantada no ventrículo lateral direito (coordenadas A= 6,0; L= 1 e 6 mm abaixo da dura mater) para as injeções i.c.v. de droga ou veículo. A confirmação da localização da cânula guia no espaço ventricular era indicada pela diminuição da pressão de um manômetro preenchido por solução salina adaptado à cânula.

Completado o posicionamento manual dos eletrodos, da cânula-guia e dos parafusos nos orifícios correspondentes, os orifícios foram preenchidos com fibrina (Fibrinol-Baldacci). O conjunto formado pelos eletrodos soldados ao conector, a cânula-guia e os parafusos foi fixado ao crânio do animal com acrílico autopolimerizável de uso odontológico formando um

capacete. Como conclusão do procedimento cirúrgico, a pele foi suturada em torno do capacete, e em seguida aplicada uma dose intramuscular na região do tórax de Pentabiótico Veterinário (Penicilina G benzatina, Penicilia G procaína, Penicilia G potássica, Dihidroestreptomicina base [sulfato], Estreptomicina base [sulfato]- Wyeth), 0,1 ml/100 g de peso corporal.

2.2 Registro

Os registros iniciavam no mínimo 10 dias após a cirurgia, e foram feitos sempre no início da tarde (por volta das 13 horas), horário de menor atividade (ingestão de alimento ou água, de auto-limpeza, etc.) do pombo ao longo do dia. O pombo foi transferido para uma sala de registro mantida com iluminação artificial e com um gerador de ruído branco (aproximadamente 35 dB) para mascaramento de possíveis ruídos externos, e mantido numa gaiola dentro de uma câmara de Faraday (1,0 X 0,7 X 0,6 m). O acoplamento entre o capacete e o polígrafo se fazia através de um soquete giratório (Stoelting Co.) preso ao teto da gaiola. Uma das paredes da sala de registro possuía uma janela com vidro unidirecional (30 x 30 cm) que permitiu a observação do comportamento animal durante os períodos de registro sem que o observador fosse percebido pelo animal. Após um período de, pelo menos, 2 horas para adaptação do pombo ao ambiente de registro e aos cabos do soquete, o pombo foi submetido ao protocolo de registro.

Esse protocolo consistiu dos registros comportamental e do EOsG por um período inicial de 20 minutos como controle, seguidos do registro por 60 minutos, a partir da injeção da droga. Os registros comportamentais foram feitos concomitantemente com os registros de EOsG utilizando-se códigos de acordo com um catálogo de itens comportamentais (tabela 1), digitados no computador, permitindo assim anotar os comportamentos emitidos pelo pombo e a sua análise temporal com os registros EOsGráficos, EOG e de EMG. Esse catálogo de itens comportamentais foi estabelecido neste laboratório em trabalhos anteriores (BRUNO-NETO, 1996; ANDRÉ, 1997) e apresenta uma descrição dos comportamentos mais comumente observados no pombo em relação a movimentos corporais, comportamentos alimentares, movimentos palpebrais e posturas. Durante todos os experimentos, os pombos tiveram livre acesso à água e alimento. Ao final do período de registro do experimento propriamente dito (60 minutos), a quantidade de alimento sólido e de água consumidos foi verificada e anotada. Todos os animais receberam injeções i.c.v. de 5-HT e de veículo. No entanto, eventualmente, alguns experimentos eram repetidos caso os registros não ficassem adequados, ou o pombo poderia receber apenas um dos tratamentos caso a cânula-guia ou os eletrodos fossem perdidos.

As injeções i.c.v. das drogas foram feitas por cânulas injetoras (agulhas mizzy, 306) através da cânula-guia conectada

Tabela 1 -- Definições e códigos de registro dos eventos comportamentais

CÓDIGO	DESCRIÇÃO	CÓDIGO	DESCRIÇÃO
MOVIMENTOS CORPORAIS			
A	Andar - qualquer deslocamento do pombo na gaiola, ou alternância de sustentação do corpo pelas pernas;	L	Auto limpeza - movimentos de esfregar o bico (ou bicar) nas penas de qualquer parte do corpo;
C	Qualquer movimento da cabeça, exceto os movimentos de "pescar" que ocorrem durante o sono;	TR	Tremor - Tremor muscular emitido por qualquer parte do corpo não caracterizando o espreguiçar;
E	Espreguiçar - movimentos de extensão das asas seguidos do tremor do corpo;	V	Bater asas - movimentos de bater as asas, com o pombo apoiado sobre uma superfície, semelhantes aos movimentos de voar;
R	Arrepiar as penas - movimento característico de arrepiar as penas de todo o corpo;	DW	Pescar - movimento de queda súbita da cabeça, para frente ou para trás, seguida de elevação também rápida, observado somente durante o sono.
COMPORTAMENTOS ALIMENTARES			
G	Ingerir - são os comportamentos de deglutição quando o pombo está ingerindo alimento sólido ou água;	DEG	Deglutir - movimentos rápidos com o bico, semelhantes aos de ingestão, porém não associados à ingestão de água ou alimento;
VO	Vomitir - comportamento de vomitar, indicado pelos movimentos espasmódicos, seguidos ou não de expulsão de conteúdo gástrico;	DEF	Defecar - ato de defecar;
MOVIMENTOS PALPEBRAIS			
0	Olhos fechados - identificação da permanência dos olhos fechados por pelo menos dois segundos;	1	Olhos abertos - identificação da permanência dos olhos abertos por pelo menos dois segundos;
2	Piscar lentamente - movimentos lentos de piscar permitindo a observação do fechamento completo dos olhos;	3	Piscar rapidamente - movimentos de piscar rápidos, geralmente não permitindo a observação do fechamento completo dos olhos;
4	Movimentos oculares com olhos fechados - movimentos dos globos oculares com os olhos fechados;	5	Ptose palpebral - fechamento parcial das pálpebras, olhos semicerrados;
POSTURAS			
PR	Postura relaxada - pombo quieto, piscando lentamente, podendo estar associado a movimentos suaves da cabeça;	PA	Postura alerta - pombo permanece imóvel com a cabeça elevada, olhos abertos e fixos, com movimentos de piscar muito rápidos, sem fechar os olhos;
PS	Postura de sono - animal quieto com 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;		

por um tubo de polietileno a uma micro-seringa Hamilton (10 µl). Os pombos receberam 5-HT (Sigma Chemical Co.) na dose de 155 nmol, ou seu veículo, ácido ascórbico (solução a 1% em H₂O). O uso do ácido ascórbico como veículo teve por finalidade retardar a oxidação da 5-HT. O volume injetado foi de 1,0 µl, administrado por um período de 60 segundos, numa tentativa de minimizar as mudanças na pressão i.c.v. A dose de 155 nmol de 5-HT foi estabelecida em experimentos anteriores neste laboratório, como a dose supralimiar para a indução dos efeitos dipsogênicos e hipnogênicos (STEFFENS et al., 1997).

Ao final dos experimentos, os pombos receberam uma dose letal de Equithesin, foram perfundidos com solução salina (NaCl 0,9%) e em seguida com solução de formol a 10%. O corante azul de Evans (solução a 0,5% em H₂O) foi injetado no ventrículo através da cânula e o cérebro foi dissecado. A posição da ponta dos eletrodos foi verificada na superfície dos hemisférios cerebrais e um corte no plano transversal foi feito para verificar a presença de corante no ventrículo, confirmando a localização da cânula-guia.

2.3 Aquisição e análise do sinal

A aquisição e a análise dos sinais de EOsG, EOG, EMG e

registros comportamentais foram feitas através de um sistema digital de registro de sinais biológicos, MP 100WSW (BIOPAC Systems, Inc.), com 4 canais, composto de uma unidade de aquisição e conversão para sinal digital (MP 100), e um software - *AcqKnowdge III*, que permitiu o controle no processo de aquisição, análise, armazenagem e revisão dos dados. Os registros eletrográficos foram exibidos em tempo real no monitor e os dados armazenados em disco rígido. A frequência de amostragem para digitalização foi de 128 Hz. Simultaneamente aos registros eletrográficos, o programa permitiu assinalar os eventos comportamentais utilizando códigos (tabela 1). Para análise dos dados, utilizou-se um filtro passa-baixo (50 Hz de limite superior). O registro e a análise dos dados foram efetuados em um computador Microgeneration, 33 MHz, com monitor SVGA.

2.4 Análise dos registros

Análise qualitativa

A análise qualitativa dos registros foi feita em épocas de 10 segundos com inspeção visual dos registros de EOsG, EOG, EMG e as características das ondas quanto à frequência, amplitude e forma foram avaliadas concomitantemente aos registros comportamentais para determinar o estado comportamental do pombo. Cada época de 10 segundos, ao longo de todo o registro,

foi estagiada (isto é, teve um determinado estado a ela atribuído) de acordo com o predomínio de 50% ou mais das características do estado comportamental ocorrendo naquele intervalo. Assim, esse estagiamento permitiu determinar a estrutura do sono do pombo ao longo dos períodos de controle e experimento formando o hipnograma.

De acordo com critérios eletrográficos e comportamentais já estabelecidos (TRADARD, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972; WALKER e BERGER, 1972; AYALA-GUERRERO, 1989), foram determinados os diferentes estados de VA, VR, SOL e SP. Além desses estados, eventuais períodos de comportamento alterado ou dissociação entre comportamento e EOsG também foram identificados.

A caracterização de VA se deu com o pombo em uma postura alerta (PA, ver tab. 1). O EMG apresenta uma atividade de alta frequência com amplitude elevada, indicando um tônus muscular aumentado, por vezes uma atividade fásica de grande amplitude, indicando movimentos da cabeça. O EOsG apresenta uma atividade com ondas de alta frequência e baixa amplitude, e ondas pontas de grande amplitude (PGA) raras, isoladas ou aos pares (BRUNO-NETO, 1996). Com frequência são observadas alterações próprias de artefatos pela atividade motora desse estado. Durante a VA, o EOG mostra ondas lentas relacionadas aos movimentos palpebrais e ondas rápidas geradas pelos movimentos oculares

que são quase sempre contínuos.

A VR é caracterizada pela postura relaxada (PR, ver tab. 1), com diminuição da amplitude do EMG em relação à VA, indicando diminuição do tônus muscular do pescoço e também ocorre a diminuição da atividade fásica gerada pela movimentação da cabeça. Os movimentos oculares e palpebrais passam a ser lentos e ocasionais. Nesta situação no EOsG, observa-se o aumento da amplitude das ondas assim como há uma gradativa diminuição na sua frequência, e o aparecimento de ondas PGAs se torna mais evidente e algumas vezes em surtos (BRUNO-NETO, 1996).

Uma atividade elétrica cerebral muito semelhante à da VR é típica do SOL, mas a incidência das PGAs neste estado está, aparentemente, diminuída em relação à VR. Cessam os movimentos corporais, com o pombo assumindo postura de sono (PS, ver tab. 1). Os movimentos oculares se tornam mínimos, aparentemente um artefato associado aos movimentos da membrana nictante, e o EMG mostra diminuição mais acentuada do tônus e desaparecem as atividades fásicas geradas pela movimentação da cabeça do pombo.

O SP é caracterizado por uma postura de sono, podendo-se observar movimentos bruscos da cabeça caracterizados por queda súbita da cabeça para frente seguida por reelevação rápida da

mesma. Estes movimentos estão associados a uma diminuição acentuada, seguida de elevação da amplitude do EMG durante o movimento de reposicionamento da cabeça. Movimentos rápidos dos olhos também são característicos deste estágio do sono, embora em alguns episódios de SP eles podem não estar presentes. Este estado apresenta um registro eletrográfico muito semelhante ao da VA, mas com ausência das PGA (BRUNO-NETO, 1996).

Além de determinar a estrutura do sono, a análise qualitativa permitiu avaliar a qualidade dos registros, identificando artefatos, bem como a seleção de trechos de 10 segundos dos eletroscilogramas correspondentes aos estados comportamentais de VA, VR, SOL, SP dos registros de controle e de experimento para análise quantitativa. Além das amostras desses estados, eventuais períodos de comportamento/EOSG alterados (Similar-SP, S-SP, ver nos resultados) também foram selecionados para análise.

Análise quantitativa

A análise quantitativa dos segmentos selecionados do EOSG foi feita utilizando-se a transformada rápida de Fourier (FFT-fast Fourier transform). A FFT é um algoritmo que produz uma descrição dos dados em função das frequências que compõem um sinal complexo, também chamada de análise espectral. O algoritmo da FFT decompõe as ondas do traçado do EOSG em

múltiplas ondas senoidais, e seu histograma exprime a magnitude (eixo vertical) contra as várias frequências (eixo horizontal) em relação ao total (100%). O espectro de potência exprime (em V^2/Hz) a energia contida em uma seqüência de sinais iterativos e é calculado pela integral dos quadrados das voltagens dos sinais em certo intervalo de tempo segundo a frequência, permitindo estabelecer a distribuição média da potência de um sinal com relação à frequência. Quando o sinal varia ritmicamente sua potência concentra-se na frequência fundamental e de suas harmônicas, ocorrendo oscilações irregulares nas demais frequências. Se não há ritmicidade, a energia distribui-se por extensa faixa de frequências, sem concentração em faixas específicas (VALLE, 1992).

O software utilizado para aquisição do sinal, *AcqKnowledge III*, também permitiu a análise espectral de potência. Para essa análise foram selecionados 3 trechos de 10 segundos consecutivos típicos de VA, VR e SOL de cada tratamento e controle, bem como dos estados de comportamento alterado ou dissociado. Para análise espectral dos episódios de SP, devido à curta duração desse estado e sua pouca frequência durante os períodos de controle, foram utilizados trechos com duração variável (4-8 segundos). Os trechos selecionados foram analisados em períodos de 2 segundos.

