

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
MESTRADO EM NEUROCIÊNCIAS

**ADMINISTRAÇÃO DE MK-801 E CNQX NA ÁREA HIPOTALÂMICA
LATERAL E TUBÉRCULO OLFATIVO E SEUS EFEITOS SOBRE A
INGESTÃO DE ALIMENTOS EM POMBOS**
(Columba livia)

AMANDA ALCARAZ DA SILVA

FLORIANÓPOLIS, 2001.

AMANDA ALCARAZ DA SILVA

**ADMINISTRAÇÃO DE MK-801 E CNQX NA ÁREA HIPOTALÂMICA
LATERAL E TUBÉRCULO OLFATIVO E SEUS EFEITOS SOBRE A
INGESTÃO DE ALIMENTOS EM POMBOS**

(Columba livia)

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

Orientadora: Profa. Dra. Marta Aparecida Paschoalini

FLORIANÓPOLIS, 2001.

**"ADMINISTRAÇÃO DE MK-801 E CNOX NA ÁREA HIPOTALÂMICA LATERAL
E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO E ALIMENTOS EM POMBOS".**

AMANDA ALCARAZ DA SILVA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS

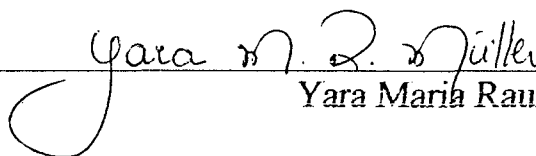
na área de Neurofisiologia e Comportamento Aprovada em sua forma final
pelo Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Orientadora



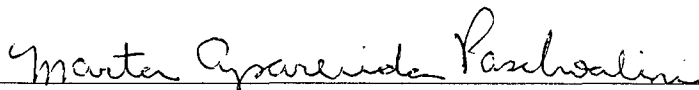
Marta Aparecida Paschoalini

Coordenadora do Curso

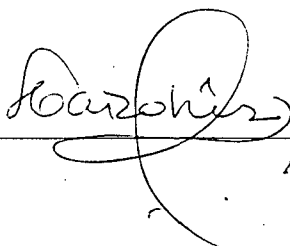


Yara Maria Rauh Müller

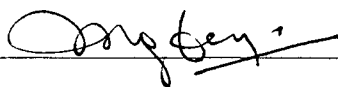
Banca Examinadora



Marta Aparecida Paschoalini (Presidente)



Antônio de Pádua Carobrez



Mariana Graciela Terenzi

AO MEU COMPANHEIRO, ALEXANDRE, PELO AMOR,
COMPREENSÃO E RESPEITO, E POR SER SEMPRE O
MAIOR INCENTIVADOR DE TODOS OS MEUS
PROJETOS DE VIDA.

AOS MEUS PAIS, NILTON E BENÍCIA, PELO CARINHO E AMOR, MEU AGRADECIMENTO ESPECIAL E GRATIDÃO ETERNA.

À PROFA. MARTA APARECIDA PASCHOALINI, MEU
AGRADECIMENTO ESPECIAL PELA ORIENTAÇÃO,
PELO APOIO NOS MOMENTOS DE DIFICULDADES E
EXEMPLO DE CAPACIDADE CRÍTICA DEMONSTRADO
NOS DOIS ANOS DE TRABALHO.

AGRADECIMENTOS

AO PROF. DR. JOSÉ MARINO NETO PELA AJUDA DURANTE O TRABALHO E EXEMPLO DE CAPACIDADE PROFISSIONAL.

À AMIGA DE LONGA DATA , JANAINA DAS NEVES, PELO INCENTIVO, APOIO E CARINHO QUE COMPARTILHAMOS DESDE DA ÉPOCA DO CURSO DE GRADUAÇÃO.

À VIVIANE PATRÍCIA ROSA, PELA AMIZADE E PELOS BONS MOMENTOS COMPARTILHADOS.

AOS COLEGAS, ADERLEY, ANDRÉA, MARCELO, ISABELA, ANA, JANAINA E LUCIANE, QUE TRANSFORMARAM OS MOMENTOS DE TRABALHO EM HORAS AGRADÁVEIS E DIVERTIDAS.

AO PROF. DR. MOACIR SERRALVO FARIA, PELA AMIZADE E APOIO.

À PROFA. DRA. CRISTINA HENRIQUE PINTO, PELO INCENTIVO, APOIO, AMIZADE E EXEMPLO DE PROFISSIONALISMO.

AOS FUNCIONÁRIOS DO LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA E AO SECRETÁRIO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS PELO AUXÍLIO.

À CAPES PELA BOLSA DE ESTUDOS.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
INTRODUÇÃO	1
1. Considerações gerais.....	2
2. Neurotransmissores envolvidos no controle neural da ingestão de alimento.....	5
3. Áreas hipotalâmicas envolvidas no controle neural da ingestão de alimento.....	10
4. Controle da ingestão de alimento induzida pelo glutamato.....	15
MATERIAL E MÉTODOS	22
1. Animais.....	23
2. Implantação de cânulas-guia na área hipotalâmica lateral.....	23
3. Injeções na área hipotalâmica lateral e tubérculo olfativo.....	24
4. Esquema experimental.....	24
5. Categorização comportamental.....	25
6. Registro alimentar.....	27
7. Drogas administradas.....	27
8. Histologia.....	28
9. Análise de resultados.....	28
RESULTADOS	31
1. Administração de MK-801 na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a ingestão de alimentos e água em pombos saciados.....	32
2. Administração de CNQX na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a ingestão de alimentos e de água em pombos saciados.....	38
3. Administração de MK-801 e CNQX no tubérculo olfativo e seus efeitos sobre a ingestão de alimentos e de água em pombos saciados.....	43
DISCUSSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

RESUMO

O glutamato (GLU) é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central, e está envolvido com o controle neural da ingestão de alimentos em mamíferos. A área hipotalâmica lateral (AHL) foi identificada como um dos distritos onde o GLU e seus agonistas NMDA, AMPA-kainato estimulam a ingestão de alimentos em mamíferos. Em aves, estudos em nosso laboratório mostraram que a administração dos antagonistas glutamatérgicos, MK-801 e CNQX, por via intracerebroventricular, estimula a ingestão de alimentos em pombos saciados. O presente trabalho teve como objetivo examinar os efeitos dos antagonistas de receptores glutamatérgicos ionotrópicos NMDA e AMPA-kainato sobre o consumo de alimentos, através da administração de MK-801 e CNQX na AHL de pombos saciados. Foram utilizados pombos adultos (*Columba livia*), que tiveram cânulas-guia cronicamente implantadas na AHL e receberam injeções de líquido cérebro-espinhal artificial estéril (200 nl), MK-801 (3 nmol e 6 nmol) ou CNQX (160 nmol). Durante 1 h foram realizados registros comportamentais por meio de observação direta e sistemática das posturas e movimentos corporais executados pelas aves. Ao final de 1 h de observação, o consumo de alimento e água foi quantificado. Os resultados obtidos mostraram que a administração de 6 nmol de MK-801 ou de 160 nmol de CNQX na AHL alterou o comportamento alimentar em todos os aspectos. Os dois antagonistas desencadearam aumento da ingestão de alimentos, seguido de uma elevação na duração desse comportamento. A latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimentos também foi reduzida após administração de MK-801 e CNQX. O efeito hiperfágico desencadeado pelo MK-801 e CNQX parece não estar associado a ações inespecíficas, ou a algum comprometimento motor, uma vez que não houve alterações comportamentais não ingestivas observáveis após ambos os tratamentos. De maneira geral, pode-se sugerir que receptores glutamatérgicos tipo NMDA e AMPA-kainato, localizados na AHL, participam de um circuito neural envolvido na regulação da ingestão de alimentos em pombos.

ABSTRACT

Glutamate (GLU) is the main excitatory neurotransmitter in the central nervous system, and it is involved in the neural control of food intake in mammals. The lateral hypothalamic area (LHA) was identified as one of the sites where GLU, and its agonists NMDA and AMPA-kainate, stimulate food intake in mammals. Studies in our laboratory show that the intracerebroventricular administration of the GLU antagonists MK-801 and CNQX stimulate food intake in free-feeding pigeons. The aim of this work was to examine the effects of antagonists of the glutamate ionotropic receptors NMDA and AMPA-kainate on feeding, through the administration of MK-801 and CNQX in the LHA in free-feeding pigeons. Adult pigeons (*Columba livia*), cronically implanted with guide cannula in the LHA, received injections of artificial cerebrospinal fluid (vehicle) (200 nl), MK-801 (3 nmol and 6 nmol) or CNQX (160 nmol). During 1 h following the treatments, behavioral testings were performed by direct and systematic observation of the posture and body movements executed by the birds. After 1 hour of observation, the food and water consumption were quantified. The data show that the administration of 6 nmol of MK-801 or of 160 nmol of CNQX in LHA altered the food intake in all aspects. The two antagonists increased the food intake, followed by an elevation in the duration of ingestive behavior. The latency to begin the first episode of feeding was also reduced after administration of MK-801 and CNQX. The hyperfagic effect of these substances is unlikely to be due a nonspecific activation, or with other symptoms of neural control, since there were any observable behavioral changes in the pigeons after treatment. Thus, the present findings indicate that glutamatergic receptors of the NMDA and AMPA type located in the LHA participate of a neural circuit involved in the regulation of food intake in pigeons.

