

LUCIANE PEREIRA NASCIMENTO HÄCKL

**EFEITOS INGESTIVOS DE INJEÇÕES DE 8-OH-DPAT EM
DISTRITOS PONTOMESENFÁLICOS QUE CONTÊM
PERICÁRIOS IMUNOREATIVOS À SEROTONINA EM
POMBOS (*Columba livia*).**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Santa
Catarina, para obtenção do grau de
Mestre em Neurociências e
Comportamento.
Orientador: Prof. Dr. José Marino Neto

Florianópolis
2001

**“EFEITOS INGESTIVOS DE INJEÇÕES DE 8-OH-DPAT EM DISTRITOS
PONTOMESENFÁLICOS DA RAPE QUE CONTÉM PERICÁRIOS
IMUNOREATIVOS À SEROTONINA EM POMBOS (Columba livia)”.**

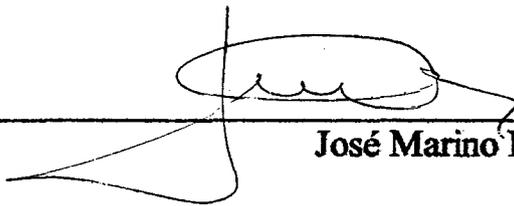
LUCIANE PEREIRA NASCIMENTO HÄCKL

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



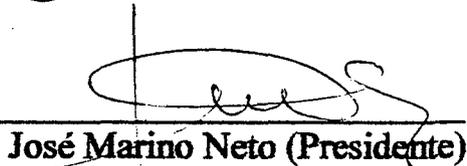
José Marino Neto

Coordenadora do Curso

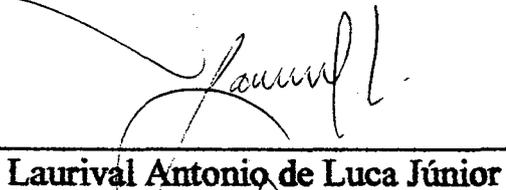


Yara Maria Rauh Müller

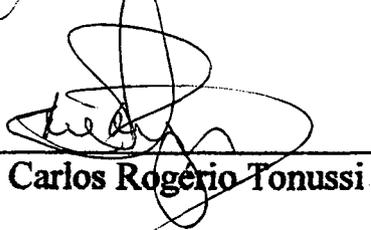
Banca Examinadora



José Marino Neto (Presidente)



Laurival Antonio de Luca Júnior



Carlos Rogério Tonussi

*“Não basta ensinar ao homem uma especialidade
porque se tornará assim uma máquina
utilizável e não uma personalidade.
É necessário que adquira um sentimento,
um senso prático daquilo que é belo,
de que é moralmente correto”.*

(Albert Einstein)

Meus agradecimentos

Ao professor Dr. José Marino Neto, que além de compartilhar seus conhecimentos foi um exemplo de dedicação e incentivo.

Ao meu esposo André e ao meu filho Luciano pelo amor e compreensão a mim dedicado, quando subtrai horas de nosso convívio familiar na elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, pelo incentivo e pelo apoio dado na educação do meu filho durante minha ausência.

Aos muitos amigos especiais, que souberam dar sua parcela de contribuição nessa jornada, através da demonstração de carinho e amizade, de gestos e palavras construtivas, de momentos de alegria e entusiasmo, que serviram de estímulo para se manter a coragem para lutar e a perseverança para vencer.

Aos professores do departamento de Ciências Fisiológicas, especialmente os professores Cláudio, Mauro, Marino, Moacir, Laura, Cristina e Marta, pelos incentivos e constantes ensinamentos que me fizeram crescer.

Aos funcionários do departamento de Ciências Fisiológicas, Vilma, Carlinhos, Nivaldo e Gilza pelo apoio e amizade.

Ao Nivaldo, secretário do curso de pós-graduação em Neurociências e Comportamento, UFSC,, pelo auxílio e atenção.

Aos professores, que compartilharam seus conhecimentos e experiências para que nossa formação fosse também um aprendizado de vida:

| | |
|--|--|
| <i>Profª. Drª. Andréa G. Trentin</i> | <i>Neurobiologia Celular e Molecular</i> |
| <i>Profª. Drª. Carla Tasca e</i> | <i>Neuroquímica</i> |
| <i>Prof. Dr. Rodrigo B. Leal</i> | |
| <i>Prof. Dr. Cláudio A. B. Toledo</i> | <i>Avanços em Neuroanatomia</i> |
| <i>Profª. Drª. Fátima R.M. Barreto</i> | <i>Mecanismo Celular de Ação Hormonal</i> |
| <i>Profª. Drª. Gina S. Morato</i> | <i>Estatística Aplicada à Farmacologia</i> |
| <i>Profª. Drª Marta A. Paschoalini</i> | <i>Neuroendocrinologia</i> |
| <i>Prof. Dr. Mauro Nicolau</i> | <i>Conceitos Básicos de Neurotransmissão</i> |
| <i>Prof. Dr. Moacir S. Faria</i> | <i>Tópicos em neurofisiologia</i> |
| <i>Prof. Dr. José Marino Neto</i> | <i>Neurofisiologia II</i> |

*"Não é o desafio com que nos deparamos
que determina quem somos e o que estamos nos tornando,
mas a maneira com que respondemos ao desafio.
Somos combatentes, idealistas, mas plenamente conscientes,
porque o ter consciência não nos obriga a ter teoria sobre as coisas:
só nos obriga a sermos conscientes.
Problemas para vencer, liberdade para provar.
E, enquanto acreditamos no nosso sonho, nada é por acaso".*

(Henfil)

| | |
|--|------|
| SUMÁRIO..... | v |
| RESUMO..... | vii |
| ABSTRACT..... | viii |
| INTRODUÇÃO..... | 1 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 14 |
| 1. Animais | 15 |
| 2. Detecção imunohistoquímica de pericários contendo 5-HT..... | 15 |
| 2.1 Fixação – Microtomia..... | 15 |
| 2.2 Processamento imunohistoquímico..... | 16 |
| 3. Injeções de 8-OH-DPAT no tegmento pontomesencefálico..... | 17 |
| 3.1 Implantação de cânula-gula..... | 17 |
| 3.2 Injeções no tegmento pontomesencefálico..... | 19 |
| 3.3 Soluções administradas..... | 19 |
| 3.4 Protocolos experimentais..... | 20 |
| 3.4.1 Etapa experimental 1..... | 20 |
| 3.4.2 Etapa experimental 2..... | 22 |
| 3.5 Registro comportamental..... | 22 |
| 3.6 Análise histológica..... | 24 |
| 3.7 Análise dos resultados..... | 24 |
| RESULTADOS..... | 26 |
| 1. Distribuição de pericários 5-HT-IR (5-HT-IRp) no tegmento pontomesencefálico de pombos..... | 27 |
| 1.1 A rafe superior..... | 28 |
| 1.2 O grupo lateral..... | 30 |
| 2. Efeitos de injeções locais de 8-OH-DPAT no tegmento pontomesencefálico..... | 37 |
| 2.1 Experimentos exploratórios..... | 37 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.1.1 | Localização dos sítios de injeção..... | 37 |
| 2.1.2 | Efeitos das injeções de 8-OH-DPAT no tegmento pontomesencefálico sobre o consumo de água e alimento..... | 41 |
| 2.2. | Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) sobre a ingestão de água e sobre os padrões comportamentais de ingestão hídrica..... | 45 |
| 2.2.1 | Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) sobre a ingestão de alimento e sobre os padrões comportamentais de ingestão alimentar..... | 50 |
| 2.2.2 | Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1nmol) sobre as posturas típicas de sono e sonolência..... | 53 |
| 2.2.3 | Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1nmol) sobre os comportamentos de imobilidade alerta, autolimpeza e exploração do ambiente através de movimentos do corpo e da cabeça..... | 56 |
| 2.2.4 | Efeitos do 8-OH-DPAT sobre a correlação entre a ingestão hídrica e de alimentos e de suas proporções..... | 58 |
| 2.3. | Efeitos ingestivos de diferentes doses de 8-OH-DPAT aplicadas nas estruturas da linha média..... | 61 |
| | DISCUSSÃO..... | 65 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 84 |

O presente trabalho descreve os efeitos de injeções locais de 8-OH-DPAT em vários distritos do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto ou 4^o ventrículo de pombos domésticos (*Columba livia*) sobre os comportamentos de ingestão hídrica e alimentar. Uma descrição neuroanatômica da distribuição de pericários 5-HT imunoreativos (5HT-IRp) visando auxiliar o mapeamento funcional realizado por meio de injeções locais de 8-OH-DPAT em distritos do tegmento pontomesencefálico (rafe superior e grupo lateral) indicou que a maioria dos 5-HT-IRp estão localizados em distritos paramedianos e da linha média do tegmento mesencefálico e pontino (rafe superior), ou em áreas do tegmento ventrolateral mesencefálico e dorsolateral pontino, referido como grupo lateral. Os efeitos ingestivos de injeções de 8-OH-DPAT ou de veículo, nestes distritos foram examinados em pombos saciados com livre acesso à água e alimento. Após aplicação destes tratamentos e ao longo de 60 minutos, foram registrados os padrões comportamentais de ingestão de água e alimento (frequência, latência e duração), a latência e a duração das posturas de sono e sonolência, e a duração dos comportamentos de autolimpeza, imobilidade alerta, exploração do ambiente e locomoção, além dos consumos de água e alimento. As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas paramedianas e da linha média e no aqueduto/4^o ventrículo provocaram, efeitos dipsogênicos, de forma consistente, e efeitos hiperfágicos de menor incidência e intensidade. As injeções de 8-OH-DPAT provocaram, de forma dose-dependente, um aumento na quantidade de água ingerida por grama de alimento consumido, indicando uma desorganização do padrão periprandial de ingestão hídrica e um aumento seletivo no consumo de água como consequência deste tratamento. As injeções de 8-OH-DPAT administradas no grupo lateral e em regiões não imunoreativas do tegmento pontomesencefálico não afetaram a ingestão alimentar e hídrica. Além disso, as injeções de 8-OH-DPAT nos diversos distritos estudados não provocaram efeitos hipnagênicos ou alterações nos comportamentos exploratórios. Assim, os resultados obtidos no presente trabalho sugerem: 1) a participação de receptores 5-HT_{1a}, localizados na linha média do tegmento pontomesencefálico na regulação do comportamento de ingestão hídrica em pombos e 2) neurônios serotoninérgicos da rafe superior e do grupo lateral participam de distintos circuitos funcionais.

The present study describes the distribution of serotonin (5-HT) – immunoreactive perikarya (5-HT-IRp) in the pontomesencephalic tegmentum of pigeons and examine the effects of 8-OH-DPAT microinjections into 5-HT-IRp containing districts on feeding and drinking behaviors of this bird. Most of the 5-HT-IRp are located in midline and paramedian districts mesencephalic and pontine tegmentum (superior raphe), or in pontine dorsolateral tegmentum, referred as lateral group. The ingestive effects of 8-OH-DPAT or of vehicle injections into these districts were examined in satiated pigeons with free access to water and food. After these treatments and during 60 minutes, the behavioral pattern of water and food intake (frequency, latency and duration), the latency and the duration of sleep and drowsiness, and the duration of the preening, alert immobility, exploration behaviors and locomotor, besides of water and food consumptions were recorded. 8-OH-DPAT injections administered in the midline and paramedian structures as well as in the aqueduct/4th ventricle reliably provoked dipsogenic effects, and with less incidence and intensity, also hyperphagic effects. This treatment dose-dependent provoked increase in the amount of water ingested by each gram of consumed food, indicating a disruption of the periprandial pattern of water intake and a selective increase in the water intake as consequence of this treatment. 8-OH-DPAT injections administered in the lateral group and in areas containing no 5-HT-IRp did not affect food or water intake. Furthermore, sleep-like and exploratory behaviors were not affected by 8-OH-DPAT treatment in any of these areas examined in the several present study. Thus, present data suggest 1) the participation of 5-HT_{1a} receptors, located in the midline of the pontomesencephalic tegmentum in the regulation of the drinking behavior in pigeons and 2) that the different 5-HT-IRp pontomesencephalic groups (the raphe superior and the lateral group) participate in distinct functional circuits.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, muitas abordagens experimentais têm sido empregadas com o objetivo de investigar os vários mecanismos neurais envolvidos com o comportamento de ingestão de alimento em mamíferos. Estes estudos têm identificado a participação de diversos substratos neurais envolvidos na modulação deste complexo comportamento (Blundell, 1991). Assim, vários sítios hipotalâmicos, como o núcleo ventromedial, o núcleo dorsomedial, o núcleo paraventricular e o hipotálamo lateral constituem regiões de intensa investigação por apresentarem circuitos neurais que controlam o comportamento de ingestão alimentar (Kaira e cols, 1999).

Os fenômenos envolvidos na regulação do comportamento alimentar são integrados principalmente no hipotálamo (ex: Morley, 1987); porém outras estruturas, como a amígdala, o núcleo parabraquial, o núcleo do trato solitário e, de particular interesse neste trabalho, os núcleos da rafe, também participam da regulação deste comportamento (Grossman e Grossman, 1963; Bendotti e Samanin, 1986; Nagai e cols, 1987; Fletcher e Davies, 1990; Fletcher, 1991; Kuenzel e cols., 1999). Outros estudos têm identificado a participação de vários sistemas neurotransmissores, neuropeptídeos e hormônios na ingestão de alimento. Entre esses neurotransmissores merecem destaque às catecolaminas, a serotonina e o glutamato, além de neuropeptídeos como a colecistocinina, a galanina e o neuropeptídeo Y, e hormônios como oxitocina e insulina (para revisão ver: Blundell, 1991; Leibowitz e cols, 1998; Kuenzel e cols, 1999).

Considerável quantidade de evidências se acumularam nas últimas décadas, sugerindo que a serotonina (5-HT) desempenha importante papel

inibitório no controle do comportamento alimentar em mamíferos. Manipulações farmacológicas que reduzem a neurotransmissão serotoninérgica central estimulam a ingestão de alimento. Assim, a depleção de 5-HT induzida pelo inibidor de síntese para-clorofenilalanina (PCPA) ou pela neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) promoveram aumento da ingestão de alimento (Saller e Stricher, 1976; Dourish e cols, 1986a). Além disso, várias evidências experimentais com agentes farmacológicas que acentuam a neurotransmissão serotoninérgica central tem inibido a ingestão de alimento. Assim, a administração de fenfluramina e fluoxetina, que promovem aumento da liberação de 5-HT e inibem sua recaptção, diminuem a ingestão de alimento (Garattini e cols., 1986; Fuller e Wong, 1989). Além disso, a descoberta de receptores 5-HT distintos e o desenvolvimento de ligantes seletivos para os diversos subtipos destes receptores têm auxiliado consideravelmente na compreensão da participação do sistema serotoninérgico no controle do comportamento alimentar. Os resultados experimentais da aplicação sistêmica de agonistas de receptores 5-HT_{1b/2c} e 5-HT_{2a/2c} como mCPP e MK212 respectivamente, sugerem que a estimulação destes receptores reduz a ingestão de alimento em ratos (Clinischmidt e cols, 1978; Kennett e cols, 1987; Dourish, 1992; De Vry, J. e Schreiber, R., 2000).

O envolvimento de receptores 5-HT_{1a} no controle do comportamento ingestivo foi primeiro sugerido por Dourish e cols, (1985a), que observaram que administração subcutânea de 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-(di-n-propylamino) tetralina), um agonista seletivo do receptor 5-HT_{1a} (Middlemiss e Fozard, 1983), aumenta a ingestão de alimento em ratos (Dourish e cols, 1985a e 1986b; Fletcher e Davies, 1990; Fletcher e cols, 1991; Currie e Coscina, 1993). Este

mesmo efeito foi observado em camundongos, gatos e macacos rhesus (Jacobs e cois, 1989; Pomerantz, 1990; Shepherd e cols, 1990).

Além disso, injeções de 8-OH-DPAT na rafe mediana e dorsal (locais que contêm pericários serotoninérgicos), aumentam significativamente a ingestão de alimento em ratos (Bendotti e Samanin, 1986; Hutson e cols, 1986; Fletcher e Davies, 1990; Fletcher, 1991; Currie e Coscina, 1993). O efeito hiperfágico do 8-OH-DPAT é bloqueado pela depleção central de 5-HT (Dourish e cois, 1986a; Bendotti e Samanin, 1986), sugerindo que uma redução na neurotransmissão de 5-HT pelo 8-OH-DPAT está implicada no comportamento ingestivo observado. Estes dados são consistentes com o papel inibitório exercido pela 5-HT no controle do comportamento alimentar (Blundell, 1984; 1986).

O 8-OH-DPAT atua em receptores 5-HT_{1a}, que podem estar localizados pré- ou pós-sinapticamente aos terminais serotoninérgicos ou em corpos celulares e dendritos de neurônios serotoninérgicos do tronco cerebral, sendo então denominados de auto-receptores somato-dendríticos. A ativação de receptores somato-dendríticos por um agonista de receptores 5-HT_{1a} hiperpolariza a membrana celular acarretando uma redução nos disparos de neurônios serotoninérgicos, bem como a redução da síntese e liberação de 5-HT nos campos terminais destas células (ver, e.x. Martin e cois., 1999).

A participação serotoninérgica na regulação da ingestão hídrica é um assunto menos explorado, quando comparado com a quantidade de estudos investigando o envolvimento deste sistema na ingestão alimentar. Estudos têm demonstrado efeitos dipsogênicos após administração sistêmica de agonistas

serotoninérgicos e de PCPA (para-clorofenilalanina), um inibidor seletivo da síntese de 5-HT, em ratos (Kikta e cols., 1983; Montgomery e cols., 1986; Reis e cols., 1994) . Além disso, considerável quantidade de evidências tem sugerido que a ativação serotoninérgica periférica interage com o sistema renina-angiotensina para induzir um efeito dipsogênico em mamíferos (Simansky, 1996a). Em ratos, a manutenção do efeito dipsogênico induzido pela administração sistêmica de 5-HT depende da integridade do órgão subfornical e do vago abdominal (Simansky e cols., 1982; Hubbard e cols., 1989).

Além disso, outros estudos sugerem papel inibitório das vias serotoninérgicas centrais no comportamento de ingestão de água em mamíferos. Em ratos, lesões do núcleo dorsal da rafe provocam um aumento significativo na ingestão de água (Tangaprégasson e cols., 1973 e 1974; Reis e cols., 1994). Os resultados experimentais da depleção serotoninérgica central pelo PCPA revelaram aumento significativo e sustentado da ingestão de água (Shisheva e cols., 1987). Já as injeções i.c.v. de MK 212 (agonista de receptores 5-HT_{2a/2c}) provocaram redução na ingestão hídrica em ratos submetidos à privação de água (Reis e cols., 1990).

Também tem sido demonstrado que injeções centrais de agonistas 5-HT inibem a ingestão de sódio em mamíferos. Assim, a ingestão de água e de NaCl induzida pela injeção central de angiotensina II (AngII) foi potenciada pela injeção de metisergida (um antagonista de receptor 5-HT₁/5-HT₂) na área parabraquial, enquanto que injeções de 5-HT ou DOI (1-(2,5-dimetoxi-4-iodofenil)2-aminopropane - um agonista de receptor 5-HT_{2a/2c}.) suprimiram a ingestão

induzida por injeções i.c.v. de AngII (Menani e Johnson, 1995; Colombari e cols., 1996; Menani e cols., 1996). Estes resultados sugerem que, em mamíferos, os mecanismos serotoninérgicos centrais podem interagir com circuitos angiotensinérgicos, envolvidos no equilíbrio hidromineral, e exercer papel inibitório na ingestão de água e sódio.

Os pericários contendo 5-HT no cérebro estão localizados principalmente no tronco cerebral de mamíferos. Os estudos originais de Dahistrom e Fuxe (1964) identificaram nove grupos de células contendo serotonina no tronco cerebral de ratos, que foram classificados por meio dos caracteres alfanuméricos B1-B9. Com exceção do grupo B9 (núcleo supralenmiscal), cujos pericários estão localizados dentro ou dorsalmente ao lemnisco medial, todos os outros grupos estão localizados na linha média e são designados como núcleos da rafe. Contudo, as designações alfanuméricas sugeridas por estes investigadores foram ao longo do tempo sendo substituídas por nomes que refletem suas localizações ou características anatômicas. Neste sentido, dois grupos distintos de células contendo serotonina e distribuídos na linha média do tegmento pontomesencefálico têm sido tradicionalmente identificados em ratos como núcleo dorsal da rafe (B7) e núcleo mediano da rafe (B8), separados dorsoventralmente pelo fascículo longitudinal medial (Sawchenko e cols, 1983). Além disso, de acordo com processos de migração celular no início do desenvolvimento neural, estes grupos de células contendo 5-HT foram subdivididos em dois grupos, a rafe superior e a rafe inferior (Wallace e Lauder, 1983; Jacobs e Azmitia, 1992). O grupo inferior, que inclui os núcleos magno, pálido e obscuro da rafe, além dos 5-HT-IRp da medula oblonga ventrolateral e da área postrema, mandam projeções

descendentes para alvos do tronco cerebral e medula espinhal enquanto que o grupo superior, que inclui o núcleo linear caudal, o núcleo supralenmiscal e o núcleo dorsal e mediano da rafe emitem projeções ascendentes para o mesencéfalo, diencéfalo e telencéfalo (Vertes, 1991; Jacobs e Azmitia, 1992; Vertes e cols., 1999).

Em mamíferos, os atributos hodológicos do sistema serotoninérgico têm sido amplamente estudados. Evidências obtidas por meio de neurotraçadores retrógrados em ratos indicam que distritos da rafe mediana e paramediana recebem projeções de grande número de regiões telencefálicas e hipotalâmicas e relativamente poucas projeções do tronco encefálico (Behzadi e cols, 1990). Outros estudos com neurotraçadores anterógrados têm demonstrado que as projeções dos núcleos das rafe mediana e dorsal estão amplamente distribuídas por todo o cérebro, principalmente para o prosencéfalo (Vertes e cols, 1991 e 1999). Muitas das projeções serotoninérgicas do núcleo mediano da rafe inervam o núcleo posterior e a região perifornical do hipotálamo, a habênula lateral, o septo mediai e a formação hipocampal, enquanto que projeções serotoninérgicas do núcleo dorsal da rafe projetam principalmente para sistemas motor-gânglios da base (Vertes e cols, 1991 e 1999).

Os estudos neuroanatômicos do sistema serotoninérgico em mamíferos (Steimbusch, 1981), aves (Yamada e cols, 1984), répteis (Smeets e Steimbusch, 1988), anfíbios (Parent, 1981) e peixes (Pierre e cols, 1992) têm demonstrado um padrão idêntico de distribuição topográfica de pericários imunoreativos a serotonina (5-HT-IRp) presentes no tronco cerebral. Assim, a distribuição de

pericários 5-HT e sua rede de projeções parecem ter permanecido notavelmente estáveis através da evolução dos vertebrados (Parent, 1981; Jacobs e Azmitia, 1992).

A primeira evidência indicativa da existência de pericários contendo 5-HT no cérebro de aves foi obtido no pombo (*Columba livia*) (Fuxe e Ljunggren (1965), utilizando o método de fluorescência induzida por formaldeído (FIF) (Faick, 1962). Modificações subseqüentes deste método forneceram uma descrição mais acurada do sistema serotoninérgico em aves (e.x., os estudos realizados em galinhas por Dube e Parent, 1981). Contudo, apesar do desenvolvimento de técnicas imunohistoquímicas ter provocado um acúmulo considerável de informações sobre a distribuição e hodologia dos sistemas serotoninérgicos em mamíferos, tais atributos foram raramente examinados com estas técnicas em aves. A maioria destes poucos estudos foram realizados em galinhas (e.x., Yamada e cois, 1984; Yamada e Sano, 1985; Hirunagi e cois, 1992) ou em codornas (Cozzi e cois.,1991).

Em aves, além da presença de 5-HT-IRp na linha média, foi verificada a ocorrência destes elementos em distritos mais laterais em relação à linha média, principalmente, na região dorsal do tegmento pontino (Dubé e Parent, 1981; Challet e cols.,1996). Em mamíferos, esta distribuição mais lateral de 5-HT-IRp também ocorre, porém em menor grau quando comparado com os estudos realizados em aves (Parent, 1981; Steinbusch, 1981). De modo semelhante ao observado em mamíferos, os neurônios serotoninérgicos em muitas espécies de aves podem ser observados principalmente nos núcleos da rafe, em distritos mais

laterais do tronco cerebral e em um órgão circumventricular, o órgão paraventricular (Yamada e cols, 1984; Cozzi e cols, 1991; Chalet e cols, 1996).