2.5 Análise estatística

Para análise estatística dos efeitos da injeção i.c.v. de 5-HT ou veículo sobre cada um dos estados comportamentais (VA, VR, SOL, SP) e do S-SP e foi utilizada análise de variância de duas vias (ANOVA) tendo como fatores os diferentes períodos de registro (20 min. pré-tratamento, PRE, e os 3 períodos de 20 min. após a injeção, POS1, POS2 e POS3) e os diferentes tratamentos (controle, veículo e 5-HT), seguido, quando adequado, de teste *post hoc* de Duncan. As médias obtidas da duração dos comportamentos de interesse foram submetidas também à análise de variância (ANOVA de uma via). Nesse teste, foram comparados os dados experimentais *versus* o período controle.

Os dados absolutos da FFT gerados pelo *AcqKnowledge III* foram exportados para uma planilha de um programa estatístico (Statistica versão 5.0-Statsoft Inc.). Nesse programa, os dados absolutos da FFT na banda de 0 a 30 Hz em passos de 0,5 Hz, foram transformados em dados percentuais em relação à potência total. Previamente à análise estatística, os dados eletrográficos foram submetidos ao teste de Levene (para avaliar a homogeneidade das variâncias) e ao teste de Shapiro-Wilkis (para investigar estatisticamente a proximidade da distribuição dos dados em relação à normalidade). Esses testes foram utilizados para avaliar se os dados podiam ser submetidos às análises paramétricas de variância. Após essa análise

prévia, assegurou-se o emprego da análise de variância (ANOVA de uma via) para os dados em percentuais das potências totais. Como nível de significância para todos os métodos estatísticos foi adotado um valor de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Doze pombos foram considerados adequados para as análises comportamental e do EOsG-HP. Os pombos excluídos apresentaram problemas como eletrodos posicionados fora do HP, presença excessiva de artefatos no traçado do EOsG ou não responderam a injeção i.c.v. de 5-HT. Três animais receberam tanto a injeção de 5-HT quanto a de veículo, e 9 animais receberam injeção i.c.v. 5-HT ou veículo. Esta diferença de tratamento se deveu ao fato de ora se perder a cânula-guia ora o registro EosGráfico.

3.1 Efeitos comportamentais da 5-HT

Os animais tratados com veículo, no início do período de observação, apresentavam um aumento da atividade motora, deslocando-se pela gaiola e observando o ambiente. Em seguida, passavam ao comportamento observado nos animais durante o período de controle, intercalavam períodos de VR com períodos de VA. Nos períodos de VR, os animais permaneciam de pé sobre o piso, sobre o poleiro ou sobre o comedouro, parados, com ocasionais e pequenos movimentos laterais da cabeça. Os olhos ficavam piscando lentamente. Esses estados relaxados eram interrompidos por períodos de VA, quando os animais apresentavam maior atividade motora, locomoção, movimentos da cabeça rápidos e constantes. Os olhos permaneciam abertos ou com piscar rápido, associados aos movimentos rápidos da cabeça. Movimentos de auto-limpeza eram observados nessas ocasiões e,

eventualmente, ingestão de alimento e água. Alguns episódios de postura típica de sono eram observados. Nessas ocasiões os animais permaneciam imóveis com os olhos fechados, algumas vezes com a cabeça fletida sobre o peito e as penas eriçadas.

A injeção i.c.v. de 5-HT provocou uma rápida procura pela água, que se iniciou $62,2 \pm 24,5$ segundos após a injeção da droga, sendo que o grupo veículo apresentou uma latência, tempo entre a injeção i.c.v. e o início da ingestão, de $3.157,88 \pm 442,12$ segundos, uma diferença estatisticamente significativa. Quando comparado ao grupo veículo, foi observado que o animal que recebeu a droga ingeriu em média $25,96 \pm 2,41$ ml de água, com uma duração de $500,47 \pm 113,12$ segundos, enquanto o grupo controle ingeriu $0,63 \pm 0,62$ ml. durante $2,47 \pm 2,47$ segundos (fig. 2). Entre os episódios de ingestão de água, os animais tratados com 5-HT usualmente adotavam a postura típica de sono: permaneciam com os olhos fechados, movimentos corporais ausentes, a cabeça fletida e apoiada sobre o peito. Contudo, durante esses períodos de postura típica de sono com olhos fechados, observou-se movimentos bruscos da cabeça, uma dorso flexão, sem que os animais abrissem os olhos. O comportamento de auto-limpeza durante VA também foi observado, sendo que após a injeção de 5-HT, os comportamentos típicos de VA e sono alternavam-se rapidamente sem a mudança gradual entre os estados comumente observada. Os grupos tratados com 5-HT ou

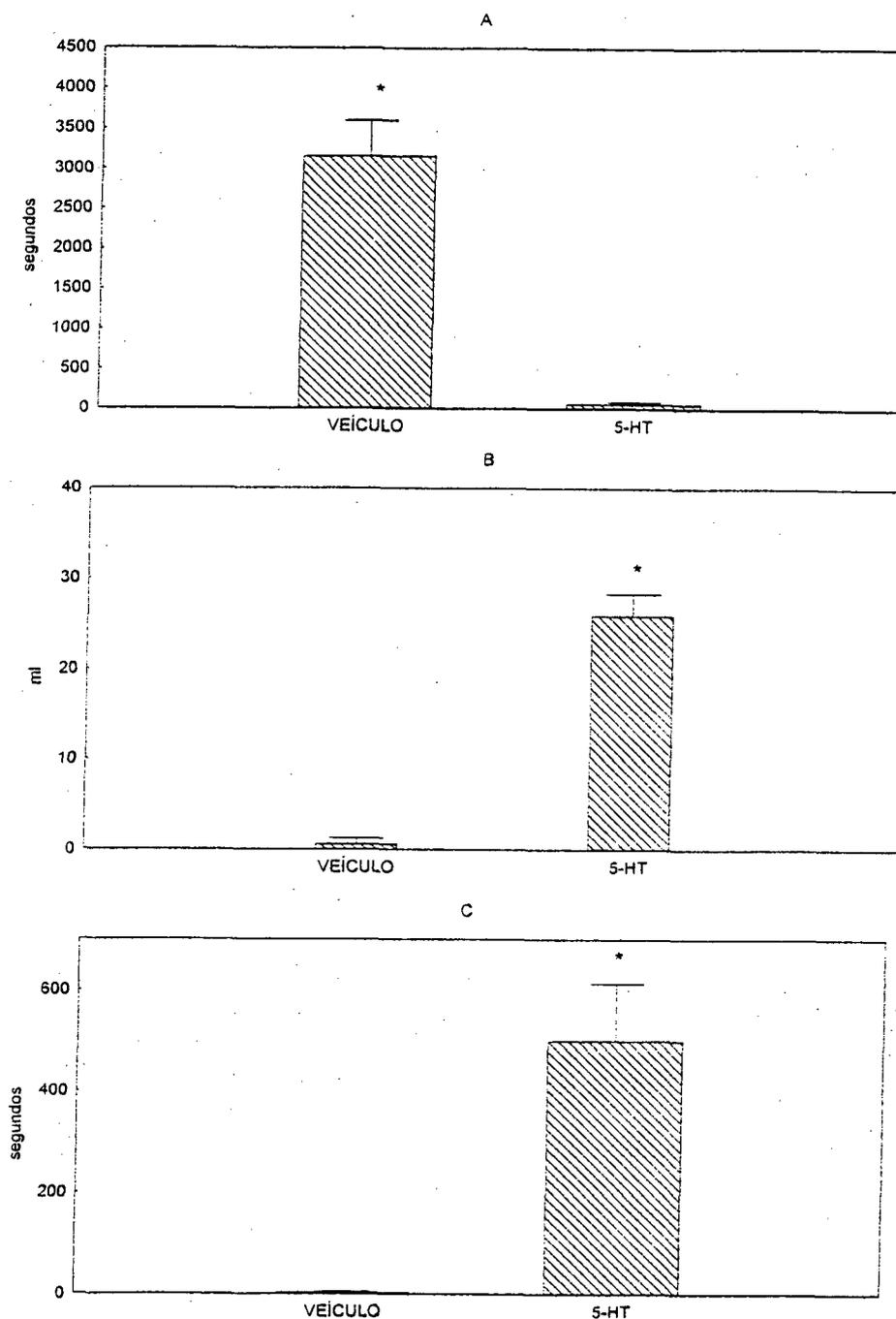


Figura 2 - Efeitos ingestivos da injeção i.c.v. de 5-HT (155 nmol). A) Latência para iniciar a ingestão de água; B) Volume de água ingerido; e C) Duração da ingestão de água nos grupos tratados com 5-HT e veículo. Os dados são expressos como média \pm E.P.M. (*) diferenças significantes em relação ao período controle.

veículo não apresentaram diferenças estatisticamente significante em relação à quantidade de alimento ingerido (dados não exibidos).

O tratamento com a 5-HT diminuiu o tempo gasto em VA [$F(1,112)=6,70$, $p=0,0108$] quando comparado ao grupo veículo, embora não houvesse diferença do tempo em VA dos diferentes períodos de observação em relação ao período controle. Em relação ao tempo em VR fica evidente a diferença entre os grupos [$F(1,112)=24,163$, $p=0,000003$], e entre os períodos [$F(3,112)=11,611$, $p=0,00001$], com diminuição do tempo gasto em VR nos períodos POS1 e POS2 no grupo tratado com 5-HT em relação ao período controle (fig. 3). Da mesma forma, há uma diminuição do tempo total em vigília, VA e VR, nos mesmos períodos no grupo tratado com 5-HT [$F(1,112)=35,454$, $p=0,00000$] (fig. 3). Quando comparado ao período controle, a redução da VR foi de 90% e o tempo total em vigília foi 38% menor nos primeiros 20 min. após injeção de 5-HT (POS1). O tempo total em postura de sono, após a injeção de 5-HT, aumentou em função do tratamento [$F(1,112)=33,403$, $p=0,00000$]. Observou-se um aumento em torno de 180% do tempo em postura de sono nos períodos POS1 e POS2 do experimento, enquanto os animais tratados com veículo não apresentaram diferença no tempo de sono nos mesmos períodos em relação ao período controle [$F(1,112)=2,257$, $p=0,0855$] (fig. 3). Essa diminuição do tempo de VR e aumento do tempo e postura

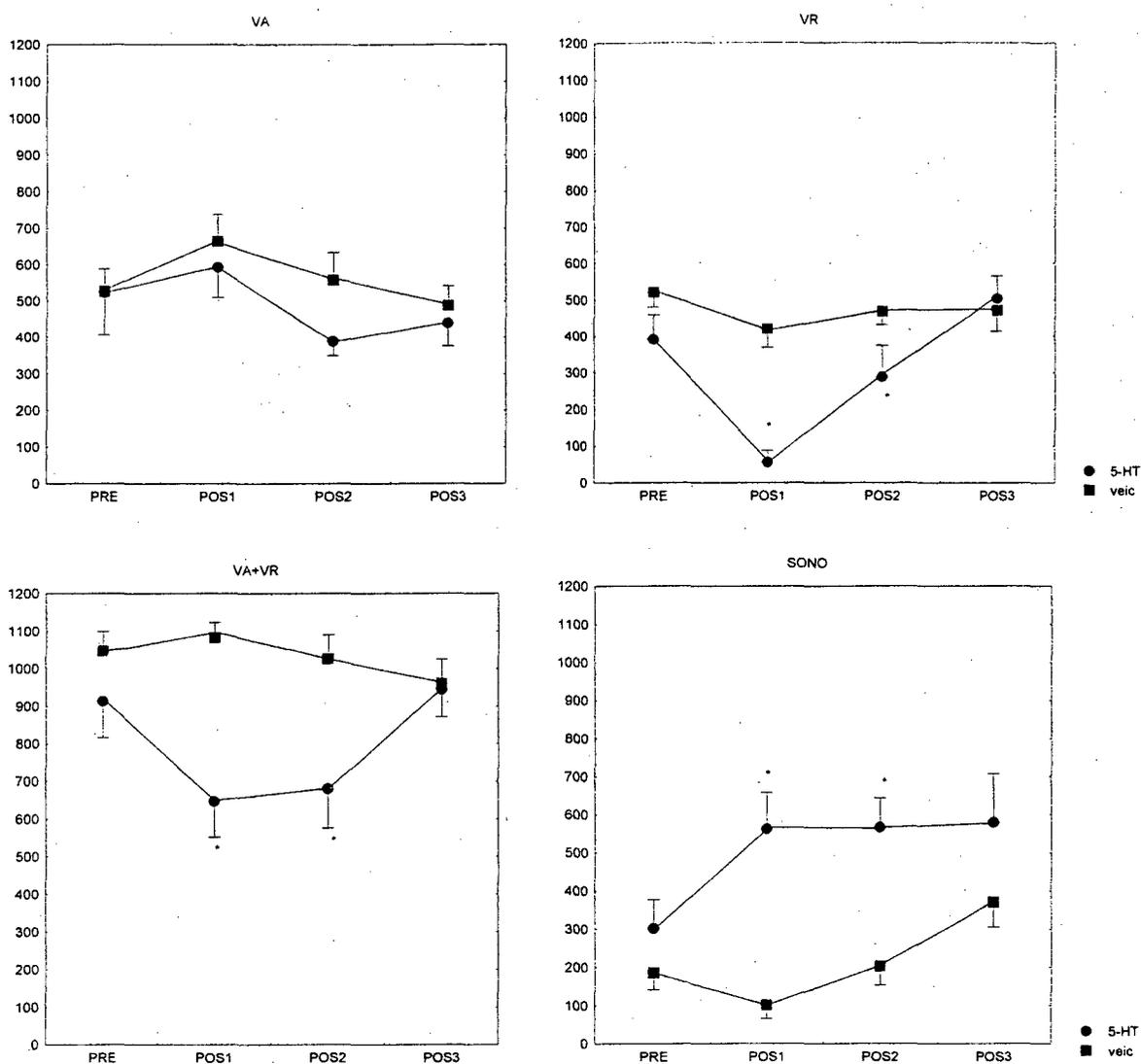


Figura 3 - Efeitos da injeção i.c.v. de 5-HT (155 nmol) sobre a duração total (média \pm E.P.M.) dos diferentes estados comportamentais em cada período de observação. (*) diferenças estatisticamente significantes em relação ao período controle pré-tratamento (PRE).

de sono nos períodos POS1 e POS2, após o tratamento com 5-HT, em relação ao período controle, não foi observada nos últimos 20 min. do experimento, ou POS3, quando o tempo dos animais tratados com veículo ou 5-HT tanto em vigília quanto em sono foram equivalentes.