INTRODUÇÃO

1. Considerações gerais

A regulação da ingestão de alimentos em aves e mamíferos têm sido investigada desde os anos cinqüenta. As pesquisas têm avançado no sentido de elucidar as estruturas neurais chaves e os receptores envolvidos no controle da ingestão de alimentos (Kuenzel e cols., 1999). No entanto, até hoje, o controle do comportamento alimentar pelo sistema nervoso central (SNC) não está totalmente elucidado.

O consumo alimentar é uma relação causal entre os estímulos gerados pelo alimento - como por exemplo cheiro, gosto, cor, textura, etc - e a composição física e química do organismo - como níveis de glicemia, quantidade e composição de nutrientes que estimulam a parede intestinal, disponibilidade de substratos para a oxidação e obtenção de energia, capacidade de mastigação, sucção, deglutição, entre outros (Westerterp-Plantenga, 1994).

Termos como **fome**, **apetite**, **preferência**, **saciação**, **saciedade específica e poder e eficiência de saciação**, são normalmente utilizados para melhor compreender o comportamento alimentar (Westerterp- Plantenga, 1994 e Rowland e cols., 1996). A **fome** é o sinal mais eficiente para desencadear a ingestão de alimentos, ao passo que o **apetite**, ou estado motivacional para obtenção de alimentos, é um fenômeno muito bem regulado, cuja função é, dentro de um ajuste muito fino, a manutenção da homeostasia e do peso corporal (Kalra e cols., 1999).

São vários os locais do SNC que controlam o comportamento alimentar, ainda que seja o hipotálamo que funcione como principal centro integrador. Nele existe uma circuitaria, composta de uma rede neural de elaboração e emissão de sinais anorexigênicos e oroxigênicos, que ajusta os sinais relacionados ao apetite e saciedade. Os neurônios que produzem esses sinais moleculares estão sujeitos à

modulação exercida por estímulos sensoriais e por uma variedade de hormônios e metabólitos encontrados no meio interno (Kalra e cols., 1999).

Estímulos sensoriais, como olfação, gustação, visão, e também sinais neurais desencadeados pelo grau de estiramento dos mecano-receptores localizados ao longo do trato gastrointestinal enviam informações que chegam às diversas áreas do hipotálamo para modular a ingestão de alimentos. Hormônios como a insulina, a colecistocinina, a amilina e o glucagon podem atuar no hipotálamo reduzindo tanto os sinais de fome, como os de saciedade.

A insulina é um hormônio que apresenta um papel muito importante no metabolismo intermediário, exercendo influência importante sobre o comportamento alimentar. A infusão central de insulina atenua o aumento da expressão gênica de neuropeptídeo Y (NPY) induzida pelo jejum em mamíferos e diminui a sua liberação. Se a insulina inibe a liberação de NPY dos terminais nervosos no núcleo hipotalâmico paraventricular (NPV), é possível que a insulina pós-prandial junto com a leptina inibam a liberação de NPY no NPV, prevenindo desta maneira a hiperfagia provocada pelo NPY (Xu e cols., 1998).

A colecistocinina (CCK), outro hormônio envolvido com o controle da ingestão de alimento, é secretada durante as refeições em resposta à presença de nutrientes na parede intestinal. A CCK parece agir em receptores localizados em fibras aferentes do vago, que são sensíveis à distensão gástrica e um de seus papéis principais é estimular os sinais de saciedade (Woods e Stricker, 1999). Segundo McCaleb e Myers (1980), microinjeções de colecistocinina no NPV inibem a via noradrenérgica, o que acaba por ocasionar hipofagia nos animais.

A amilina é um peptídeo co-liberado pelas células beta do pâncreas, juntamente com a insulina, em resposta à ingestão de alimentos (Butler e cols., 1990).

Experimentos mostram que a administração periférica de amilina diminui o consumo de nutrientes em ratos (Lutz e cols., 1995), e que a maioria dos seus receptores está localizado no núcleo accumbens (Beaumont e cols., 1993).

O glucagon pancreático é outro hormônio conhecido como um sinal anorexigênico. Seu local de ação parece ser o fígado, pois quando injetado na veia porta, seu efeito hipofágico é mais potente, principalmente em ratos saciados (Rowland e cols., 1996).

A leptina, o hormônio mais recentemente identificado como fator de saciedade, é produzida pelo tecido adiposo e liberada na corrente sangüínea de ratos, camundongos e humanos. Esse dado reforça a hipótese lipostática (Kennedy, 1953; Mayer, 1955) que afirma que a quantidade de gordura encontrada no organismo, particularmente a reserva de triglicerídeos, regularia a ingestão de alimentos. A administração de leptina, centralmente ou periféricamente a camundongos geneticamente obesos (ob/ob) e a seus controles magros, reduziu a ingestão de alimentos e o peso corporal dos animais (Sato e cols., 1997). O local exato de ação da leptina no SNC ainda permanece incerto, no entanto, microinjeções de leptina no núcleo arqueado, núcleo hipotalâmico ventromedial e AHL inibiram a ingestão de alimento em ratos, com destaque para o núcleo arqueado (Sato e cols., 1997). A administração diária de leptina diminui a ingestão de alimentos e o peso corporal dos animais, e, concomitantemente, suprime também a expressão gênica do NPY no núcleo arqueado e a ação hiperfágica desencadeada pelo NPY (Xu e cols., 1998).

Os substratos energéticos desencadeiam sinais de pós-ingestão que podem modular também a ingestão de alimentos através de neurônios localizados na área hipotalâmica lateral (AHL), que são sensíveis aos níveis de glicemia. Esses neurônios hipotalâmicos disparam de acordo com a quantidade de glicose disponível na

circulação sangüínea (Oomura e cols., 1974). A concentração de glicose no sangue pode desencadear tanto sinais de fome, como também de saciedade, dependendo sempre do nível sangüíneo desse metabólito.

Estudos mostram que após a infusão intravenosa de glicose ocorre a redução do consumo de alimentos e aumento do intervalo entre as refeições (Nicolaidis e Rowland, 1976). Adicionalmente, indicam também que a ingestão de alimentos induzida pela hipoglicemia aguda pode ser revertida através da infusão intravenosa de glicose (Stricker e cols., 1977). A administração sistêmica de 2-desoxi-D-glicose, um análogo da glicose que antagoniza a utilização de glicose e impede que a glicose seja utilizada pela célula, estimulou a ingestão de alimentos em ratos (Smith e Gibbs, 1979). Esses dados inserem-se na teoria glicostática, proposta por Mayer (1955), a qual sugere que a fome e a saciedade são sinais totalmente dependentes dos níveis de glicose sangüínea, ou seja, níveis baixos de glicose levariam à fome, e níveis altos de glicose à saciedade.

Outros metabólitos que podem desencadear aumento no consumo de alimentos são os produtos do metabolismo de lipídios, como o mercaptoacetato e o metilpalmoirato, que são inibidores da oxidação de ácidos graxos (Ritter e cols., 1994).

2. Neurotransmissores envolvidos no controle neural da ingestão de alimentos em mamíferos e aves

No SNC, as informações aferentes e eferentes que estão envolvidas com o controle do comportamento alimentar são transmitidas através da liberação de vários neurotransmissores peptídeos e não-peptídeos.

Entre os neuropeptídeos destaca-se o NPY, que pode ser encontrado nos corpos celulares e axônios do NPV, núcleo hipotalâmico ventromedial e dorsomedial,

núcleo arqueado e hipotálamo perifornical (Sahu e cols., 1988). Mais recentemente foi identificado um local extrahipotalâmico também sensível aos efeitos do NPY sobre a ingestão de alimentos. McGregor e cols. (1990) demonstraram que a administração de NPY no córtex pré-frontal aumenta o consumo de nutrientes e aumenta também o quociente respiratório. Outro distrito sensível aos efeitos do NPY é o NPV. A administração de microinjeções de NPY no NPV aumenta a ingestão de alimentos em ratos saciados (Stanley e cols., 1985) e estimula o apetite específico por carboidratos (Jhanwar-Uniyal e cols., 1993).