Os estudos realizados por Challet e cols. (1996) constituem, até o momento, a única descrição extensiva da distribuição de pericários e fibras imunoreativas à serotonina (5-HT-IR) no sistema nervoso central de pombos utilizando ambos métodos imunohistoquímico e de imunofluorescência. Resultados deste estudo indicaram que a grande maioria dos pericários imunoreativos à serotonina (5-HT-IRp) está distribuída principalmente ao longo da linha média do tegmento mesencefálico, pontino e bulbar. Além disso, foram observados numerosos pericários distribuídos lateralmente à linha média e ocupando principalmente a região dorsal do tegmento pontino. Em adição, 5-HT-IRp também estão presentes no hipotálamo, ocupando um órgão circumventricular (o órgão paraventricular) e o recesso infundibular. Este estudo também revelou a presença de fibras e terminais, amplamente distribuídos em todo o telencéfalo, diencéfalo e tronco cerebral.

Outros estudos focalizaram a distribuição de fibras 5-HT-IR em regiões mais restritas do sistema nervoso central de pombos, como no núcleo do trato solitário (Berk e cols., 1993), no órgão paraventricular do terceiro ventrículo (Hirunagi e cols, 1992) e em distritos telencefálicos (Shimizu e Karten, 1990; Ritters e cols., 1999).

Embora os estudos acima referidos indiquem ampla distribuição de fibras 5-HT-IR no sistema nervoso central de pombos, a organização hodológica deste sistema não tem sido investigada sistematicamente. Até o momento, técnicas de

traçamento neural associadas a imunohistoquímica para a 5-HT, destinadas ao exame da origem da inervação serotoninérgica a um dado distrito neural, foram utilizadas em apenas um estudo (Toledo e cols., 1995), que descreve projeções serotoninérgicas ao núcleo da raiz óptica basal, originadas de distritos medianos e paramedianos da rafe em pombos.

Em aves, os efeitos da aplicação central de 5-HT sobre comportamentos ingestivos foram pouco estudados e tais investigações resultaram em dados conflitantes, que sugerem que os efeitos da 5-HT sobre a ingestão de alimentos parecem depender da linhagem estudada. Injeções ICV de 5-HT em frangos Leghorn (selecionados para ovoposição e com baixo ganho de peso) e perus, saciados ou submetidos a jejum de 24 horas, provocaram redução na ingestão de alimentos (Denbow e cols, 1983; Denbow, 1984). Em contraste, o mesmo tratamento aplicado em frangos de corte submetidos a jejum de 24 horas ou saciados, respectivamente, não altera ou provoca uma redução modesta na ingestão de alimentos (Denbow e cols, 1982). Assim, frangos selecionados geneticamente para engorda/corte parecem pouco reativos aos efeitos hipofágicos da 5-HT.

Estudos em nosso laboratório têm examinado sistematicamente o papel de circuitos serotoninérgicos na ingestão de alimentos e de água em pombos. Assim, a aplicação i.c.v. de 8-OH-DPAT provocou efeito hiperfágico potente e dose-dependente em pombos saciados (Steffens e cols, 1997). Por outro lado, a administração i.c.v. de 5-HT provocou redução no consumo de alimentos (Steffens e cols, 1997; Sell, 2000; Andriani, 2000). A injeção i.c.v. de DOI (um

agonista de receptores 5-HT_{2a/2c}) diminuiu o consumo de alimento em pombos privados de alimento por 24 horas (Steffens e cols, 1997) e a Injeção i.c.v de MK212 (agonista de receptores 5-HT_{2a/2c}) ou de mCPP (agonista de receptores 5-HT_{1b/2c}) reduz a ingestão de alimentos provocada pela injeção i.c.v. de adrenalina (Sell, 2000). Em adição, a administração de 5-HT no núcleo paraventricular induziu resposta hipofágica em pombos privados de alimento enquanto que administração de metergolina, um antagonista não seletivo, produz resposta hiperfágica em pombos saciados (Silva, 2001).

Os dados acima sugerem que a atividade de circuitos serotoninérgicos centrais em pombos tem, à semelhança do observado em mamíferos, um papel inibitório sobre a ingestão de alimentos e que a ativação de receptores 5-HT_{1a} nesses animais, também à semelhança do que ocorre em mamíferos pode provocar uma intensa ingestão de alimentos.

Um outro efeito serotoninérgico observado em experimentos anteriores do nosso laboratório está relacionado à ingestão de água em pombos. Nestes estudos, foi demonstrado que a administração i.c.v. de 5-HT e de 8-OH-DPAT em pombos saciados provocou intensa ingestão de água, que atingiu volume total de água ingerida equivalente à cerca de 10% do peso corporal dos animais estudados. (Steffens e cols, 1997; Sell, 2000; Andriani, 2000; Brun e cols., 2001). Este efeito foi acompanhado por alterações dos padrões comportamentais de ingestão hídrica, ou seja, ocorreu redução na latência para iniciar este comportamento e aumento na sua duração total. Além disso, o aumento no consumo de água obtido após aplicação do 8-OH-DPAT e 5-HT foi verificado ser

dose-dependente. Os dados acima sugerem que as atividades de circuitos serotoninérgicos centrais em pombos têm, à semelhança do observado em mamíferos, papel inibitório sobre a ingestão de água.

Assim, os dados acima referidos indicam envolvimento de circuitos serotoninérgicos no sistema de controle da ingestão de alimento e da ingestão de água em pombos. Contudo, até o presente momento, faltam informações sobre a possível participação de estruturas do tegmento pontomesencefálico, contendo 5-HT-IRp, na regulação dos comportamentos de ingestão alimentar e hídrica nestes animais.

Portanto, no presente trabalho procuramos investigar a possível participação de receptores 5-HT_{1a} do tegmento pontomesencefálico no controle da ingestão de alimentos e de água em pombos domésticos por meio do mapeamento dos efeitos de injeções locais de 8-OH-DPAT nos diferentes distritos do tegmento pontomesencefálico sobre estes comportamentos. Além disso, como auxílio a este mapeamento funcional, realizamos também uma descrição neuroanatômica da localização de pericários contendo serotonina no tegmento pontomesencefálico por meio de métodos imunohistoquímicos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. ANIMAIS

Foram utilizados pombos domésticos (*Columba livia*) adultos, de ambos os sexos, com peso entre 300 a 400 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Antes e após a cirurgia, os pombos foram mantidos em gaiolas individuais no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS/CCB – UFSC), com ciclo de claro/escuro de 12/12 horas (período de escuro iniciando-se às 19 horas), com temperatura mantida entre 22 à 25° C. Estes animais tiveram livre acesso a água e ração granulada para aves (formulação para aves em crescimento, da SUPRA Ltda, Itajaí, SC.) Os experimentos foram realizados respeitando-se os princípios éticos de experimentação animal, postulados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1991), e foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) da UFSC (Protocolo 080/CEUA).

2. DETECÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DE PERICÁRIOS CONTENDO 5-HT

Procedimentos experimentais

2.1 Fixação – Microtomia

Para a análise da distribuição de pericários imunoreativos a 5-HT (5-HT-IRp), os animais (n=3) foram anestesiados com quetamina (Ketalar, 5mg/ 100g de peso corporal, i.m.) e xilazina (Rompun, 1mg/ 100g de peso corporal) e foram perfundidos transcordialmente (ventrículo esquerdo) com 200ml de solução de NaCl a 0,9% em tampão fosfato 0,1M (pH 7,4) seguido por 450ml de

paraformaldeído (PFA) a 4% em tampão fosfato 0,1M (pH 7,4). Após a dissecação, os cérebros foram mantidos no mesmo fixador por 12 horas e posteriormente imersos em tampão fosfato com sacarose a 30% à temperatura de 4°C por pelo menos 24 horas. Os cérebros foram seccionados no plano frontal com uma espessura de 35µm em um micrótomo de congelamento, e os cortes foram sequencialmente recolhidos em um recipiente com 6 compartimentos contendo tampão fosfato 0,1M, pH 7,4 e posteriormente mantidos a 4°C.

2.2 Processamento Imunohistoquímico

Inicialmente, os cortes selecionados para imunohistoquímica foram lavados em solução tampão fosfato 0,1M a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, os cortes foram incubados no anticorpo primário contra 5-HT (feito em coelho - Incstar, Corp., Stillwater, MN) diluído 1:10000 numa solução de Triton-X-100 0,3% em tampão fosfato 0,1M por 12 horas a 4°C. Após esta etapa os cortes foram novamente lavados em tampão fosfato durante 30 minutos à temperatura ambiente. A presença das imunoglobulinas anti-5-HT foram reveladas pelo anticorpo secundário biotilado anticoelho (Jackson Immuno Research Labs., Inc., West Grove, PA) diluído (1:250) em Triton-X-100 0,3% em tampão fosfato 0,1M, no qual os cortes foram incubados por 1 hora. Em seguida, os cortes foram novamente lavados e incubados por 1 hora em uma solução contendo o complexo avidina-biotina-peroxidase (Kit ABC ELITE, Vector Labs., Burlingame, CA) para revelação do anticorpo primário. Posteriormente, os cortes foram imersos numa solução contendo diaminobenzidina (0,05%) em tampão fosfato 0,1M por 15 minutos e acrescentou-se imediatamente o peróxido de

hidrogênio (0,01%), mantendo-se os cortes nesta solução até evidenciar-se a reação. A seguir, os cortes foram novamente lavados em tampão fosfato 0,1M para remoção do excesso de reagente. Uma vez montados em lâminas, os cortes foram banhados em tetróxido de ósmio 0,1% por 30 segundos, tratados com uma série de álcoois em concentrações crescentes, xilol e finalmente cobertos com lamínula tendo como meio de montagem o Permount (Fischer). Cortes adjacentes foram corados pela técnica de Giemsa para avaliação e delineamento dos diferentes núcleos do tegmento pontomesencefálico. Os cortes foram observados através de um microscópio óptico (Olympus, BH2) dotado de câmara clara. Além disso, para preparação das fotomicrografias alguns cortes foram selecionados e submetidos a um analisador de imagens (Image – Pro Plus, Media Cybernetics) utilizando-se uma câmera digital (DXC – 107 A, Sony).

A nomenclatura utilizada para identificar as diferentes regiões do tegmento pontomesencefálico foi derivada principalmente da descrição da distribuição de pericários 5-HT-IR realizada por Challet e cols (1996) e do atlas estereotáxico de Karten e Hodos (1967).

3. INJEÇÕES DE 8-OH-DPAT NO TEGMENTO PONTOMESENFÁLICO

3.1 Implantação de cânula-guia

Para a implantação da cânula-guia, os pombos foram anestesiados com uma solução de Equitesin (0,15ml/100g) injetado por via intraperitoneal (i.p.). Em seguida, os animais foram fixados em um aparelho estereotáxico (David Kopf

Instruments), tendo a cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo e no bico. Após a assepsia com álcool iodado, uma incisão longitudinal foi realizada no escalpo para a exposição da calota craniana. A seguir, uma cânula-guia feita a partir de um segmento de agulha hipodérmica, com 0,7 mm de diâmetro externo e 18 mm de comprimento foi posicionada 1 mm acima da região de interesse conforme as coordenadas do atlas estereotáxico para pombos (Karten e Hodos, 1967). De acordo com este atlas e com os dados imunohistoquímicos do presente trabalho e de Challet e cols (1996), os distritos contendo pericários 5-HT estão localizados em coordenadas distribuídas ao longo dos seguintes parâmetros estereotáxicos:

plano frontal - entre 1.0 mm a 4.0 mm anterior à linha interaural

plano sagital – da linha média até 2.0 mm lateral

plano horizontal – entre 5 mm a 6 mm abaixo da dura mater

Na posição previamente determinada foi realizado um orifício na calota craniana com auxílio de uma broca esférica de uso odontológico e 2 a 3 parafusos de aço inoxidável foram distribuídos e fixados ao redor deste orifício. Após implantar a cânula-guia, o orifício aberto no crânio foi preenchido com fibrina do plasma de sangue bovino (Fibrinol, Baldacci). Posteriormente, foi acrescentado acrílico autopolimerizável de uso odontológico no orifício e na calota craniana. Este conjunto envolvido pelo acrílico proporcionou estabilidade e fixação da cânula-guia e formou uma estrutura sólida capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola.

3.2 Injeções no tegmento pontomesencefálico

As injeções nos diferentes distritos do tegmento pontomesencefálico foram realizadas por meio de uma agulha injetora (Mizzi-Slide-Park, 30G) introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno a uma microsseringa Hamilton de 1µl. Estas agulhas injetoras apresentavam medidas de comprimento que excediam o comprimento da cânula-guia em 1, 2, 3, 4 ou 5 mm, de modo a permitir injeções em pelo menos 5 pontos distintos no mesmo animal. As soluções foram administradas num período de 1 minuto, sendo que o volume injetado foi sempre de 200 nl. Entre cada tratamento a que o pombo foi submetido houve um intervalo mínimo de 48 horas.

3.3 Soluções administradas

De acordo com o pertinente a cada protocolo experimental, as seguintes drogas e doses foram utilizadas:

- Solução de ácido ascórbico 1%; pH= 2,8. Foi utilizada em experimentos de controle e como solvente na preparação da solução de 8-OH-DPAT.
- Solução isotônica de cloreto de sódio 0,9%; pH= 5,5. Solução utilizada como controle em alguns experimentos realizados com injeções no aqueduto e no 4^o ventrículo (ver adiante).
- Solução de líquido cefalorraquidiano artificial. Composição em mEq/l : Na⁺ (155), K⁺ (3,7) , Ca⁺⁺ (2,5), Mg⁺⁺ (2,1), Cl⁻ (140) e HCO₃⁻ (23) ; pH= 8,0. Solução utilizada como controle em alguns experimentos realizados com injeções no aqueduto e no 4^o ventrículo (ver adiante).

- Solução de 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin) nas concentrações de 0,6 , 2,0 e 6.1 nmol em 200nl de ácido ascórbico. Estas doses foram derivadas de experimentos realizados em nosso laboratório por Steffens e cois (1997). Estes estudos demonstraram que injeções i.c.v de 8-OH-DPAT na dose de 30,5 nmol em 1 μ de ácido ascórbico (isto é, 6,1 nmol em 200 nl no presente estudo) foram efetivas em induzir um aumento na ingestão de alimentos e de água em pombos. O 8-OH-DPAT foi adquirido da RBI – Research Biochemicals International, Natick, MA, USA.

3.4 Protocolos experimentais

3.4.1 Etapa experimental 1

Numa primeira etapa foram realizadas injeções de 8-OH-DPAT (6.1 nmol/animal) nos diversos distritos do tegmento pontomesencefálico com o objetivo de identificar e mapear as regiões possivelmente envolvidas com os efeitos desta droga na ingestão hídrica e de alimentos em pombos.

Os experimentos foram iniciados sete dias após a implantação da cânula-guia. Um dia antes da realização do tratamento com 8-OH-DPAT ou veículo, os pombos eram transferidos para uma sala de observação com as mesmas condições de temperatura ambiente, luminosidade (ciclo claro/escuro), e água e ração *ad libitum* do Biotério Setorial do CFS, proporcionando desta forma ao animal um período de adaptação ao ambiente experimental. Todos os procedimentos experimentais foram realizados entre as 11:30 e 13:30 horas.

Imediatamente após a injeção de 8-OH-DPAT ou do veículo, os animais retornaram às suas gaiolas e receberam quantidades definidas de água e ração. Ao longo de 60 minutos após estes tratamentos, eram registrados em protocolos de papel os comportamentos emitidos pelo animal (ver tabela 1) por meio de observação visual direta através de uma pequena janela (30 X 15 cm) da sala de observação. Ao final deste período, a água e ração consumida foram quantificadas.

Os experimentos realizados em um determinado ponto de injeção foram iniciados sempre com a administração da dose de teste de 8-OH-DPAT (6,1 nmol). Quando este tratamento provocava um aumento na ingestão de água e/ou de alimento (ver critérios abaixo), o mesmo ponto de injeção era submetido à aplicação do veículo (48 h após a injeção do 8-OH-DPAT). A viabilidade deste mesmo ponto de injeção era testada 48 h após com uma terceira injeção, usando a mesma dose de teste do 8-OH-DPAT. Os pontos de injeção em que a primeira aplicação de 8-OH-DPAT não desencadeava efeitos ingestivos não recebiam injeções de veículo, e os testes prosseguiam no ponto de injeção imediatamente ventral ao anterior. Foram preliminarmente considerados como efeitos (i.é, aumentos na ingestão) da droga, o consumo de no mínimo 4,4 g de comida e/ou de no mínimo 5,2 ml de água. Estes valores foram determinados em um estudo anterior (Ravazio e cols, 1991) no qual o consumo de água e alimentos, no mesmo horário do dia em que os presentes experimentos foram desenvolvidos, foram avaliados em 22 pombos não tratados com droga, e representam a média (alimento: 1,6 g e água: 2,2 ml) do consumo em uma hora somada ao dobro do desvio padrão (alimento: $\pm 1,4$ g e água: $\pm 1,5$ ml) obtido nestes animais.

3.4.2 Etapa experimental 2

Na segunda etapa do experimento foram testados os efeitos ingestivos de diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol ou veículo) nas estruturas da linha média do tegmento pontomesencefálico. O tratamento nesta etapa experimental iniciou com injeção de 8-OH-DPAT na dose de 6.1 nmol seguido por salina na sessão experimental posterior e numa próxima sessão com a dose de 8-OH-DPAT de 2,0 ou 0,6 nmol. Assim, cada animal recebeu apenas 3 injeções no mesmo local. Os demais procedimentos experimentais foram similares aos descritos para a etapa 1.

3.5 Registro comportamental

Após a injeção de 8-OH-DPAT ou de veículo os padrões comportamentais de ingestão (duração, frequência e latência) e outros comportamentos exibidos pelo animal foram registrados durante 60 minutos. Os critérios de identificação desses comportamentos estão de acordo com o catálogo comportamental apresentado na tabela 1, cujos ítems foram definidos e testados em experimentos anteriores do nosso laboratório (Hagemann e cols., 1998; Steffens e cols. 1997).

Tabela 1 – Definições dos comportamentos registrados.

| | |
|---|---|
| Imobilidade alerta | O pombo fica imóvel, com a cabeça elevada, olhos abertos e fixos com movimentos de piscar muito rápidos, sem fechar totalmente os olhos. |
| Postura típica de sono | O animal permanece com olhos fechados, com cabeça fletida e apoiada sobre o peito, retração do pescoço, penas do peito arrepiadas, eventualmente apoiadas sobre uma das pernas ou deitado sobre o piso da gaiola ou no poleiro. |
| Postura típica de sonolência | O pombo permanece completamente imóvel, cabeça baixa, olhos fixos e piscando lentamente. |
| Explorar o ambiente com movimento do corpo | O animal se locomove rapidamente ou lentamente sobre o poleiro ou sobre o piso da gaiola. |
| Explorar o ambiente com movimento da cabeça | O pombo faz movimentos lentos ou rápidos da cabeça, porém o restante do corpo permanece imóvel. |
| Autolimpeza | Compreende o movimento de esfregar o bico (ou bicar) nas penas de qualquer parte do corpo. |
| Comer | Constitui o comportamento de deglutição, quando o animal ingere alimento sólido, bicando repetidamente o conteúdo do comedouro. |
| Beber | O pombo mergulha o bico na água e a bebe intensa e rapidamente com uma vigorosa ação de bombeamento do papo podendo ingerir grandes quantidades de água em um curto espaço de tempo. |

3.6 Análise histológica

Completados os procedimentos experimentais, os animais foram anestesiados com Equitesin. A seguir, foram administradas injeções do corante azul de Evans (200 nl) nos mesmos locais e da mesma forma como efetuado com as injeções de 8-OH-DPAT ou veículo. Posteriormente, os animais foram perfundidos transcordialmente (ventrículo esquerdo) com salina (0,9%) seguida por solução de formol a 10%. O cérebro foi imediatamente removido e submetido a microtomia no plano frontal (cortes de 100 μ m de espessura) em vibrátomo (Campdem Instruments). Os cortes foram então montados em lâminas de vidro tratadas com gelatina e alúmen de cromo e colocados para secar a temperatura ambiente por cerca de cinco dias. A seguir, os cortes foram corados pela tionina, tratados com uma série de álcoois em concentrações crescentes, clareados em xilol e finalmente cobertos com lamínulas tendo como meio de montagem o Permount (Fischer). A seguir, os cortes foram observados para localização e documentação dos pontos de injeção através de um microscópio óptico (Olympus, BHS) dotado de câmara clara.

3.7 Análise dos resultados

Para análise estatística dos efeitos da injeção de 8-OH-DPAT nos diferentes distritos pontomesencefálicos e no aqueduto ou 4^o ventrículo os dados foram previamente submetidos ao teste de Levene para avaliarmos a homogeneidade das variâncias. O resultado obtido neste teste indicou que as variâncias de todos os índices registrados não apresentaram homocedasticidade,

o que impôs o uso de testes não-paramétricos. Assim, os dados obtidos na etapa experimental 1 e 2 foram submetidas à ANOVA de uma via não paramétrica (Kruskal-Wallis) seguido pelo teste post hoc de Mann-Whitney. Em todos estes métodos estatísticos o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

1. Distribuição de pericários 5-HT-IR (5-HT-IRp) no tegmento pontomesencefálico de pombos

Descrições anteriores da distribuição de 5-HT-IRp no cérebro de aves (pombos: Challet e cols., 1996; codornas: Cozzi e cols., 1991; galinhas: Yamada e cols., 1984, indicam que os grupamentos mais rostrais de tais corpos celulares estão presentes no hipotálamo, ocupando um órgão circumventricular (órgão paraventricular - PVO) e o recesso infundibular. A grande maioria dos 5-HT-IRp está localizada em distritos da linha média e paramedianos do tegmento mesencefálico, pontino e bulbar, descritos coletivamente como sistema da rafe. Este sistema foi subdividido em um complexo inferior (ou rafe inferior, Challet e cols., 1996 e Yamada e cols., 1984, que inclui os grupos de 5-HT-IRp do rombencéfalo caudal, e em um subsistema superior (ou rafe superior) que inclui os grupamentos existentes na linha média da região pontina e mesencefálica. Numerosos 5-HT-IRp são também encontrados em uma coluna de células localizadas no tegmento dorsolateral pontino; este conjunto de distritos é referido como grupo lateral. A presente descrição limita-se às regiões que foram exploradas por meio de injeções de 8-OH-DPAT no pombo, isto é, aos distritos pertencentes à rafe superior e ao grupo lateral, e visou guiar e contribuir com a análise de tais locais de injeção e de seus efeitos ingestivos.

1.1 A rafe superior

O grupamento mesencefálico mais rostral de 5-HT-IRp consiste em uma moderada concentração de células localizadas no AVT e na região imediatamente medial ao nervo oculomotor (zp-NIII) (figura 1F). Mais caudalmente, estas células ocupam distritos dorsolaterais imediatamente adjacentes ao n. Interpeduncularis (zp-IP, ver figuras 2B e 1E). Estas células são pequenas (8 - 16 μm em seu maior diâmetro), ovais ou fusiformes, bi- ou multipolares, com poucos processos pobremente marcados; a densidade da marcação nestes pericários varia de fraca a moderada.

Dorsalmente à zp-IP, na transição pontomesencefálica, surge um denso grupo de 5-HT-IRp ocupando o n. Annularis (imediatamente ventral ao n. oculomotor e ao fascículo longitudinal medial) e espalhados ao longo da linha média entre as fibras da decussação do pedúnculo cerebelar superior (o n. da decussação do brachium conjunctivum, ou nDBC) (ver figuras 2B e 1D).

O grupamento de células observadas no n. Ann prossegue caudalmente para ocupar o n. tegmental ventral (Gudden, TV), localizado ventralmente ao n. troclear (Figuras 3A e 1B). Na região imediatamente caudal e ventral ao nDBC, ao longo de todo o tegmento rostral pontino, uma densa população de 5-HT-IRp forma dois cordões paralelos, alinhados ao longo da linha média e que ocupam o n. linearis caudalis (LC). Numerosos pericários marcados foram também observados no n. central superior (CS), que ocupa a região paramediana entre o LC e é limitado lateralmente pelas fibras do brachium conjunctivum descendens (BCD) (ver figuras 2D e 1C). No terço caudal do tegmento pontino, ventralmente

ao LC, numerosos 5-HT-IRp concentram-se no n. raphe superior, pars ventralis (Rasv) (ver figuras 3D e 1B). Os pericários marcados observados no LC, CS, Rasv e TV apresentam-se com morfologia e dimensões similares aos observados no n. Ann, no nDBC e no AVT.