Alguns animais tratados com 5-HT apresentaram marcha instável, com dificuldade em deslocar-se pela gaiola ou de encontrar o bebedouro, e uma vez que o bebedouro lhes era oferecido, bebiam água. Outros animais, após a injeção de 5-HT, apresentaram de imediato o comportamento observado nos demais animais tratados, ou seja, adotaram a postura típica de sono, mas antes da ingestão de água, permanecendo por longos períodos com os olhos fechados, com o corpo imóvel, pelos eriçados, cabeça fletida sobre o peito, mas com movimentos bruscos da cabeça e mudando de VA para sono de forma brusca. Esses animais, após esse período de sono, passaram a ingerir água e em volume igual aos outros animais que receberam o mesmo tratamento.

As alterações comportamentais observadas em relação à ingestão de água, e aumento do tempo em postura de sono foram mais acentuadas nos primeiros 20 minutos pós injeção i.c.v. de 5-HT. Gradualmente esses animais passaram a apresentar o comportamento observado no período controle, sendo que nos últimos 20 minutos pós injeção da droga (POS3) não se observou

diferença comportamental entre os grupos.

Em resumo, foi observado que a administração i.c.v. de 5-HT em pombos acarretou a ingestão de água num volume maior que no grupo veículo, e essa foi seguida ou acompanhada de um aumento no tempo em postura de sono. Esse aumento do tempo em postura de sono se deu às custas de uma diminuição do tempo de VR. Além da ingestão de água e do aumento do tempo despendido em postura de sono, observou-se que o comportamento típico de sono era alterado nos pombos tratados com 5-HT com evidente aumento dos movimentos da cabeça, a despeito de manterem os olhos fechados. Além disso, os pombos apresentaram alterações motoras com dificuldade de deslocar-se pela gaiola e de encontrar água apesar de estarem posicionados diante do bebedouro. Todas as alterações observadas foram mais acentuadas no primeiro terço do período experimental.

3.2 Efeitos EosGráficos após a 5-HT

Análise qualitativa do EOsG-HP

A análise qualitativa do EOsG-HP nos diferentes estados comportamentais de ambos os grupos tratados não mostrou diferença nas características visuais do traçado em relação ao controle. Isto é, durante a VA o pombo se manteve em uma postura de alerta, o EOsG apresentou uma atividade com ondas de

frequência alta, baixa amplitude, e ondas PGA raras. O EMG apresentou uma atividade de alta frequência com amplitude elevada e variável decorrente dos movimentos da cabeça. O EOG mostrou variações decorrentes de movimentos oculares e palpebrais rápidos e frequentes (fig. 4). Quando em postura de VR, o EOsG mostrou um aumento na amplitude das ondas e diminuição da sua frequência, e o aparecimento de ondas PGAs foi mais acentuado e às vezes em surto. O EMG mostrou uma diminuição da amplitude em relação à VA e da atividade fásica ocasionada pelos movimentos da cabeça. No EOG, observou-se a presença de movimentos palpebrais lentos (fig. 4). Em postura típica de sono, a atividade elétrica cerebral foi muito semelhante à da VR, com o aparecimento das ondas PGAs, aparentemente, diminuída em relação à VR. O EMG mostrou uma diminuição do tônus muscular mais acentuada e não se observou as atividades fásicas decorrentes dos movimentos da cabeça (fig. 4). Durante o sono, pôde-se observar episódios de "achatamento" do EOsG com o aparecimento de ondas de baixa amplitude e alta frequência, e desaparecimento das ondas PGAs. Nessas ocasiões, o EMG mostrou uma acentuada diminuição da amplitude e esse tônus muscular reduzido apresentou aumentos fásicos durando poucos segundos coincidindo com a queda e reposicionamento da cabeça. Em alguns episódios, associados a esses movimentos da cabeça e sincrônico com as alterações do EOsG, pôde-se observar também movimentos oculares. A duração desses episódios típicos de SP (fig. 4), variou entre 2 e 7

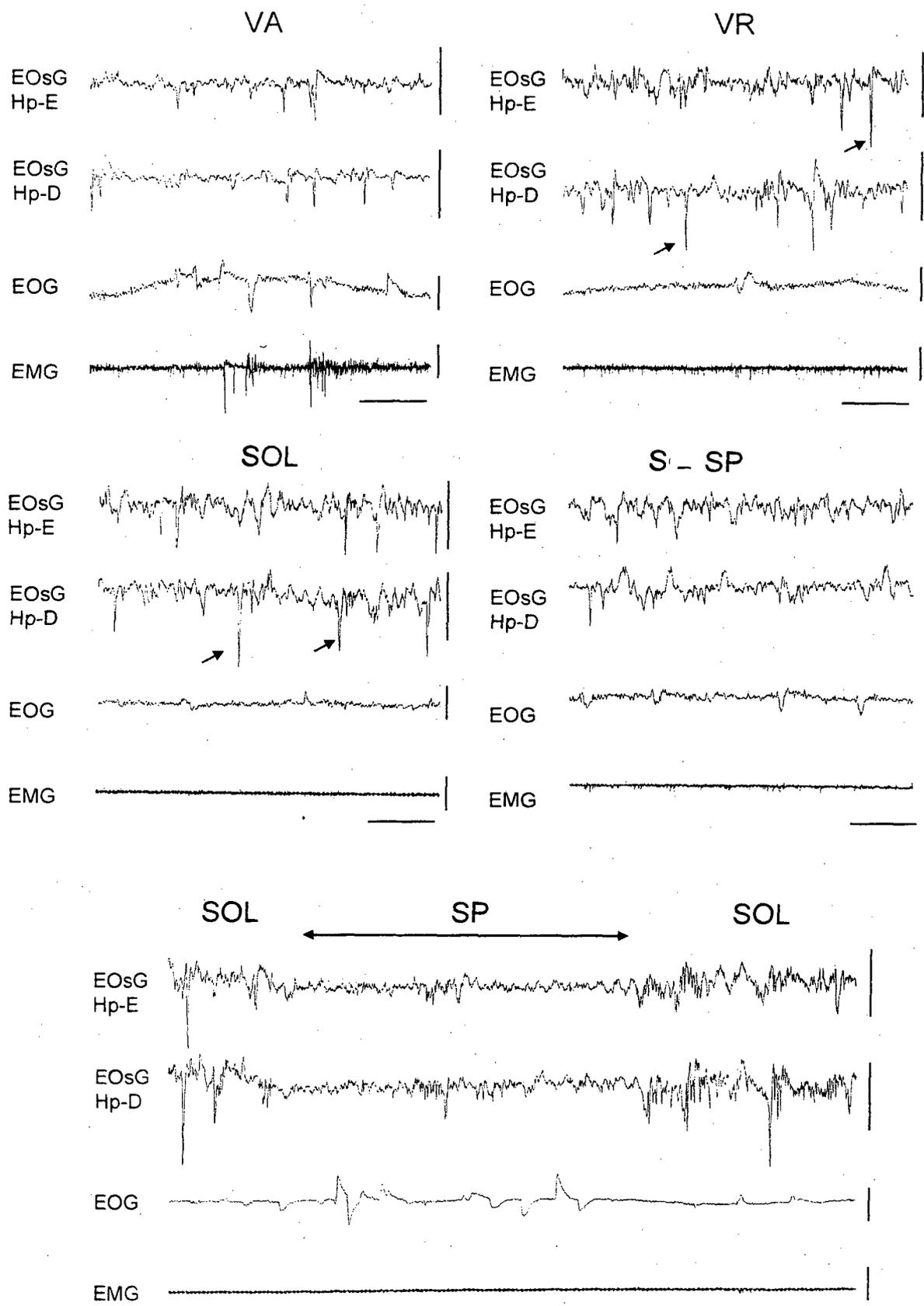


Figura 4 - Segmentos de 10 segundos de EOsG HP-E e HP-D, EOG e EMG dos diferentes estados comportamentais (VA, VR, SOL), do estado induzido pela injeção i.c.v. de 5-HT (S-SP) e de um segmento de 20 segundos compreendendo SOL-SP-SOL. As setas assinalam ondas PGAs. Barras de calibração: vertical EOsG-HP = 100 μ V, EOG = 100 μ V e EMG = 200 μ V; horizontal = 2 s.

segundos no grupo veículo, com média de $5,05 \pm 0,69$ segundos. No grupo 5-HT a duração média dos episódios de SP foi de $4,36 \pm 0,51$ segundos. Não houve diferença significativa na duração dos episódios de SP, entre os dois grupos.

O tratamento com 5-HT parece ter provocado um estado de aparente desconexão entre o comportamento típico de sono observado e o registro EOsGráfico. Concomitante a esse comportamento de sono, o EOsG-HP mostrou uma atividade prolongada com ondas de frequência alta, dessincronizadas, de baixa amplitude e uma completa ausência de ondas PGA. O EMG apresentou uma acentuada diminuição da amplitude e pôde-se observar episódios de aumento da amplitude correspondentes ao aumento do tônus muscular ocasionado por movimentos bruscos da cabeça. O EOG mostrou ondas rápidas geradas por movimentos oculares frequentes, rápidos e aparentemente rítmicos (fig. 4). Tal atividade era interrompida por períodos de VA, identificados pela mudança do comportamento: abertura dos olhos e aumento da atividade motora. Essa atividade de aparente desconexão diminuía gradualmente ao longo do registro, sendo que ao final dos primeiros 40 min. (POS2) o tempo despendido nesse estado era 74% menor que no POS1. Essa atividade eletrográfica dessincronizada observada durante a postura de sono no início do experimento era gradualmente substituída por ondas de menor frequência e maior amplitude, com o aparecimento paulatino de ondas PGAs com amplitude menor do que as do grupo

veículo. Esses episódios foram denominados de similar-SP (S-SP). Os episódios de VR eram caracterizados por uma maior frequência no aparecimento das ondas PGAs em relação aos episódios de SOL, além do comportamento típico. Ao final do tempo de registro, POS3, durante os estados de sono e de VR, a frequência e a amplitude das ondas e a incidência e amplitude das PGAs foram muito similares àquelas observadas durante o período controle ou no grupo veículo.

Em resumo, comparados com os registros do grupo veículo, a 5-HT induziu o aparecimento rápido e prolongado de uma atividade EOsGráfica dessincronizada, de frequência alta e baixa amplitude e completa ausência de ondas PGAs, durante um estado de sono aparente, postura típica e olhos fechados (S-SP). Além disso, o EMG mostrou diminuição acentuada do tônus muscular com alterações fásicas decorrentes dos movimentos aumentados e bruscos da cabeça e o EOG mostrou movimentos oculares frequentes e aparentemente rítmicos. Esse efeito foi agudo, durando em média 30 min., e paulatinamente essa atividade dessincronizada do EOsG foi substituída por uma atividade típica dos estados comportamentais observados e similar ao controle.

Análise espectral do EOsG-HP

Para análise espectral foram selecionados 3 segmentos de

10 segundos consecutivos dos estados comportamentais de VA, VR e SOL de cada animal, tanto após veículo quanto após 5-HT, e do estado S-SP. Esses segmentos foram analisados em épocas de 2 seg. Assim, foram computadas 15 épocas de 2 seg. para análise quantitativa dos EOsG-HP dos diferentes estados comportamentais. Como o SP em aves é de curta duração, não foi possível a seleção de trechos de 10 segundos consecutivos. Assim essa análise foi realizada em 3 segmentos selecionados de duração variável, totalizando 7 épocas de 2 seg. de SP do período de controle, 9 épocas do grupo tratado com 5-HT e 8 épocas do grupo tratado com veículo.

A figura 5 mostra os espectrogramas (potências relativas médias) nas frequências de 0 a 30 Hz do EOsG-HP dos diferentes tratamentos, em cada um dos estados comportamentais. Não houve diferenças significantes entre os grupos em nenhum dos estados comportamentais.