A galanina é outro neuropeptídeo envolvido no controle da ingestão de alimentos. Evidências na literatura mostram que microinjeções de galanina no NPV, na AHL, no núcleo hipotalâmico ventromedial e no núcleo central da amígdala estimulam a ingestão de alimentos (Kyrkouli e cols., 1986) e o apetite específico para gorduras (Leibowitz, 1994; Levin, 1995).

As hipocretinas e orexinas são uma nova classe de peptídeos que foram localizadas na área dorsal e ventral do hipotálamo e hipotálamo perifornical. Evidências encontradas na literatura sugerem que a microinjeção intracerebroventricular (i.c.v) de orexina A e orexina B estimula de forma dose-dependente a ingestão de alimentos em ratos, sendo que a orexina A é a mais eficiente em estimular a ingestão de alimentos (Sakurai e cols., 1998).

O hormônio concentrador de melanina (MCH) é outro peptídeo envolvido com o controle da ingestão de alimentos, embora ainda exista controvérsia com relação ao papel fisiológico exato desempenhado por ele. Presse e cols. (1996) mostraram que a injeção de MCH na zona incerta e AHL desencadeia efeitos supressivos sobre o consumo de alimentos na fase escura do ciclo claro-escuro e perda de peso corporal nos animais. Já Rossi e cols. (1997) confirmaram o poder oroxigênico do MCH em

ratos, mas associado ao NPY, pois a ingestão induzida somente pelo MCH foi pequena e de curta duração.

O hormônio liberador de corticosterona (CRH) está também envolvido com o controle da ingestão de alimentos e seu efeito hipofágico já foi apontado na literatura. Estudos têm demonstrado que a microinjeção de CRH no NPV desencadeia efeitos hipofágicos em ratos durante a fase escura do ciclo claro-escuro e redução da ingestão de nutrientes na realimentação (Krahn e cols., 1984).

Além dos neuropeptídeos, dos hormônios e substratos energéticos, a regulação do comportamento alimentar inclui também a participação dos neurotransmissores não peptídicos clássicos, dentre eles podemos destacar: noradrenalina, adrenalina, serotonina e aminoácidos excitatórios e inibitórios.

As catecolaminas foram os primeiros compostos administrados centralmente em mamíferos e exercem um papel importante no controle da ingestão de alimentos. A administração de noradrenalina e adrenalina i.c.v ou no hipotálamo medial aumenta a ingestão de alimentos em mamíferos (Leibowitz, 1975). A liberação de catecolaminas pelo SNC pode ser alterada pela composição da dieta, pela modificação na concentração sanguínea de glicose (Angel e Taranger, 1991; Levin e Planas, 1993) e outros nutrientes (Fernstrom e Fernstrom, 1995).

Outra via importante envolvida no controle da ingestão de alimento é a serotoninérgica. Dados da literatura mostram que administração central de serotonina em ratos desencadeia diminuição no consumo alimentar (Blundel, 1984 e Leibowitz e Shor-Posner, 1986). De acordo com Rowland e cols. (1996), o principal sítio de ação da serotonina é o NPV.

Em aves, o papel das catecolaminas no controle do consumo de nutrientes parece ser muito parecido ao descrito para mamíferos. Experimentos realizados com frangos, selecionados geneticamente para crescimento rápido, mostraram que a injeção i.c.v de adrenalina provocou um aumento na ingestão de alimentos (Denbow e cols.; 1981). Por outro lado, em frangos Leghorn, selecionados para ovoposição, a hiperfagia induzida pela adrenalina não foi observada (Denbow e cols.; 1983). Adicionalmente dados do nosso laboratório mostraram que a injeção i.c.v de adrenalina aumenta o consumo de alimento em pombos saciados (Ravazio e Paschoalini, 1992; Canello e cols., 1993). Esse conjunto de observações demonstra que o circuito catecolaminérgico parece desencadear o mesmo efeito hiperfágico quando administrada i.c.v, tanto em mamíferos, como em aves.

Com o objetivo de identificar o tipo de receptor adrenérgico envolvido com a regulação da ingestão de alimentos, foram realizados experimentos em nosso laboratório utilizando pombos pré-tratados com antagonistas α e β adrenérgicos antes da injeção i.c.v de noradrenalina. Os resultados obtidos mostraram que a noradrenalina estimula a ingestão de alimento em pombos saciados através de sua interação com receptores do tipo α -adrenérgico (Ravazio e Paschoalini 1991, 1992).

Para localizar os distritos do SNC envolvidos com o controle neural da ingestão de alimentos em pombos, as injeções i.c.v foram substituídas por injeções locais de adrenalina e noradrenalina. Estudos realizados através de injeções de adrenalina na área pré-óptica medial, núcleo hipotalâmico medial anterior, NPV ou núcleo septal medial resultaram em aumento do consumo de nutrientes em galinhas (Denbow e Sheppard, 1993). Em outros locais, como no órgão septal lateral, no núcleo reticular superior, essa catecolamina reduziu a ingestão de alimento (Denbow e Sheppard, 1993). Dados de nosso laboratório mostraram que a administração de adrenalina e

noradrenalina no NPV de pombos saciados eleva o consumo de nutrientes através de receptores α -adrenérgicos. A resposta de hiperfagia desencadeada pela adrenalina, foi significativamente maior do que a de noradrenalina. O pré-tratamento com fentolamina suprimiu a hiperfagia ocasionada pela injeção de adrenalina e noradrenalina no NPV, por outro lado, o pré-tratamento com propranolol não alterou a resposta de ingestão de alimentos decorrente da administração das catecolaminas (Hagemann e cols., 1998).

O circuito serotoninérgico nas aves parece também exercer controle semelhante ao de mamíferos sobre o consumo de nutrientes, pois a administração i.c.v de serotonina, em galinhas em jejum de 24 de horas, diminui o consumo de alimentos na realimentação (Denbow e cols., 1982). Adicionalmente, dados do nosso laboratório mostraram que a injeção i.c.v de serotonina reduz a ingestão de alimento em pombos saciados ou submetidos ao jejum de 24 horas (Steffens e cols., 1997).

Os receptores serotoninérgicos envolvidos com o controle da ingestão de alimentos em aves são 5-HT_{1a}, 2a, 2c e 5-HT₃. A ativação do receptor 5-HT_{1a} em pombos saciados, provocada pela administração i.c.v de 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-di-n-propilamino), agonista serotoninérgico de receptores pré-sinápticos 5-HT_{1a}, desencadeou uma potente resposta hiperfágica em animais saciados de forma dose-dependente. Em contrapartida, a administração i.c.v de DOI (1-(2,5-dimetoxi-4-iodofenil)2-aminopropano - agonista de receptores 5-HT_{2a/2c}) diminuiu o consumo de alimentos em aves realimentadas após jejum de 24 horas. Outro receptor testado foi o 5-HT₃, através da utilização da quipazina (dimalato de N-metilquipazina – agonista de receptor 5-HT₃). A injeção i.c.v de quipazina em pombos em jejum de 24 horas provocou uma ligeira redução na quantidade de alimento ingerido (Steffens e cols, 1999).

Os aminoácidos aparecem também com importante função sobre o controle neural da ingestão de alimento, dentre eles podemos destacar o γ aminobutírico (GABA) e o glutamato (GLU). A administração de GABA ou agonistas GABA_A na AHL diminui o consumo de alimentos, enquanto a infusão na AHL de bicuculina, antagonista GABA_A, ou de picrotoxina, antagonista gabaérgico, aumenta a ingestão de alimentos em ratos (Kelly e cols., 1977, 1980). Em contrapartida, a administração de muscimol, agonista GABA_A, por via i.c.v, aumenta a consumo de alimento em mamíferos (Oligiati e cols., 1980). O papel exercido pelo GLU, no controle neural da ingestão de alimentos, será descrito mais adiante.

3. Áreas hipotalâmicas envolvidas no controle neural da ingestão de alimentos:

As teorias envolvendo o SNC no controle da ingestão de alimentos, surgiram após o desenvolvimento do instrumento de estereotaxia, que possibilitou a execução de lesões em distritos específicos do cérebro de animais de laboratório, permitindo então o estudo da função cerebral (Woods e Stricker, 1999).

Os primeiros achados mostraram que lesões eletrolíticas na região do hipotálamo ventromedial provocavam hiperfagia e obesidade em ratos (Hetherington e Ranson, 1940). Esta observação foi explicada através da hipótese de que os animais tornaram-se menos sensíveis aos sinais internos de saciedade, tornando-se, dessa forma, obesos.

Anand e Brobeck (1951), foram os primeiros pesquisadores a sugerir que os neurônios da AHL poderiam participar da regulação do comportamento alimentar. Esses autores demonstraram que lesões na AHL resultavam em redução da ingestão alimentar, adipisia e perda de peso corporal em ratos e gatos.