Em níveis imediatamente caudais ao n. oculomotor e ao longo de toda a extensão rostrocaudal do n. troclear, um grupo de células densamente marcadas, de tamanho médio (16-24 μm), ovais e fusiformes, se agrupam no tegmento ventrolateralmente adjacente ao fascículo longitudinal mediai (FLM). Estes pericários alinham-se em colunas dispostas dorsoventralmente, entre os fascículos mais laterais do FLM, e entre a face medial do FLM e o epêndima adjacente ao IV ventrículo (ver figuras 3A e 1C). Este grupo de pericários continua-se caudalmente formando um denso aglomerado de 5-HT-IRp aposto dorsolateralmente ao polo caudal do n. IV (ver figuras 4C e 1B). Este conjunto de pericários é coletivamente denominado de zona peri-FLM (zp-FLM). Numerosos processos que emergem destes pericários, especialmente os localizados entre o FLM e o epêndima e os do grupamento caudal ao n.IV, puderam ser observados formando densos grupos de fibras distribuídas nas camadas sub- e supra-ependimárias. Muitos destes processos dispõem-se paralelamente à superfície ventricular e se agrupam de forma especialmente densa nos aspectos mais mediais das paredes aquedutais e ventriculares, ostentando varicosidades ovais densamente imunoreativas e regularmente espaçadas ao longo do seu percurso (ver figuras 4B e 1B).

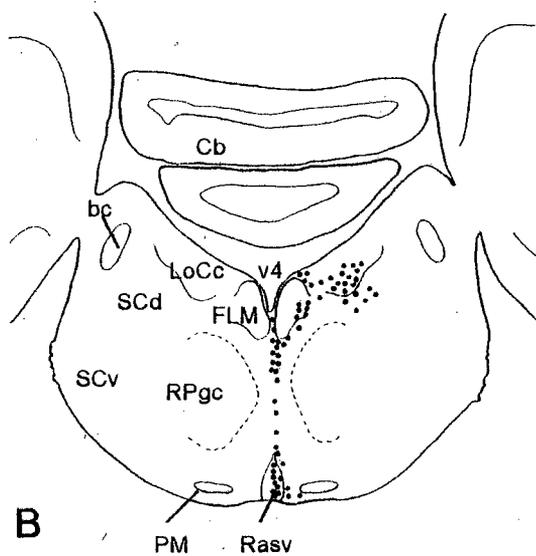
1.2 O grupo lateral

Uma coluna lateral de pericários intensamente marcados pode ser observada estendendo-se desde níveis mesencefálicos rostrais ao n. oculomotor até o terço caudal da ponte. Tais neurônios são ovais ou poligonais, de tamanho médio ou grande (16 a 32 μm), e ostentam processos densamente marcados formando arborização bi- ou multipolar sem direção preferencial. O componente mais rostral deste grupo consiste em poucas células esparsas pelo aspecto mais ventral da formação reticular magnocelular mesencefálica (FRM) e, em continuação a esta no sentido ventrolateral, num agrupamento mais denso de pericários ocupando o n. tegmental ventrolateral (VT), localizado caudalmente ao n. da raiz óptica basal e ventralmente ao n. tegmental pedunculopontino (TPc) (ver figuras 2C e 1E).

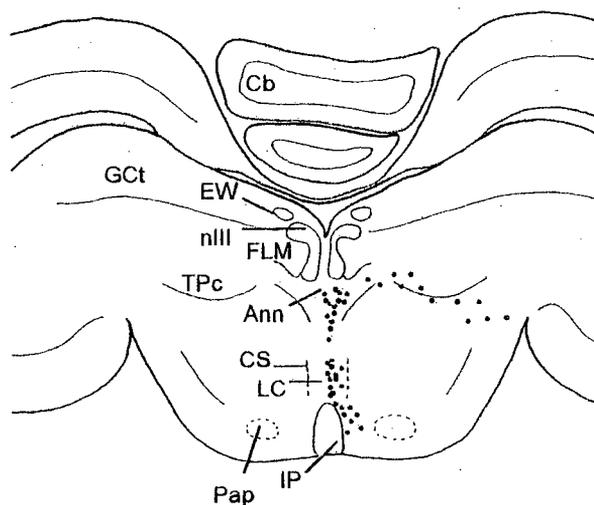
Este conjunto esperso de pericários prossegue caudalmente ocupando uma região de difícil delimitação, situada entre os aspectos ventrais do TPc e os distritos dorsolaterais do n. reticularis pontis oralis (RPO). Em níveis ao longo de toda a extensão rostrocaudal do n. troclear, este conjunto de células aumenta gradativamente em número, e passa a ocupar o tegmento dorsolateral pontino nos distritos rostrais do locus coeruleus (LoCr) e, de forma mais esparsa, no n. subcoeruleus dorsalis (SCd) (ver figuras 3A e 1B). Nestes níveis, células marcadas puderam ser observadas no LoCr ventral ao terço medial do n. isthmo opticus (IO), mais lateralmente. No seu extremo medial, este conjunto de células confunde-se gradualmente com os pericários da ZP-FLM. Em níveis caudais ao n. troclear, estas células concentram-se na região caudal do locus coeruleus.

(LoCc), agrupando-se de forma particularmente densa na metade ventral deste distrito (ver figuras 3C e 1A).

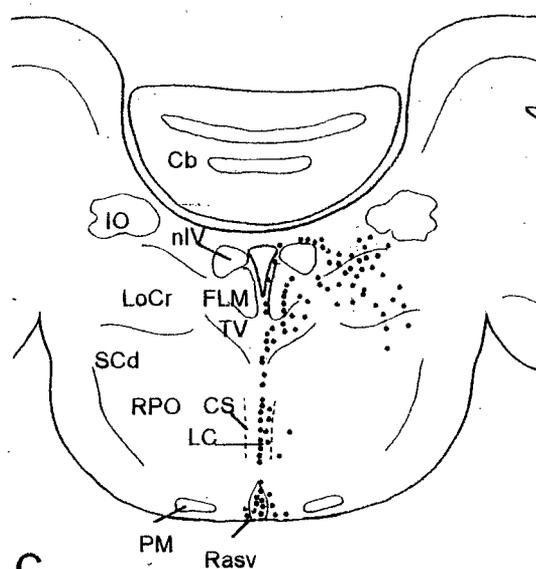
A
A 1.25



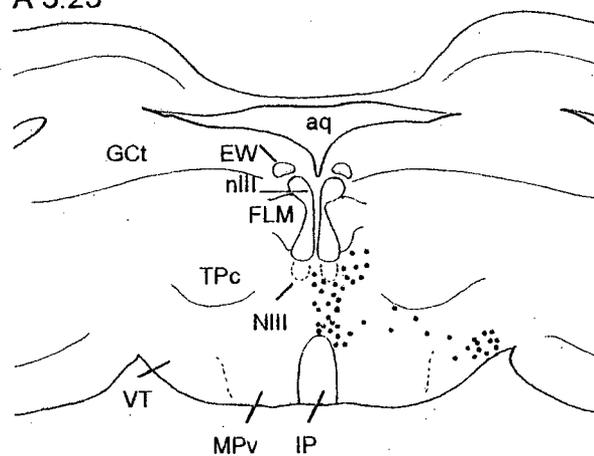
D
A 2.75



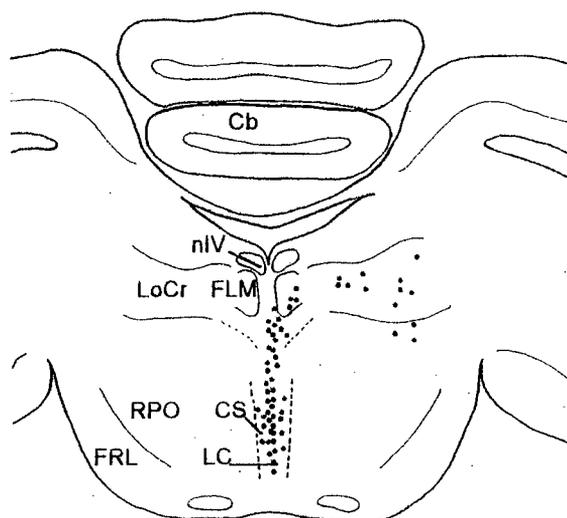
B
A 1.75



E
A 3.25



C
A 2.25



F
A 3.75

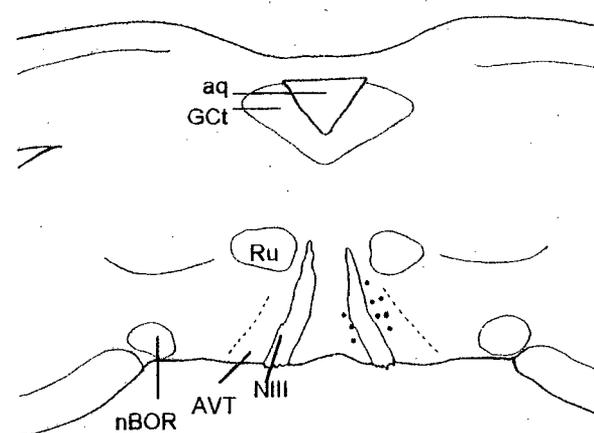


Figura 1 – Desenhos semi-esquemáticos de cortes frontais do tegmento pontomesencefálico de pombos, ilustrando a distribuição de neurônios 5-HT imunoreativos (•). As letras e os números acima e à esquerda de cada figura indicam o nível antero posterior do corte em relação ao atlas estereotáxico de Karten e Hodós (1967). Ver lista de abreviaturas.

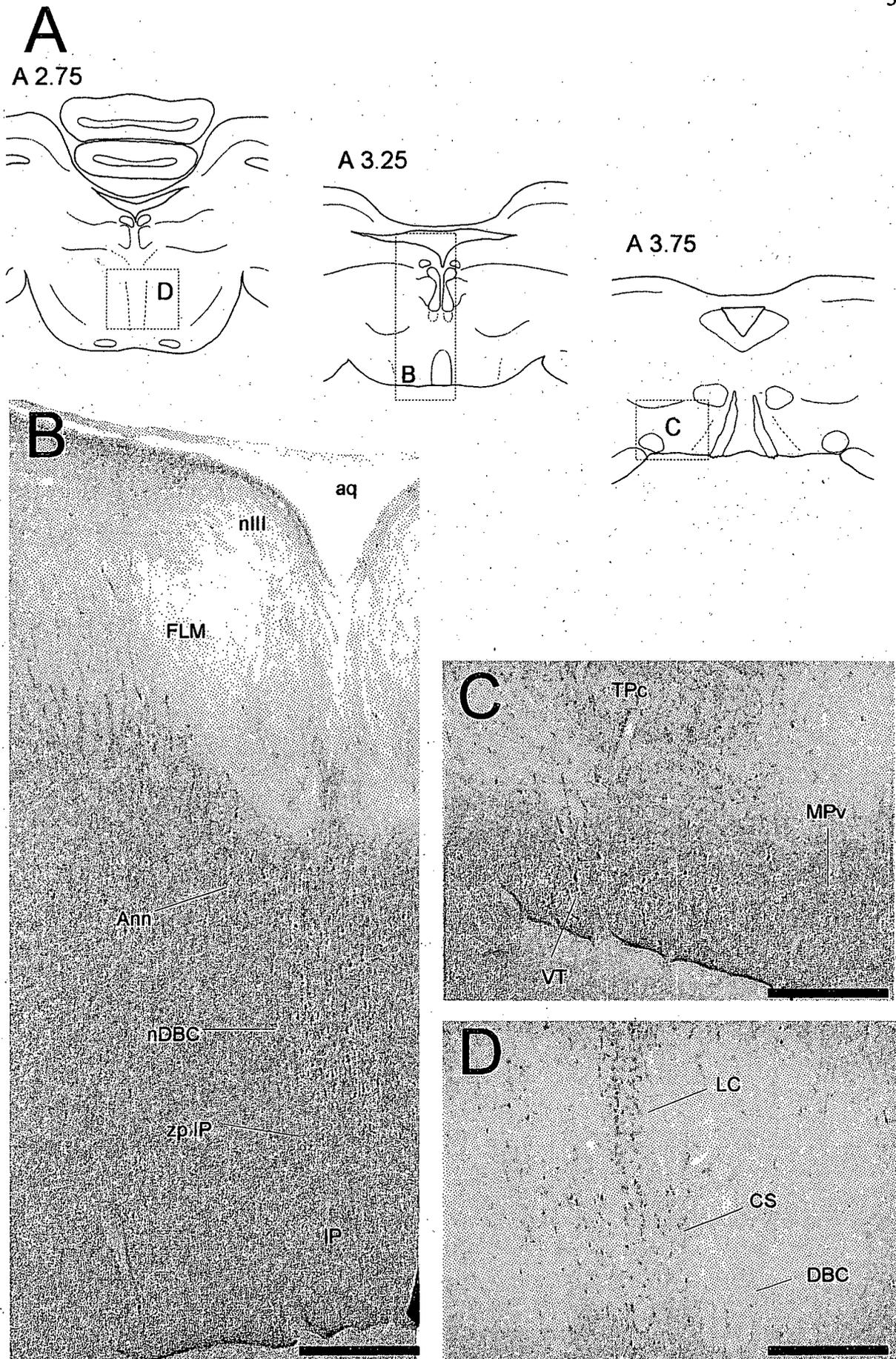


Figura 2 - Fotomicrografias de cortes frontais do tegmento mesencefálico caudal de pombos ilustrando em B, C e D a localização de pericários imunoreativos à 5-HT. Em A estão representados os desenhos semi-esquemáticos em níveis correspondentes aos das fotomicrografias. Barra de escala = 500 μ m. Ver lista de abreviaturas.

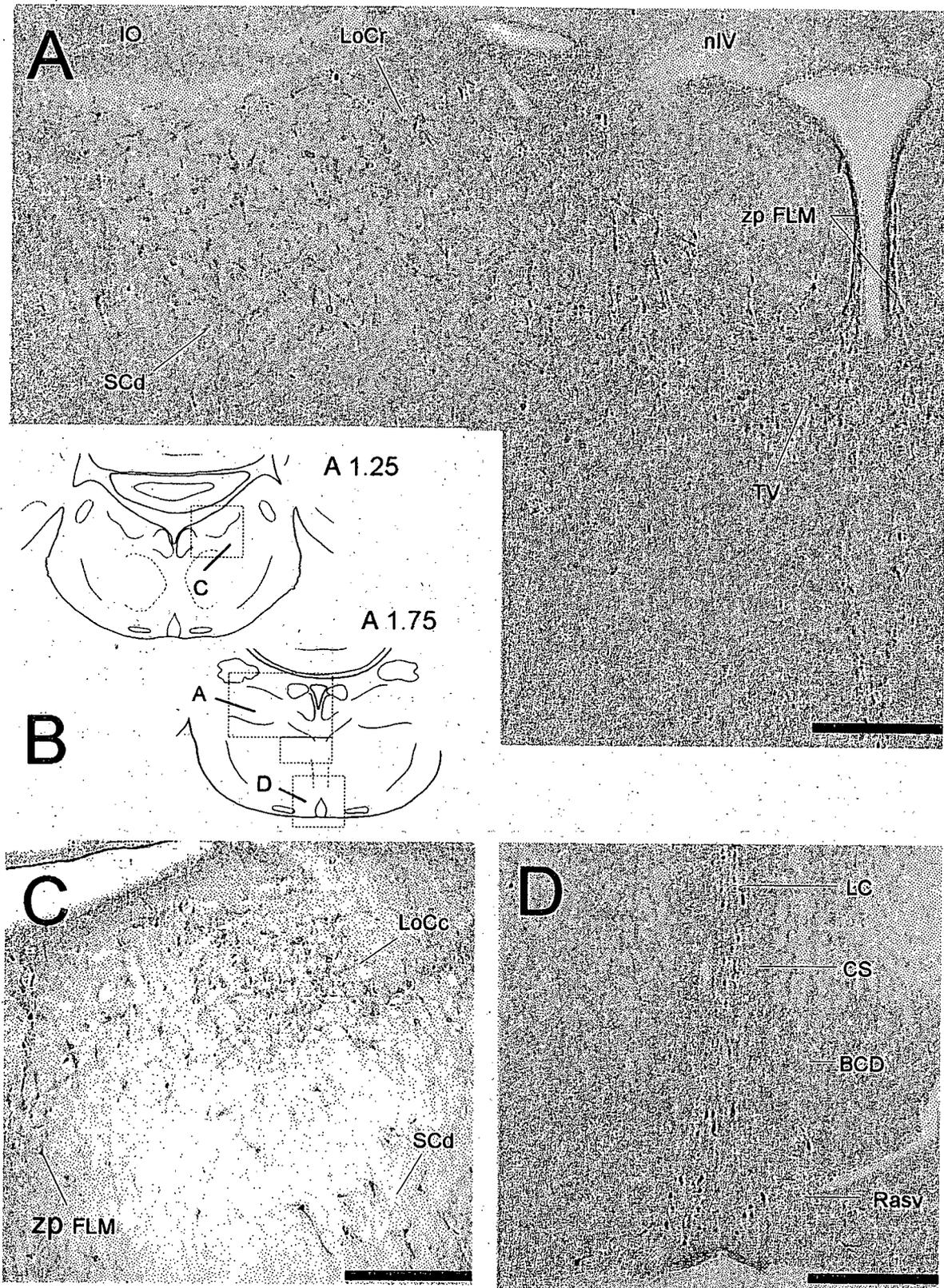


Figura 3 – Fotomicrografias de cortes frontais do tegmento pontino rostral de pombos ilustrando em A, C e D a localização dos pericários imunoreativos à 5-HT. Em D estão representados os desenhos semi-esquemáticos em níveis correspondentes aos das fotomicrografias. Barra de escala = 500 μ m. Ver lista de abreviaturas.

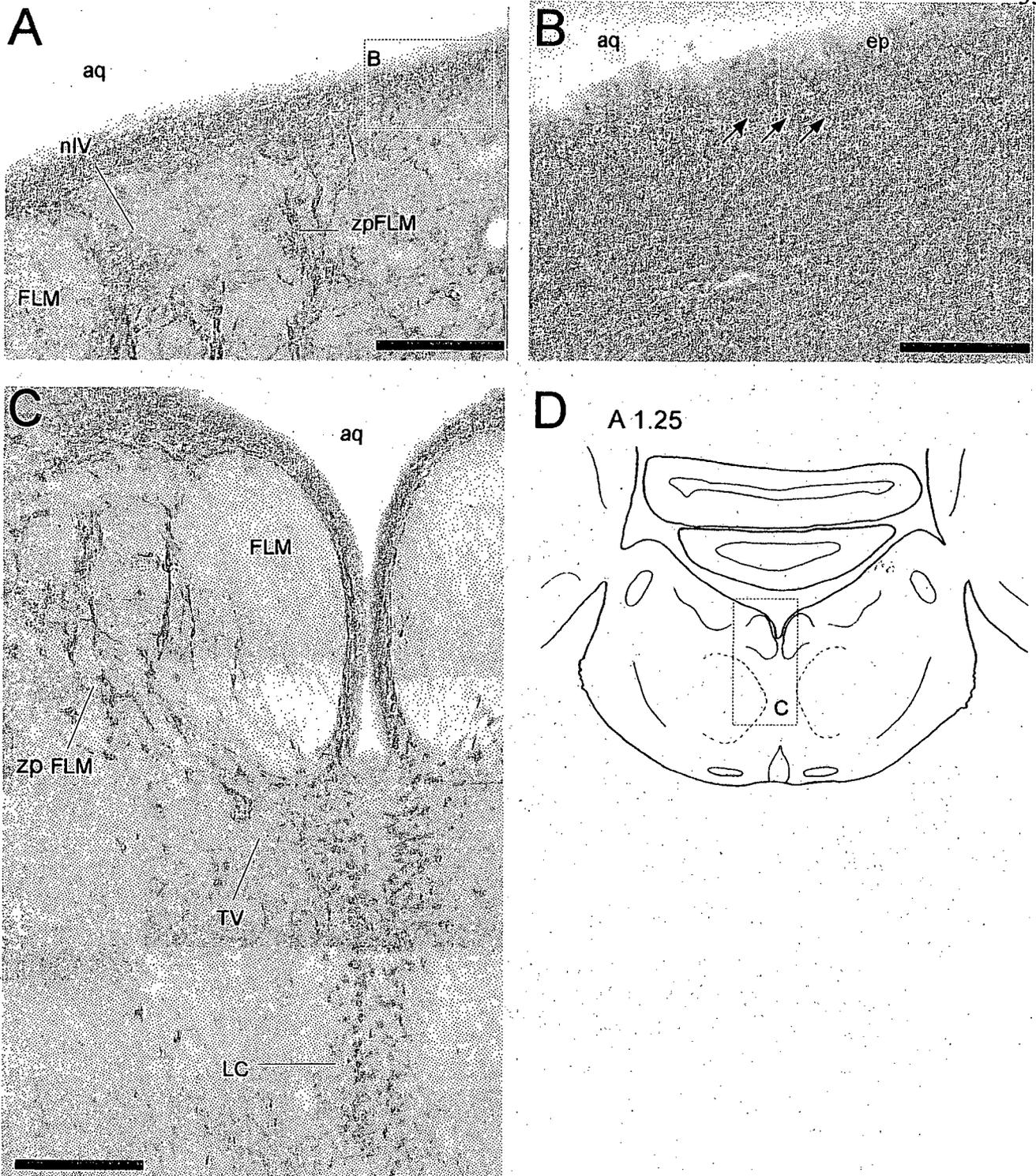


Figura 4 – Fotomicrografias de cortes frontais do tegmento pontino caudal de pombos ilustrando em A e C a localização dos pericários imunoreativos a 5-HT. Em B as setas indicam a presença de fibras com varicosidades densamente imunoreativas, distribuídas ao longo do epêndima e dispostas paralelamente as paredes ventriculares e aquedutais. Em D está representado o desenho semi-esquemático em nível correspondente aos das fotomicrografias. Barra de escala: A= 250 μm , B= 125 μm e C= 500 μm . Ver lista de abreviaturas.

Lista de Abreviaturas

| | |
|-----------|--|
| 5-HT | serotonina |
| 5-HT-IRp | pericários imunoreativos a serotonina |
| 5-HT IR | imunoreativo a serotonina |
| Ann | n. annularis |
| Aq | aqueduto |
| AVT | área tegmental ventral de Tsai |
| bc | brachium conjunctivum descendens |
| Cb | cerebelo |
| CS | n. central superior |
| ep | epêndima |
| EW | n. Edinger-Westphal |
| FLM | fascículo longitudinal medial |
| FRM | formação reticular magnocelular mesencefálica |
| FRL | formação reticular lateral mesencefálica |
| GCt | substância grisea centralis |
| IO | n. isthmo-opticus |
| IP | n. interpeduncularis |
| LC | n. linearis caudalis |
| LoCr | n. locus ceruleus rostral |
| MPv | nucleus mesencephalicus profundus, pars ventralis |
| n-IR | elemento não imunoreativo |
| nIII | n. oculomotor |
| NIII | nervo oculomotor (III par) |
| nIV | n. Troclear |
| nBOR | n. da raiz óptica basal |
| nDBC | n. da decussação do brachium conjunctivum |
| Pap | n. Papillioformis |
| PM | n. pontis medialis |
| qf | tractus quintofrontalis |
| Rasv | n. raphe superior, pars ventralis |
| RPgc | n. reticularis pontis caudalis, pars gigantocellularis |
| RPO | n. reticularis pontis oralis |
| Ru | n. rubro |
| SCd | n. subceruleus dorsalis |
| SCv | n. subceruleus ventralis |
| TPc | n. tegmental pedunculo-pontinus, pars compacta |
| TV | n. tegmental ventral (Gudden) |
| V4 | 4 ^o ventrículo |
| VT | n. tegmental ventrolateral |
| zp-FLM | zona peri- fascículo longitudinal mediai |
| zp-FLM IV | zona peri- FLM (nível do n. troclear) |
| zp-IP | zona peri-nucleus Interpeduncularis |

2. Efeitos de injeções locais de 8-OH-DPAT no tegmento pontomesencefálico

2.1. Experimentos exploratórios

Com o objetivo de identificar as possíveis regiões do tegmento pontomesencefálico envolvidas com o controle dos efeitos ingestivos após o tratamento com 8-OH-DPAT foram utilizado 45 pombos. Foram identificados 107 sítios de injeção tratados com 8-OH-DPAT na dose 6,1 nmol. Na figura 5 estão identificados os sítios de injeção explorados na presente análise.

2.1.1. Localização dos sítios de injeção

Trinta e cinco sítios de injeção foram localizados em diferentes regiões paramedianas e da linha média ("rafe superior") que contêm pericários 5-HT IR (ver tópico anterior) e que compreendem as seguintes estruturas: nucleus linearis caudalis (LC), nucleus centralis superioris (CS), nucleus annularis (Ann), núcleo da decussação do brachium conjunctivum (nDBC), zona peri-nucleus interpeduncularis (zp-IP), área tegmental ventral de Tsai (AVT), zona perifascículo longitudinal medialis ao nível do núcleo do nervo troclear (zp-FLM IV) e núcleo tegmental ventral (Gudden) (TV).