A análise do espectrograma do estado S-SP, observado após a injeção i.c.v. de 5-HT em relação aos estados VR e SOL, evidencia diferenças significantes. Durante VR, houve uma diminuição da potência relativa das frequências na banda de 6 a 10 Hz e um aumento da potência relativa das frequências entre 24,5 e 30 Hz. Em relação ao espectrograma do SOL, o tratamento com 5-HT ocasionou um aumento da potência na banda de 2 Hz, uma diminuição das potências relativas na banda de 6 a 10 Hz, e

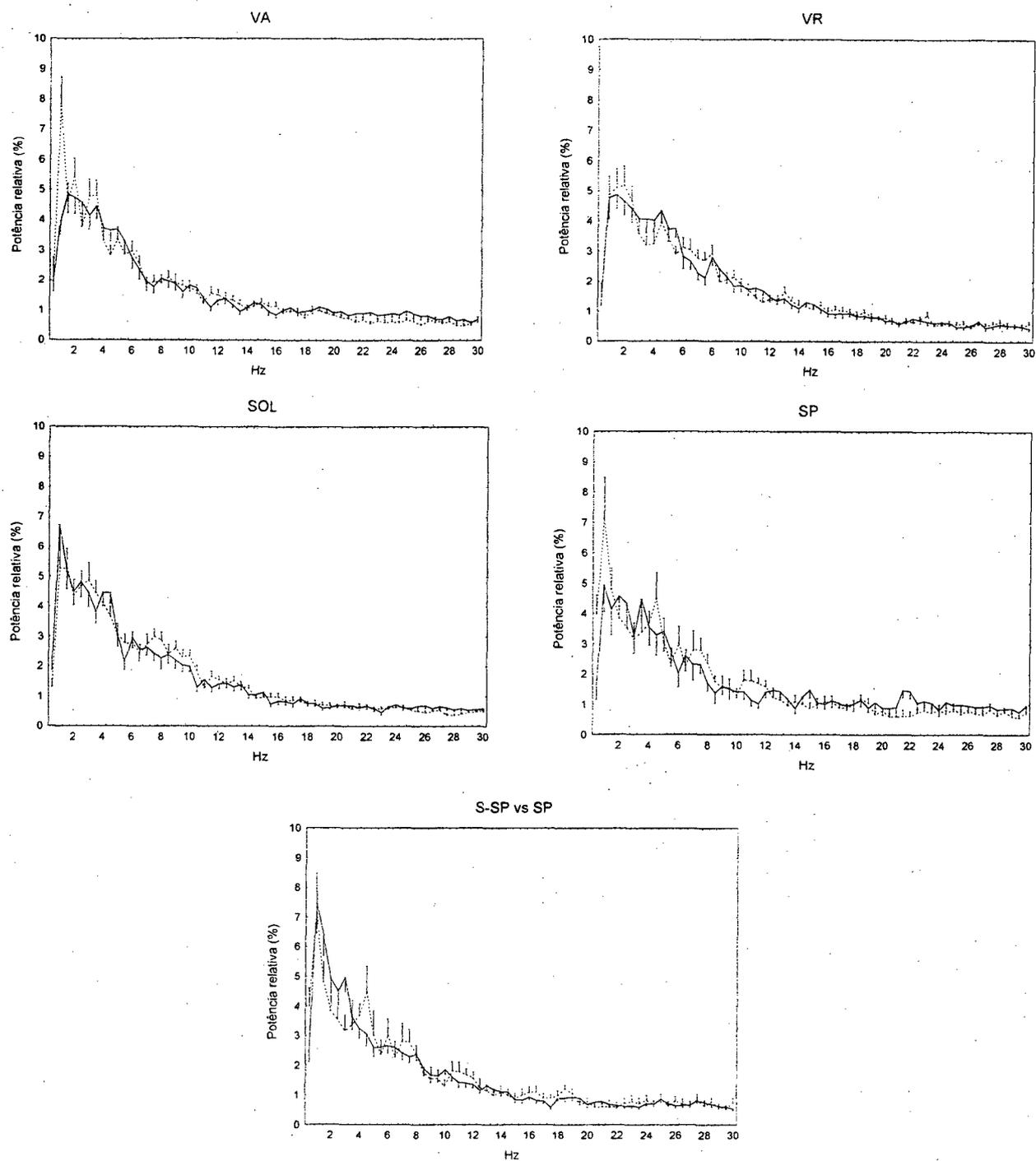


Figura 5 - Espectrogramas (potências relativas média \pm E.P.M.) do EOsG-HP de 0 a 30 Hz dos diferentes estados comportamentais (VA, VR, SOL e SP) dos grupos tratados com 5-HT (linha contínua) e veículo (linha pontilhada). Uma comparação entre os espectrogramas do estado S-SP e do SP é apresentada (SP vs S-SP). Não houveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos diferentes estados.

houve uma aumento da contribuição das potências mais altas para o espectrograma na faixa compreendida entre 24 e 30 Hz.

Em relação ao espectrograma da VA no grupo veículo, a análise do estado S-SP mostrou uma diminuição significativa da contribuição para o espectrograma das frequências de 4 a 5,5 Hz e um aumento das frequências de 18 a 19 Hz e da banda de 24 a 28 Hz. A análise espectral dos trechos do estado dissociado mostra um espectrograma com características daquele observado no SP (fig. 5) não sendo identificada diferença estatisticamente significativa entre os dois estados.

Resumindo, após a injeção i.c.v. de 5-HT foi observado um período maior em postura de sono em relação ao grupo veículo nos primeiros 30 min. de experimento, POS1. A análise qualitativa destes períodos mostrou que durante um episódio prolongado de postura típica de sono com olhos fechados, o EOsG-HP registrou uma atividade de baixa amplitude e alta frequência, ou dessincronizada, própria de VA e SP, mas uma completa ausência de ondas PGAs, a qual se denominou S-SP. O estudo dos espectrogramas do EOsG-HP, dos trechos referentes aos diferentes estados comportamentais dos grupos, não mostrou diferenças significantes entre os grupos em função do tratamento. A análise espectral do estado S-SP permitiu identificar que a distribuição das potências relativas nas frequências de 0 a 30 Hz desse estado é muito semelhante àquela

observada no SP, e diferente dos demais estados (VA, VR e SOL).

4. DISCUSSÃO

Nossos dados indicam que a administração i.c.v. de 5-HT provoca um aumento do tempo em postura típica de sono nos primeiros 30 min. após a injeção da droga, em relação ao veículo. O comportamento observado agudamente após a injeção de 5-HT é similar ao comportamento de sono observado no pombo tratado com veículo. Estes dados confirmam as observações de STEFFENS (1999), BRUN (1999) e SELL (2000) de que a injeção i.c.v. de 5-HT parece ter um efeito hipnogênico.

Cabe ressaltar, também, que a administração i.c.v. de 5-HT provocou uma intensa ingestão de água. Esse efeito foi observado também em outros trabalhos. Injeções i.c.v. de 5-HT induziram a um aumento na ingestão de água que não foi associada à ingestão de alimentos (STEFFENS *et al.*, 1997; SELL, 2000). Outro efeito serotoninérgico observado em experimentos anteriores do nosso laboratório é o de inibir a ingestão de alimentos. A administração i.c.v. de 5-HT, em aves submetidas a jejum de 24 horas, provocou uma redução no consumo de alimentos (STEFFENS *et al.*, 1997), e um bloqueio parcial da resposta hiperfágica induzida pelo tratamento com adrenalina (Adr) (SELL, 2000). A administração i.c.v. de Adr desencadeou um aumento na duração total da postura típica de sono (SELL, 2000). O sono provocado pela Adr ou pela realimentação após o jejum de 24 hs., parece ser uma consequência da ingestão alimentar (SELL, 2000). Registros eletrográficos têm demonstrado que o sono pós-prandial, após a ingestão alimentar

provocada pela Adr, tem as mesmas características do sono pós-prandial provocado pela ingestão de alimentos após um jejum de 24 hs (DARIO *et al.*, 1996). Sendo assim, apesar do grande volume de água ingerido pelo pombo, após a administração da 5-HT, o comportamento observado não parece ser um sono pós-prandial, pois algumas vezes o comportamento antecede a ingestão de água.

Além disso, nossos resultados indicam que a duração de VA, VR, SOL e SP nos animais tratados com 5-HT ou veículo, são iguais em relação às características comportamentais e EOsGráficas. No entanto, a atividade EOsGráfica hipocampal simultânea ao estado desencadeado pelo tratamento com 5-HT é diferente em grande parte do traçado. Durante este período de sono comportamental, que denominamos S-SP, o EOsG-HP é dessincronizado, semelhante ao EOsG de SP ou de VA provocada por estímulo sensorial (luminoso, sonoro) (BRUNO-NETO, 1996).

Contudo, este quadro EOsGráfico e comportamental provocado pela 5-HT não parece estar relacionado à vigília. Após a injeção de 5-HT, o pombo adota uma postura típica de sono, com ausência de atividade motora, mantém os olhos fechados e com movimentos oculares. Além disso, o pombo apresenta períodos de VA típicos, com abertura dos olhos, deslocamento pela gaiola, auto-limpeza e ingestão de água (Van TWYVER e ALLISON, 1972).

Este quadro pode sugerir a presença de períodos de SP após a injeção i.c.v. de 5-HT. O SP é definido por vários aspectos eletrográficos e eventos comportamentais que ocorrem com variações entre os mamíferos (VERTES, 1984; JONES, 1991). As únicas características encontradas comuns a todas as espécies são o padrão dessincronizado do EOsG e o limiar para despertar reduzido. Estas características também são encontradas em pombos (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972). Em pombos, os períodos de SP são precedidos por SOL e comumente terminam com um movimento de leve inclinação anterior do corpo, seguido por uma dorso flexão brusca da cabeça que durante o SP pende, indicando uma diminuição do tônus muscular (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972). Todavia, o critério de supressão do EMG não é um parâmetro confiável de SP em pombos. Episódios de sono acompanhados de movimentos oculares rápidos e dessincronização do EOsG foram observados ocorrerem sem uma diminuição correspondente da atividade do EMG (WALKER e BERGER, 1972), isto é, o nível de tônus muscular no SOL permanece no SP. Apesar de durante o SOL se observar movimentos palpebrais lentos ou um dos olhos abertos (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972), caracteristicamente durante o SP os olhos estão sempre fechados e pode haver ou não movimentos oculares rápidos (TRADARDI, 1966; Van TWYVER e ALLISON, 1972; WALKER e BERGER, 1972). Estes movimentos oculares parecem não ter relação com os movimentos de reposicionamento da cabeça ocasionados pela hipotonia muscular do SP (WALKER e BERGER, 1972).

Deve ser notado, no entanto, que este estado S-SP tem uma duração prolongada. Os períodos S-SP ocupam de 20 a 30 min. do tempo de registro. O SP em pombos é breve em relação aos dos mamíferos, com a duração variando de 2 a 10 seg. e ocupando de 1 a 10% do tempo total de sono (Van TWYVER e ALLISON, 1972; WALKER e BERGER, 1972). Além disso, os episódios de SP são normalmente precedidos por SOL, e em nossos experimentos os períodos de sono e vigília alternam-se rapidamente, sem um período de transição ou VR, ou de SOL.

Vários estudos têm evidenciado a relação da 5-HT e o controle do ciclo vigília-sono. Alguns dados sugerem que o efeito da 5-HT seja de deativação da vigília, já que a administração do amino ácido precursor da 5-HT, L-triptofano (L-TPF), aumentou a sincronização na vigília em gatos, aumentou a VR, sem alterar a latência para o início do sono ou o tempo total de sono (URSIN, 1976; BOUYER *et al.*, 1979). Em ratos, L-TPF diminuiu a latência para início do sono e SP, sem alterar VA, SOL ou SP (WOJCIK, FORMAL e RADULOVACKI, 1980). Mas a administração de L-TPF leva ao SOL quando administrado na fase inicial do período claro em ratos, sem alterar sono quando administrado no final da fase clara (OLSEN, NECKELMANN e URSIN, 1994). Em gatos, a administração de 5-HTP (5-hidroxitriptamina), um precursor da 5-HT, também tende a hipersincronizar na vigília e levar à sonolência (URSIN, 1976).

No entanto, em humanos, administração de bebida livre de L-TPF resultou num aumento da latência para o início do sono e uma diminuição do tempo total de sono (BHATTI *et al.*, 1998), e a administração de 5-HTP levou a uma discreta diminuição do SOL (WYATT *et al.*, 1971).

Estudos do ciclo vigília-sono com o uso de inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) permitem pesquisar os efeitos sobre o sono do aumento da disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica sem os problemas da administração de seus precursores (WYATT *et al.*, 1971; WOJCIK, FORNAL e RADULOVACKI, 1980). O efeito agudo dos ISRS na vigília pode ser bifásico, com um aumento inicial da vigília seguido por um aumento no SOL e/ou do SOL com um aumento da sincronização, em gatos (HILAKIVI *et al.*, 1987; SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987), e em ratos (SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987; BJORVATN e URSIN, 1990; BJORVATN *et al.*, 1995). O aumento relativo na vigília e na sincronização varia entre os diferentes ISRS (SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987) e do tempo de uso da droga (NECKELMANN *et al.*, 1996a). Em ratos, lesões de vias serotoninérgicas descendentes aumentam a vigília induzida pelo zimeldine, um ISRS, sugerindo que estas vias serotoninérgicas descendentes podem afetar sono e vigília por diminuir informações sensoriais ascendentes (BJØRKUM *et al.*, 1995). No entanto, outro efeito observado do

ISRS foi restaurar o sono após uma dose moderada de *para*-clorofenilalamina (PCPA) (URSIN *et al.*, 1989).