A partir dos experimentos com lesões na AHL e hipotálamo ventromedial, surgiu a base para consolidar a **hipótese do duplo centro** no controle neural da ingestão de alimentos, que sugere que existem dois centros, o da saciedade localizado no hipotálamo ventromedial e o da fome na AHL.

Estudos complementares aos de lesões na AHL foram realizados por Delgado e Anand (1953), os quais demonstraram que o consumo intenso de alimentos poderia ser provocado por uma estimulação elétrica no AHL, através de eletrodos implantados cronicamente.

Com relação aos resultados desencadeados pela lesão na AHL, alguns autores como Marshall e cols. (1971), apontaram que os animais com esse tipo de lesão apresentavam déficit sensorial profundo e atividade motora prejudicada. A possível causa da afagia e da perda de peso corporal era devido ao déficit sensorial-motor e não por possível destruição de um "centro da fome". Para confirmar esta hipótese, os estudos de Urgerstedt (1971), demonstraram que a destruição de neurônios dopaminérgicos nigrostriatais, os quais atravessam a AHL, ocasionava afagia e perda de peso corporal. Deste modo, as lesões na AHL podem desencadear hipofagia por destruição desta via dopaminérgica, ao invés da destruição de neurônios que têm origem na AHL.

A partir dos estudos de Valenstein e cols., 1970, passou-se a acreditar que o comportamento hiperfágico desencadeado a partir da estimulação elétrica da AHL seria resultado de um aumento generalizado no estado motivacional, ao invés de estimulação de neurônios relacionados ao controle da ingestão de alimentos.

Com os dados apresentados acima, pode-se notar que existia uma controvérsia com relação ao verdadeiro papel dos neurônios da AHL. No entanto,

numerosos estudos têm suportado a idéia de que os neurônios da AHL interferem no comportamento alimentar.

Se a redução da ingestão de alimentos é resultado da destruição das fibras de passagem, deste modo as lesões que destroem somente os corpos celulares da AHL deveriam ser ineficazes em causar afagia. Contudo, não foi isso o que se observou nos estudos de Grossman e Grossman (1982) e Winn e cols. (1990), os quais demonstraram que lesões na AHL geradas por injeções de neurotoxinas reduzem, de fato, o consumo de alimentos e o peso corporal em mamíferos. Além disso, os animais que tiveram lesões neurotóxicas não exibiram déficit motor ou sensorial significativo.

Estes achados confirmam a idéia de que neurônios da AHL contribuem para o controle de peso corporal e comportamento alimentar. Entretanto, a magnitude e a duração desses efeitos foram consideravelmente menores do que os produzidos por lesões eletrofisiológicas, destacando desse modo que os resultados obtidos com lesões com eletrodos são decorrentes de uma destruição combinada de neurônios da AHL e de fibras de passagem (Dunnett e cols., 1985).

A importância dos neurônios da AHL, no controle do comportamento alimentar, tem sido investigada por numerosos estudos de eletrofisiologia. Por exemplo, os trabalhos de Mora e cols. (1976) e Rolls e cols. (1980) identificaram uma população de neurônios na AHL de primatas que respondem quando o animal vê o alimento, outra população que responde quando o animal sente o gosto do alimento, e outro agrupamento que responde com ambos, tanto à visão, como à gustação. A especificidade das respostas neurais à presença da luz é caracterizada pela incapacidade dos neurônios sensíveis à luz em responder quando os animais comem no escuro.

Além disso, tem sido apontado que alguns neurônios são sensíveis ao cheiro dos alimentos (Oomura e cols., 1991). Existem, também na AHL, neurônios que respondem à administração de substratos energéticos, como exemplo a glicose, e existem também neurônios que são insensíveis à glicose. O grupo sensível à glicose possui conexões com a área orbitofrontal do SNC e parece integrar estímulos quimiossensoriais internos. Em contrapartida, os neurônios insensíveis à glicose possuem conexões com o córtex motor e integram sinais de gustação e olfação (Nakamura e cols., 1989). Outro tipo de sensibilidade que os neurônios da AHL apresentam é ao ciclo claro-escuro, tendo em vista que esses neurônios disparam com mais frequência durante a fase escura, ou seja, período no qual os ratos normalmente se alimentam (Ono e cols., 1986).

A visão tradicional baseada na teoria do duplo centro, para explicar como funciona o mecanismo de ingestão de alimentos, é considerada ultrapassada, visto que é reconhecido que vários outros distritos hipotalâmicos e extra-hipotalâmicos estão também envolvidos com a modulação do consumo de alimentos.

O NPV tem sido uma das áreas mais extensivamente estudadas associada à regulação da ingestão de alimentos em mamíferos. Em ratos, lesões neste núcleo resultam em hiperfagia e obesidade (Leibowitz e cols., 1981). Experimentos utilizando microinjeções de NPY (Stanley e cols., 1985), galanina (Kyrkouli e cols., 1990), orexinas (Dube e cols., 1998), GABA (Kelly e Grossman, 1980), noradrenalina e adrenalina no NPV (Leibowitz, 1978) mostraram que todas essas substâncias estimulam o consumo de alimentos, sugerindo, desse modo, a existência no NPV de vários receptores envolvidos na modulação da ingestão de nutrientes.

Recentemente, o núcleo arqueado tem ganho destaque por ser um dos locais associados à integração hipotalâmica do balanço energético. Esta área contém uma

densidade alta de neurônios que produzem peptídeos oroxigênicos, NPY (Chronwall, 1985), opióides (Khachaturian e cols., 1985), galanina (Merchenthaler e cols., 1993), GABA (Decavel e cols., 1990) e glutamato (Van den Pol e cols., 1990). É interessante notar que todos esses neurotransmissores presentes no núcleo arqueado estão envolvidos no controle da ingestão de alimentos em mamíferos.

O núcleo supraquiasmático é um outro local hipotalâmico relacionado à modulação do consumo de alimentos. Lesões neste núcleo desencadeiam padrões anormais de consumo de alimentos em ratos. O distúrbio no padrão de ingestão de alimentos ocorre porque o ritmo circadiano depende de períodos de luminosidade, que são detectados por neurônios localizados no núcleo supraquiasmático. Logo em seguida, a informação sobre a luminosidade captada pelos neurônios do supraquiasmático é transferida desse distrito para a rede de regulação do apetite localizada em vários outros núcleos hipotalâmicos (Nagai e cols., 1978).

Em aves, os primeiros experimentos utilizando lesões foram realizados na AHL e hipotálamo ventromedial. As lesões no hipotálamo ventromedial de aves resultaram em efeitos similares ao de mamíferos. As espécies de aves que foram utilizadas para realizar as lesões foram galinhas (Lepkovsky e Yasuda, 1966; Snapir e cols., 1973; Sonoda e cols., 1975; Jaccoby e cols., 1994) e aves selvagens, que migram uma vez no ano para se reproduzir (Kuenzel e Helms, 1967, 1970). Os resultados obtidos após a lesão foram aumento no consumo de alimentos, ganho de peso corporal e depósito de gordura (Kuenzel, 1974).

O primeiro relato sobre lesões bilaterais na AHL de aves foi em galinhas e ocasionou afagia nesses animais (Feldman e cols., 1957). A afagia observada após a lesão na AHL em galinhas, foi detectada também em pombos (Zeigler e cols., 1969; Zeigler e Karten, 1973), em pardais (Kuenzel, 1972) e em aves de corte (Kuenzel,

1982). A diferença principal entre os efeitos das lesões na AHL de aves e mamíferos é que em aves a adipsia não foi observada, enquanto a afagia parece ser um efeito comum entre as duas espécies.

4. Controle da ingestão de alimento induzida pelo GLU:

Os primeiros experimentos com o GLU foram realizados por Van Harreveld (1959), que pesquisou a sua possível ação do GLU na junção neuromuscular do camarão de água-doce. Os dados sugerem a participação do GLU como neurotransmissor. Análises sobre os efeitos do GLU, sobre o sistema nervoso de vertebrados, iniciaram quando Curtis e cols. (1959) utilizaram técnicas iontoforéticas para liberar quantidades de GLU ou de seus análogos diretamente sobre células nervosas e registraram as respostas eletrofisiológicas desencadeadas. Os dados obtidos mostraram que as células nervosas da medula espinhal, bem como todas as regiões do cérebro, podiam ser despolarizadas pela aplicação iontoforética de GLU, sugerindo, deste modo, um possível papel de neurotransmissor ao GLU (Curtis e cols., 1959). As propriedades excitatórias atribuídas ao GLU em vertebrados foram demonstradas pela primeira vez por Hayashi (1954). A partir desses experimentos tem sido colocado que o GLU é o neurotransmissor excitatório predominante no SNC de mamíferos (Cotman e cols., 1995).