As injeções localizadas no LC e CS foram analisadas em conjunto devido ao fato dos sítios de injeção abarcarem simultaneamente ambas as regiões ou atingirem zonas de transição entre elas cuja discriminação está fora do poder de resolução do presente método de injeção. Estas definições se aplicam às demais regiões que foram analisadas em conjunto e estão identificadas na tabela 2. Cinco

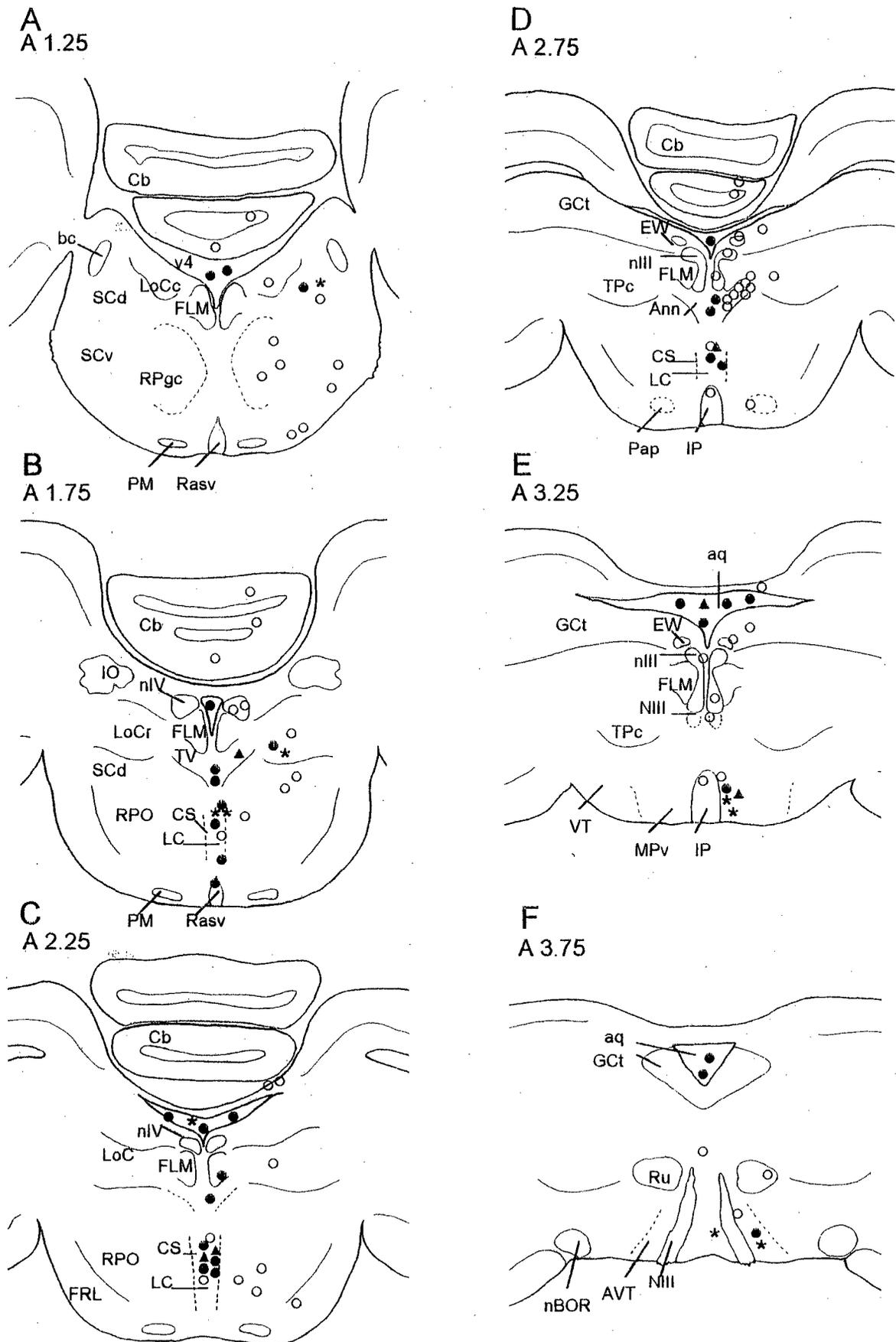


Figura 5 - Desenhos semi-esquemáticos de cortes frontais do tegmento pontomesencefálico de pombos, ilustrando os locais de injeções de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) em que ocorreram efeitos dipsogênicos (•), efeitos hiperfágicos (▲), ambos efeitos ingestivos (★) e sem efeitos ingestivos (○). Efeitos dipsogênicos e hiperfágicos foram considerados como tal quando a ingestão de alimentos e/ou de água foram iguais ou maiores que 4,4 g e 5,2 ml respectivamente. As letras e os números acima e à esquerda de cada figura indicam o nível antero posterior do corte em relação ao atlas estereotáxico de Karten e Hodós (1967). Ver lista de abreviaturas.

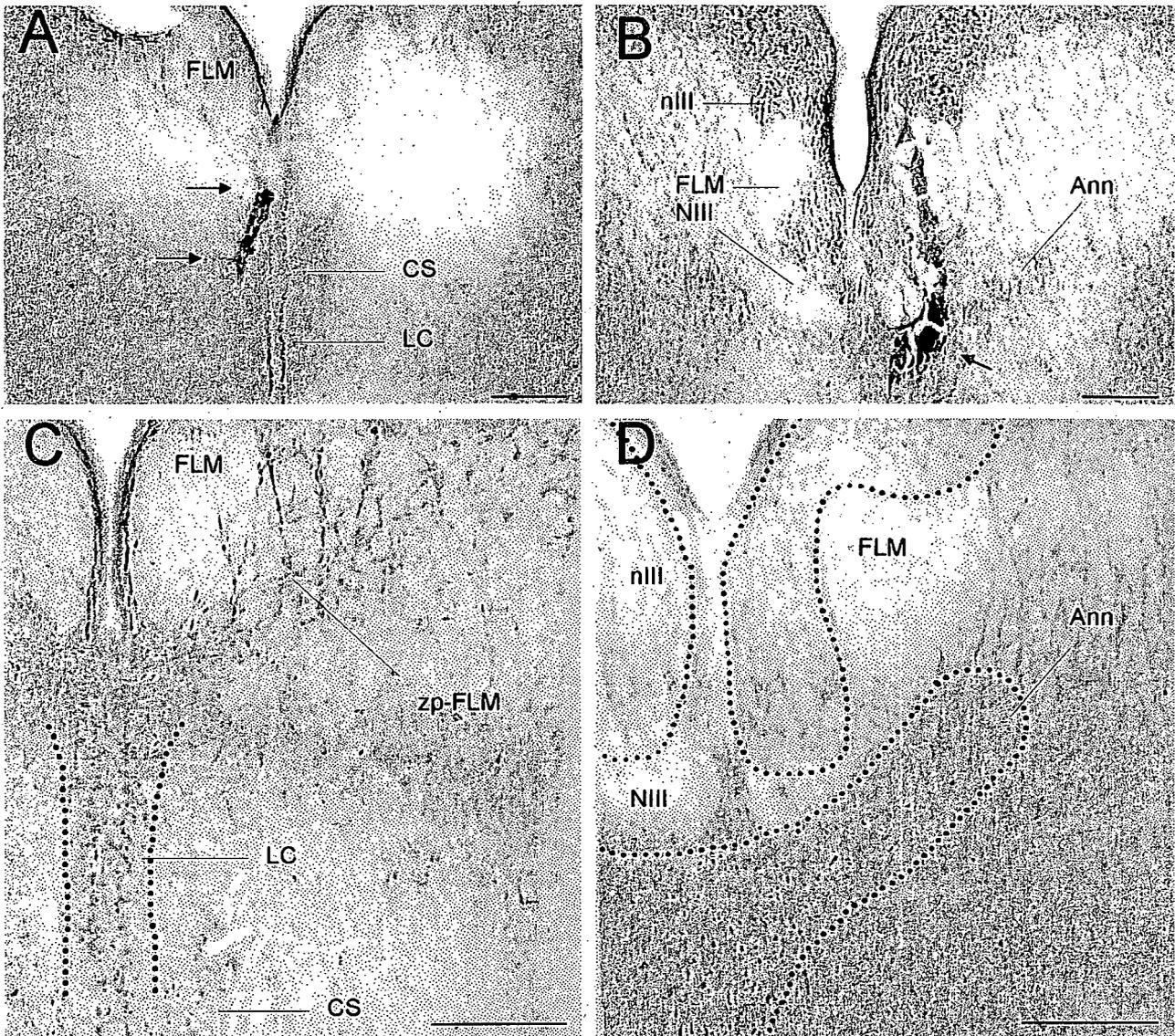


Figura 6 – (A e B) Fotomicrografias de cortes frontais do tegmento pontomesencefálico de pombos, corado pela técnica de Nissl, ilustrando os sítios de injeções de 8-OH-DPAT indicados pelas setas. (C e D) Fotomicrografias em níveis correspondentes aos de A e B respectivamente, ilustrando a distribuição de pericários 5-HT imunoreativos. Ver lista de abreviaturas.

sítios de injeção foram identificados na região zp-FLM IV + TV cuja análise imunohistoquímica confirmou a presença de pericários 5-HT IR. Na região Ann + nDBC foram obtidos 2 sítios de injeção na linha média (região com intensa presença de pericários 5-HT IR) e outros 8 sítios de injeção na porção dorsolateral desta estrutura cujos resultados da análise imunohistoquímica revelaram a presença de raros pericários 5-HT IR.

Nas regiões ventrais e rostrais do tegmento mesencefálico (zp-IP + AVT) pudemos avaliar os efeitos do 8-OH-DPAT em apenas 9 casos. A mera implantação de cânulas-guias nestas regiões provocou, de forma consistente, alterações motoras severas em 15 animais, incluindo ataxia e distônias, que impediram a realização dos experimentos. Em outros 9 animais com a cânula-guia implantada nesta mesma região, verificou-se que a introdução da cânula-injetora provocava intensa hemorragia no local, seguida por óbito. Foram identificados ainda 10 sítios de injeção na região do LoC + SCd, estruturas estas localizadas no tegmento dorsolateral à linha média e que contém pericários 5-HT IR.

Outras 15 injeções de 8-OH-DPAT foram administradas no aqueduto ou no 4º ventrículo. Evidências da aplicação de injeções de 8-OH-DPAT nesta região são decorrentes da identificação dos 5 sítios de injeção efetuados e do intervalo de 1 mm entre elas.

Quarenta e um sítios de injeção foram localizados em regiões que de acordo com a análise imunohistoquímica previamente descrita, não contém pericários imunoreativos a 5-HT (n-IR). Estes sítios de injeção compreenderam os

seguintes locais: zona peri núcleo de Edinger-Westphal (n=3), zona peri nervo oculomotor (n=2), núcleo rubro (n=1), cerebelo (n=7), núcleo oculomotor (n=3), regiões laterais do nucleus reticularis pontis oralis (n=4), nucleus reticularis pontis caudalis, p. gigantocellularis (n=3), nucleus pontis lateralis (n=2), núcleo do nervo troclear (n=2), nucleus papillioformis (n=1), decussação do nervo troclear (n=2), comissura tectal (n=1), nucleus interpeduncularis (n=2), substância grisea centralis (n=2), nucleus tegmenti pedunculo-pontinus, pars. compacta (n=1), formação reticular lateral (n=1) e nucleus subceruleus ventralis (n=4). Além dos sítios de injeção mencionados acima, também foram incluídos na região n-IR, para posterior análise, os sítios de injeção localizados na porção dorsolateral do nucleus decussação do brachium conjunctivum (n=3) e do nucleus annularis (n=5) (ver tabela 2).

2.1.2. Efeitos das injeções de 8-OH-DPAT no tegmento pontomesencefálico sobre o consumo de água e alimento

No presente estudo, os consumos de água e alimento após injeções de 8-OH-DPAT em diversos distritos do tegmento pontomesencefálico foram analisados de acordo com os critérios de ingestão mínima detalhado no tópico de material e métodos.

A distribuição dos sítios de injeção no tegmento pontomesencefálico tratados com 8-OH-DPAT e seus efeitos ingestivos estão representados na tabela 2 e na figura 5. Os efeitos ingestivos apresentados na tabela 2 foram primeiramente analisados de acordo com as regiões do tegmento

pontomesencefálico submetidos ao tratamento com 8-OH-DPAT na dose 6,1 nmol. Os valores numéricos representam a média \pm erro padrão da média dos consumos de água e alimento considerados em relação ao número total de sítios de injeção numa mesma região e aos efeitos ingestivos (dipsogênico, hiperfágico, ambos efeitos e sem efeitos ingestivos).

Primeiramente, foram avaliados os efeitos ingestivos da injeção de 8-OH-DPAT no conjunto de estruturas paramedianas e da linha média (tabela 2). Pudemos observar que, de 35 injeções de 8-OH-DPAT administradas nestas estruturas ocorreram efeitos ingestivos em 29 casos (83%), enquanto que nenhum efeito ingestivo foi observado em outros 6 casos (17%). É interessante notar que dos 29 casos que ocorreram efeitos ingestivos, as injeções de 8-OH-DPAT provocaram de forma consistente, um aumento exclusivo na ingestão de água em 18 casos, o que representou 62% dos efeitos ingestivos observados. Além disso, após as injeções de 8-OH-DPAT também foram observados, porém de forma menos consistente, efeitos exclusivamente hiperfágicos e ambos efeitos ingestivos (hiperfágicos e dipsogênicos) em 5 casos (18%) e em 6 casos (20%) respectivamente. As injeções de veículo administradas nestes locais não afetaram a ingestão em níveis acima dos critérios mínimos de consumo previamente estabelecidos. No entanto, pudemos verificar em apenas um caso experimental, que o 8-OH-DPAT ou veículo provocaram efeitos hiperfágicos similares quando administrados na região zp-IP + AVT (ver tabela 2).

As injeções de 8-OH-DPAT administradas no aqueduto ou 4º ventrículo provocaram efeitos ingestivos em todos os casos analisados. Entre os efeitos

Tabela 2. Distribuição dos sítios de injeções de 8-OH-DPAT (6.1 nmol) no tectamento pontomesencefálico e seus efeitos ingestivos

| REGIÃO | N (nº total sítios) | N (%) X ± EPM ml com efeitos dirosogênicos * | N (%) X ± EPM g com efeitos hiperfágicos * | N (%) X ± EPM ml/g com ambos efeitos ingestivos * | N (%) X ± EPM ml/g sem efeitos ingestivos |
|---|---------------------------|--|--|--|---|
| Estruturas paramedianas a da linha média | | | | | |
| LC + CS | 19 | 10 (53%) D= 8,2 ± 0,8 V=1,1 ± 0,6 | 3 (16%) D= 8,0 ± 0,9 V= 0,0 ± 0,0 | 2 (10%) D= (B) 13,0 ± 3,1 V= (B) 4,5 ± 0,5 D= (C) 5,2 ± 0,8 V= (C) 2,5 ± 0,5 | 4 (21%) D= (B) 0,0 ± 0,0 D= (C) 0,0 ± 0,0 |
| Ann + nDBC (dorsolateral) | 8 | - | - | - | 8 (100%) D= (B) 0,0 ± 0,0 D= (C) 0,0 ± 0,0 |
| Ann + nDBC (linha média) | 2 | 2 (100%) D= 7,2 ± 0,3 V= 1,7 ± 1,8 | - | - | - |
| zpFLM/IV + TV | 5 | 4 (80%) D= 10,7 ± 1,4 V= 2,1 ± 1,2 | 1 (20%) D= 5,1 ± 0,0 V= 0,0 ± 0,0 | - | - |
| zplP + AVT | 9 | 2 (22%) D= 7,5 ± 2,5 V= 2,5 ± 2,5 | 1 (12%) D= 5,2 ± 0,0 V= 5,0 ± 0,0 | 4 (44%) D= (B) 11,2 ± 3,1 V= (B) 1,3 ± 1,3 D= (C) 5,2 ± 0,9 V= (C) 1,3 ± 0,7 | 2 (22%) D= (B) 0,0 ± 0,0 D= (C) 0,5 ± 0,5 |
| Estruturas laterais à linha média | | | | | |
| LoCr + SCd | 10 | 2 (20%) D= 6,5 ± 0,5 V= 2,0 ± 2,0 | - | 2 (20%) D= (B) 14,0 ± 5,0 V= (B) 1,5 ± 1,5 D= (C) 6,2 ± 0,8 V= (C) 1,2 ± 1,2 | 6 (60%) D= (B) 0,0 ± 0,0 D= (C) 0,2 ± 0,2 |
| Aqueduto/ 4º ventrículo | 15 | 13 (87%) D= 11,6 ± 1,2 V= 5,0 ± 1,45 | 1 (6,7%) D= 7,0 ± 0,0 V= 0,5 ± 0,0 | 1 (6,3%) D= (B) 16,0 ± 0,0 V= (B) 0,0 ± 0,0 D= (C) 11,0 ± 0,0 V= (C) 0,5 ± 0,0 | - |
| n-IR | 41 | - | - | - | 41 (100%) D= (B) 0,5 ± 0,2 D= (C) 0,3 ± 0,1 |

Efeitos ingestivos provocados pelo tratamento com 8-OH-DPAT (D) e veículo (V) Os dados representam a média (x) ± erro padrão da média (E.P.M). Os asteriscos (*) indicam ingestão de água ≥ 5,0 ml e/ou ingestão de alimento ≥ 4,4 g (ver critérios de consumo ingestivo – comer (C) e beber (B) - em Material e Métodos).

ingestivos observados, o efeito dipsogênico foi o mais consistente. Em 13 casos (87%) ocorreram aumentos no consumo de água. Além disso, a intensidade do consumo de água obtida após esta injeção representou mais que o dobro do consumo de água observada em um animal não tratado com droga. Por outro lado, verificou-se que o efeito hiperfágico ocorreu em apenas 1 caso (6,5%) e com intensidade superior a 4,4 g. Já a ocorrência de ambos efeitos ingestivos foi verificada em 1 caso (6,5%) e com intensidade de consumo de água e alimento superiores a 5,2 ml e 4,4 g respectivamente.

É interessante notar que a média de consumo de água ($5,0 \pm 1,45$ ml) após a administração de veículo (ácido ascórbico) no aqueduto ou 4^o ventrículo foi próxima aos critérios de consumo ingestivo estabelecido (5,2 ml). Este fato foi decorrente do efeito dipsogênico observado após a administração de veículo em 7 casos, considerados em relação ao número total de 15 casos de injeção de veículo no aqueduto ou 4^o ventrículo. Nestes 7 casos, a média de consumo de água após a injeção de veículo foi de $9,7 \pm 1,4$ ml enquanto que com o 8-OH-DPAT foi de $8,3 \pm 1,8$ ml. Assim, nestes casos, além da administração de ácido ascórbico, foram testados posteriormente, no mesmo local de injeção, outros veículos, como a solução isotônica de cloreto de sódio (NaCl 0,9%; pH 5,5) e o líquido cefalorraquidiano artificial (LCR; pH 8,0). Contudo, a administração destes outros veículos resultou em efeitos dipsogênicos semelhantes aos observados após administração do ácido ascórbico. A média de consumo de água após administração de LCR e de NaCl 0,9% foi de 9,0 ml (n= 2) e de 7,5 ml (n=2) respectivamente.

As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas laterais à linha média e que atingiram as regiões do LoC + SCd não provocaram alterações na ingestão de água e alimento em 6 casos (60%), considerados os critérios mínimos de ingestão. Além disso, as injeções de 8-OH-DPAT provocaram efeitos dipsogênicos em apenas 2 casos (20%) e ambos efeitos ingestivos em outros 2 casos (20%). Por outro lado, as injeções de veículo administradas nestas regiões não afetaram esse comportamento.

Em resumo, foi verificado que as injeções de 8-OH-DPAT provocaram, de forma consistente, efeitos principalmente dipsogênicos e de forma menos consistente efeitos hiperfágicos, no conjunto de estruturas paramedianas e da linha média do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto ou 4^o ventrículo.

2.2 - Efeito da injeção de 8-OH-DPAT (6.1 nmol) sobre a ingestão de água e sobre os padrões comportamentais de ingestão hídrica

No presente estudo, foram analisados os efeitos comportamentais ingestivos e não ingestivos provocados pela administração de 8-OH-DPAT 6.1 nmol em diferentes distritos do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto ou 4^o ventrículo. Assim, para uma análise estatística dos resultados obtidos nestes experimentos os dados foram agrupados de acordo com a sua localização em um dos dois grandes distritos contendo 5-HT-IRp observados na análise imunohistoquímica: o grupo lateral e a rafe superior (que inclui as estruturas paramedianas e da linha média). As justificativas para tal agrupamento incluem as diferenças topográficas e citoarquitetônicas encontradas entre estes distritos,

além das já mencionadas diferenças entre os efeitos ingestivos de injeções de 8-OH-DPAT obtidas nas duas regiões (ver tabela 2). No conjunto de dados usados para obtenção de médias e erros padrões da média e para comparações estatísticas foram incluídos os casos em que, apesar dos pontos de injeção estarem localizados na rafe superior ou no grupo lateral, os efeitos ingestivos não foram superiores aos critérios de ingestão mínima utilizada na análise anterior. Os dados para análise estatística de injeções de 8-OH-DPAT no aqueduto ou 4^o ventrículo incluíram os 8 animais em que apenas a injeção da droga resultou em aumento na ingestão mais os dados dos 7 animais em que ambos, droga e veículo (ácido ascórbico) provocaram efeitos ingestivos acima dos critérios mínimos de ingestão. Além disso, como controle adicional destas análises foi incluído o conjunto total de dados obtidos após injeção de 8-OH-DPAT em distritos nIR a serotonina.

As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas paramedianas e da linha média (M) provocaram um aumento estatisticamente significativo na ingestão de água ($6,7 \pm 0,9$ ml) quando comparado com as injeções de veículo nestes locais ($1,8 \pm 0,5$ ml) e com as injeções de 8-OH-DPAT administrada em regiões n-IR ($0,4 \pm 0,2$ ml) (ver figura 7). Esse aumento no consumo de água observado após a injeção de 8-OH-DPAT foi acompanhado por uma redução na latência para beber, isto é, ocorreu uma redução estatisticamente significativa do tempo entre a administração da droga e o início da ingestão hídrica quando comparado com as injeções de veículo nestes mesmos locais e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR (ver tabela 3 e figura 7). É interessante notar que em 40% dos casos de injeção de 8-OH-DPAT nesta região as latências para ingestão

hídrica tiveram início ao longo do tempo de até 300 segundos. Além destas alterações, as injeções de 8-OH-DPAT também afetaram a duração de tempo despendida e a freqüência no comportamento de beber ao longo de 1 hora de observação. Assim, as injeções de 8-OH-DPAT provocaram um aumento na duração e na freqüência de beber que foram diferentes dos efeitos obtidos com as injeções de veículo nestes mesmos locais e das injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR.

Além dos efeitos dipsogênicos obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT nas regiões acima mencionadas, também foi verificado que esta droga provocou um aumento no consumo de água quando aplicado no aqueduto ou 4^o ventrículo (V). A análise estatística revelou diferenças significantes do efeito dipsogênico provocado pelas injeções de 8-OH-DPAT nestas regiões ($11,2 \pm 1,3$ ml) quando comparadas com as injeções de veículo nestes locais ($5,1 \pm 1,4$ ml) e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($0,4 \pm 0,2$ ml) (figura 7). É interessante notar que os pombos quando submetidos às injeções de 8-OH-DPAT no aqueduto ou 4^o ventrículo apresentaram uma latência curta para iniciar o consumo de água, permaneceram por mais tempo executando este comportamento e o reiniciavam com uma maior freqüência. Estes efeitos obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT foram estatisticamente significantes quando comparados com as injeções de veículo neste local e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR (ver figura 7 e tabela 3). Este efeito foi mais intenso nesta região quando comparado com o consumo de água observado nas estruturas paramedianas e da linha média.

A análise estatística dos resultados obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas laterais à linha média (L) não indicou alterações no consumo ou nos padrões comportamentais de ingestão de água (ver figura 7 e tabela 3). Estes resultados são coerentes com a baixa consistência dos efeitos ingestivos de 8-OH-DPAT nesta região indicado na tabela 2.

Tabela 3 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (8-OH) (6,1nmol) ou veículo (veh) sobre os padrões comportamentais de ingestão de água.

| região | tratamento | n | Duração (s) | Frequência | Latência (s) |
|--------|------------|----|--------------|-------------|--------------|
| M | 8OH | 35 | 19,3 ± 3,1*# | 1,7 ± 0,3*# | 1167 ± 237*# |
| | veh | 29 | 3,5 ± 1,3 | 0,6 ± 0,2 | 2401 ± 293 |
| L | 8OH | 10 | 7,6 ± 3,9 | 1,5 ± 0,8 | 2410 ± 513 |
| | veh | 6 | 1,2 ± 0,8 | 0,5 ± 0,3 | 3068 ± 361 |
| V | 8OH | 15 | 14,2 ± 2,2*# | 1,7 ± 0,2*# | 415 ± 107*# |
| | veh | 15 | 7,0 ± 1,7 | 0,9 ± 0,2 | 1578 ± 398 |
| n-IR | 8OH | 49 | 1,3 ± 0,6 | 0,4 ± 0,2 | 3220 ± 138 |

Os dados da duração e latência estão representados em segundos (média ± E.) e da frequência em incidência durante 1 hora de observação (média ± E.P.M). Regiões: M (estruturas paramedianas e da linha média), L (estruturas laterais), V (aqueduto/4^o ventrículo) e nIR (não imunoreativa). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação as injeções de veículo no mesmo local (p < 0,05), teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ((p < 0,05, teste de Mann-Whitney).