Um efeito mais consistente do aumento da neurotransmissão serotoninérgica central tem sido observado em relação ao SP. As alterações no SP, na latência para o início e na duração do SP, decorrem tanto do aumento dos níveis dos precursores da 5-HT (WYATT *et al.*, 1971; URSIN, 1976), quanto pela utilização de ISRS (NICHOLSON e PASCOE, 1983; HILAKIVI *et al.*, 1987; SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987).

A diminuição do SP decorrente da administração de precursores da 5-HT foi observada em humanos (WYATT *et al.*, 1971; BHATTI *et al.*, 1998), gatos (URSIN, 1976) e em ratos (WOJCIK, FORNAL e RADULOVACKI, 1980). Em gatos, a administração intraperitonal (i.p.) de L-TPF ou de 5-HTP provocou um aumento da latência para o primeiro episódio de SP e uma acentuada diminuição do tempo total de SP (URSIN, 1976). Esses efeitos estavam relacionados à dose, e doses maiores produziam aumento da vigília (URSIN, 1976). No entanto, o uso de 5-HTP via oral (v.o.) em humanos resultou numa discreta diminuição do SOL e um aumento do SP, e esse efeito não estava relacionado à dose (WYATT *et al.*, 1971). Em humanos, o uso de ISRS aumenta a latência para o SP e diminui o tempo de SP (NICHOLSON e PASCOE,

1983). Esse efeito sobre SP é também relatado em ratos (SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987; NECKELMANN *et al.*, 1996a) e em gatos (SOMMERFELT, HAUGE e URSIN, 1987).

O registro de neurônios 5-HT dos núcleos da rafe tem demonstrado que estes neurônios apresentam uma atividade rítmica máxima durante a vigília, diminui consideravelmente durante o SOL e é completamente abolida durante o SP (JACOBS, HEYM e TRULSON, 1981; LYDIC *et al.*, 1987b; MCGINTY e SZYMUSIAK, 1988). Assim como os níveis extracelulares de 5-HT apresentam relação com a atividade dos neurônios 5-HT dos núcleos da rafe e o estado comportamental. Os níveis de 5-HT dosados por microdiálise em todas as regiões cerebrais citadas por PORTAS, BJORVATN e URSIN (2000) e na formação reticular pontina medial (IWAKIRI, MATSUYAMA e MORI, 1993), apresentam os níveis de 5-HT extracelulares altos durante a vigília, diminuem durante o SOL e os menores níveis são encontrados durante o SP. Os níveis extracelulares dosados no hipotálamo do ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), um metabólito da 5-HT, apresentam a mesma relação com a atividade dos neurônios 5-HT dos DRN e o estado comportamental (IMERI *et al.*, 1994).

Além do mais, o mecanismo de alerta parece envolver vias colinérgicas e serotoninérgicas ascendentes. A ativação de receptores colinérgicos e serotoninérgicos resulta na dessincronização do EOG cortical (JÄKÄLÄ *et al.*, 1997), assim

como o bloqueio de aferentes colinérgicos e serotoninérgicos na vigília abole o EOsG cortical ativado próprio deste estado (DRINGENBERG e VANDERWOLF, 1997). Do mesmo modo, a integridade do sistema serotoninérgico cerebral parece ser necessária para a ação colinérgica (JÄKÄLÄ, BJÖRKLUND e RIEKKINEN Jr., 1996). Assim, parece que a 5-HT através da ativação de receptores 5-HT no tálamo pode facilitar a dessincronização e levar à vigília por suprimir a atividade de alta voltagem neocortical (JÄKÄLÄ e RIEKKINEN Jr., 1997).

Resumindo, nossos resultados indicam que a injeção i.c.v. de 5-HT em pombos provoca um estado comportamental semelhante ao sono, sem características de sono pós-prandial, mas com características EOsGráficas de SP, pois apresenta uma dessincronização associada a uma postura típica de sono, olhos fechados e movimentos oculares. No entanto, se a injeção central de 5-HT aumenta o SP em pombos, este efeito parece diferente do que tem sido relatado em mamíferos.

Um crescente número de estudos sugere que os efeitos diferentes no ciclo vigília-sono, após a estimulação serotoninérgica, representam a atividade da 5-HT em múltiplos subtipos de receptores (URSIN *et al.*, 1989; UPHOUSE, 1997). Os receptores serotoninérgicos podem ser classificados em sete subtipos diferentes: 5-HT₁ (5-HT_{1a}, 5-HT_{1b}, 5-HT_{1d}, 5-HT_{1e} e 5-

HT_{1f}), 5-HT₂ (5-HT_{2a}, 5-HT_{2b} e 5-HT_{2c}), 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇ (GLENNON e DUKAT, 1995). De particular interesse em nossos estudo são os receptores 5-HT₁ e 5-HT₂.

Em pombos, estudos com agonistas de receptores 5-HT₁ e 5-HT₂ têm resultado em distintos efeitos sobre o sono. A ativação de receptores 5-HT_{1a} em pombos pela administração i.c.v. de 8-OH-DPAT provocou um antecipação dos sinais de sono, uma vez que ocorreu uma redução na latência para exibição das posturas típicas de sono, e provocou um aumento do tempo em postura de sono (STEFFENS, 1999). Esses resultados foram observados ser independentes do estado alimentar do pombo (STEFFENS, 1999), isto é, em pombos saciados ou em jejum de 24 hs., a administração da droga resultou nos efeitos relatados. No entanto, também independente do estado alimentar, a administração i.c.v. do agonista 5-HT_{1a} levou a uma resposta hiperfágica, sugerindo que o efeito observado poderia ser uma antecipação do sono pós-prandial, além do efeito direto da droga sobre os mecanismos que regulam o sono (STEFFENS, 1999).

Em pombos, a administração i.c.v. de DOI, agonista de receptor 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}, induziu uma redução na latência para iniciar as posturas típicas de sono e aumentou a duração do sono, em pombos saciados (STEFFENS, 1999). Por outro lado, doses menores de DOI parecem inibir o sono, já que nenhuma das aves exibiu postura de sono após o tratamento (STEFFENS, 1999).

Além disso, a injeção dessa droga em pombos realimentados, após jejum de 24 hs., também não provocou alterações na latência e na duração total do sono (STEFFENS, 1999). Também em pombos, a injeção i.c.v. de mCPP, agonista de receptores 5-HT_{1b}/5-HT_{2c}, e de MK-212, agonista de receptores 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}, não alterou a latência para início ou o tempo de sono em relação ao controle, mas não foram capazes de bloquear a resposta hipnagógica induzida pela Adr (SELL, 2000).

Em mamíferos, a ativação de receptores pré-sinápticos 5-HT_{1a}, pela administração de 8-OH-DPAT, inibe a liberação de 5-HT nas regiões de projeções de vias serotoninérgicas no SNC de mamíferos (HJORTH e SHARP, 1991; DE VRY, 1995). Os receptores 5-HT_{1a} pós-sinápticos estão localizados nas projeções serotoninérgicas para prosencéfalo e principalmente nas regiões límbicas (hipocampo e septo) e a sua ativação resulta na inibição pós-sináptica (DE VRY, 1995).

A administração sistêmica de 8-OH-DPAT aumentou a vigília e reduziu SOL e SP em ratos (MONTI *et al.*, 1990; BJORVATN *et al.*, 1997). Estes efeitos parecem estar relacionados a uma ação inibitória dos receptores 5-HT_{1a} pós-sinápticos (MONTI *et al.*, 1990; BJORVATN *et al.*, 1997). Além disso, 8-OH-DPAT em ratos levou a um aumento, embora atrasado, do SOL (BJORVATN *et al.*, 1997). No entanto, é provável que o aumento na vigília e

aumento tardio do SOL, observado após a administração sistêmica de 8-OH-DPAT em ratos (BJORVATN *et al.*, 1997) seja uma consequência das alterações motoras e comportamentais observadas no início do experimento (BJORVATN *et al.*, 1997).

Outros agonistas 5-HT_{1a} menos seletivos produzem efeitos semelhantes sobre o sono e vigília. O aumento da vigília e diminuição do SOL e SP foi observado após a administração de buspirona, ipsapirona e gepirona em ratos (MONTI *et al.*, 1995). Em humanos, a ipsapirona causa um efeito similar, diminuindo o SP (GILLIN *et al.*, 1994). O SOL não alterou após a administração de ipsapirona, mas o aumento da dose resultou num aumento da latência para o início do sono e reduziu o tempo total de sono (GILLIN *et al.*, 1994).

É interessante notar que a infusão intratecal (i.t.) de 8-OH-DPAT em ratos reduz a vigília e aumenta o SOL, enquanto o SP permanece inalterado (BJØRKUM *et al.*, 1995; BJØRKUM e URSIN, 1996), diferente da administração sistêmica do agonista 5-HT_{1a}. Sugerindo que a inibição da transmissão sensorial ascendente (BJØRKUM *et al.*, 1995) seja através da estimulação de receptores 5-HT_{1a} pré-sinápticos (BJØRKUM e URSIN, 1996).

É interessante notar, também, que microinjeções de 5-HT na região dos neurônios colinérgicos basais aumentam a atividade

de ondas lentas, além de reduzir SP, sem alterar a vigília e o SOL (CAPES e JONES, 1998). Estudos *in vitro* indicam que agonistas 5-HT_{1a} hiperpolarizam neurônios colinérgicos nos núcleos basais (KHATEB *et al.*, 1993). Estes neurônios colinérgicos apresentam uma atividade rítmica e parecem participar da geração da atividade de ondas lentas do EOSG (KHATEB *et al.*, 1992). Assim, é possível que a estimulação de receptores 5-HT_{1a} no prosencéfalo possa facilitar o SOL, ou pelo menos a sincronização dentro do SOL.

Por outro lado, a administração de 8-OH-DPAT no DRN produziu um aumento no SP em ratos (BJORVATN *et al.*, 1997), e em gatos (PORTAS *et al.*, 1996), enquanto os outros estados permaneceram inalterados (PORTAS *et al.*, 1996; BJORVATN *et al.*, 1997). Possivelmente esta ação seja resultado da estimulação de autoreceptores 5-HT_{1a} levando à redução da neurotransmissão serotoninérgica nas áreas de projeção serotoninérgica (BJORVATN *et al.*, 1997), concomitante desinibição de neurônios colinérgicos mesopontino promotores de SP e como consequência o aumento do SP (STERIADE, 1992; MCCARLEY *et al.*, 1995; PORTAS *et al.*, 1996; BJORVATN *et al.*, 1997). Em gatos, a infusão de 8-OH-DPAT na região do núcleo pedunculopontino (PPT) resulta na diminuição do SP, e este achado está de acordo com a hipótese do papel inibitório sobre SP de receptores 5-HT_{1a} no PPT (SANFORD *et al.*, 1994).

Os estudos do papel funcional dos receptores 5-HT_{1a} no sono são difíceis, dada a pouca disponibilidade de drogas antagonistas 5-HT_{1a} seletivas. A administração de (-)-pindolol, β -bloqueador adrenérgico e antagonista 5-HT_{1a/1b}, leva a um aumento da vigília e redução do SP em ratos (MONTI *et al.*, 1995), e em humanos (SEIFRITZ, STAHL, GILLIN, 1997). Em ratos, o pré-tratamento com pindolol reverte o aumento na vigília e a diminuição no SOL induzidos pelos agonistas 5-HT_{1a} não seletivos, buspirona e gepirona, enquanto o SP permanece suprimido (MONTI *et al.*, 1995). A administração sistêmica do antagonista não-seletivo 5-HT_{1a}, NAN-190, reduz SOL e SP em ratos, além de reduzir a atividade de ondas lentas (NECKELMANN *et al.*, 1996b).

Além disso, há poucos estudos com administração local de antagonistas seletivos. A administração i.t. de NAN-190 em ratos não produziu alterações no sono ou vigília (BJØRKUM e URSIN, 1996). Todavia, a droga não antagonizou os efeitos da administração i.t. de 8-OH-DPAT (BJØRKUM e URSIN, 1996). Esses dados com resultados conflitantes com antagonistas 5-HT_{1a} podem ser decorrentes de alguma propriedade de agonistas parciais de autoreceptores 5-HT_{1a} somatodendríticos de vários dos antagonistas 5-HT_{1a} putativos (BJØRKUM e URSIN, 1996).

Estudos neuroquímicos e comportamentais têm demonstrado

que pombos são consideravelmente sensíveis a drogas 5-HT_{1a} e um modelo adequado para explorar os mecanismos bioquímicos subjacentes aos efeitos de drogas agindo através destes receptores (BARRET, 1992). Evidências bioquímicas indicam que em aves o 8-HT-DPAT desencadearia efeito semelhante ao de mamíferos, uma vez que ocorre uma redução dos níveis de metabólitos da 5-HT no SNC, após a injeção sistêmica de 8-HT-DPAT em pombos (GLEESON *et al.*, 1992). Sendo assim, esses dados sugerem que a injeção i.c.v. de 5-HT em pombos pode diminuir a atividade de neurônios 5-HT da rafe pela ativação de receptores pré-sinápticos 5-HT_{1a} e esse decréscimo pode ter provocado o aumento do SP.

Os estudos com receptores 5-HT₂ são menos comuns do que com os receptores 5-HT_{1a} no sono e na vigília. Contudo, é importante determinar se algum subtipo de receptor 5-HT₂ em particular pode ter um papel na regulação do sono. Agonistas seletivos 5-HT_{2a}/5-HT_{2c} têm mostrado um aumento na vigília e diminuir SOL e SP de maneira dose dependente, em ratos (MONTI *et al.*, 1990). Esses efeitos sobre a vigília e o SOL foram revertidos por antagonistas 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}, enquanto o SP permaneceu reduzido (MONTI *et al.*, 1990).