Muitas evidências acumuladas sugerem que o sistema glutamatérgico esteja envolvido em uma transmissão sináptica rápida, com plasticidade neural e funções cognitivas complexas (Cotman e cols., 1995). Essas funções atribuídas ao GLU exigem então que o sistema sináptico glutamatérgico seja bastante sofisticado e organizado, a partir de subtipos de receptores, que incluem os ionotrópicos e metabotrópicos.

Os receptores glutamatérgicos ionotrópicos podem ser identificados farmacologicamente por afinidade específica aos agonistas N-metil-D-aspartato (NMDA), que são altamente permeáveis ao sódio, potássio e cálcio; ácido kainico (KA) que ativam canais permeáveis ao sódio e potássio; e ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxosol-4-propiónico (AMPA) que também ativa canais de sódio e potássio (Cotman e cols., 1995). Os receptores metabotrópicos estão ligados à proteína transdutora (G), agem via sistema de segundo mensageiro que resultam na formação de fosfatoinositol (IP_3), monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e diacilglicerol, gerando respostas pós-sinápticas mais lentas (Cotman e cols., 1995).

Dados da literatura apontam o GLU como um neurotransmissor envolvido com o controle neural da ingestão de alimentos. Experimentos realizados com ratos saciados demonstraram que a injeção periférica de GLU estimula o consumo de alimentos (Reddy e cols., 1986). Posteriormente, experimentos realizados por Ritter e Stone (1987) demonstraram que o provável sítio de ação do GLU seria a área postrema, pois lesões nessa área bloqueiam a resposta estimulatória de ingestão de alimentos decorrentes da administração de GLU por via periférica.

Além disso, Stricker-Krongrad e cols. (1992) mostraram que a injeção i.c.v de GLU em ratos aumenta a ingestão de alimentos. Da mesma maneira, em ovelhas, a injeção de GLU no núcleo hipotalâmico ventromedial provoca hiperfagia (Wandji e cols., 1988). O grupo de Stanley e cols. (1993a) administrou GLU através de cânulas-guia implantadas na AHL de ratos saciados. O resultado obtido, a partir da microinjeção de GLU na AHL, foi a elevação da ingestão de alimentos de forma dose-dependente.

Experimentos posteriores foram realizados com o objetivo de identificar os subtipos de receptores glutamatérgicos envolvidos na modulação do consumo de

alimentos. Os dados apresentados, a partir da administração de ácido kaínico, AMPA e NMDA na AHL de ratos saciados, indicaram que os três agonistas glutamatérgicos aumentam o consumo de alimento de forma dose-dependente. Cada agonista foi capaz de elevar a ingestão de alimento em 10 gramas ao final de uma (1) hora de experimento. Esses dados permitiram sugerir que receptores glutamatérgicos NMDA, AMPA-kainato estariam envolvidos na estimulação do comportamento alimentar em ratos (Stanley e cols., 1993a).

Para determinar se a AHL era o local primário de ação do glutamato e de seus agonistas, foram escolhidas 7 regiões hipotalâmicas e extra-hipotalâmicas para injeção de GLU, foram elas: AHL, área hipotalâmica lateral posterior (AHLp), área hipotalâmica anterior (AHLa), hipotálamo perifornical, NPV, amígdala e talâmo. A conclusão do experimento foi que o distrito mais efetivo em provocar aumento na ingestão de alimentos pelo GLU e seus agonistas, foi a AHL (Stanley e cols, 1993b).

Dados da literatura apontam que o pré-tratamento com D-AP5, um antagonista específico de receptor NMDA, desencadeia supressão da ingestão de alimentos provocada pela injeção prévia de NMDA na AHL, de forma dose-dependente. A dose mais eficaz foi a de 10 nmol, que diminuiu em 70% o consumo de nutrientes provocado pelo NMDA. Em contrapartida, o pré-tratamento com D-AP5 não afetou a ingestão de alimentos desencadeada pelo AMPA e ácido kaínico, demonstrando, desta maneira, que os agonistas NMDA e AMPA-kainato agem por mecanismos diferentes para provocar o consumo alimentar (Stanley e cols, 1996).

Para examinar se o GLU e seus receptores NMDA poderiam participar da mediação do comportamento alimentar natural, um grupo de ratos em jejum de 24 horas recebeu injeções bilaterais de D-AP5 na AHL antes da realimentação, e um outro grupo de ratos saciados recebeu injeções bilaterais de D-AP5, no mesmo local

ao grupo anterior, antes do início da fase escura do ciclo claro-escuro. O antagonista de receptor NMDA diminuiu em 61% a ingestão de alimentos induzida pelo jejum, e a ingestão no início da fase escura foi reduzida em 40% (Stanley e cols.; 1996). Em resumo, os dados apresentados mostram que o GLU endógeno liberado na AHL age em receptores NMDA para influenciar tanto o consumo de alimento espontâneo, que ocorre em ratos no início da fase escura, como também na ingestão de alimentos que ocorre após o jejum.

Outro experimento conduzido por Stanley e cols. (1996) indica que o tratamento com D-AP5 na AHL reduz o consumo diário de alimento em 40%. Essa redução foi mantida nos oito dias de experimento, e ocasionou a perda em mais de 50g de peso ao final do oitavo dia. Além da sugestão de que o GLU e o receptor NMDA participam na regulação da ingestão de alimentos de curta duração, parece que eles também controlam a regulação de longa duração do comportamento alimentar e o peso corporal.

No entanto, contrariando as evidências apontadas acima, a injeção intraperitoneal de MK-801, um antagonista glutamatérgico não competitivo do receptor glutamatérgico tipo NMDA, aumentou a ingestão de alimentos em ratos alimentados com sacarose 15%, ou realimentados após jejum de 16 horas com ração granulada (Burns e Ritter, 1997). Entretanto, essa droga não foi capaz de elevar o consumo de alimentos em animais saciados, quando em presença de uma ração granulada. Nesse modelo experimental, o bloqueio dos receptores NMDA pelo MK-801 prolonga o consumo de comida, provavelmente por facilitar as qualidades orossensoriais do alimento. Desse modo, é importante ressaltar que a deprivação alimentar não é o único requisito para demonstrar o envolvimento do sistema glutamatérgico no controle da ingestão de alimentos em mamíferos. A oferta de uma dieta mais palatável também

é outro requisito para destacar a relação do sistema glutamatérgico com a modulação do comportamento alimentar.

Experimentos posteriores mostraram que o MK-801 não é capaz de aumentar a ingestão de alimentos em animais saciados ou reduzir a ingestão de alimento em ratos que receberam infusão de nutrientes por via intrainestinal. Esses dados sugerem que o aumento no consumo de alimento induzido pelo MK-801 não foi resultado de um efeito antagonista sobre os sinais de saciedade pós-gástrico. A hipótese alternativa colocada é que o antagonista de receptores NMDA pode elevar o consumo de alimentos acelerando o esvaziamento gástrico, através da sua interferência nos sinais oriundos de mecano-receptores gástricos, resultando em prolongação da ingestão de alimentos. (Covasa e cols., 2000).

Em aves, o GLU parece desencadear efeitos sobre o consumo de alimentos de forma diferenciada aos efeitos observados em mamíferos. Dados obtidos em nosso laboratório mostram que a injeção i.c.v de GLU em pombos em jejum de 24 horas reduz a quantidade de alimento ingerido na realimentação. Essa redução foi parcialmente revertida quando foi realizado o pré-tratamento i.c.v com MK-801 ou com 6-ciano-7nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) 20 minutos antes da injeção i.c.v de GLU, em pombos realimentados após o jejum de 24 horas (Zeni e cols., 2000).

Na perspectiva de identificar os receptores glutamatérgicos envolvidos no controle neural da ingestão de alimentos foi administrado NMDA, por via i.c.v em pombos em jejum de 24 horas. O NMDA foi capaz de reduzir o consumo de alimentos em aproximadamente 30% no período de 1 h após a realimentação. Da mesma forma, a administração por via i.c.v de AMPA, em pombos em jejum de 24 horas, suprimiu a ingestão de alimentos em cerca de 25 % (Zeni e cols., 2000). Em contrapartida, a administração por via i.c.v de ácido kaínico e [trans-(1S,3R)-ACPD-(5NH₄OH)],

agonista de receptores metabotrópicos, não causou alteração no comportamento de ingestão de alimentos de pombos em jejum de 24 horas (Zeni e cols., 2000).