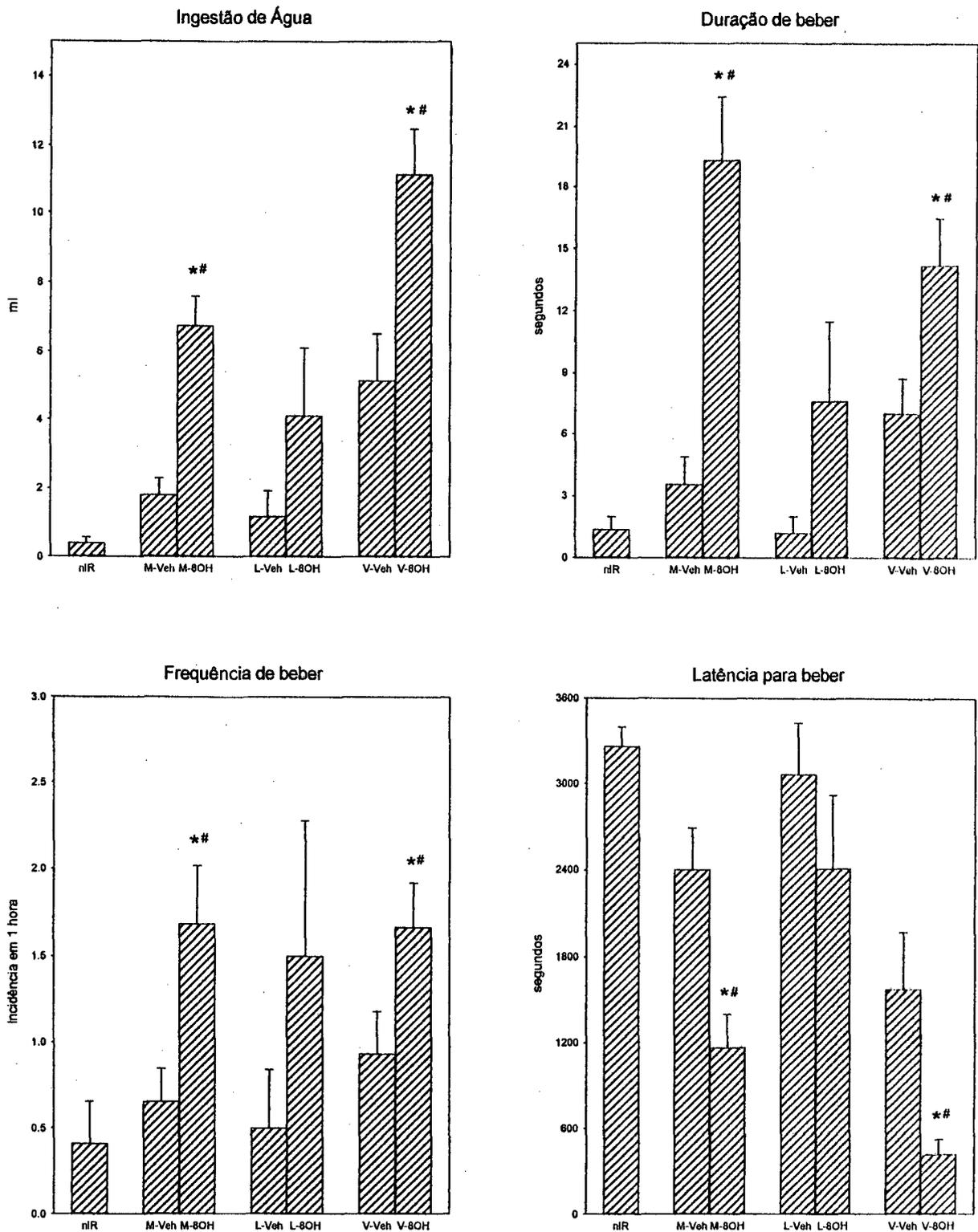


Figura 7 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) ou de veículo (ácido ascórbico) no tegmento pontomesencefálico sobre o consumo de água e os padrões comportamentais de ingestão de água. Os pontos representam a média \pm E.P.M., obtidos após injeções de 8-OH-DPAT em regiões não imunoreativas à 5-HT (n-IR), em regiões paramedianas e da linha média (M-8OH), em regiões laterais (L-8OH), nas regiões do aqueduto ou 4^o ventrículo (V-8OH) e de veículo nestas regiões (M-Veh, L-Veh e V-Veh). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às Injeções de veículo no mesmo local ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões niR. ($p < 0.05$, teste Mann-Whitney).

2.2.1 - Efeito da injeção de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) sobre a ingestão de comida e sobre os padrões comportamentais de ingestão alimentar.

As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas paramedianas e da linha média (M) provocaram um aumento estatisticamente significativo na ingestão de alimento ($2,6 \pm 0,5$ g) quando comparadas com os efeitos obtidos após injeção de veículo nestes locais ($0,8 \pm 0,2$ g) e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($0,3 \pm 0,1$ g) (ver figura 8). Além do aumento no consumo de alimento, os resultados da análise estatística revelaram que as injeções de 8-OH-DPAT afetaram os padrões comportamentais de ingestão. A latência para comer foi reduzida, houve um aumento na frequência de comer e no tempo despendido para consumir o alimento (ver tabela 4 e figura 8). Embora 8-OH-DPAT tenha provocado aumentos estatisticamente significantes na ingestão de alimento, foi verificado que este efeito ocorreu de forma inconsistente na linha média, principalmente quando comparado com a ocorrência do comportamento de ingestão de água neste mesmo local (ver tabela 2). Além disso, o consumo de alimento ficou abaixo dos critérios mínimos de ingestão estabelecidos.

Os resultados obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT no aqueduto ou 4^o ventrículo (V) revelaram um aumento estatisticamente significativo na ingestão de alimento ($1,9 \pm 0,8$ g) que foi apenas diferente dos resultados obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($0,3 \pm 0,1$ g) (ver figura 8). Além disso, as injeções de 8-OH-DPAT provocaram redução na latência para comer e aumentaram a frequência e a duração deste comportamento (ver tabela 4 e figura 8).

As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas laterais à linha média (L) não provocaram alterações na ingestão de alimento e nos padrões comportamentais de ingestão quando comparadas com as injeções de veículo nestes mesmos locais e com as injeções de 8-OH-DPAT em região n-IR (ver tabela 4 e figura 8).

Tabela 4 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (8-OH) (6,1 nmol) ou veículo (veh) sobre os padrões comportamentais de ingestão de alimento

| região | tratamento | n | Duração (s) | Frequência | Latência (s) |
|--------|------------|----|-------------|-------------|--------------|
| M | 8OH | 35 | 129 ± 32*# | 4,5 ± 0,8*# | 1677 ± 264*# |
| | veh | 29 | 41,6 ± 15 | 1,9 ± 0,6 | 2382 ± 294 |
| L | 8OH | 10 | 31,4 ± 16 | 1,5 ± 0,7 | 2481 ± 491 |
| | veh | 6 | 29 ± 18 | 2,0 ± 1,3 | 2480 ± 707 |
| V | 8OH | 15 | 61,7 ± 19# | 3,5 ± 0,8# | 2170 ± 329# |
| | veh | 15 | 82,9 ± 36 | 2,2 ± 0,9 | 2194 ± 397 |
| n-IR | 8OH | 49 | 8,0 ± 3,0 | 0,4 ± 0,1 | 3135 ± 151 |

Os dados (média ± E.P.M.) da duração e latência estão representados em segundos e a frequência em incidência durante 1 hora de observação. Regiões: M (estruturas paramedianas e da linha média), L (estruturas laterais), V (aqueduto/4^o ventrículo) e nIR (não imunoreativa). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local (p < 0,05), teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ((p < 0,05, teste de Mann-Whitney).

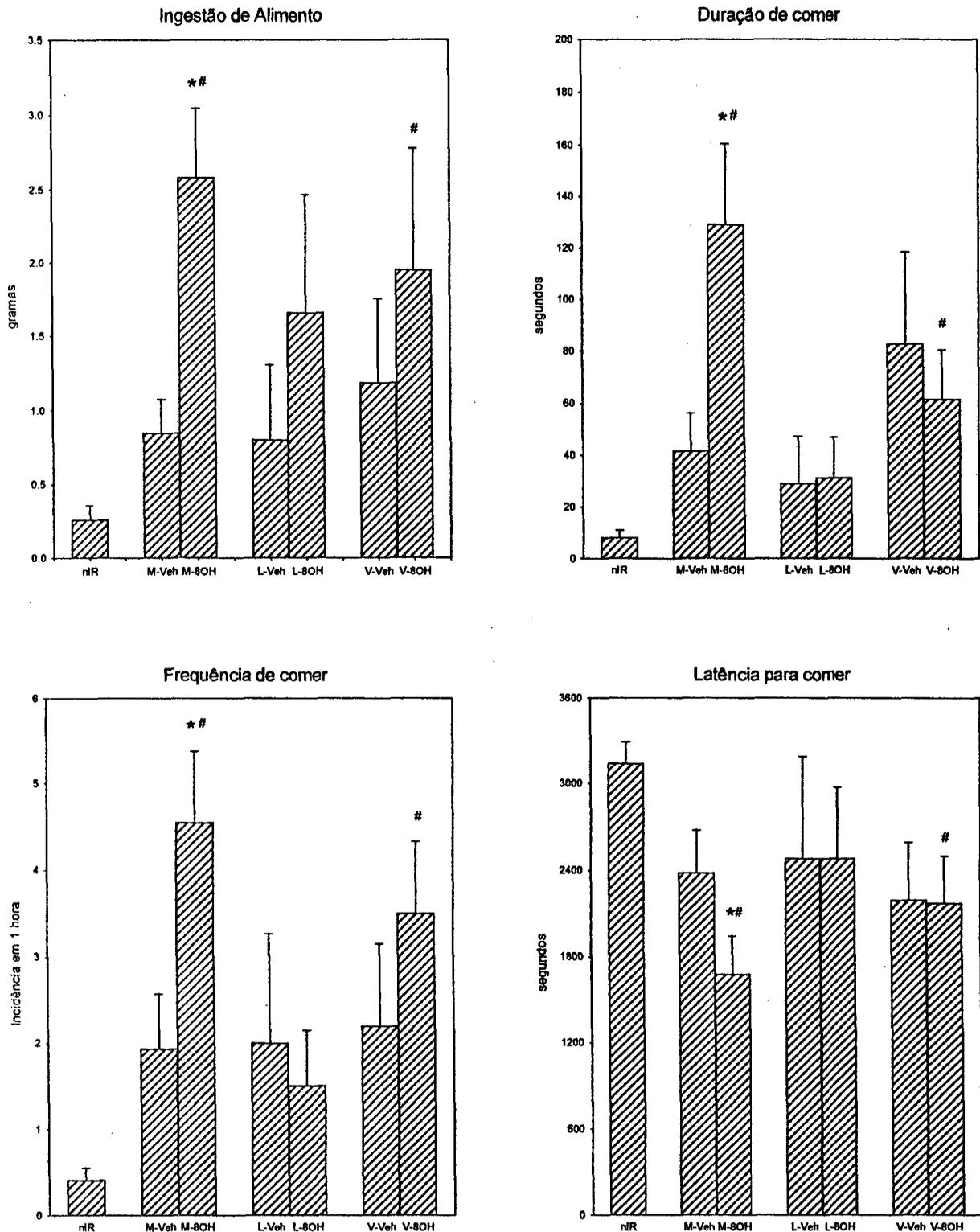


Figura 8 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) ou de veículo (ácido ascórbico) no tegmento pontomesencefálico sobre o consumo de alimento e os padrões comportamentais de ingestão de alimento. Os pontos representam a média \pm E.P.M., obtidos após injeções de 8-OH-DPAT em regiões não imunoreativas à 5-HT(n-IR), em regiões paramedianas e da linha média (M-8OH), em regiões laterais (L-8OH), nas regiões do aqueduto ou 4^o ventrículo (V-8OH) e de veículo nestas regiões (M-Veh, L-Veh e V-Veh). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR. ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney).

2.2.2 - Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) sobre as posturas típicas de sono e sonolência.

Os resultados obtidos indicaram que as injeções de 8-OH-DPAT administradas nas diferentes regiões do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto ou 4^o ventrículo (V) não induziram nenhuma modificação na duração e na latência das posturas típicas de sono e sonolência quando comparadas com os resultados obtidos com as injeções de veículo nestes mesmos locais e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR (ver tabela 5 e 6 e figura 9). Contudo, é interessante notar que na região lateral a duração do comportamento de sonolência foi extremamente reduzida enquanto que o comportamento de sono esteve completamente abolido.

Tabela 5 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (8-OH) (6,1 nmol) ou veículo (veh) sobre as posturas típicas de sono.

| região | tratamento | n | Duração (s) | Latência (s) |
|--------|------------|----|-------------|--------------|
| M | 8OH | 35 | 133 ± 40 | 3121 ± 144 |
| | veh | 29 | 80 ± 33 | 3386 ± 96 |
| L | 8OH | 10 | 0,0 ± 0,0 | 3600 ± 0,0 |
| | veh | 6 | 0,0 ± 0,0 | 3600 ± 0,0 |
| V | 8OH | 15 | 37 ± 29 | 3540 ± 47 |
| | veh | 15 | 89 ± 48 | 3404 ± 104 |
| n-IR | 8OH | 49 | 188 ± 50 | 2849 ± 166 |

Os dados da duração e latência estão representados em segundos (média ± E.P.M.). Regiões: M (estruturas paramedianas e da linha média), L (estruturas laterais), V (aqueduto/4^o ventrículo) e nIR (não imunoreativa). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local ($p < 0,05$), teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($p < 0,05$, teste de Mann-Whitney).

Tabela 6 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (8-OH) (6,1 nmol) ou veículo (veh) sobre as posturas típicas de sonolência.

| região | tratamento | n | Duração (s) | Latência (s) |
|--------|------------|----|-------------|--------------|
| M | 8OH | 35 | 1022 ± 132 | 1441 ± 181 |
| | veh | 29 | 1330 ± 190 | 1368 ± 196 |
| L | 8OH | 10 | 588 ± 178 | 1486 ± 477 |
| | veh | 6 | 662 ± 320 | 1435 ± 452 |
| V | 8OH | 15 | 719 ± 160 | 1703 ± 259 |
| | veh | 15 | 1239 ± 242 | 1372 ± 272 |
| n-IR | 8OH | 49 | 1174 ± 127 | 1303 ± 164 |

Os dados da duração e latência estão representados em segundos (média ± E.P.M). Regiões: M (estruturas paramedianas e da linha média), L (estruturas laterais), V (aqueduto/4^o ventrículo) e nIR (não imunoreativa). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local ($p < 0,05$), teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($p < 0,05$, teste de Mann-Whitney).

2.2.3 - Efeitos da injeção de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) sobre os comportamentos de imobilidade alerta, autolimpeza e exploração do ambiente através de movimentos do corpo e da cabeça.

As injeções de 8-OH-DPAT administradas nas diferentes regiões do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto ou 4^o ventrículo (V) não provocaram nenhuma modificação na duração do comportamento de imobilidade alerta emitido pelos animais quando comparadas com as injeções de veículo administradas nestes mesmos locais e com as injeções de 8-OH-DPAT

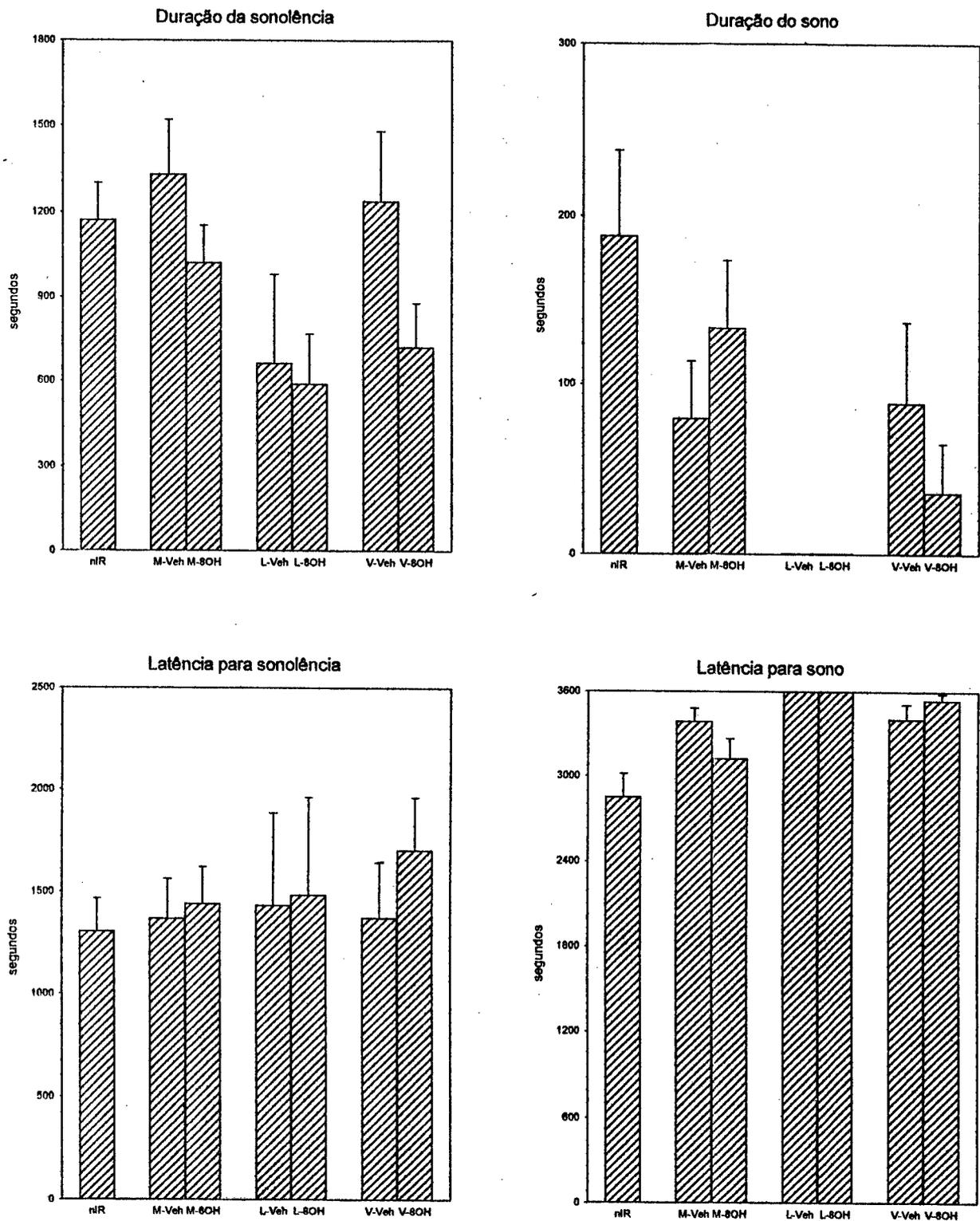


Figura 9 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) ou de veículo (ácido ascórbico) no tegmento pontomesencefálico sobre as posturas típicas de sono e sonolência. Os pontos representam a média \pm E.P.M., obtidos após injeções de 8-OH-DPAT em regiões não imunoreativas à 5-HT (n-IR), em regiões paramedianas e da linha média (M-8OH), em regiões laterais (L-8OH), nas regiões do aqueduto ou 4^o ventrículo (V-8OH) e de veículo nestas regiões (M-Veh, L-Veh e V-Veh). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR. ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney).

administradas em regiões n-IR (figura 10). Do mesmo modo não foi verificada nenhuma alteração na duração dos comportamentos de exploração do ambiente, emitidos pelo animal através do movimento do corpo ou da cabeça. No entanto, é interessante notar que as injeções de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas paramedianas e da linha média provocaram um aumento na duração do comportamento de autolimpeza que foi estatisticamente diferente dos obtido com as injeções de veículo nestes mesmos locais e com as injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR (ver tabela 7 e figura 10). Contudo, as injeções de 8-OH-DPAT não provocaram alterações deste comportamento quando administrada nas outras regiões.

Tabela 7 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (8-OH) (6,1 nmol) ou veículo (veh) sobre as durações dos comportamentos de imobilidade alerta (IA), autolimpeza (AL), exploração com movimento do corpo (EMCP) ou cabeça (EMCB)

| região | tratamento | n | IA (s) | AL (s) | EMCP (s) | EMCB (s) |
|--------|------------|----|------------|-----------|-------------|-------------|
| M | 8OH | 35 | 1304 ± 128 | 528 ± 82 | 132 ± 27 | 152 ± 39 |
| | veh | 29 | 1448 ± 178 | 307 ± 61 | 111 ± 35 | 104 ± 32 |
| L | 8OH | 10 | 2023 ± 220 | 305 ± 85 | 78 ± 25 | 100 ± 33 |
| | veh | 6 | 1876 ± 334 | 384 ± 84 | 55 ± 25 | 75 ± 25 |
| V | 8OH | 15 | 1790 ± 183 | 254 ± 55 | 76 ± 23 | 100 ± 24 |
| | veh | 15 | 1406 ± 245 | 387 ± 92 | 65 ± 22 | 51 ± 15 |
| n-IR | 8OH | 49 | 1592 ± 143 | 329 ± 51 | 79 ± 17 | 79 ± 21 |

Os dados da duração estão representados em segundos (média ± E.P.M.). Regiões: M (estruturas paramedianas e da linha média), L (estruturas laterais), V (aqueduto/4^o ventrículo) e nIR (não imunoreativa). (*) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de veículo no mesmo local ($p < 0,05$), teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação às injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($p < 0,05$, teste de Mann-Whitney).

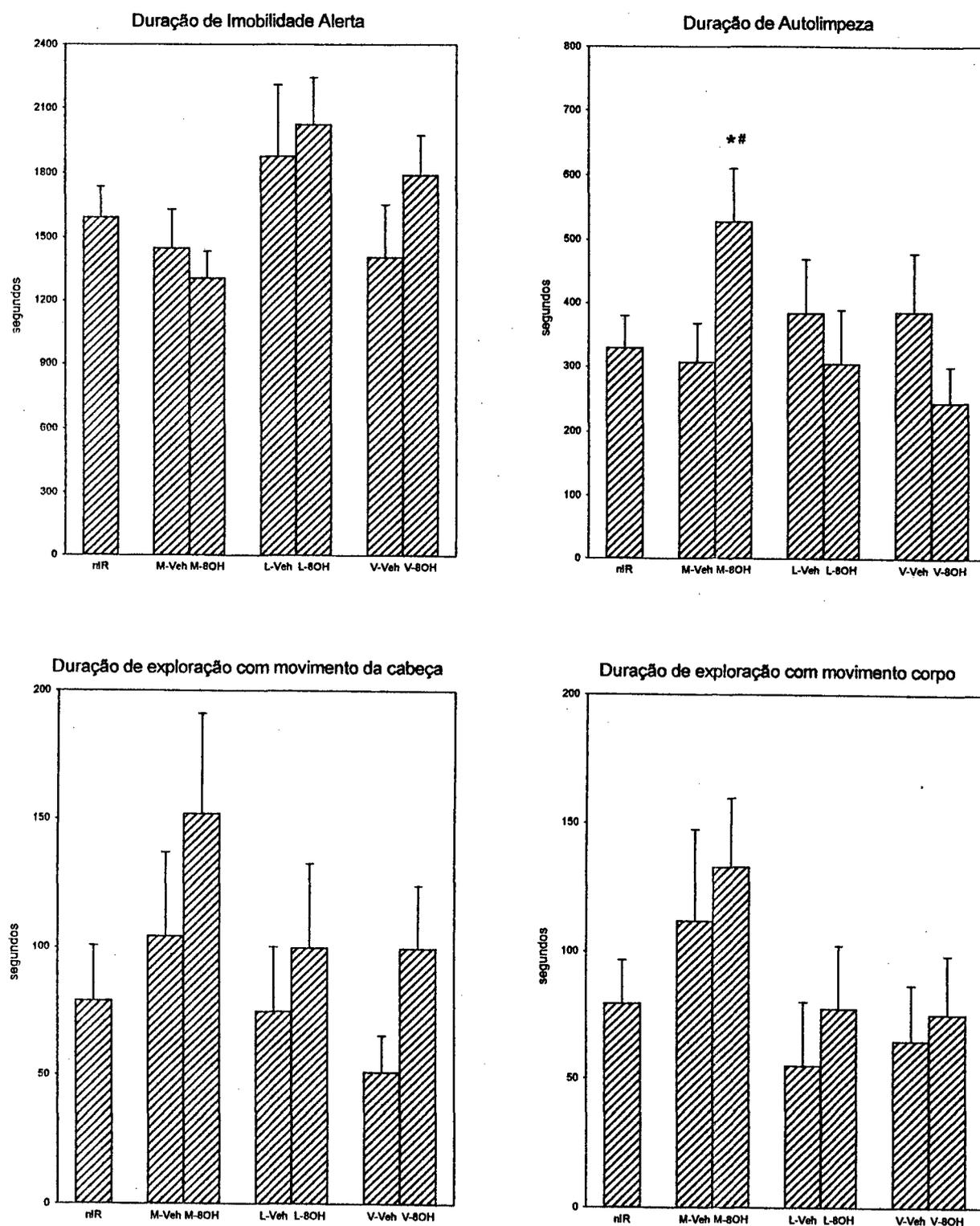


Figura 10 – Efeitos de injeções de 8-OH-DPAT (6,1 nmol) ou de veículo (ácido ascórbico) no tegmento pontomesencefálico sobre os comportamentos de imobilidade alerta, autolimpeza e exploração do ambiente (através do movimento do corpo ou da cabeça). Os pontos representam a média \pm E.P.M., obtidos após injeções de 8-OH-DPAT em regiões não imunoreativas à 5-HT (n-IR), em regiões paramedianas e da linha média (M-8OH), em regiões laterais (L-8OH), nas regiões do aqueduto ou 4^o ventrículo (V-8OH) e de veículo nestas regiões (M-Veh, L-Veh e V-Veh) (*) diferenças estatisticamente significantes em relação a injeções de veículo no mesmo local ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney). (#) diferenças estatisticamente significantes em relação a injeções de 8-OH-DPAT em regiões n-IR ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney).