A administração de ritanserina, um antagonista de receptores 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}, resultou num aumento no SOL profundo, às custas da diminuição do tempo de vigília e do SOL mais

superficial, em ratos (BJORVATN e URSIN, 1990; SILHOL, GLIN e GOTTESMANN, 1992; STUTZMANN *et al.*, 1992). Todavia, ritanserina não foi capaz de bloquear o efeito na vigília do ISRS em ratos (BJORVATN e URSIN, 1990). Em humanos, a administração de ritanserina e de Ketanserina, um antagonista 5-HT_{2a}/5-HT_{2c}, produziu um aumento do SOL (SHARPLEY *et al.*, 1994). O efeito da ritanserina sobre o SOL foi substancialmente maior que o efeito da ketanserina (SHARPLEY *et al.*, 1994), isto porque ritanserina tem uma maior afinidade pelo receptor 5-HT_{2c} no cérebro humano que a ketanserina (SHARPLEY *et al.*, 1994).

Os antagonistas 5-HT₂ diminuem o SP, em humanos (SHARPLEY *et al.*, 1994) e em ratos (SILHOL, GLIN e GOTTESMANN, 1992), mas esse achado não é relatado em todos os estudos (STUTZMANN *et al.*, 1992). A razão para os efeitos inconsistentes sobre o SP pode representar uma mudança compensatória às custas da grande facilitação para o SOL, e não uma consequência primária do bloqueio do receptor 5-HT₂ (SHARPLEY *et al.*, 1994).

Assim, os efeitos da ativação de receptores 5-HT₂ sobre a vigília em pombos (STEFFENS, 1999; SELL, 2000) parecem similares aos relatados em mamíferos (MONTI *et al.*, 1990), sugerindo que a ativação destes receptores pode facilitar a dessincronização e levar à vigília (JÄKÄLÄ e RIEKKINEN Jr., 1997).

Desta forma, a aparente contradição dos efeitos serotoninérgicos no ciclo vigília-sono provavelmente está relacionada ao fato das ações da 5-HT ocorrerem através de uma multiplicidade de receptores que mediam respostas diferentes ou mesmo opostas (PORTAS, 2000), ou ainda, pela provável necessidade da interação e regulação de vários sistemas de neurotransmissores para a expressão de um estado (PUIZILLOUT *et al.*, 1981; JONES, 1991; STERIADE, 1992).

Além das alterações relacionadas ao sono e vigília, experimentos em que se aumenta a disponibilidade sináptica de 5-HT resultam em uma variedade de alterações motoras em mamíferos. Em ratos e sagüis, a administração i.c.v. de 5-HT desencadeou alterações comportamentais como aumento dos movimentos automáticos com as patas, de lateralização da cabeça, ataxia e sonolência que iniciam 30 min. após a aplicação, sendo que os movimentos da cabeça apareceram mais precocemente (DE OLIVEIRA e CAMPOS, 1993). Também em ratos, a administração i.p. de inibidor da monoaminoxidase (IMAO) seguida da administração de L-TPF, resultou numa série de mudanças comportamentais como movimentos da cabeça, movimentos automáticos, ataxia e opistótomo, entre outros (GREEN, 1981). A administração de 5-HTP em gatos também resultou em alterações motoras com leves movimentos da cabeça, abrindo e fechando os olhos, muito parecido com sono e uma diminuição na frequência do EOSG e numa maior alternância de VA para VR (URSIN, 1976).

Em aves, a administração de 5-HT também resultou em alterações motoras. Em pintos, cuja barreira hemato-encefálica não está completamente desenvolvida, a injeção i.p. de 5-HT desencadeou alterações motoras com incoordenação dos membros, ataxia, uma postura agachada e um estado de estupor com rápida reversibilidade aos estímulos, abrindo os olhos e levantando a cabeça (HEHMAN, VONDERAHE e PETERS, 1961). Durante esse comportamento, o EOsG mostrou um aumento da amplitude do ritmo lento e uma mudança para um ritmo rápido de baixa amplitude quando em VA desencadeada pelos estímulos. Portanto, nas aves estudadas, assim como nos mamíferos (URSIN, 1976), nos experimentos em que registros EOsGráficos simultâneos foram realizados, o padrão EOsGráfico era coerente com o estado observado (HEHMAN, VONDERAHE e PETERS, 1961).

Em ratos, a injeção i.p. de L-TPF resultou num efeito termogênico quando administrado na parte inicial do período claro, enquanto o oposto foi verificado quando a droga foi administrada na parte final do período claro (OLSEN, NECKELMANN e URSIN, 1994). Em pombos, um estado de torpor é descrito associado à manutenção da temperatura corporal diante de jejum ou de baixa temperatura (BERGER e PHILLIPS, 1988). Este estado de torpor com o objetivo de diminuir o metabolismo é acompanhado por um EOsG de ondas lentas do SOL (BERGER e PHILLIPS, 1988). Uma possibilidade para o S-SP é a adoção de uma postura imóvel na tentativa de preservar energia diante de

uma provável mudança da temperatura corporal induzida pela 5-HT, ou ainda, um estado tóxico induzido pela 5-HT ou os seus metabólitos (MORGANE e STERN, 1973).

Um comportamento que aparentemente apresenta elementos comuns a S-SP (imobilidade, tônus muscular, movimentos oculares e palpebrais diminuídos) é a imobilidade tônica (IT). A IT é considerada uma resposta comportamental inibitória, desencadeada por situações de grande estresse (e.g., estimulação sensorial potente, medo) ou a manobras manipulativas específicas do animal (THOMPSON, 1977). A IT provocada em coelhos desencadeou uma atividade elétrica cerebral lenta nos estágios iniciais da IT, indistinguível daquela atividade eletrográfica em que o animal está acordado, em alerta mas não se movendo, seguida por uma lentificação do EOsG (HARPER, 1971).

Em galinhas, a indução da IT foi associada com EOsG de VA, e mudanças autonômicas (diminuição da temperatura e aumento da frequência cardíaca), seguida por um EOsG de ondas lentas, logo após a adoção da IT (GENTLE, JONES E WOOLLEY, 1989). Durante a IT, foram observados episódios de dissociação EOsG-comportamento com movimentos da cabeça e vocalização sendo observados durante EOsG de VR (GENTLE, JONES E WOOLLEY, 1989).

O S-SP induzido pela 5-HT, caracterizado pela imobilidade

da postura semelhante a sono, tônus muscular diminuído, olhos fechados e movimentos oculares associados a um EOsG ativado, pode sugerir um estado de alerta desencadeado por estresse. Além disso, o EOsG do S-SP não apresenta ondas PGAs, uma característica do alerta intenso provocado por estímulo sensorial (BRUNO-NETO, 1996). No entanto, durante o alerta por estímulo sensorial, o pombo permanece com os olhos abertos e postura de VA. Os pombos tratados com veículo não apresentam tal comportamento após a manipulação para a injeção da droga. Portanto, podemos desconsiderar a manipulação do pombo como um fator desencadeante de S-SP. Mas não conhecemos que outras alterações sensoriais e/ou autonômicas a 5-HT pode desencadear no pombo.

Outro objetivo de nosso estudo foi identificar possíveis alterações no EOsG hipocampal, nos diferentes estados comportamentais em função do tratamento com 5-HT. Nossos dados indicam que a administração i.c.v. de 5-HT, em pombos, não altera a atividade EOsGráfica hipocampal nos diferentes estados comportamentais, apesar da dose de 5-HT utilizada ser capaz de desencadear evidentes alterações comportamentais (postura de sono por tempo prolongado e ingestão de água).

A despeito das aparentes diferenças estruturais entre o HP de aves e de mamíferos, há numerosas evidências anatômicas que suportam o ponto de vista de que o HP de aves é comparável ao

HP de mamíferos (REHKÄMPER, FRAHM e ZILLES, 1991; REHKÄMPER e ZILLES, 1991; VEENMAN, WILD e REINER, 1995). Além disso, estudos do sistema serotoninérgico de pombos têm mostrado que terminais serotoninérgicos são amplamente distribuídos no SNC e mostram uma organização muito semelhante àquela encontrada em mamíferos, que inclui uma notável concentração de terminais no HP e na área parahipocampal (CHALLET *et al.*, 1996). Os padrões de conexões aferentes e eferentes do HP de aves são similares aos do HP de mamíferos com ambas as regiões recebendo projeções do HP contralateral, tálamo, hipotálamo, banda diagonal, locus ceruleus e núcleos da rafe (BENOWITZ e KARTEN, 1976; CASINI, BINGMAM e BAGNOLI, 1986), e com projeções para o núcleo septal, banda diagonal e hipotálamo (SZÉKELY e KREBS, 1996).

Em ratos, as projeções ascendentes do DRN foram estudadas por marcadores retrógrados e o HP recebe projeções moderadamente densas da parte caudal do DRN, e praticamente nenhuma projeção da parte rostral do DRN (VERTES, 1991). No entanto, o MRN mostra um importante efeito modulador sobre a atividade hipocampal de ratos (KAO, SANDERS e GREEN, 1997). Em ratos, a ativação de neurônios serotoninérgicos do MRN resulta na dessincronização da atividade elétrica hipocampal (KAO, SANDERS e GREEN, 1997) e esta pode ser uma ação serotoninérgica direta em interneurônios hipocâmpais (KAO, SANDERS e GREEN, 1997) ou uma ação indireta através da banda diagonal de Broca/septo medial desinibindo neurônios principais hipocâmpais

(LERANTH e VERTES, 1999). Além disso, como já relatamos anteriormente, o EOsG hipocampal de mamíferos é caracterizado por uma atividade sincronizada, o ritmo θ -hipocampal, que parece estar presente durante todos os estados (HARPER, 1971; GAZTELU *et al.*, 1994), mas, caracteristicamente, acompanha certas atividades motoras na VA e o SP (VANDERWOLE, 1992) ou talvez a atenção que acompanha um dado comportamento (VALLE, 1992). Estudos têm demonstrado que os sistemas serotoninérgicos juntamente com os sistemas colinérgicos no HP estão envolvidos na modulação do ritmo θ -hipocampal (DRINGENBERG e VANDERWOLF, 1997), além do sistema noradrenérgico (BOGUSZEWICZ *et al.*, 1996). Como também já mencionamos antes, o HP de mamíferos parece ter um importante papel em funções cognitivas, particularmente aquelas relacionadas com processos de aprendizagem e memória (VANDERWOLF e CAIN, 1994) e parece que a 5-HT tem uma ação aditiva, juntamente com a Ach, na manutenção das sinapses hipocampais e na modulação da aquisição da memória espacial (MATSUKAWA *et al.*, 1997; STANCAMPIANO *et al.*, 1999). Estudos com lesões hipocampais em aves e em mamíferos mostram que ambos apresentam uma piora em uma variedade de tarefas espaciais (BINGMAN *et al.*, 1988; BINGMAN e MENCH, 1990; GAGLIARDO, MAZZOTTO e BINGMAN, 1996), mas não em tarefas visuais (COLOMBO e BROADBENT, 2000), sugerindo que os HP de aves e de mamíferos são funcionalmente homólogos e que são importantes no processamento e retenção da memória espacial

(COLOMBO e BROADBENT, 2000).

Assim, evidências neuroanatômicas e funcionais nos permitem considerar o HP de aves similar ao HP de mamíferos. Portanto, é interessante não termos observado em nossos estudos alterações na atividade elétrica hipocampal do pombo decorrentes da manipulação serotoninérgica. É provável que esta aparente ausência de efeito da 5-HT sobre o EOsG hipocampal se dê pela falta de uma atividade sincronizada rítmica no EOsG de HP de pombos (BRUNO-NETO, 1996), uma vez que os efeitos da manipulação serotoninérgica em mamíferos são observados exatamente por abolirem uma atividade eletrográfica sincronizada e rítmica (KAO, SANDERS e GREEN, 1997; LERANTH e VERTES, 1999), típica no EOsG hipocampal de mamíferos (HARPER, 1971; GAZTELU *et al.*, 1994). Sendo assim, talvez registros de unidades neuronais possam mostrar mudanças mais sutis na atividade de neurônios hipocampais decorrentes da ativação dos sistemas serotoninérgicos ascendentes.

Assim, se confirmados por estudos posteriores com agonistas específicos para receptores 5-HT e registros mais detalhados de eventos viscerais e motores que acompanham o SP, nossos dados podem sugerir um forte envolvimento de circuitos serotoninérgicos centrais na expressão de atributos do sono em pombos. Além disso, estes dados reforçam a noção de que os sistemas serotoninérgicos, tanto anatômica quanto

funcionalmente, parecem ter uma história filogenética antiga e que seu envolvimento no controle do ciclo vigília-sono possa representar um atributo conservado na evolução dos amniotas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, D.G. e WITTER, M. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31: 571-591, 1989.

AMLANER, J.A. e BALL, N.J. Avian Sleep. In: KRYGER, M.H.; ROTH, T.; DEMENT, W.C. (eds.). *Principles and Practice of Sleep Medicine*, Philadelphia: W. B. Saunders, 1994, P. 81-94.

ANDRÉ, E.S. Efeitos da escopolamina, mecamilamina e eserina sobre o eletroscilograma hipocampal de pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 1997. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção de grau de Mestre em Neurociências e Comportamento.