Experimentos posteriores indicaram que o tratamento com MK-801 e CNQX por via i.c.v em pombos saciados aumentou a quantidade de alimento ingerido, bem como a duração desse comportamento. Ambas as doses de MK-801 utilizadas (15 e 30 nmol) induziram um aumento similar na quantidade de alimento consumido, bem como uma elevação da duração da ingestão de alimento, que foram equivalentes ao induzido pela maior dose de CNQX (780 nmol). As latências para iniciar o comportamento de consumo de nutrientes foram diminuídas após as duas doses de CNQX (390 e 780 nmol) e a maior dose de MK-801 (30 nmol). Com relação à menor dose de MK-801 (15 nmol), é importante ressaltar que a quantidade de alimento ingerido aumentou, ainda que a latência não tenha sido alterada. Inversamente, a menor dose de CNQX (390 nmol) reduziu a latência sem alterar a quantidade de alimento ingerido e a duração desse comportamento (Zeni e cols., 2000).

A injeção i.c.v de substâncias que interferem na transmissão glutamatérgica foi a abordagem utilizada até agora em nosso laboratório, para investigar a participação de circuitos glutamatérgicos no controle da ingestão de alimentos em pombos. No entanto, essa técnica não permite a identificação exata do local onde se encontram os receptores glutamatérgicos implicados no controle da ingestão de alimentos. Portanto, é importante administrar drogas que interferam na transmissão glutamatérgica em locais específicos do SNC.

A partir do conjunto de informações relatadas acima, pode-se sugerir que a AHL exerce papel importante no controle da ingestão de alimentos e essa área faz parte do circuito glutamatérgico que modula o comportamento alimentar em mamíferos. Entretanto, não há estudos apontando a presença de receptores

glutamatérgicos na AHL e seu possível papel sobre o controle da ingestão de alimentos em aves.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo identificar a presença dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, AMPA-kainato na AHL e seu possível envolvimento no controle do consumo de alimentos e água em pombos. Para isso, foram realizadas injeções locais de MK-801 e CNQX acompanhando os seus efeitos sobre a resposta de ingestão de alimento e água.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. ANIMAIS

Foram utilizados 29 pombos domésticos (*Columbia 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 do Departamento de Ciências Fisiológicas, com água e ração *ad libitum*. A iluminação foi mantida artificialmente, através de lâmpadas fluorescentes com ciclo claro/escuro de 12/12 horas. O período de escuro iniciava-se às 19 horas. Os experimentos foram realizados respeitando-se os princípios éticos de experimentação animal, de acordo com o COBEA (Colégio de Experimentação Animal, 1991).

2. IMPLANTAÇÃO DE CÂNULAS NA ÁREA HIPOTALÂMICA LATERAL E TUBÉRCULO OLFATIVO

2.1 CIRURGIA

Para a implantação das cânulas-guia, os pombos foram anestesiados com uma solução de Equitesin (0,15 ml/100g) injetada por via intraperitoneal. Em seguida, as aves foram colocadas em um aparelho estereotáxico, tendo a cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo e no bico, com uma distância entre os dois pontos ajustada para 16 mm e formando um ângulo de 45 graus. Na região de acesso cirúrgico na cabeça, os animais receberam por via subcutânea cerca de 2 ml de Xylestesin (Cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstritor). Após a assepsia com álcool iodado, uma incisão longitudinal foi realizada no escalpo, de forma a expor a calota craniana. A porção exposta do crânio foi raspada e seca para garantir a adesão do acrílico. Em seguida, foi marcada a posição para a perfuração e implantação da cânula-guia. Na posição determinada foi feito um orifício no crânio de

cerca de 3 mm de diâmetro, com auxílio de uma broca esférica de uso odontológico. As coordenadas utilizadas para a implantação de cânulas-guia na AHL e tubérculo olfativo estavam parcialmente de acordo com aquelas encontradas no atlas estereotáxico para cérebro de pombos descrito por Karten e Hodos (1967):

AHL

Plano frontal - 6,5 mm a 7,0 mm anterior à linha interaural.

Plano sagital - 0,7 mm lateral à sutura sagital.

Plano horizontal - 6,5 mm abaixo da dura mater.

Tubérculo Olfativo

Plano frontal - 8,75 a 9,75 mm à linha interaural.

Plano sagital - 1,5 mm lateral à sutura sagital.

Plano horizontal - 4, 5 mm abaixo da dura mater.

Devido à diferença de peso e tamanho entre os pombos utilizados em nossos experimentos e aqueles usados por Karten e Hodos (1967) para elaborar o Atlas Estereotáxico para Cérebro de Pombos, as primeiras cânulas-guia implantadas atingiram áreas mais rostrais do SNC, como por exemplo, o tubérculo olfativo. Surpreendentemente neste distrito a administração local de MK-801 induziu à elevação na ingestão de alimentos. Por isso, a avaliação dos comportamentos ingestivos obtidos após a administração de MK-801 e CNQX, nesse local, foi incluída no presente trabalho.

2.2 AS CÂNULAS-GUIA

As cânulas-guia foram confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas, com 0,7 mm de diâmetro externo e 15 mm de comprimento. Para evitar o contato do acrílico com o tecido cerebral, o orifício foi coberto com fibrina (Fibrinol-Baldacci). A cânula foi fixada na calota craniana por meio de parafusos de aço inoxidável, distribuídos ao redor do orifício. O conjunto foi então coberto por acrílico autopolimerizável, formando uma estrutura sólida capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola.

3. INJEÇÕES NA AHL E TUBÉRCULO OLFATIVO

As injeções na AHL e tubérculo olfativo foram realizadas por meio de uma agulha injetora (Mizzi-Slide-Park) introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno a uma micro-seringa Hamilton de 1 μ l. As injeções excederam a cânula-guia em 1, 2, 3 e 4 mm, para permitir que pelo menos quatro (4) pontos de injeções fossem realizados em um mesmo animal. Com o objetivo de minimizar variações na pressão intracerebral, as soluções foram administradas no período de 1 min. O volume injetado foi sempre de 200 nl.

4. ESQUEMA EXPERIMENTAL

Os procedimentos experimentais foram sempre realizados entre 9:30 e 16:00 horas. Decorridos sete dias após a implantação da cânula-guia, os animais receberam em um dos pontos de injeção o tratamento com MK-801, CNQX ou líquor numa seqüência aleatória. Em seguida, em um ponto localizado 1 mm ventralmente ao anterior, foram administradas as mesmas substâncias de forma aleatória, e, assim, sucessivamente, até exceder em 4 mm a cânula-guia. Todos os experimentos foram

realizados com animais despertos e alimentados *ad libitum*. O intervalo entre cada tratamento foi de 2 dias.

Após as injeções, os animais foram recolocados em suas gaiolas individuais e receberam quantidade conhecidas de ração e água. Seguiu-se então um registro comportamental através de observação direta e sistemática dos comportamentos de cada animal.

Em alguns pontos localizados na AHL, que foram sensíveis ao MK-801 (6nmol), uma dose menor de MK-801 (3nmol) foi administrada. No tubérculo olfativo, foi realizado o tratamento com apenas uma dose de MK-801 (6 nmol) e uma de CNQX (160 nmol).

5. CATEGORIZAÇÃO COMPORTAMENTAL

A categorização comportamental teve como objetivo verificar se uma possível alteração na ingestão de alimento ou de água não seria consequência de modificações no quadro comportamental apresentado pelo animal.

O registro e a monitorização visual foram feitos através de uma janela de vidro pequena, de forma a permitir que cada animal fosse observado sem que percebesse a presença do observador, durante 1 h após a injeção das diferentes substâncias.

Para analisar os estados comportamentais, foram levados em consideração a postura e os movimentos corporais executados pelo pombo, e ainda a duração, a frequência e a latência para os comportamentos ingestivos, cuja descrição é apresentada no quadro abaixo.

Imobilidade alerta	O animal permanece imóvel com a cabeça elevada, olhos abertos e fixos com movimentos de piscar muito rápidos, sem fechar os olhos.
Postura típica de sono	O animal permanece com os olhos fechados, com a cabeça fletida e apoiada sobre o peito. Apresenta retração do pescoço, penas do peito arrepiadas, eventualmente apoiadas sobre uma das pernas ou deitado sobre o piso da gaiola ou no poleiro.
Locomoção	Qualquer deslocamento do animal dentro da gaiola, ou alternância de sustentação do corpo pelas pernas
Auto-limpeza	Movimento de esfregar o bico (ou bicar) nas penas de qualquer parte do corpo.
Comer	Comportamento de deglutição, quando o animal ingere alimento sólido.
Beber	Movimentos rápidos com o bico, semelhantes aos de ingestão de alimento, porém associados à ingestão de água.

6. REGISTRO ALIMENTAR

Ao final de 1 h de observação, o consumo de alimento e água foi medido tomando-se em conta a diferença entre as quantidades iniciais (200 g de alimento e 100 ml de água) e finais.