2.2.4 – Efeitos do 8-OH-DPAT sobre a correlação entre a ingestão hídrica e de alimentos e de suas proporções.

Além dos testes estatísticos efetuados acima, os dados pertinentes às injeções nas estruturas paramedianas e da linha média também foram submetidos a uma análise de correlação (teste de Spearman) para avaliar as relações entre o consumo de água e alimento após a injeção de 8-OH-DPAT ou veículo na linha média. Assim, nos animais tratados com veículo a análise de correlação efetuada entre o consumo de água e de alimento apresentou correlação positiva estatisticamente significativa ($\rho=0,43$; $p= 0,032$). Nos animais tratados com 8-OH-DPAT, a correlação entre o consumo de água e alimento foi também significativa, porém negativa ($\rho= -0,60$; $p= 0,001$), ou seja, animais que bebem muito tendem a comer menos e vice-versa (ver figura 11).

Em adição, foi verificada a proporção da ingestão de água em relação à ingestão de alimento com os dados obtidos com as injeções de 8-OH-DPAT e veículo na linha média e com as injeções de 8-OH-DPAT nas regiões N-IR. Os resultados desta análise revelaram que injeções de 8-OH-DPAT provocaram um aumento estatisticamente significativo na proporção de água ingerida em relação ao consumo de alimento ($3,84 \pm 0,6$) quando comparado com as injeções de veículo nestes locais ($1,79 \pm 0,3$) e com as injeções de 8-OH-DPAT nas regiões N-IR ($1,17 \pm 0,1$) (ver figura 12 A).

Correlação entre consumo de água e alimento

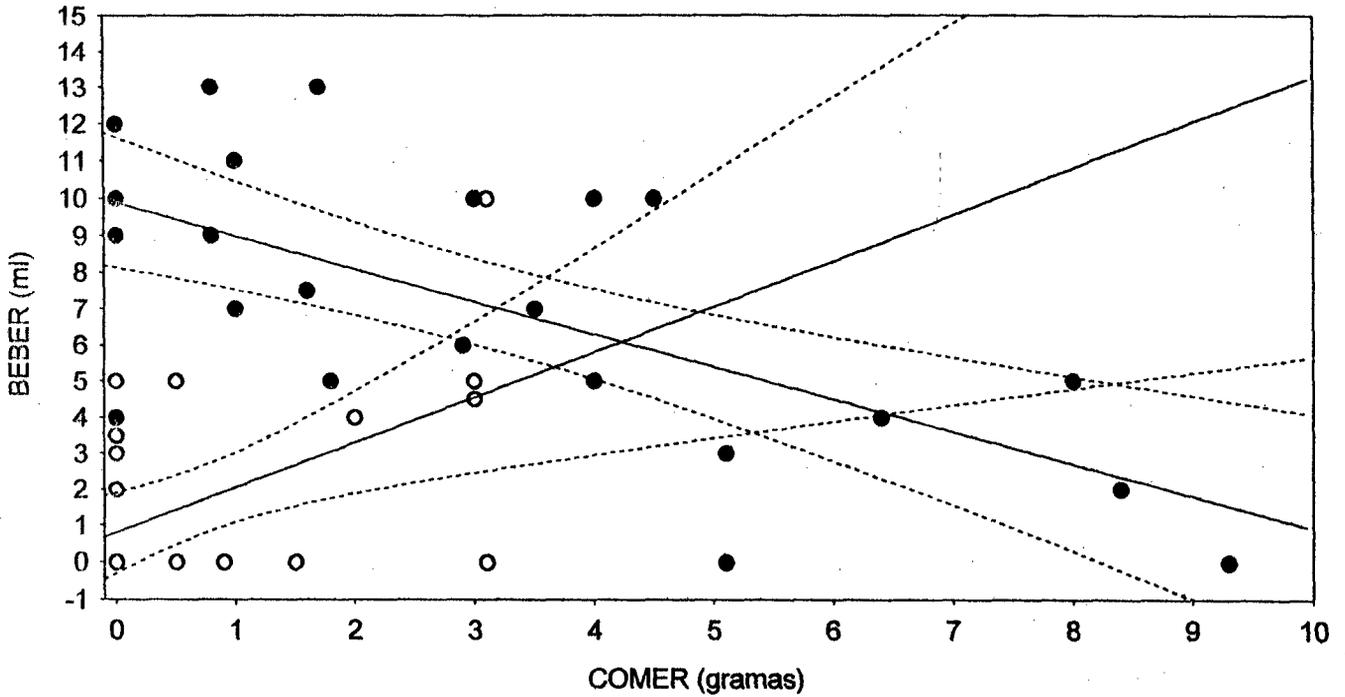


Figura 11. Análise de correlação (teste de Spearman) entre o consumo de água e alimento após a injeção de 8-OH-DPAT (●) ($\rho = -0,600$; $p < 0,001$; $n = 25$) e entre o consumo de água e alimento após a injeção de veículo (○) ($\rho = -0,427$; $p < 0,033$; $n = 25$). As linhas sólidas indicam a linha de regressão e as linhas pontilhadas indicam intervalo de confiança 95%.

Proporção entre beber e comer

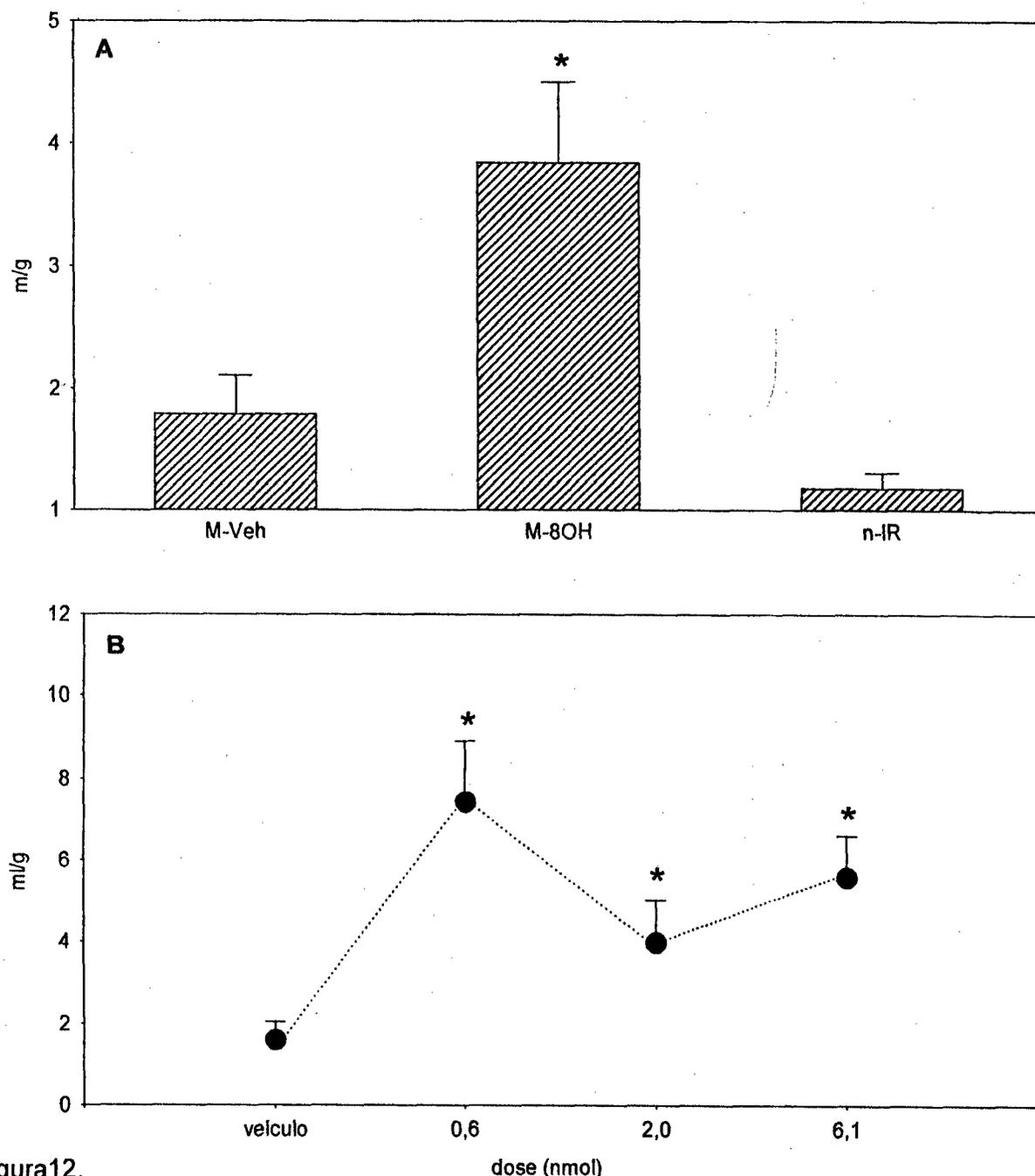


Figura12.

(A) Proporção da ingestão de água em relação à ingestão de alimento (ml/g) após injeções de 8-OH-DPAT ou de veículo na linha média do tegmento pontomesencefálico e em 5-HT(n-IR). Os pontos representam a média \pm E.P.M. (*) diferenças estatisticamente significantes em relação a injeções de veículo no mesmo local ($p < 0.05$, teste de Mann-Whitney). (B) Proporção da ingestão de água em relação à ingestão de alimento (ml/g) após diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) ou de veículo na linha média do tegmento pontomesencefálico. Os pontos representam a média \pm E.P.M. (*) diferenças estatisticamente em relação às injeções de veículo ($p < 0,5$, teste de Mann-Whitney).

2.3 – Efeitos ingestivos de diferentes doses de 8-OH-DPAT aplicadas nas estruturas da linha média

Foram investigados os possíveis efeitos da administração de diferentes doses de 8-OH-DPAT e de veículo em algumas estruturas da linha média (LC+CS, Ann+nDBC; n= 13). Os efeitos provocados por diferentes doses de 8-OH-DPAT sobre a ingestão de água e alimento e sobre os padrões comportamentais de ingestão estão indicados nas figuras 13 e 14.

Os resultados desta análise revelaram que o tratamento com diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) foram efetivos em provocar um aumento estatisticamente significativo no consumo de água (respectivamente: $8,4 \pm 1,0$ ml; $5,8 \pm 0,6$ ml e $8,2 \pm 0,8$ ml). Além disso, a análise estatística dos padrões comportamentais de ingestão de água (latência, frequência e duração) indicou que todas as três doses de 8-OH-DPAT administradas nas estruturas da linha média foram efetivas e estatisticamente significantes, com exceção da dose de 0,6 nmol para latência de beber, quando comparadas com as injeções de veículo.

Quanto aos resultados obtidos com as diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) sobre o consumo e os padrões comportamentais de ingestão de alimento a análise estatística não revelou diferenças significantes quando esses resultados foram comparados com os dados obtidos após a injeção do veículo. As médias de consumo de alimento, de acordo com as diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) foram de $0,5 \pm 0,3$ ml, $0,9 \pm 0,2$ ml e $2,8 \pm 0,9$ gramas respectivamente.

As análises de correlação (teste de Spearman) efetuadas entre os tratamentos (veículo e diferentes doses de 8-OH-DPAT) e o consumo de água ($\rho=0,72$; $p<0,001$) ou entre os tratamentos e o consumo de alimento ($\rho=0,34$; $p=0,060$), indicaram correlações estatisticamente significantes apenas entre os diferentes tratamentos efetuados e o consumo de água. Os padrões comportamentais de ingestão de água também foram submetidos a uma análise de correlação. Os resultados desta análise revelaram correlações estatisticamente significantes entre latência ($\rho=-0,52$; $p<0,001$), frequência ($\rho=0,59$; $p<0,001$) e duração de beber ($\rho=0,81$; $p=10^{-6}$) quando associadas com os tratamentos efetuados. Por outro lado, os padrões comportamentais de ingestão de alimento não apresentaram correlações estatisticamente significantes quando comparados com os tratamentos.

A proporção da ingestão de água em relação à ingestão de alimento também foi verificada através dos dados obtidos com as diferentes doses de 8-OH-DPAT na linha média. Os resultados desta análise revelaram que diferentes doses de 8-OH-DPAT (0.6, 2.0 e 6.1 nmol) provocaram um aumento estatisticamente significativo na proporção de água consumida em relação ao consumo de alimento (respectivamente: $7,45 \pm 1,46$; $4,00 \pm 1,03$ e $5,61 \pm 1,02$) quando comparado com as injeções de veículo neste local ($1,61 \pm 0,45$) (ver figura 12 B).

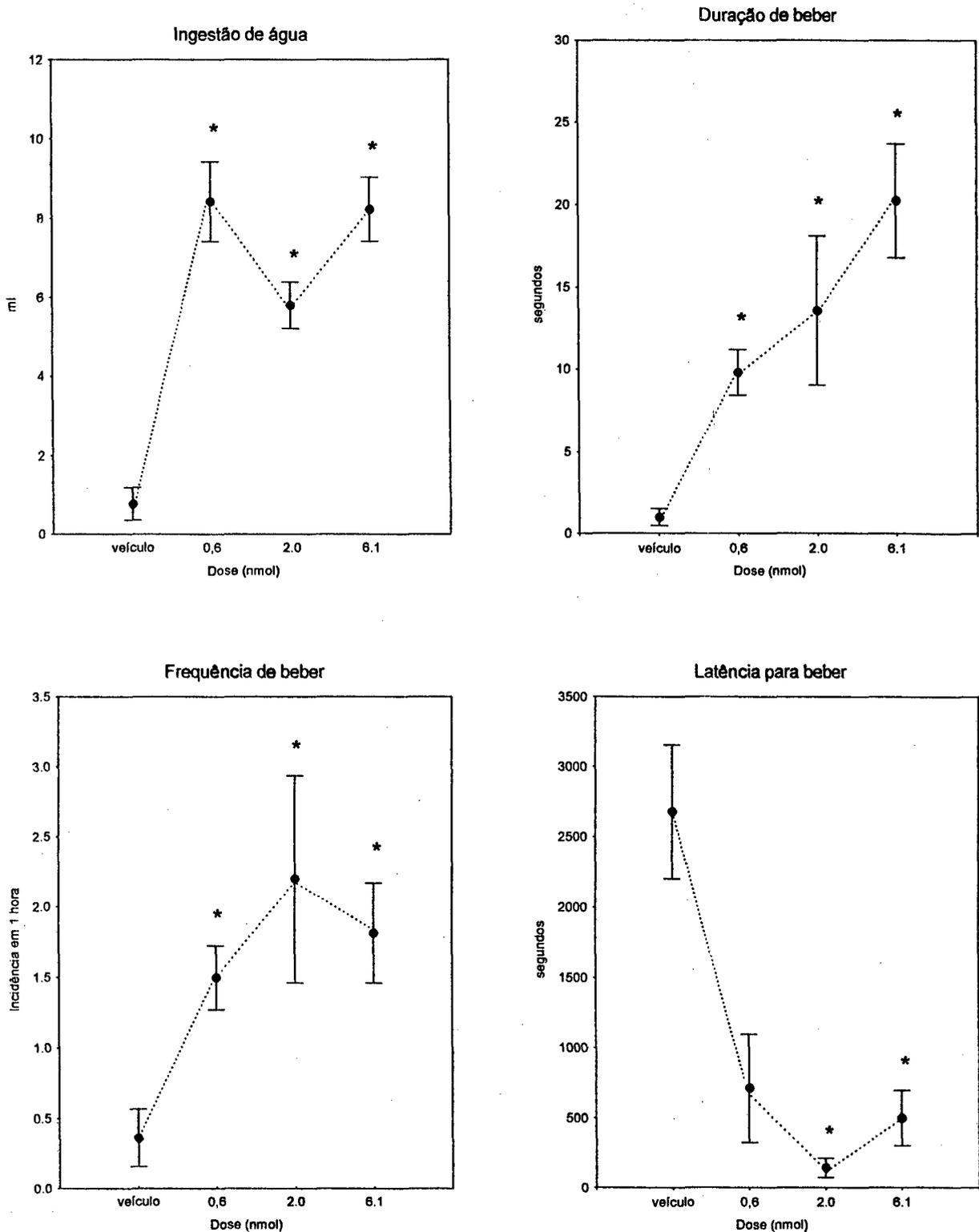


Figura 13. Efeitos de diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) ou de veículo na linha média do tegmento pontomesencefálico sobre o consumo e os padrões comportamentais de ingestão de água. Os pontos representam a média \pm E.P.M. (*) diferenças estatisticamente em relação às injeções de veículo ($p < 0,5$, teste de Mann-Whitney)

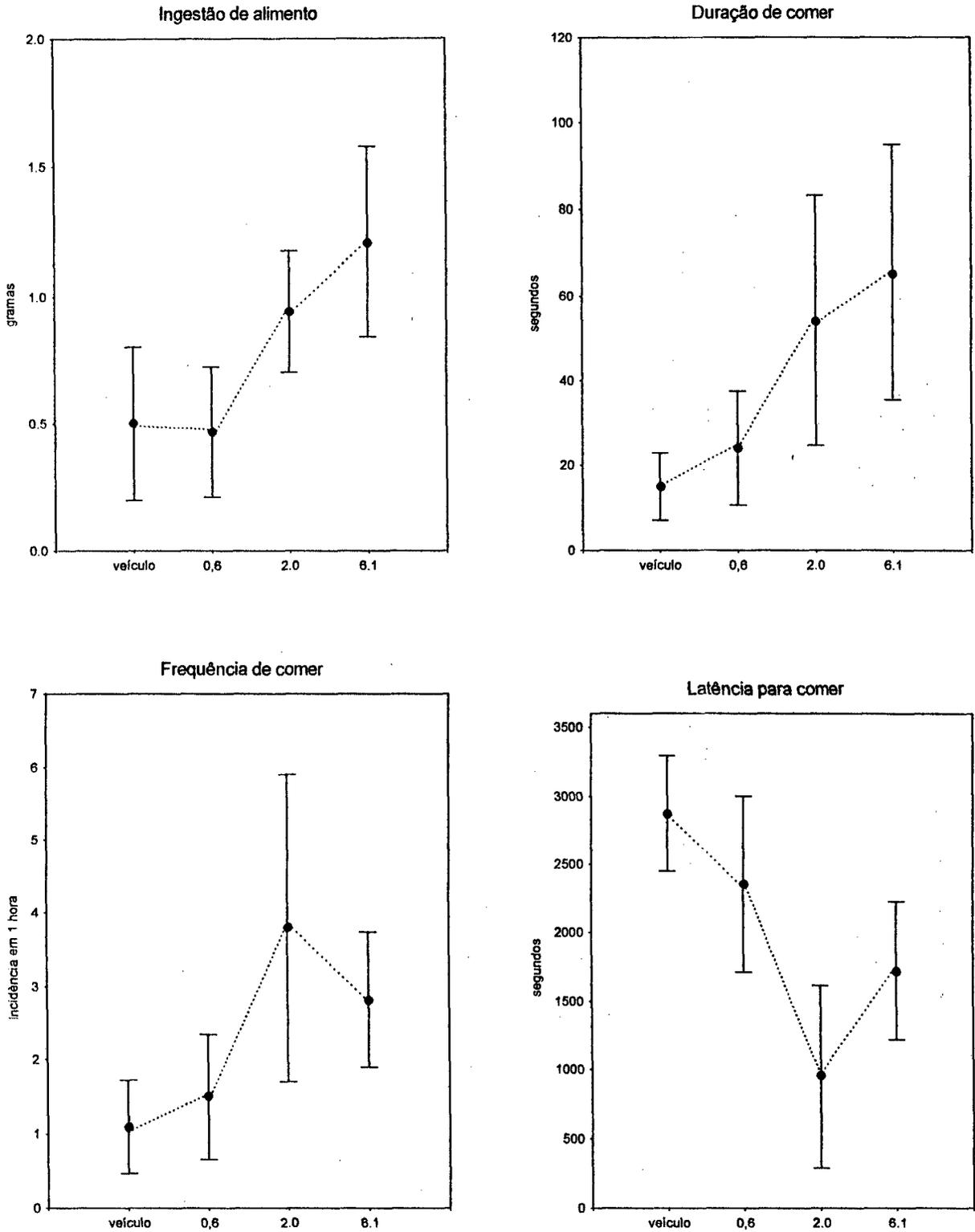


Figura 14. Efeitos de diferentes doses de 8-OH-DPAT (0,6, 2,0 e 6,1 nmol) ou de veículo na linha média do tegmento pontomesencefálico sobre o consumo e os padrões comportamentais de ingestão de alimento. Os pontos representam a média \pm E.P.M. (*) diferenças estatisticamente em relação às injeções de veículo ($p < 0,5$, teste de Mann-Whitney).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que injeções de 8-OH-DPAT ao longo da linha média do tegmento pontomesencefálico provocam, de forma consistente, efeitos dipsogênicos em pombos acordados e com livre acesso à água e alimento. O padrão comportamental de ingestão hídrica também foi alterado pela administração central de 8-OH-DPAT, que provocou uma redução na latência para iniciar o consumo de água e um aumento na duração total deste comportamento. Estes efeitos foram verificados em distritos da linha média onde está concentrada a grande maioria dos pericários contendo 5-HT no pombo (Challet e cols., 1996 e presente estudo). As injeções de 8-OH-DPAT administradas no grupo lateral (Loc – SCd) não provocaram, de forma consistente, efeitos dipsogênicos, apesar de numerosos 5-HT-IRp também ocuparem estas regiões. Além disso, injeções de 8-OH-DPAT nas várias regiões do tegmento pontomesencefálico sem pericários imunoreativos (ver resultados) não provocaram respostas ingestivas.

Estes dados sugerem que o grupo da linha média pode participar de sistemas funcionais diferentes daqueles do grupo lateral. Diferenças citoarquitetônicas verificadas através da detecção imunohistoquímica reforçam este aspecto. Resultados da descrição efetuada no presente estudo mostram que os 5-HT-IRp distribuídos na linha média pontomesencefálica são pequenos (8-16 μm em seu maior diâmetro), ovais e fusiformes, bipolares ou multipolares, com poucos processos pobremente marcados; a densidade de marcação nestes pericários varia de fraca a moderada. Já os 5-HT-IRp do grupo lateral (LoC – SCd) são ovais ou poligonais, de tamanho médio ou grande (16 a 32 μm), e

ostentam processos densamente marcados formando arborização bipolar ou multipolar sem direção preferencial.

Em adição aos aspectos citoarquitetônicos referidos acima, os resultados da detecção imunohistoquímica obtidos no presente estudo revelaram um padrão de distribuição de 5-HT-IRp no tegmento pontomesencefálico de pombos consistente com aquele relatado por Challet e cols. (1996). Estes investigadores identificaram no cérebro de pombos domésticos (*Columba livia*), 21 diferentes grupos de células contendo serotonina. Dois destes grupos foram localizados no hipotálamo ocupando o órgão periventricular e o recesso do infundíbulo. Os outros 19 grupos foram localizados em diversas regiões do tegmento mesencefálico, pontino e bulbar. Além disso, 10 desses grupos de células foram localizadas na região da linha média a partir do istmo até o nível pontino-bulbar posterior e os outros 9 grupos em regiões laterais à linha média, a partir do tegmento mesencefálico posterior até o nível bulbar caudal.