AYALA-GUERRERO, F. Sleep patterns in the parakeet *Melopsittacus undulatus*. *Physiol. Behav.*, 46: 787-791, 1989.

BARRET, J.E. Studies on the effects of drugs 5-HT_{1a} in the pigeon. *Drug Dev. Res.*, 26: 299-317, 1992.

BENOWITZ, L.I. e KARTEN, H.J. The tractus infundibuli and other afferents to the parahippocampal region of the pigeon. *Brain Res.*, 102: 174-180, 1976.

BERGER, R.J. e PHILLIPS N.H. Comparative aspects of energy metabolism, body temperature and sleep. *Acta Physiol. Scand.*, 133: Suppl. 574: 21-27, 1998.

BHATTI, T.; GILLIN, J.C.; SEIFRITZ, E.; MOORE, P.; CLARK, C.; GOLSHAN, S.; STAHL, S.; RAPAPORT, M. e KELSOE, J. Effects of a tryptophan-free amino acid drink challenge on normal human sleep electroencephalogram and mood. *Biol. Psychiatry.*, 43: 52-59, 1998.

BINGMAN, V. The importance of comparative studies and ecological validity for understanding hippocampal structure and cognitive function. *Hippocampus*, vol. 2, n. 3: 213-220, 1992.

BINGMAN, V.P.; IOALÉ, P.; CASINI, G. e BAGNONI, P. Hippocampal ablated homing pigeons show a persistent impairment in time taken to return home. *J. Comp. Physiol. (A)*, 163: 669-683, 1988.

BINGMAN, V.P. e MENCH, J.A. Homing behavior of hippocampus and parahippocampus lesioned pigeons following short-distance releases. *Behav. Brain Res.*, 40: 227-238, 1990.

BJØRKUM, A.A.; NECKELMANN, D.; BJØRVATN, B. e URSIN, R. Lesion of descending 5-HT pathways increases zimeldine-induced

- waking in rats. *Physiol. Behav.*, 57: 959-966, 1995.
- BJØRKUM, A.A. e URSIN, R. Sleep/waking effects following intrathecal administration of the 5-HT_{1a} agonist 8-OH-DPAT alone and in combination with the putative 5-HT_{1a} antagonist NAN-190 in rats. *Brain Res. Bull.*, 39: 373-379, 1996.
- BJORVATN, B.; BJØRKUM, A.A.; NECKELMANN, D. e URSIN, R. Sleep/waking and EEG power spectrum effects of a nonselective serotonin (5-HT) antagonist and a selective 5-HT reuptake inhibitor given alone and in combination. *Sleep*, 18: 451-462, 1995.
- BJORVATN, B.; FAGERLAND, S.; EID, T. e URSIN, R. Sleep/waking effects of a selective 5-HT_{1a} receptor agonist given systemically as well as perfused in the dorsal raphe nucleus in rats. *Brain Res.*, 77:81-88, 1997.
- BJORVATN, B. e URSIN, R. Effects of zimeldine, a selective 5-HT reuptake inhibitor, combined with ritanserin, a selective 5-HT antagonist, on waking and sleep stages in rats. *Behav. Brain Res.*, 40: 239-246, 1990.
- BOGUSZEWICZ, J.; SKRALNY, B.; KOHLI, J. e ROTH, S. Evidence that GABA, serotonin, and norepinephrine are involved in

- the modulation of in vitro rhythmic activity in rat hippocampal slices. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 74: 1322-1326, 1996.
- BOUYER, J.J.; DEDET, L.; JOSEPH, J.P. e ROUGEUL, A. Modification of spontaneous ECoG and behavior in cat by monoamine precursors. *Psychopharmacology*, 65: 49-54, 1979.
- BRONZINO, J. Quantitative analysis of the EEG-general concepts and animal studies. *IEEE Transactions on biomedical engineering.*, Vol. BME-31, n. 12: 850-856, 1984.
- BRUNO-NETO, R. Análise eletroscilográfica de distritos telencefálicos em pombos (*Columba livia*), em diferentes estados comportamentais. Florianópolis, 1996. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de mestre em Neurociências e Comportamento.
- BRUNO-NETO, R.; ANDRÉ, E.S.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M.A. e MARINO-NETO, J. Análise qualitativa e quantitativa do eletroscilograma hipocampal em diferentes estados comportamentais em pombos. *FESBE, Anais.* Caxambu, 1996.
- BRUN, S.P.M. Participação de receptores ansiotensinérgicos

na ingestão de água induzida pela injeção intracerebroventricular de serotonina e angiotensina em pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 1999. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção de grau de Mestra em Neurociências e Comportamento.

CAMPBELL, S.S. e TOBLER, I. Animal sleep: A review of sleep duration across phylogeny. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 8: 269-300, 1984.

CAPES, E.G. e JONES, B.E. Differential modulation of high-frequency γ -eletroencephalogram activity and sleep-wake state by noradrenaline and serotonin microinjections into the region of cholinergic basalis neurons. *J. Neurosci.*, 18: 2653-2666, 1998.

CASINI, G.; BINGMAN, V.P. e BAGNOLI, P. Connections of the pigeon dorsomedial forebrain studied with WGA-HRP and ^3H -Proline. *J. Comp. Neurol.*, 245: 454-470, 1986.

CASINI, G.; FONTANESI, G.; BINGMAN, V.P.; JONES, T.J.; GAGLIARDO, A.; IOLÈ, P. e BAGNOLI, P. The neuroethology of cognitive maps: contributions from research on the hippocampus and homing pigeon navigation. *Arch. Ital. de Biol.*, 135: 73-92, 1997.

CASSEL, J.C. e JELTSCH H. Serotonergic modulation of cholinergic function in the central nervous system: cognitive implications. *Neuroscience*, Vol 69, 1: 1-41, 1995.

CHALLET, E.; MICELI, D.; PIERRE, J.; REPÉRANT, J.; MASICOTTE, G.; HERBIN, M. e VESSELKIN, N. P. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the brain of the pigeon (*Columba livia*). *Anat. Embryol.*, 193: 209-227, 1996.

COLOMBO, M. e BROADBENT, N. Is the avian hippocampus a functional homologue of the mammalian hippocampus? *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 24: 465-484, 2000.

DARIO, A.J.S.; LOPES, P.R.C.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M.A. e MARINO-NETO, J. Electrographic patterns of postprandial sleep after food deprivation or intraventricular adrenaline injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, 39: 249-254, 1996.

DE OLIVEIRA, M.L. e CAMPOS, M.F. Behavioral effects of the intraventricular administration of 5-HT and dopamina in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 46: 21-25, 1993.

DE VRY, J. 5-HT_{1a} receptor agonista: recent developments and

controversial issues. *Psychopharmacology*, 121: 1-26, 1995.

DIRNGENBERG, H.C. e VANDERWOLF, C.H. Neocortical activation: modulation by multiple pathways acting on central cholinergic and serotonergic systems. *Exp. Brain Res.*, 116: 160-174, 1997.

FLETCHER, P.C.; ERITH, C.D. e RUGG, M.D. The functional neuroanatomy of episodic memory. *Trends Neurosci.*, 20: 213-218, 1997.

FONTANI, G. e VEGNI, V. Hippocampal electrical activity during social interactions in rabbits living in a seminatural environment. *Physiol. Behav.*, 47: 175-183, 1990.

GAGLIARDO, A.; MAZZOTTO, M. e BINGMAN, V.P. Hippocampal lesion effects on learning strategies in homing pigeons. *Proc. R. Lond. B.*, 263: 529-534, 1996.

GAILLARD, J.M.; NICHOLSON, A.N. e PASCE, P.A. Neurotransmitter systems. In: KRYGER, M. H.; ROTH, T. e DEMENT, W.C. (eds.) *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994, P. 338-348.

GAZTELU, J. M.; ABRAIRA, V.; ROMERO, M. e GARCIA-AUSTT, E.

- Hippocampal EEG tetha power density is similar during slow-wave sleep and paradoxical sleep. A long-term study in rats. *Neuros. Lett.*, 172: 31-34, 1994.
- GENTLE, M.J.; JONES, R.B. e WOLLEY, S.C. Physiological changes during tonic immobility in *Gallus gallus* var *domesticus*. *Physiol. Behav.*, 46: 843-847, 1989.
- GILLIN, J.C.; JERNAJCZYK, W.; VALLADARES-NETO, D.C.; GOLSHAN, S.; LARDON, M. e STAHL, S.M. Inhibition of REM sleep by ipsapirone, a 5-HT_{1a} agonist, in normal volunteers. *Psychopharmacology*, 116: 433-436, 1994.
- GLEESON, S.; WEISSMAN, B.A.; SEGEL, M.R. e BARRET, J.E. Neurochemical effects of 5-HT₁ receptor ligands in pigeon. *Eur. J. Pharmacol.*, 229: 109-115, 1992.
- GLENNON, R.A. e DUKAT, M. Serotonin receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. e KUPFER, D.J. (eds) *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York, Raven Press, Ltda., 1995, p: 415-429.
- GOTTESMANN, C. Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 16: 31-38, 1992.
- GREEN, A.R. Pharmacological studies on serotonin-mediated

- behaviour. *J. Physiol.*, 77: 437-447, 1981.
- HARPER, R.M. Frequency changes in hippocampal electrical activity during movement and tonic immobility. *Physiol. Behav.*, 7: 55-58, 1971.
- HEHMAN, K.N.; VONDERAHE, A.R. e PETERS, J.J. Effect of serotonin on behavior, electrical activity of the brain, and seizure threshold of the newly hatched chick. *Neurology*, 11: 1011-1016.
- HILAKIVI, I.; KOVALA, T.; LEPPÄVUORI, A. e SHVALOFF, A. Effects of serotonin and noradrenaline uptake blockers on wakefulness and sleep in cats. *Pharmacol. Toxicol.*, 60: 161-166, 1987.
- HIRUNAGI, K.; HASEGAWA, M.; VIGH, B. e VIGH-TEICHMANN, I. Immunocytochemical demonstration of serotonin-immunoreactive cerebrospinal fluid-contacting neurons in the paraventricular organ of pigeons and domestic chickens. *Prog. Brain Res.*, 91: 327-330, 1992.
- HJORTH, S. e SHARP, T. Effects of the 5-HT_{1a} receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and medial raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci.*, 48: 1779-1786, 1991.

IMERI, L.; DE SIMONI, M.G.; GIGLIO, R.; CLAVENNA, A. e MANCIA, M. Changes in the serotonergic system during the sleep-wake cycle: simultaneous polygraphic and voltammetric recordings in hypothalamus using a telemetry system. *Neuroscience*, 58: 353-358, 1994.

IWAKIRI, H.; MATSUYAMA, K. e MORI, S. Extracellular levels of serotonin in the medial pontine reticular formation in relation to sleep-wake cycle in cats: a microdialysis study. *Neurosci. Res.*, 18: 157-170, 1993.

JACOBS, B.L. e AZMITIA, E.C. Structure and function of brain serotonin system. *Physiol. Rev.*, 72: 165-229, 1992.

JACOBS, B.L. e FORNAL, C.A. Serotonin and behavior. In: BLOOM, F.E. and KUPFER D.J. (eds.) *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York. Raven Press, Ltd., 1995, p: 461-469.

JACOBS, B.L., HEYM, J. e TRULSON, M.E. Behavioral and physiological correlates of brain serotonergic unit activity. *J. Physiol.*, 77: 431-436, 1981.

JACOBS, L.F. The economy of winter: phenotypic plasticity in behavior and brain structure. *Biol. Bull.*, 191: 92-100, 1996.

JÄKÄLÄ, P.; BJÖRKLUND, M. e RIEKKINEN Jr., P. Suppression of neocortical high-voltage spindles by nicotinic acetylcholine and 5-HT₂ receptor stimulation. *Eur. J. of Pharmacol.*, 299: 47-60, 1996.

JÄKÄLÄ, P.; PUOLIVÄLI, J.; BJÖRKLUND, M.; KOIVISTO, E. e RIEKKINEN Jr., P. Activation of acetylcholine receptors and 5-HT₂ receptors have additive effects in the suppression of neocortical high-voltage spindles in aged rats. *Psychopharmacology*, 132: 270-280, 1997.

JÄKÄLÄ, P. e RIEKKINEN Jr., P. Combined cholinergic and 5-HT₂ receptor activation suppresses thalamocortical oscillations in aged rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 56: 713-718, 1997.

JONES, B.E. Paradoxal sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience*, 40: 637-656, 1991.

JOUVET, M. Paradoxal sleep mechanisms. *Sleep*, 17:S77-S83, 1994.

KAO, K.; SANDERS, M.J. e GREEN, E.J. Physiological evidence for hippocampal disinhibition resulting from activation of the median raphe. *Brain Res.*, 752: 90-98, 1997.

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

KHATEB, A.; FORT, P.; ALONSO, A.; JONES, B.E. e MÜHLETHALER, M. Pharmacological and immunohistochemical evidence for serotonergic modulation of cholinergic nucleus basalis neurons. *Eur. J. Neurosci.*, 5: 541-547, 1993.

KHATEB, A.; MÜHLETHALER, M.; ALONSO, A.; SERAFIN, M.; MAINVILLE, L. e JONES B.E. Cholinergic nucleus basalis neurons display the capacity for rhythmic bursting activity mediated by low-threshold calcium spikes. *Neuroscience*, 51: 489-494, 1992.

KOCSIS, B. e VERTES, R. Midbrain raphe cell firing and hippocampal theta rhythm in urethane anaesthetized rats. *Neuroreport*, 7: 2867-2872, 1996.