7. DROGAS ADMINISTRADAS:

a) Solução de líquido cérebro-espinhal artificial estéril. Foram administrados 200 nl desta solução nos animais utilizados como controle;

Composição do líquido em mEq/l: Na⁺ = 155, K⁺ = 3,7, Ca⁺⁺ = 2,5, Mg⁺⁺ = 2,1, Cl⁻ = 140, HCO₃⁻ = 23;

b) Soluções de (SR,105) - (+) - 5 - Metil - 10,11 diidro - 5H - dibenzo [a,d] ciclohepteno - 5,10 - imino hidrogênio maleato - dizocilpina (MK-801) nas doses de 3 e 6 nmol;

c) Soluções de 6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona (CNQX) complexado com 2-hidroxi-propil-β-ciclodextrina na dose de 160 nmol.

As drogas mencionadas nos itens b e c foram adquiridas da RBI - Research Biochemicals International, Natick, MA, USA e as demais no comércio local.

As doses utilizadas no esquema experimental derivaram de experimentos realizados em nosso laboratório, nos quais foram administrados MK-801 e CNQX por via i.c.v (Zeni e cols. , 2000).

8. HISTOLOGIA

Após completar os experimentos, os animais receberam uma dose de anestésico Equitesin (0,15ml/g), e então foram perfundidos transcardialmente com salina 0,9%, seguido de formol 10%. O posicionamento das cânulas foi verificado por meio da injeção de 200 nl de Azul de Evans. Logo após, as peças foram dissecadas e imersas por quatro (4) a cinco (5) dias em formol a 10%. Em seguida os cérebros foram incluídos em ágar, cortados por um vibrátomo no plano frontal em 100 μ m. Os cortes foram montados em lâminas de vidro tratadas com gelatina e alúmen-cromo, e colocados para secar em temperatura ambiente por cinco dias. Ao final, os cortes foram corados com tionina, tratados com uma série de álcool em concentrações de 70%, 95% e 100%, clareados em xilol e cobertos com lamínulas. Eles tiveram como meio de montagem o Permount (Fischer) e foram analisados no microscópio óptico. A reprodução gráfica dos cortes e dos pontos de injeção analisados no microscópio foi realizada a partir do atlas de Karten e Hodós (1967).

9. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados de cada tratamento e seus efeitos sobre a quantidade de alimento e água ingeridos após sua aplicação na AHL, ou tubérculo olfativo, foram avaliados estatisticamente por meio de uma análise de variância de uma via (Statística 6.0, 1998). A comparação posterior entre os grupos foi feita pela aplicação do teste de Duncan. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. A duração e a latência para ingerir água ou alimento, bem como os demais comportamentos, foram avaliados empregando-se uma análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis seguida do teste de Mann-Whitney com $p < 0,05$. Para caracterizar uma resposta hiperfágica, o consumo de alimento deveria ser superior a 4,4g ao final de 1 h de observação, procedimento já adotado anteriormente para definir uma resposta hiperfágica em

em nosso laboratório (Hagemann e cols., 1998). Este valor foi determinado a partir de dados obtidos em estudos prévios (Ravazio e cols., 1991) e corresponde à média \pm (2x desvio padrão) da quantidade alimento ingerido por animais tratados com veículo por via i.c.v ($1,6 \pm 1,4$, média \pm desvio padrão, n = 22).

RESULTADOS

1. ADMINISTRAÇÃO DE MK-801 NA AHL E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTOS E DE ÁGUA EM POMBOS SACIADOS.

A injeção de 3 nmol de MK-801 na AHL de pombos saciados não alterou a quantidade de alimento consumido durante o período experimental (Fig. 1). Da mesma forma, não houve diferença significativa na duração da ingestão de alimento, nem na latência para iniciar a ingestão, entre os animais tratados com MK-801 ou com líquor (Fig. 1).

Como apresentado na Fig. 1, a dose de 6 nmol de MK-801 administrada na AHL desencadeou elevação na quantidade de alimento ingerido [$F(2,35)=65,84$; $p = 10^{-6}$]. O consumo médio de alimento nos animais tratados com o antagonista glutamatérgico ficou aproximadamente quatro (4) vezes acima do valor médio observado no grupo controle ($1,8 \pm 0,5$ controle; $8,0 \pm 0,7$ MK-801, média \pm EPM de 15 pontos de injeção). Essa hiperfagia induzida pelo MK-801 foi acompanhada por um aumento na duração da ingestão de alimentos [$K-W H(2,38)=13,33$; $p = 0,0013$ é $MW Z=-3,91$; $p=0,000089$] (Fig. 1). Embora o grupo tratado com 6 nmol de MK-801 na AHL tenha apresentado uma tendência em reduzir a latência para iniciar o primeiro episódio de consumo de alimento, a análise de variância entre os diferentes grupos mostrou que não houve diferenças estatisticamente significantes [$K-W H(2,38)=3,73$; $p=0,15$]. No entanto, a análise estatística posterior, utilizando o teste de Mann-Whitney, para comparação entre os dados obtidos no grupo controle e no grupo tratado com a dose de 6 nmol de MK-801, mostrou que o tratamento com o antagonista glutamatérgico reduziu de modo significativo a latência para iniciar a ingestão de alimento [$MW Z=-2,38$; $p=0,017$] (Fig. 1).

A administração das doses de 3 nmol e 6 nmol de MK-801 na AHL não alterou a quantidade de água ingerida (Fig. 2), nem a duração total dessa resposta. Da

mesma maneira também não foi alterada a latência para iniciar a ingestão hídrica com as doses empregadas (Fig.2).

A análise dos dados comportamentais não ingestivos mostra que ambas as doses de 3 nmol e 6 nmol de MK-801 não provocaram alterações estatisticamente significantes na duração e na latência dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, autolimpeza e postura típica de sono ao final de uma (1) hora de experimento (Tab. 1 e Tab. 2).

A seqüência das latências dos comportamentos realizados pelos animais mostrou que primeiro houve a emissão de comportamentos não ingestivos e logo a seguir ingestão de alimentos e água. Essa seqüência de comportamentos foi observada tanto nos animais que receberam veículo como nos que receberam 3 nmol de MK-801. Já a dose de 6 nmol desencadeia, primeiramente, os comportamentos não ingestivos, depois o consumo de alimento, logo em seguida postura típica de sono, e, por último, ingestão de água.