Por outro lado, no presente estudo, optamos por examinar estes grupos de 5-HT-IRp no tegmento pontomesencefálico de pombos considerando-os como duas colunas de células: a rafe superior (que inclui as estruturas paramedianas e da linha média) e o grupo lateral (que inclui o Loc-SCd). Assim, a inclusão dos diversos distritos pontomesencefálicos em um destes dois grupos foi realizada de acordo com os aspectos topográficos (principalmente pela continuidade aparente das colunas ao longo do eixo rostro-caudal) e citoarquitetônicos (mencionados acima) delineados na detecção imunohistoquímica, além das diferenças entre os efeitos ingestivos obtidos após a injeção de 8-OH-DPAT na rafe superior e no

grupo lateral e das semelhanças entre os resultados ingestivos obtidos após as injeções nas diferentes estruturas da linha média (ver tabela 2).

Embora alguns estudos indiquem uma ampla distribuição de fibras 5-HT no sistema nervoso central do pombo, o padrão de inervação deste sistema não foi estudado sistematicamente. Estudos realizados por Challet e cols. 1996, descreveram superficialmente os sistemas de projeções serotoninérgicas em distritos cerebrais de pombos, merecendo destaque apenas os principais sítios de concentração de fibras de neurônios imunoreativos à serotonina. Assim, a descrição neuroanatômica de fibras e terminais serotoninérgicos do tronco encefálico de pombos relatado por estes investigadores, identificou a ocorrência de uma intensa inervação no tecto óptico e uma alta densidade de terminais sobre os neurônios de vários nervos cranianos (NIII, NIV, NV, NVII). Além disso, vários outros núcleos (IO, SCd, LoC, GCt e IP) exibiram densos plexos de fibras e terminais imunoreativos a serotonina. Algumas estruturas do prosencéfalo como a camada granular do bulbo olfativo, a área parahipocampal, o septo e diferentes áreas preópticas e hipotalâmicas também apresentaram uma intensa inervação positiva para serotonina.

Uma descrição mais detalhada da inervação serotoninérgica em aves foi realizada por Yamada e Sano (1985) em galinhas (*Gallus domesticus*). Este estudo revelou uma ampla distribuição de fibras imunoreativas à serotonina por todo sistema nervoso central. Entre estas regiões, várias estruturas hipotalâmicas recebem inervação serotoninérgica densa ou moderada como o núcleo paraventricular, o hipotálamo lateral e os núcleos ventromedial e dorsolateral do

hipotálamo. Além disso, estas estruturas parecem constituir um dos principais substratos neuroanatômicos para regulação da ingestão de alimentos em aves e mamíferos (para revisão ver: Kuenzel, 1994; Leibowitz e cols., 1998; Denbow, 1999; Kuenzel e cols., 1999).

É interessante ressaltar que, em ratos, a comparação das projeções do núcleo da rafe mediana com o núcleo da rafe dorsal mostra que estes dois importantes grupos de células contendo 5-HT-IRp mantêm padrão diferencial de distribuição de fibras. Diversas estruturas do prosencéfalo recebem projeções predominantemente do núcleo da rafe mediana ou do núcleo da rafe dorsal, mas não com a mesma densidade (Vertes e cols., 1991 e 1999). Estas diferenças neuroanatômicas de origem das projeções e seus alvos podem refletir importantes diferenças funcionais entre estes dois sistemas (Vertes e cols., 1999).

Em resumo, os efeitos ingestivos obtidos através das injeções de 8-OH-DPAT parecem sugerir diferenças funcionais entre a rafe superior e o grupo lateral do tegmento pontomesencefálico de pombos. Um exame detalhado das diferenças hodológicas entre estes distritos poderá revelar os circuitos subjacentes a estas diferenças funcionais.

Vários estudos têm relatado a participação dos auto-receptores 5-HT_{1a} somatodendríticos, situados em neurônios da rafe dorsal e mediana, na regulação do comportamento de ingestão alimentar em mamíferos (e.x.: Bendotti e Samanin, 1986; Fletcher e Davies, 1990; Fletcher, 1991). Os resultados obtidos nestes estudos revelaram aumentos na ingestão de alimento após injeções de 8-OH-DPAT nestes distritos da rafe. A ativação dos receptores 5HT_{1a} pelo 8-OH-

DPAT reduz a atividade neuronal serotoninérgica, diminuindo a síntese e liberação de 5-HT nos campos terminais inervados por estas células (ver, e.x., Hjorth e Magnusson, 1988; Martin e cols., 1999). Evidências bioquímicas indicam que, em aves, o 8-OH-DPAT desencadeia efeito semelhante. A injeção sistêmica de 8-OH-DPAT em pombos provoca uma redução dos níveis de metabólito da 5-HT, o ácido 5-hidroxiindoleacético (5HIAA), no líquido cefalorraquidiano (Gleeson e cols., 1992). Além disso, estudos autoradiográficos realizados em ratos e em pombos têm indicado a presença de receptores 5-HT_{1a} nos núcleos da rafe, hipocampo e cortex (Deshmukh e cols., 1983; Pazos e cols., 1985; Waeber e cols., 1989). Assim, é possível que os efeitos ingestivos observados após a administração de 8-OH-DPAT na linha média do tegmento pontomesencefálico de pombos se devam à redução da transmissão de 5-HT.

O mecanismo neuroquímico pelo qual a 8-OH-DPAT parece atuar provocando aumento da ingestão de alimento (através da redução na atividade de neurônios serotoninérgicos), é consistente com o papel inibitório postulado para a 5-HT no controle do comportamento alimentar (Blundell, 1984; 1986). Além disso, o auto-receptor somatodendrítico através do qual o 8-OH-DPAT parece exercer pelo menos parte de suas ações nestes domínios funcionais tem como ligante endógeno a serotonina, e representa um importante mecanismo que regula a atividade de neurônios serotoninérgicos (Aghajanian e cols., 1987).

Embora as injeções de 8-OH-DPAT na linha média tenham desencadeado aumentos significantes tanto na ingestão de alimento quanto na ingestão de água, os efeitos dipsogênicos foram mais intensos e consistentes que os efeitos

hiperfágicos. Os resultados da análise de correlação entre o consumo de alimento e de água em animais tratados com veículo indicam que estes dois comportamentos estão correlacionados positivamente, ou seja, animais que comem muito tendem a beber mais.

Estudos realizados por Zeigler e cols. (1972) mostraram que, em pombos, existe uma complexa interação entre a ingestão de alimento e a ingestão de água, semelhante àquela relatada em mamíferos e outras espécies de aves (Strominger, 1947; Van Heme e Meyer, 1969). Resultados deste estudo indicam que a ingestão de água e de alimento verificada em pombos mantidos em condições experimentais com alimento e água disponíveis ad libitum está positivamente correlacionada, e a proporção entre ambos se mantém constante. Além disso, estes resultados estão de acordo com as análises de correlação e de proporção efetuadas no presente estudo com os dados obtidos com as injeções de veículo na linha média do tegmento pontomesencefálico. Além da correlação positiva, o índice água/alimento obtido em pombos intactos por Zeigler e cols. (1972) ($1,64 \pm 0,30$ ml/g) é semelhante ao que obtivemos nos animais tratados com veículo ($1,79 \pm 0,32$ ml/g).

Os resultados da análise de correlação entre o consumo de água e alimento, obtidos após a injeção de 8-OH-DPAT na linha média, indicam que estes dois comportamentos passam a correlacionar-se negativamente, ou seja, animais que bebem muito tendem a comer menos e vice-versa. Além disso, as injeções de 8-OH-DPAT na linha média provocam um aumento estatisticamente significativo na proporção de água ingerida em relação ao alimento consumido.

quando comparado com injeções de veículo e de 8-OH-DPAT em regiões N-IR. Em adição, as diferentes doses de 8-OH-DPAT foram efetivas em provocar um aumento na proporção de água ingerida em relação à ingestão de alimento.

Assim, injeções de 8-OH-DPAT administradas na linha média do tegmento pontomesencefálico promovem mudanças na relação entre a ingestão de água e de alimento em pombos, indicando uma desorganização do padrão periprandial de ingestão de água, e um aumento seletivo no consumo de água como consequência deste tratamento. É interessante ressaltar ainda que o efeito dipsogênico obtido com as injeções de 8-OH-DPAT no aqueduto/4^o ventrículo no presente estudo, foi maior (em torno de 60%) do que aquele observado após a injeção de 8-OH-DPAT na linha média. Além disso, este aumento no consumo de água foi acompanhado por alterações significantes nos padrões comportamentais de ingestão hídrica. No presente trabalho, o 8-OH-DPAT provocou efeitos dipsogênicos potentes nos 14 casos de injeções no aqueduto/4^o ventrículo. No entanto, em 6 destes casos o veículo (ácido ascórbico) também elevou o consumo de água. Outros veículos testados (NaCl, 9% e líquido cefalorraquidiano -LCR) reproduziram o mesmo efeito verificado com ácido ascórbico. O pH destas soluções variou desde alcalino (LCR – pH 8,0) até o ácido (ácido ascórbico – pH 2,8 e solução de NaCl – pH 5,5). Assim, de acordo com estes resultados, a possibilidade do efeito dipsogênico obtido com veículo ser decorrente da influência do pH, principalmente ácido, sobre a atividade neural não pode ser sustentada. Estes efeitos poderiam também ser atribuídos a um provável fenômeno de distensão mecânica. Contudo, em 8 casos de injeções de veículo

não foram observados efeitos dipsogênicos. Assim, mecanismos subjacentes aos efeitos do veículo nestes experimentos permanecem desconhecidos.

Estudos realizados por Steffens e cols. (1997), mostram que injeções i.c.v. de 8-OH-DPAT provocam, de forma dose-dependente, um aumento na ingestão alimentar, que é seguida pelo aumento na ingestão hídrica e das posturas de sono em pombos. Estes aumentos na ingestão de água e de alimento são acompanhados por uma redução nas latências para iniciar estes comportamentos e pelo aumento na duração total da ingestão hídrica e alimentar.

É interessante ressaltar que nos estudos efetuados por Steffens e cols. (1997), as injeções i.c.v. de 8-OH-DPAT provocaram um intenso aumento no consumo de alimento (12 g) quando comparada com a média de consumo alimentar (2,6 g) obtida após a aplicação deste tratamento na linha média no presente estudo. A média do consumo de água observada após as injeções i.c.v. de 8-OH-DPAT foi de 11 ml enquanto que na linha média foi de 6,7 ml.

Além disso, a proporção do consumo de água em relação ao consumo de alimento após injeções i.c.v. de 8-OH-DPAT ou de veículo obtidos nos estudos de Steffens e cols. (1997) em pombos, parecem reproduzir a relação entre a ingestão de água e de alimento observada em nossos estudos. Este estudo também mostrou um aumento na ingestão de água e de alimento após diferentes doses de 8-OH-DPAT injetadas i.c.v. A correlação entre consumo de água e de alimento passou a ser negativa, de forma similar ao que observamos no presente estudo. No entanto, a proporção entre consumo hídrico e alimentar foi afetada de forma diferente: o 8-OH-DPAT injetado i.c.v. provocou, de forma dose-dependente, uma

redução na quantidade de água ingerida por grama de alimento ingerido ($0,4 \pm 0,05$ ml/g).

Assim, enquanto as injeções de 8-OH-DPAT na linha média aumentam principalmente o consumo de água, a mesma droga injetada no ventrículo lateral, provoca aumentos específicos na ingestão de alimento. Além disso, este tratamento por via i.c.v. desencadeou uma seqüência de comportamentos que foi iniciada pela ingestão de alimento, seguida pela ingestão de água e posteriormente pelas posturas típicas de sono (Steffens e cols., 1997; Steffens, 1999). Já as injeções de 8-OH-DPAT na linha média não foram acompanhadas por alterações nas posturas típicas de sono.

Deve ser reiterado que injeções de 8-OH-DPAT no aqueduto/4^o ventrículo realizadas no presente estudo, provocaram essencialmente efeitos dipsogênicos e não efeitos hiperfágicos ou efeitos hipnogênicos. Estes dados sugerem que enquanto efeitos dipsogênicos do 8-OH-DPAT possam ser mediados principalmente por receptores 5-HT_{1a} localizados na linha média do tegmento pontomesencefálico, os efeitos hiperfágicos e hipnogênicos do 8-OH-DPAT injetado i.c.v. possam estar relacionados a interações desta droga com sítios receptores localizados mais rostralmente no neuroeixo.

A maioria dos dados sugerindo que a 5-HT têm um papel inibitório sobre a ingestão de alimento em aves são decorrentes de injeções de 5-HT administradas por via i.c.v. (galinhas: Denbow e cols., 1983; Denbow, 1984; pombos: Steffens e cols., 1997; Sell, 2000; Andriani, 2000). É interessante ressaltar que injeções i.c.v. de 5-HT promovem um aumento mais intenso no consumo de água (em média 25

ml em 1 hora) quando comparado com o consumo de água (11 ml) obtido com 8-OH-DPAT através da mesma via (Steffens e cols., 1997; Andriani, 2000) e com o consumo de água obtido na linha média (aproximadamente 7 ml) no presente estudo. Cabe notar que pombos adultos mantidos em laboratório com alimento disponível têm uma ingestão hídrica de aproximadamente 38 ml em 24 horas (Zeigler e cols., 1972).

Estas diferentes intensidades de consumo de água, obtidas após injeções i.c.v. de 5-HT e 8-OH-DPAT, podem sugerir o envolvimento de vários sistemas serotoninérgicos em diferentes distritos cerebrais na regulação da ingestão hídrica em pombos. Isto é possível de ocorrer, já que drogas injetadas no ventrículo lateral podem também fluir para o 3^o e 4^o ventrículo, e afetar níveis mais posteriores do neuroeixo.

Deve ser notado que existe uma relativa proximidade do aqueduto/4^o ventrículo com a porção mais dorsal do tegmento pontomesencefálico. Este aspecto pode sugerir que o 8-OH-DPAT administrado no aqueduto/4^o ventrículo possa se difundir até alguns neurônios da linha média, e ativar os receptores 5-HT_{1a}, provocando aumento na ingestão de água. Também pode ser sugerido que o 8-OH-DPAT ative sítios presentes no sistema ventricular, possivelmente no próprio aqueduto/4^o ventrículo, o que poderia indicar a participação de um outro sistema serotoninérgico, interligado ou não a região da linha média do tegmento pontomesencefálico, na regulação da ingestão hídrica.

Um outro estudo, realizado em nosso laboratório por Brun e cols. (2001) mostrou que a resposta dipsogênica induzida pela injeção i.c.v. de 5-HT em

pombos parece depender da ativação de circuitos angiotensinérgicos centrais, já que o pré-tratamento com salarazina, um antagonista não seletivo de receptores para angiotensina, bloqueia a ingestão de água induzida pela 5-HT.

Enquanto injeções i.c.v de 8-OH-DPAT ou 5-HT provocam efeitos dipsogênicos intensos, a aplicação de DOI (agonista 5-HT_{2a/2c}, Steffens, 1997b), MK-212 (agonista 5-HT_{2a/2c}, Sell, 2000), mCPP (agonista 5-HT_{1b/2c}, Sell, 2000) ou quipazine (agonista 5-HT₃, Steffens, 1999), pela mesma via, não afetam a ingestão de água em pombos saciados. Além disso, injeções de 5-HT no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) em pombos reduzem a ingestão de alimentos provocada por jejum, mas não provocam efeitos dipsogênicos (Silva, 2001).

Assim, a partir dos nossos resultados, mais as evidências mencionadas acima, é possível sugerir que a ingestão de água induzida pela injeção i.c.v. de 5-HT em pombos pode ser mediada, ao menos em parte, pelo decréscimo da neurotransmissão serotoninérgica, e que os mecanismos de homeostase hidromineral mediados pelos circuitos angiotensinérgicos nesta espécie possivelmente envolvem uma inibição serotoninérgica tônica da ingestão de água, que podem ocorrer em distritos neurais ainda não examinados no pombo.

É interessante notar que vários estudos têm demonstrado efeitos hiperfágicos após administração de 8-OH-DPAT na rafe mediana e dorsal de ratos (Bendotti e Samanin, 1986; Fletcher e Davies, 1990; Fletcher, 1991). Contudo, deve ser ressaltado que nestes estudos, a água estava ausente durante todo o período experimental. Em experimentos nos quais o animal podia escolher

entre bebedouros contendo água ou álcool (Tomkins e cols, 1994) a injeção de 8-OH-DPAT na rafe aumentou apenas a ingestão de álcool, mas não gerou aumento na ingestão de água. Assim, estes dados apontam para uma diferença importante entre respostas de ratos e pombos à injeção de 8-OH-DPAT na rafe, e podem sugerir que enquanto em pombos a rafe esteja envolvida principalmente com a ingestão hídrica, em mamíferos estes distritos estão envolvidos principalmente com a ingestão de alimento. No entanto, estudos com lesões (eletrolítica e com a neurotoxina seletiva para neurônios 5-HT, a 5,7-DHT) do núcleo da rafe dorsal e mediana demonstraram um aumento significativo na ingestão de água em ratos (Tangaprégasson e cols., 1973 e 1974; Barofsky e cols., 1980; Reis e cols., 1994).

Além disso, foi demonstrada a participação de receptores gabaérgicos dos núcleos da rafe mediana e dorsal na regulação da ingestão de alimento e de água em ratos (Klitenick e Wirtshafter, 1988; Klitenick e Wirtshafter, 1989). Assim, injeções de muscimol, um agonista de receptores GABA-A, nos núcleos da rafe dorsal e mediana estimulam a ingestão de água e de alimento em ratos. Além disso, a ingestão de água nestes experimentos não é secundária a estimulação da ingestão de alimento, já que a magnitude do efeito da injeção de muscimol sobre a ingestão de água também foi verificada ser a mesma na ausência de alimento. Um outro estudo demonstrou que injeções de metisergida, um antagonista de receptores 5-HT₁/5-HT₂, na área parabraquial potencia a ingestão de água e de NaCl induzida pela administração i.c.v de angiotensina II em ratos (Menani e cols., 1996). Assim, estes dados sugerem a participação de circuitos serotoninérgicos originados nos núcleos da rafe e em outros distritos do tegmento

bulbar no comportamento de ingestão de água também em mamíferos. Tais mecanismos, de maneira comparável ao aqui sugerido para o pombo, incluiria um papel inibitório para a 5-HT na modulação de circuitos angiotensinérgicos que participam do controle de ingestão hídrica.

Várias evidências na literatura indicam a existência de sistemas serotoninérgicos no cérebro de aves (Yamada e cols., 1984; Yamada e Sano, 1985; Alesci e Bagnoli, 1988; Cozzi e cols., 1991; Hirunagi e cols., 1992, Chalett e cols., 1996). Os neurônios serotoninérgicos são encontrados principalmente nos núcleos da rafe mesencefálica, mas também são abundantes em regiões mais laterais do tronco cerebral. A partir destas células partem sistemas de fibras ascendentes dirigindo-se ao telencéfalo, e também, fibras descendentes dirigindo-se à medula espinhal. Sistemas eferentes serotoninérgicos também foram localizados ao redor das paredes cerebroventriculares. Embora o objetivo principal da detecção imunohistoquímica efetuado no presente estudo tenha sido a identificação da distribuição de pericários imunoreativos a serotonina no tegmento pontomesencefálico, pudemos também observar processos que emergiam de pericários distribuídos ao longo da zona peri-FLM. Muitos destes processos se originam principalmente de pericários localizados entre o epêndima e o FLM e no grupamento caudal ao n.IV, e formam densos grupos de fibras distribuídas nas camadas sub- e supra-ependimárias. Muitos desses processos se distribuem paralelamente à superfície ventricular e se agrupam de forma especialmente densa nos aspectos mais mediais das paredes aquedutais e ventriculares, ostentando varicosidades ovais densamente imunoreativas e regularmente espaçadas ao longo do seu percurso.

Além disso, outros estudos demonstraram a presença de corpos celulares 5-HT reativos no órgão paraventricular (considerado um órgão circumventricular em aves) e na parede do recesso do infundíbulo em contato direto com o fluido cérebro-espinhal em pombos e galinhas (Hirunagi e cols., 1992; Chalett e cols., 1996). Essas células serotoninérgicas em contato com o líquido cefalorraquidiano representam um atributo exclusivo de vertebrados não mamíferos (Parent, 1981) e, juntamente com sistemas serotoninérgicos originados na rafe podem estar envolvidos na resposta dipsogênica observada em nossos experimentos. Fibras serotoninérgicas de origem desconhecida foram encontradas fazendo contato com a população de células localizadas no núcleo do trato solitário e núcleo paraventricular do hipotálamo (Korf, 1984; Berk e cols., 1993). Essa última região parece estar envolvida com mecanismos de controle do metabolismo, da ingestão de alimento, bem como de funções neuroendócrinas relacionadas com a homeostase de água e sal em aves (Korf, 1984; Kuenzel, 1994).

Em resumo, nossos dados apontam para um envolvimento importante e seletivo de receptores 5-HT_{1a} localizados na linha média do tegmento pontomesencefálico, na regulação do comportamento de ingestão hídrica em pombos. No entanto, existem controvérsias quanto a possível especificidade comportamental dos efeitos ingestivos induzidos pelo 8-OH-DPAT em mamíferos. Estudos realizados por Fletcher (1987) e Montgomery e cols. (1988), mostraram que o 8-OH-DPAT injetado sistemicamente não promove aumento na ingestão de dietas líquidas, mas aumenta o comportamento de roer blocos de madeira na ausência de alimento sólido. Estes resultados sugeriram a estes investigadores que o efeito hiperfágico obtido com o 8-OH-DPAT poderia ser secundário a

estimulação do comportamento de roer. Isto parece estar de acordo com a vinculação da atividade serotoninérgica com a execução de movimentos orofaciais; estudos eletrofisiológicos mostraram que populações de neurônios dos núcleos dorsal e mediano da rafe são ativadas seletivamente durante os movimentos oro-faciais (mastigar, lambar e limpar a superfície do corpo com a língua) em gatos (Ribeiro-Do-Valle e cols., 1989, Fornal e cols, 1996). Injeções de muscimol, um agonista gabaérgico, administrado no núcleo mediano da rafe em ratos, promoveu um aumento na ingestão de alimento e de água, no comportamento de roer blocos de madeira e na atividade locomotora (Klitenick e Wirtshafter, 1988 e 1989). Segundo estes investigadores, estes dados indicam que a estimulação de receptores gabaérgicos dentro do núcleo mediano da rafe é capaz de gerar várias respostas, o que sugere que os comportamentos não resultam da ativação de um específico padrão motor da atividade alimentar, mas sim de uma ativação comportamental geral e de caráter inespecífico.

No entanto, outros estudos têm sugerido uma possível especificidade do comportamento ingestivo induzido pelo 8-OH-DPAT. Assim, o pioneiro estudo de Dourish e cols. (1985a) mostrou que alimentação induzida pelo 8-OH-DPAT administrado sistemicamente poderia representar um comportamento específico, uma vez que somente a ingestão de alimento foi acentuada e não houve alteração da ingestão de água e nem da atividade motora espontânea. Deve ser notado que estes resultados estão de acordo com obtido em nosso estudo, na qual observamos um intenso e consistente aumento no consumo de água, porém nenhuma alteração nas atividades de locomoção e nas posturas típicas de sono.

Além disso, Dourish e cols. (1988a e 1988b) mostraram que 8-OH-DPAT administrado sistemicamente promoveu um aumento na ingestão de leite e produziu uma similar acentuação da ingestão de dietas líquida e sólida em teste de escolha de dietas. Contudo, em uma condição experimental na qual foi permitida a escolha entre ração e blocos de madeira, os ratos mostraram uma clara preferência pela ração (Dourish e cols, 1985a). Estes resultados fornecem evidência consistente que o 8-OH-DPAT provoca um comportamento de ingestão alimentar específico, não sendo secundário a um efeito inespecífico no comportamento de mastigar e roer.

Um outro estudo também investigou uma possível especificidade comportamental do 8-OH-DPAT sobre a ingestão de alimento em camundongos submetidos à condição de conflito social, na qual um camundongo intruso é colocado em uma caixa com um já residente camundongo agressivo (Shepherd e Rodgers, 1990). Resultados deste estudo mostraram que 8-OH-DPAT administrado sistemicamente provoca aumento na ingestão de alimento durante a condição de conflito social. Assim, estes dados fornecem evidências do específico efeito do 8-OH-DPAT no controle do comportamento alimentar numa situação em que um outro estímulo do meio não está relacionado à alimentação.

Assim os efeitos dipsogênicos obtidos no presente estudo através da injeção de 8-OH-DPAT na linha média do tegmento pontomesencefálico e no aqueduto/4^o ventrículo, podem representar uma ação específica deste composto no comportamento ingestivo em pombos. Esta possibilidade é sustentada por alguns aspectos observados no presente estudo. A ingestão de água foi

intensamente afetada pelo 8-OH-DPAT na linha média e no aqueduto/4^o ventrículo, enquanto que a ingestão de alimento foi menos significativamente alterada. Além disso, os comportamentos exploratórios (movimentos da cabeça e do corpo) e as posturas típicas de sono e sonolência não foram influenciados pela aplicação de 8-OH-DPAT. Por outro lado, as injeções de 8-OH-DPAT administradas na linha média provocaram um aumento no comportamento de autolimpeza, que envolve intensa atividade orofacial. Contudo, este aumento foi estatisticamente significativo apenas na dose mais elevada. Em doses menores, mas suficiente para provocar o aumento na ingestão de água, este efeito não foi observado. Os dados apresentados no presente trabalho fornecem evidências que o efeito dipsogênico induzido pelo 8-OH-DPAT pode resultar de sua ação em mecanismos serotoninérgicos cerebrais que, de forma seletiva, controlam o comportamento de ingestão hídrica no pombo.