KREBS, J.R.; ERICHSEN, J.T. e BINGMAN, V.P. The distribution of neurotransmitters and neurotransmitter-related enzymes in the dorsomedial telencephalon of pigeon (*Columba livia*). *J. Comp. Neurol.*, 314: 467-477, 1991.

LANCEL, M. Cortical e subcortical EEG in relation to sleep-wake behavior in mammalian species. *Neuropsychobiology*, 28: 154-159, 1993.

LERANTH, C. e VERTES, R.P. Median raphe serotonergic innervation of medial septum/diagonal band of Broca (MSDB) parvalbumin-containing neurons: possible involvement of the MSDB in the desynchronization of the hippocampal EEG. *J. Comp. Neurol.*, 410: 586:598, 1999.

LYDIC, R.; MCCARLEY, R.W. e HOBSON, J.A. Serotonin neurons and sleep. I. Long term recordings of dorsal raphe discharge frequency and PGO waves. *Arch. Ital. de Biol.*, 125: 317-343, 1987a.

LYDIC, R.; MCCARLEY, R.W. e HOBSON, J.A. Serotonin neurons and sleep. I. Time course of dorsal raphe discharge, PGO waves, and behavioral states. *Arch. Ital. de Biol.*, 126: 1-28, 1987b.

MARROSU, E.; PORTAS, C.; MASCIA, M.S.; CASU, M. A.; FÀ, M.; GIAGHEDDU, M.; IMPERATO, A. e GESSA, G. L. Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain Res.*, 671: 329-332, 1995.

MATSUKAWA, M.; OGAWA, M.;, NAKADATE, K.; MAESHIMA, T.; ICHITANI, Y.; KAWAI, N. e OKADO, N. Serotonin and acetylcholine are crucial to maintain hippocampal synapses and memory acquisition in rats. *Neuros. Lett.*, 230: 13-

16, 1997.

MCCARLEY, R.W.; GREENE, R.W.; RAINNIE, D.G. and PORTAS, C.M.
Brainstem neuromodulation and REM sleep. Semin.
Neurosci., 8: 341-346, 1995.

MCCORMICK, D.A. Neurotransmitter actions in the thalamus and
cerebral cortex and their role in neuromodulation of
thalamocortical activity. Prog. Neurobiol., 39: 337-388,
1992.

MCGINTY, D. e SZYMUSIAK, R. Neuronal unit activity patterns
in behaving animals: Brainstem and limbic system. Ann.
Rev. Psychol., 39:135-68, 1988.

MONTI, J.M.; JANTOS, H.; SILVEIRA, R.; REYES-PARADA, M. e
SCORZA, C. Sleep and waking in 5,7-DHT-lesioned or (-)-
pindolol-pretreated rats after administration of buspirone,
ipsapirone, or gepirone. Pharmacol. Biochem. Behav., 52:
305-312, 1995.

MONTI, J.M.; PINEYRO, G.; ORELLANA, C.; BOUSSARD, M. e JANTOS
H. 5-HT receptor agonists DOI and 8-OH-DPAT increase
wakefulness in the rat. Biogenic Amines, 7: 145-151,
1990.

ORGANE, P.J. e STERN W.C. Effects of serotonin metabolites on sleep-waking activity in cats. Brain Res., 50: 205-213, 1973.

NECKELMANN, D.; BJORVATN, B.; BJØRKUM, A.A. e URSIN, R. Citalopram: differential sleep/wake and EEG power spectrum effects after single dose and chronic administration. Behav. Brain Res., 79: 183-192, 1996a.

NECKELMANN, D.; BJØRKUM, A.A.; BJORVATN, B. e URSIN, R. Sleep and EEG power spectrum effects of the 5-HT_{1a} antagonist NAN-190 alone and in combination with citalopram. Behav. Brain Res., 75: 159-168, 1996b.

NICHOLSON, H.N. e PASCOE, P.A. 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake inhibition: studies on sleep in man. Neuropharmacology, 25: 1079-1083, 1983.

NIEDERMEYER, E. The normal EEG of the waking adult In: NIEDERMEYER, E. e LOPES DA SILVA, F. Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, MD, 1982a.

NIEDERMEYER, E. Sleep and EEG In: NIEDERMEYER, E. e LOPES DA SILVA, F. Electroencephalography: Basic Principles,

Clinical Applications and Related Fields. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, MD, 1982b.

OKADO, N.; SAKO, H.; HOMMA, S. e ISHIKAWA, K. Development of serotonergic system in the brain and spinal cord of the chick. *Prog. Neurobiol.*, 38: 93-123, 1992.

OLSEN, Ø.E.; NECKELMANN D. e URSIN R. Diurnal differences in L-tryptophan sleep and temperature effects in the rat. *Behav. Brain Res.*, 65: 195-203, 1994.

PAGE, M.E. e VALENTINO, R.J. Locus coeruleus activation by physiological challenges. *Brain Res. Bull.*, 35: 557-560, 1994.

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

POE, G.R.; KRISTENSEN, M.P.; RECTOR, D.M. e HARPER, R.M. Hippocampal activity during transient respiratory events in the freely behaving cat. *Neuroscience*, 72, 1: 39-48, 1996.

PORTAS, C.M.; BJORVATN, B. e URSIN, R. Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. *Prog. Neurobiol.*, 60: 13-35, 2000.

PORTAS, C.M.; THAKKAR, M.; RAINNIE, D. e MCCARLEY, R.W.
Microdialysis perfusion of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) in the dorsal raphe nucleus decreases serotonin release and increases rapid eye movement sleep in the freely moving cat. *J. Neurosci.*, 16: 2820-2828, 1996.

PUIZILLOUT, J.J.; GAUDIN-CHAZAL, G.; SAYADI, A. e VIGIER, D.
Serotonergic mechanisms and sleep. *J. Physiol.*, 77: 415-424, 1981.

REHKAMPER, G., FRAHN, H.D. e ZILLES, K. Quantitative development of brain and brain structures in birds (galliformes and passeriformes) compared to that in mammals (insectivores and primates). *Brain Behav. Evo.*, 37: 125-143, 1991.

REHKAMPER, G. e ZILLES, K. Parallel evolution in mammalian and avian brains: comparative cytoarchitectonic analysis. *Cell Tissues Res.*, 263: 3-28, 1991.

ROLE, L.W. e KELLY, J.P. The brain stem: cranial nerve nuclei and monoaminergic systems. In: KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. (eds.). *Principles of Neural Science*. Norwalk: Appleton & Lange, 1991, pag.683-699.

SANFORD, L.D.; ROSS, R.J.; SEGGOS, A.E.; MORRISON, A.R.; BALL, W.A. e MANN, G.L. Central administration of two 5-HT receptor agonists: effect on REM sleep initiation and PGO waves. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 49: 93-100, 1994.

SCHAUL, N. The fundamental neural mechanisms of eletroencephalography. *Eletroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 106: 101-107, 1998.

SEIFRITZ, E.; STAHL, S.M. e GILLIN, J.C. Human sleep EEG following the 5-HT_{1a} antagonist pindolol: possible disinhibition of neuron activity. *Brain Res.*, 759: 84-91, 1997.

SELL, I.M. Efeito da administração central de serotonina, MK-212 e mCPP sobre a ingestão de alimentos induzida pela adrenalina em pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 2000. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de Mestra em Neurociências e Comportamento.

SHARPLEY, A.L.; ELLIOTT, J.M.; ATTENBURROW, M.J. e COWEN, P.J. Slow wave sleep in humans: role of 5-HT_{2a} e 5-HT_{2c} receptores. *Neuropharmacology*, 33: 467-471, 1994.

SILHOL, S.; GLIN, L. e GOTTESMANN, C. Study of the 5-HT₂

antagonist ritanserin on sleep-waking cycle in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 41: 241-243, 1992.

SOMMERFELT, L.; HAUGE, E.R. e URSIN, R. Similar effects on REM sleep but differential effects on slow wave sleep of the two 5-HT uptake inhibitors Zimeldine and Alaproclate in cats and rats. *J. Neural Transm.*, 68: 127-144, 1987.

STANCAMPIANO, R.; COCCO, S.; CUGUSI, C.; SARAIS, L. e FADDA, F. Serotonin and acetylcholine release response in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Neuroscience*, 89: 1135-1143, 1999.

STEEFENS, S.M. Identificação funcional de subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1a}, 5-HT_{2a}/5-HT_{2c} e 5-HT₃ no controle neural de ingestão de alimento e de água em pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 1999. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de Mestre em Neurociências e Comportamento.

STEFFENS, S.M.; CASAS, D.C.; MILANEZ, B.C.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M. A. e MARINO-NETO, J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, vol. 44, 6: 681-688, 1997.

STERIADE, M. Basic mechanisms of sleep generation.
Neurology, 42: 9-18, 1992.

STRASSER, R. e BIGMAN, V.P. Goal recognition and hippocampal formation in the homing pigeon (*Columba livia*). Behav. Neurosci., vol. 111, 6: 1245-1256, 1997.

STUTZMANN, J.M.; EON, B.; LUCAS, M.; BLANCHARD, J.C. e LADURON, P.M. RP 62203, a 5-hydroxytryptamine₂ antagonist, enhances deep NREM sleep in rats. Sleep, 15: 119-124, 1992.

SZÉKELY, A.D. e KREBS, J. R. Efferent connectivity of the hippocampal formation of the zebra finch (*Taenopygia guttata*): an anterograde pathway tracing study using *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. J. Comp. Neurol., 368: 198-214, 1996.

SZYMCZAK, J.T.; KAISER, W.; HELB, H.W. e BESZCZYNSKA, B. A study of sleep in the european blackbird. Physiol. Behav., vol 60, n. 4: 1115-1120, 1996.

THOMPSON, R.W. A central cholinergic inhibition system as a basis for tonic immobility in chickens. Psychopharmacol. Rec., 1: 109-121, 1977.

TRADARDI, V. Sleep in pigeon. Archiv. Ital. Biol., 104:

516- 521, 1966.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. Normas para apresentação de trabalhos. Curitiba: Editora UFPR, v. 2, 6 e 8.

UPHOUSE, L. Multiple serotonin receptors: too many, not enough, or just the right number? *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 21: 679-698, 1997.

URSIN R. The effects of 5-hydroxytryptophan and L-tryptophan on wakefulness and sleep patters in the cat. *Brain Res.*, 106: 105-115, 1976.

URSIN, R.; BJORVATN, B.; SOMMERFETL, L. e UNDER, L.G. Increased waking as well as increased synchronization following administration of selective 5-HT uptake inhibitors to rats. *Behav. Brain Res.*, 34: 117-130, 1989.

VALLE, A.C. Estudo comparativo de algumas manifestações equivalentes do alerta vigil e do sono dessincronizado do rato. São Paulo, 1992. Dissertação apresentada à Escola Paulista de Medicina, para obtenção do grau de Mestra.

VANDERWOLF, C.H. The eletrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis.

Eletroencephalography and Clinical Physiology. 82: 165-175, 1992.

VANDERWOLF, C.H. e CAIN, D.P. The behavioral neurobiology of learning and memory: a conceptual reorientation. Brain Res. Ver., 19: 264-297, 1994.

Van TWYVER, H. e ALLISON, T. A polygraphic and behavioral study of sleep in the pigeon (*Columba livia*). Exp. Neurol., 35, 138-153, 1972.

VEENMAN, C.L.; WILD, J.M. e REINER, A. Organization of the avian "corticostriatal" projection system: a retrograde and anterograde pathway tracing study in pigeons. J. Comp. Neurol., 354: 87-126, 1995.

VERTES, R.P. Brainstem control of the events of REM sleep. Prog. Neurobiol., 22: 241-288, 1984.

VERTES, R.P. A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. J. Comp. Neurol., 313: 643-668, 1991.

VERZEANO, M. e MAHNKE, J.H. Serotonin and thalamic Synchronization. Physiol. Behav., 9: 649-653, 1972.

WALKER, V.M. e BERGER, R.J. Sleep in the domestic pigeon (*Columba livia*). *Behav. Biol.*, 7: 195-203, 1972.

WILLIAMS, H.L.; LESTER, B.K. e COULTER, J.D. Monoamines and EEG stages of sleep. *Activitas Nervosa Superior*, 11:188-192, 1969.

WILLIAMS, R.L.; KARACAN, I. e HURSCH, C.J. History of brain wave research. In: WILLIAMS, R.L.; KARACAN, I. e HURSCH, C.J. (eds) *Electroencephalography (EEG) of human sleep: clinical applications*. New York: John Wiley & Sons. Inc., 1974.

WYATT, R.J.; ZARCON, E.V.; ENGELMAN, K.; DEMENT, W.C.; SNYDER, F. e SJOERDSMA, A. Effects of 5-hidroxytryptophan on the sleep of normal human subjects. *Eletroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 30: 505- 509, 1971.

WOJCIK, W.J.; FORNAL, C. e RADULOVACKI, M. Effects of tryptophan on sleep in the rat. *Neuropharmacology*, 19: 163- 167, 1980.

YAMADA, H.; TAKEUCHI, Y. e SANO, Y. Immunohistochemical studies on the serotonin neuron system in the brain of the chicken (*Gallus domesticus*). I. The distribution of the neuronal somata. *Biogenic Amines*, 1: 83-94, 1984.

ZEPPELIN, H. Mammalian Sleep. In: KRYGER, M.H.; ROTH, T. e
DEMENT, W.C. (eds.). Principles and Practice of Sleep
Medicine. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994, P. 69-
80.