Além disso, é possível sugerir que os efeitos dipsogênicos observados sejam mediados pela ativação de receptores 5-HT presentes em neurônios serotoninérgicos. Este aspecto é reforçado principalmente pelo fato de os efeitos dipsogênicos obtidos após injeções de 8-OH-DPAT ocorrerem em substratos neuroanatômicos que contêm pericários imunoreativos à 5-HT. Além disso, os estudos de Gleeson e cols. (1992) mostraram que a injeção sistêmica de 8-OH-DPAT em pombos provoca redução dos níveis de ácido 5-hidroxiindoleacético, metabólito da 5-HT, no líquido cefalorraquidiano. Assim, é possível sugerir que os efeitos dipsogênicos observados após administração do 8-OH-DPAT na linha média do tegmento pontomesencefálico de pombos se devam à redução da

transmissão de 5-HT, e que este efeito seja mediado pela ativação de auto-receptores 5-HT_{1a} somatodendríticos.

Os mecanismos postulados acima podem envolver ainda, a participação de sistemas angiotensinérgicos. Assim, estudos realizados por Brun e cols. (2001) mostraram que os efeitos dipsogênicos obtidos após administração i.c.v. de 5-HT em pombos foram bloqueados pelo tratamento com um antagonista não seletivo de receptores angiotensinérgicos, sugerindo que ativação de circuitos centrais angiotensinérgicos representam uma etapa necessária no comportamento de ingestão de água, induzida por injeções centrais de 5-HT no pombo.

Além do envolvimento de sistemas serotoninérgicos neurais na regulação dos comportamentos de ingestão em mamíferos e aves, foi também demonstrado que, em peixes, injeções i.c.v. de 5-HT provocam redução na ingestão de alimento, enquanto que injeções intraperitoniais não afetam a ingestão alimentar (Lin e cols., 2000; De Pedro e cols., 1998). Assim, a participação de mecanismos serotoninérgicos centrais no controle do comportamento de ingestão em peixes parece representar um atributo fisiológico preservado através da filogênese de vertebrados.

Em conclusão, os dados do presente trabalho sugerem a participação de receptores 5-HT_{1a} localizados na linha média do tegmento pontomesencefálico na regulação do comportamento de ingestão hídrica em pombos. Além disso, estes dados reforçam a noção de que os sistemas serotoninérgicos parecem ter uma história filogenética antiga, tanto em aspectos anatômicos quanto funcionais, e que seu envolvimento no controle de comportamentos ingestivos possam representar um atributo conservado na evolução de vertebrados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGHAJANIAN, G.; SPROUSE, J. e RASMUSSEN, K. Physiology of the mesencephalic serotonin system. In: H. Y. Meltzer, ed. *Psychopharmacology: The third generation of progress*. New York: *Raven Press.*, 141-149, 1987.
- ALESCI, R. e BAGNOLI, P. Endogenous levels of serotonin and 5-hydroxy-indoleacetic acid in specific areas of the pigeon CNS: Effects of serotonin neurotoxins. *Brain Res.*, 450:259-271, 1988.
- ANDRIANI, V.M.A. Efeitos da injeção intracerebroventricular de serotonina sobre o sono e sobre o eletroscilograma hipocampal em pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 2001. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de mestre em Neurociências e Comportamento.
- BAROFSKY, A.; GRIER, H.C. e PRADHAN, K.T. Evidence for regulation of water intake by median raphe serotoninergic neurons. *Physiology e Behavior*, 24: 951-955, 1980.
- BEHZADI, G.; KALÉN, P.; PARVOPASSU, F. e WIKLUND, L. Afferents to the median raphe nucleus of the rat: retrograde cholera toxin and wheat germ conjugated horseradish peroxidase tracing, and selective D-[3H]aspartate labelling of possible excitatory amino acid inputs. *Neuroscience*, 37: 77-100, 1990.

- BENDOTTI, C. e SAMANIN, R. 8-hydroxy- 2- (di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicits eating in free-feeding rats by acting on central serotonin neurons. *Eur. J. Pharmacol.*, 121:147-150, 1986.
- BERK. M.L; SMITH. S.E. e KARTEN. H.J. Nucleus of the solitary tract and dorsal motor nucleus of the vagus nerve of the pigeon: Localization of peptide and 5-hydroxytryptamine immunoreactive fibers. *J. Comp. Neurol.*, 338: 521-548. 1993.
- BLUNDELL, J.E. Pharmacological approaches to appetite suppression. *Pharmacol. Sci.*,12:147-157. 1991.
- BLUNDELL, J.E. Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*. 23:1537-1551, 1984.
- BLUNDELL, J.E. Serotonin manipulation and structure of feeding behavior appetite.(Supp), 7:39-56.1986.
- CHALETT, E.; MICELI, D.; PIERRE, J.; REPÉRANT, J.; MASICOTTE, G.; HERBIN, M. e VESSLKIN, N.P. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the brain of the pigeon (*Columba livia*). *Anat. Embryol.*, 193:209-22, 1996.
- CLINESCHMIDT, B.V.; FLATAKER, L.M.; FAISON, E. e HOLMES, R. In vivo model for investigation $\alpha 1$ and $\alpha 2$ -receptores in the CNS: studies with miansem. *Arch Int. Pharmacodyn.*, 242: 59-76, 1979.

- COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – COBEA. Os princípios éticos da experimentação animal. São Paulo, 1991.
- COLOMBARI, D.S; MENANI, J.V. e JOHNSON, A.K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. *Am. J. Physiol.*, 271:R1470-6, 1996.
- COZZI, B.; VIGLIETTI-PANZICA, C.; ASTE, N. e PANZICA, G.C. The serotonergic system in the brain of the *Japanese quail*. An immunohistochemical study. *Cell Tissue Res.*, 263:271-284, 1991.
- CURRIE, P.J. e COSCINA, D.V. Paraventricular nucleus injections of idazoxan block feeding induced by paraventricular nucleus norepinephrine but not intraraphe 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *Brain Res.* 627:153-158, 1993.
- DAHLSTROM, A. e FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system: I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 232, 62:1-55, 1964.
- DE PEDRO, N.; PINILLOS, M.L.; VALENCIANO, I.; ALONSO-BEDATE, M. e DELGADO, M.J. Inhibitory effect of serotonin on feeding behavior in goldfish: involvement of CRF. *Peptides*, 19:505-511, 1998.
- DENBOW, D.M. Food Intake Regulation in Birds. *Journal of Experimental Zoology* 283: 333-338, 1999.

- DENBOW, D.M. Body temperature and food intake of turkeys following ICV injections of serotonin. *Nutr. Behav.*, 1: 301-304, 1984.
- DENBOW, D.M.; VAN KREY, H.P. e CHERRY, J.A. Feeding and drinking response of young chicks to injections of serotonin into the lateral ventricle of the brain. *Poultry Sci.*, 61:150-155, 1982.
- DENBOW, D.M.; VAN KREY, LACY, M.P. e DIETRICK, T.J. Feeding, drinking and body temperature of Leghorn chicks: effects of icv injections of biogenic amines. *Physiol. Behav.*, 31:85-90, 1983.
- DESHMUKH. P. P.. H. I. YAMAMURA. L. WOODS. AND D. L. NELSON. Computer-assisted autoradiographic localization of subtypes of serotonin receptors in rat brain. *Brain Res.* 288: 338-343.1983.
- DOURISH, C.T, CLARK, M.L. e IVERSEN, S.D. 8-OH-DPAT elicits feeding and not chewing: evidence from liquid diet studies and a diet choice test, *Psychopharmacology*, 95:185-188,1988a.
- DOURISH, C.T. 5-HT receptor subtypes and feeding behaviour. In BRODLEY, P.B.; HANDLEY, S.L.; COOPER, S.J.; BARNES, N.M. e COOTE, J.M. (eds) *Serotonin receptor and brain functions*, Pergamon, New York, pp 179-202, 1992.

- DOURISH, C.T. ; HUTSON, P.H. e CURZON, G. Low doses of the putative serotonin agonist 8-hydroxy- 2- (di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicit feeding in the rat. *Psychopharmacology*, 86:197-204, 1985a.
- DOURISH, C.T. ; HUTSON, P.H. e CURZON, G. Characteristics of feeding by the serotonin agonist 8-hydroxy- 2- (di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain. Res. Bull.*, 15:377-384, 1985b.
- DOURISH, C.T.; COOPER, S.J.; GILBERT, F.; COUGHLAN, J. e IVERSEN, S.D. The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT increases consumption of palatable wet mash and liquid diets in the rat. *Psychopharmacology*, 94:58-63, 1988b.
- DOURISH, C.T.; HUTSON, P.H. e CURZON, G. Para-chlorophenylalanine prevents feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Psychopharmacology*, 89:467-471, 1986a.
- DOURISH, C.T.; HUTSON, P.H.; KENNETT, G.A. e CURZON, G. 8-OH-DPAT induced hyperphagia: its neural basis and possible therapeutic relevance. *Appetite Suppl.*, 7:127-140, 1986b.
- DUBÉ, L. e PARENT, A. The monoamine-containing neurons in avian brain: I. A study of the brain stem of the chicken (*Gallus domesticus*) by means of fluorescence and acetylcholinesterase histochemistry. *J. Comp. Neurol.*, 96:695-708, 1981.

FLETCHER, P.J. 8-OH-DPAT elicits gnawing and eating of solid but not liquid foods. *Psychopharmacology*, 92:192-196, 1987.

FLETCHER, P.J. Dopamine receptor blockade in nucleus accumbens or caudate nucleus differentially affects feeding induced by 8-OH-DPAT injected into dorsal or median raphe. *Brain Research*, 552: 181-189, 1991.

FLETCHER, P.J. e DAVIES, M. Dorsal raphe microinjection 5-HT and indirect 5-HT agonists induces feeding in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 184:265-271, 1990.

FORNAL, C.A; METZLER, CW.; MARROSU, F.; RIBEIRO-DO-VALLE, L.E. e JACOBS, B.L. A subgroup of dorsal raphe serotonergic neurons in the cat is strongly activated during oral-buccal movements. *Brain Res.*, 716:123-133, 1996.

FULLER, R.W. e WONG, D.T. Fluoxetine: A serotonergic appetite suppressant drug. *Drug; Devel. Res.*, 17:1-15, 1989.

FUXE, K. e LJUNGGREN, L. Cellular localization of monoamines in the upper brain stem of the pigeon. *J. Comp. Neurol.*, 125: 355-382, 1965.

- GARATTINI, S.; MENNINI, T.; BENDOTTI, C.; INVERNIZZI, R. e SAMANIN, R. Neurochemical mechanism of action of drugs which modify feeding via the serotonergic system. *Appetite* 7:Suppl.15-38, 1986.
- GLEESON, S.; WEISSMAN, B.A.; SEGCEL, M.R. e BARRET, J.E. Neurochemical effects of 5-HT₁ receptor ligands in pigeons. *Eur. J. Pharmacol*, 229: 109-115, 1992.
- GROSSMAN, S.P e GROSSMAN L. Food and water intake following lesions or electrical stimulation of the amygdala. *Am J Physiol* 205:761-765, 1963.
- HAGEMANN, L.F.; COSTA, C.V.; ZENI, L.Z.R.; FREITAS, C.G.; MARINO-NETO, J.; PASCHHOALINI, M.A. Food intake after adrenaline and noradrenaline injections into the hypothalamic paraventricular nucleus in pigeons. *Physiol. Behav.*, 64: 645-652, 1998.
- HANDLEY, S.L.; COOPER, S.J.; BARNES, N.M. e COOTE, J.M. (eds). *Serotonin receptor and brain functions*, Pergamon, New York, pp 179-202, 1992.
- HIRUNAGI, K.; HASEGAWA, M.; VIGH, B. e VIGH-TEICHMANN. L. 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 MAGNUSSON, T. The 5-HT_{1a} receptor agonist, 8-OH-DPAT, preferentially activates cell body autoreceptors in rat brain in vivo, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 338:463-471, 1988.
- HUBBART, J.I.; LIN, N. e SIBBALD, J.R. Subfornical organ lesions in rats abolish hyperdipsic effects of isoproterenol and serotonin. *Brain Res. Bull.*, 23: 41-45, 1989.
- HUTSON, P.H., DOURISH, C.T. e CURZON, G. Neurochemical and behavioural evidence for mediation of the hyperphagic action of 8-OH-DPAT by 5-HT cell body autoreceptors, *Eur. J. Pharmacol.*, 129:347-352, 1986.
- JACOBS, B.L. e AZMITIA, E.C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 72:165-229, 1992.
- JACOBS, B.L.; FORNAL, C.A.; RIBEIRO-DO-VALLE, L.E.; LITTO, W.J. e WILKINSON, L.O. Effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) on food intake and serotonergic dorsal raphe unit activity in behaving cats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 17: 91, 1989.
- KALRA, S.P.; DUBE, M.G.; BIN XU, S.; HORVATH, T. L. e KALRA, P.S. Interacting Appetite-Regulating Pathways in the Hypothalamic Regulation of Body Weight. *Endocrine Reviews*, 20(1): 68-100, 1999.

- KARTEN, H.J. e HODOS, W. A. A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (*Columba livia*). Baltimore, Maryland : Johns Hopkins Press, 1967.
- KENNETT, G.A.; DOURISH, C.T. e CURZON, G. 5-HT_{1b} agonists induce anorexia at a postsynaptic site. *Europ. J. Pharmacol.*, 141: 429-435, 1987.
- KIKTA, D.C.; BARNEY, C.C.; TREATLE, R.M.; FREGLY, M.J.; ROWLAND, N.E. e GREENLEAF, J.E. On the mechanism of serotonin-induced dipsogenesis in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19: 519-525, 1983.
- KLITENICK, M.A. e WIRTSHAFTER, D. Elicitation of Feeding, Drinking and Gnawing following Microinjections of Muscimol into the Median Raphe Nucleus of Rats. *Behavioral and Neural Biology*, 51: 436- 441, 1989.
- KLITENICK, M.A., e WIRTSHAFTER, D. Comparative studies of the ingestive behaviors produced by microinjections of muscimol into the midbrain raphe nuclei or the ventral tegmental area of the rat. *Life Sciences*, 42: 775-782, 1988.
- KORF, H.W. Neuronal organization of the paraventricular nucleus: Intrinsic, afferent and efferent connections. *J. Exp. Zool.*, 232: 387-395, 1984.
- KUENZEL, W.J. Central neuroanatomical systems involved in the regulation of food intake in birds and mammals. *J. Nutr.*, 124:1355S-1370S, 1994.

- KUENZEL, W.J.; BECK, M.M. e TERUYAMA, R. Neural Sites and Pathways Regulating Food Intake in Birds: A Comparative Analysis to Mammalian Systems *Journal of Experimental Zoology* 283:348-364, 1999.
- LEIBOWITZ, S.F. e ALEXANDER, J.T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size e body weight. *Society of Biological Psychiatry*, 44:851-864, 1998.
- LIN ,X.; VOLKOFF, H.; NAMAWARE,Y.;BEMIER, N.J.; PEYON, P. e PETER, R.E. Brain regulation of feeding behavior and food intake in fish. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol Integr Physiol*,126:415-34, 2000.
- MARTIN, L.P.; JACKSON, D.M.; WALLSTEN, C. e WASZCZAK, B.L. Electrophysiological comparison of 5-HT_{1a} receptor antagonists on dorsal raphe cell firing. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 288:820-826, 1999.
- MENANI, J.V. e JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. *Am J. Physiol.*, 269:R1044-9, 1995.
- MENANI, J.V.; THUNHORST, R.L. e JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. *Am J. Physiol.*, 270:R162-8, 1996.

- MIDDLEMISS, D.N e FOZARD, J.R. 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin discriminates between subtypes of the 5-HT₁ recognition site. *Eur. J. Pharmacol* 90:151-153, 1983.
- MONTGOMERY, A.M.J., WILLNER, P. e MUSCAT, R. Behavioural specificity of 8-OH-DPAT-Induced feeding, *Psychopharmacology*, 94:110-114, 1988.
- MONTGOMERY. A.M.J.; FLETCHER, P.J. e BURTON, M.J. Behavioural and pharmacological investigations of 5-HT hypophagia and hyperdipsia. *Pharmacol.Biochem. Behav.*, 25: 23-28, 1985.
- MORLEY, J.E. Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr. Rev.*, 8:256-287,1987.
- NAGAI, K.; INO, H.; YAMAMOTO, H.; YAMANO, M.; TOHYAMA. M.; SHIOSAKA, S.; SHIOTANI, Y.; INAGAKI, S. e KITO, S. Lesions in the lateral part of the dorsal parabrachial nucleus caused hyperphagia and obesity. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 3:103-112, 1987.
- PARENT, A. Comparative anatomy of the serotonergic systems. *J. Physiol. (Paris)*, 77:147-56, 1981.
- PAZOS, A. PALACIOS, J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain I: Serotonin-1 receptors. *Brain Res* 346:205-230, 1985.

- PIERRE, J.; REPERANT, J.; WARD, R.; VESSELKIN, N.P.; RIO, J.P.; MICELI, D. e KRATSKIN, L. The serotonergic system of the brain of the *lamprey Lampreta fluviatilis*: an evolutionary perspective. *J. Chem Neuroanat* 5: 195-219, 1992.
- POMERANTZ, S.M. The 5-HT_{1a} agonist 8-OH-DPAT, stimulates food intake of rhesus monkeys. *Soc. Neurosc. Abstr.*, 16: 1323, 1990.
- RAVAZIO, M.R. e PASCHOALINI, M.A. Participation of alpha receptors in the neural control of food intake pigeons. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 24:943-946, 1991.
- REIS, L.C.; RAMALHO, M. J. P.; FAVARETTO, A.L.V.; GUTKOWSKA, J.; MCCANN, S.M. e ANTUNES-RODRIGUES, J. Participation of ascending serotonergic system the stimulation of the atrial natriuretic peptide release. *Proc Natl. Acad. Sci, USA* 91:12022-12026, 1994.
- REIS, L.C.; RAMALHO, M.J.P. e ANTUNES-RODRIGUES, J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by water deprivation: effect of a serotonergic agonist (MK-202) administered intracerebroventricularly. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 23:1335-1338, 1990.
- RIBEIRO-DO-VALLE, L.E.; FORNAL, C.A.; LITTO, W.J. E JACOBS, B.L. Serotonergic dorsal raphe unit activity related to feeding/grooming behaviors in cats. *Soc. Neurosci Abstr.* 15:1283, 1989.

- RITERS, L.V.; ERICHSEN, J.T.; KREBS, J.R. e BINGMAN, V.P. Neurochemical evidence for at least two regional subdivisions within the homing pigeon (*Columba livia*) caudolateral neostriatum. *J. Comp. Neurol.*, 412:469-87, 1999.
- SALLER, C.F. e STRICKER, E.M. Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Science*, 192: 385- 387, 1976.
- SAWCHENKO, R.E.; SWANSON, L.W.; STEINBUSCH, H.W.M. e VERHOFSTAD A.A.J. The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Brain Res.* 277:355-360, 1983.
- 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 a Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de Mestre em Neurociências e Comportamento.
- SHEPHERD, J.K. e RODGERS, R.J. 8-OH-DPAT specifically enhances feeding behavior in mice: evidence from behavioural competition. *Psychopharmacology*, 101:408-413, 1990.
- SHIMIZU, T. e KARTEN, H.J. Immunohistochemical analysis of the visual wuist of the pigeon (*Columba livia*). *J. Comp. Neurol.*, 300:346-369, 1990.
- SHISHEVA, A. C.; IKONOMOV, O. C.; STOYNEV, A. G. e POPOVA, J. Renin

- release and water salt balance after central serotonin depletion by p-chlorophenylalanine in Brattleboro and Wistar rats: Possible role of ADH. *Endocrinol. Exp.* 21:219-228; 1987.
- SILVA, A.S.S. Presença de receptores serotoninérgicos no núcleo paraventricular do hipotálamo e sua participação no controle neural da ingestão de alimento em pombos (*Columba livia*). Florianópolis, 2001. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do grau de mestre em Neurociências e Comportamento.
- SIMANSKY, K.J. 5-HT receptor subtypes influencing feeding and drinking: Focus on the periphery. In: S.J. COOPER E P.G. CLIFTON (EDS.) *Drug receptor Subtypes and Ingestive Behaviour*. New York: Academic Press, 1996 pp. 59-98.
- SIMANSKY, K.J.; BOURBONAIS, K.A. e SMITH, G.P. Abdominal vagotomy reduces the dipsogenic but not the anorexic action of systemic serotonin in rats. *Soc. Neuroscience Abstr.*, 8: 605, 1982.
- SMEETS, W.J.A.A. e STEINBUCH, H.W.M. Distribution of serotonin immunoreactivity in the forebrain and midbrain of the lizard *Gekko gekko*. *J. Comp. Neurol.*, 271: 419- 434, 1988.
- STEFFENS, S.M. Identificação funcional de subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1a}, 5-HT_{2a/5-HT2c} e 5-HT₃ no controle neural da

ingestão de alimento e de água em pombos (*Columba livia*) Florianópolis, 1999. Dissertação apresentada a 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.; PACHOALINI, M.A. e MARINO-NETO, J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, 44:681-688, 1997.

STEFFENS, S.M.; CASAS, D.C., MILANEZ, B.C.; FREITAS, C.G.; PACHOALINI, M.A. e MARINO-NETO, J. Participação de receptores 5-HT_{2a/2c} e 5-HT₃ na regulação da ingestão de alimentos e água em pombos. XIX Congresso Latinoamericano de Ciências Fisiológicas, 1997b, vol. 19, p. 22, Caracas – Venezuela, Anales..., Caracas: ALACF.

STEINBUSCH, H.W.M. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat: cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6:557-618, 1981.

STROMINGER, J. L. The relation between water intake and food intake in normal rats and rats with hypothalamic hyperphagia. *Yale J. Biol. Med.* 19: 279-288, 1947.

TANGAPREGASSON, M.J.; TANGAPREGASSON, A.M. e SOULAIRAC, A. Effets des lesions de la region du raphe mesencephalique sur le comportement de soif

- et de la neurosecretion hypothalamique anterieure du rat. *Ann. Endocrinol. (Paris)* 35:667-668, 1974.
- TANGAPREGASSON, M.J.; TANGAPREGASSON, A.M. e SOULAIRAC, A. Controle mesencephallique du comportement de soif. *J. Physiol. (Paris)* 67:314A, 1973.
- TOLEDO, C.A.; HAMASSAKI BRITTO, D.E. e BRITTO, L.R. Serotonergic afferents of the pigeon accessory optic nucleus. *Brain Res.*, 705:341-4,1995.
- TOMKINS, D.M; SELLERS, E.M. e FLETCHER, P.J. Median and dorsal raphe injections of the 5-HT_{1a} agonist, 8-OH-DPAT , and the GABA-A agonist, muscimol, increase voluntary ethanol intake In Wistar rats. *Neuropharmacology*, 33:349-58, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA. Biblioteca Central. *Normas para apresentação de trabalho*. 4. Ed. Curitiba : Editora UFPR, 1994. V.2, 6 e 8.
- VAN HEMEL, S. B. e MEYER, J. S. Feeding patterns and response to caloric dilutions in the Japanese quail. *Physiol. Behav.* 4: 339-344, 1969.
- 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.

- VERTES, R.P.; FORTIN, W.J. e CRANE, A.M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol*, 407:555- 582, 1999.
- WAEBER,C.; DIETL, M. M.; HOYER, D. e J. M. PALACIOS. 5HT₁ receptors in the vertebrate brain regional distribution examined by autoradiography. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*,340:486-494, 1989.
- WALLACE, J.A. e LAUDER J.M. Development of the serotonergic system in the rat embryo: an immunocytochemical study. *Brain Res. Bull.* 10: 459-479, 1983.
- YAMADA, H.; TAKEUCHI, Y e SANO, Y. Immunohistochemical studies on the serotonin neuron system in the brain of the chicken (*Gallus domestiscus*) I. The distribution of the neuronal somata. *Biogenic Amines*, 1: 83-94, 1984.
- YAMADA, J. e SANO, Y. Immunohistochemical studies on the serotonin neuron system in the brain of the chicken (*Gallus domesticus*). The distribution of the nerve fibers. *Biogenic Amines*, 2: 21-36,1985.
- ZEIGLER, H.P.; GREEN, H.L. e SIEGEL, J. Food and intake and weight regulation in the pigeon. *Physiology and Behavior*, 8: 127- 134, 1972.