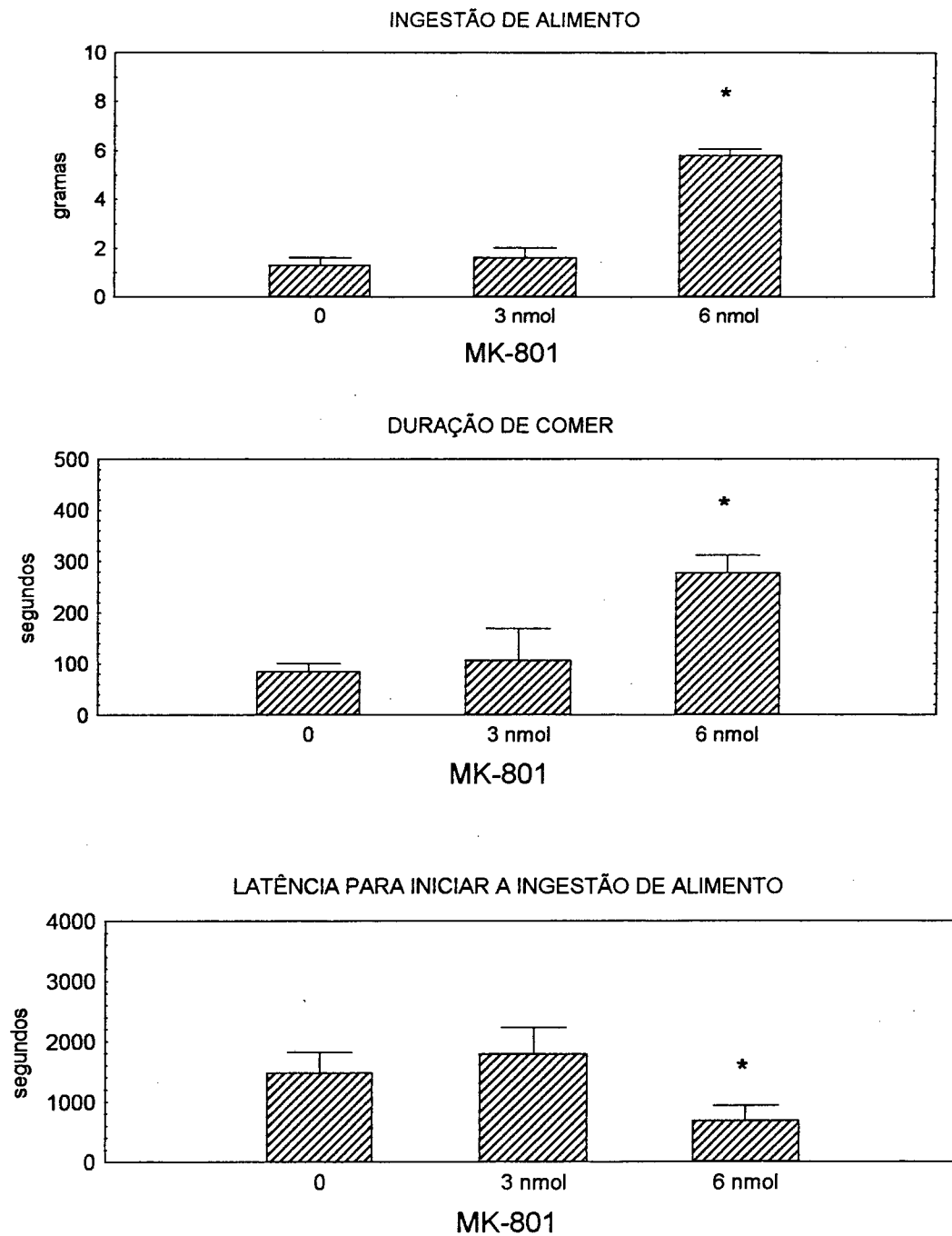


Figura 1: Administração de MK-801 (3 e 6 nmol) na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 15 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (6 nmol de MK-801) ou 15 pombos (3 nmol de MK-801). (*) $p < 0,05$ em relação ao veículo (0).

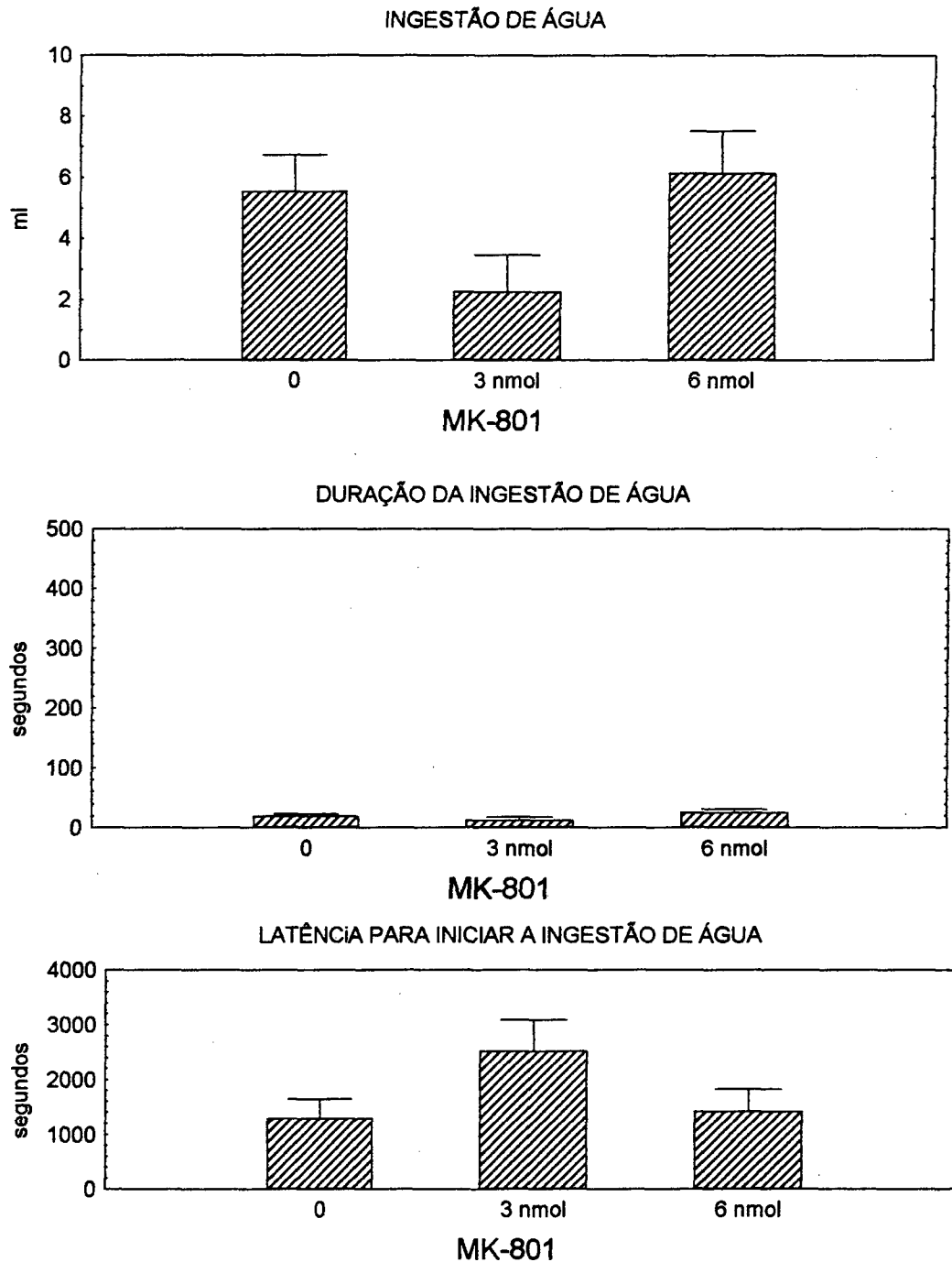


Figura 2: Administração de MK-801 (3 e 6 nmol) na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 15 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (6 nmol de MK-801) ou 15 pombos (3 nmol de MK-801).

Tabela 1: Duração (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observados após a injeção de MK-801 nas doses de 3 e 6 nmol na área hipotalâmica lateral de pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 8 pombos (3 nmol de MK-801) ou 15 pombos (6 nmol de MK-801). A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora .

Comportamentos	Veículo	MK-801 3 nmol	MK-801 6 nmol
Imobilidade alerta	759,00 \pm 131,60	829,25 \pm 368,99	746,20 \pm 124,04
Locomoção	116,46 \pm 27,27	59 \pm 10,93	93,13 \pm 21,70
Auto-limpeza	664,66 \pm 97,44	773,12 \pm 167,28	729,80 \pm 127,53
Postura típica de sono	1502,00 \pm 166,63	1608,12 \pm 374,61	1337,46 \pm 188,65

Tabela 2: Latência (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observados após a injeção de MK-801 nas doses de 3 e 6 nmol na área hipotalâmica lateral de pombos saciados. Os dados forma obtidos a partir do tratamento efetuado em 8 pombos (3 nmol de MK-801) ou 15 pombos (6 nmol). A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora (n=15).

Comportamentos	Veículo	MK-801 3 nmol	MK-801 6 nmol
Imobilidade alerta	24,53 \pm 18,43	43,87 \pm 31,66	148,66 \pm 71,44
Locomoção	418,73 \pm 197,86	646,00 \pm 427,95	637,73 \pm 251,05
Auto-limpeza	214,86 \pm 76,60	141,62 \pm 37,15	173,53 \pm 44,24
Postura típica de sono	619,00 \pm 124,88	532,87 \pm 190,79	953,06 \pm 244,25

2. ADMINISTRAÇÃO DE CNQX NA AHL E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTOS E DE ÁGUA EM POMBOS SACIADOS.

A injeção de 160 nmol de CNQX na AHL de pombos saciados aumentou a quantidade de alimento ingerido em aproximadamente cinco (5) vezes, quando comparada ao grupo controle tratado com líquor no mesmo local [$F(1,18)=153,37$; $p=10^{-6}$] (Fig. 3). Essa hiperfagia foi acompanhada por um aumento na duração do consumo de alimentos [$MW Z=-2,08$; $p=0,037$] (Fig. 3), e uma grande redução na latência para desencadear o primeiro episódio de ingestão de alimentos [$MW Z=-0,38$; $p=0,028$].

O volume de água ingerido não foi alterado após a injeção de 160 nmol de CNQX na AHL, do mesmo modo, não foram observadas alterações estatisticamente significantes na duração e na latência para iniciar uma resposta dipsogênica (Fig. 4).

A avaliação das alterações comportamentais provocadas pela injeção de CNQX na dose de 160 nmol na AHL demonstrou que não ocorreram modificações na duração e na latência dos comportamentos de auto-limpeza, locomoção e postura típica de sono, no entanto, a duração do comportamento de imobilidade alerta foi alterada pelo CNQX. A duração desse comportamento foi maior nos animais tratados com a droga quando comparada ao grupo controle tratado com líquor (Tab.3 e Tab. 4).

A seqüência dos comportamentos emitidos pelos animais do grupo controle, foram primeiramente comportamentos não ingestivos, e, ao final, ingestão de alimentos e consumo de água. Com a dose de 160 nmol de CNQX, primeiro ocorrem comportamentos ingestivos, seguido de locomoção, postura típica de sono, e, finalmente, ingestão de água.

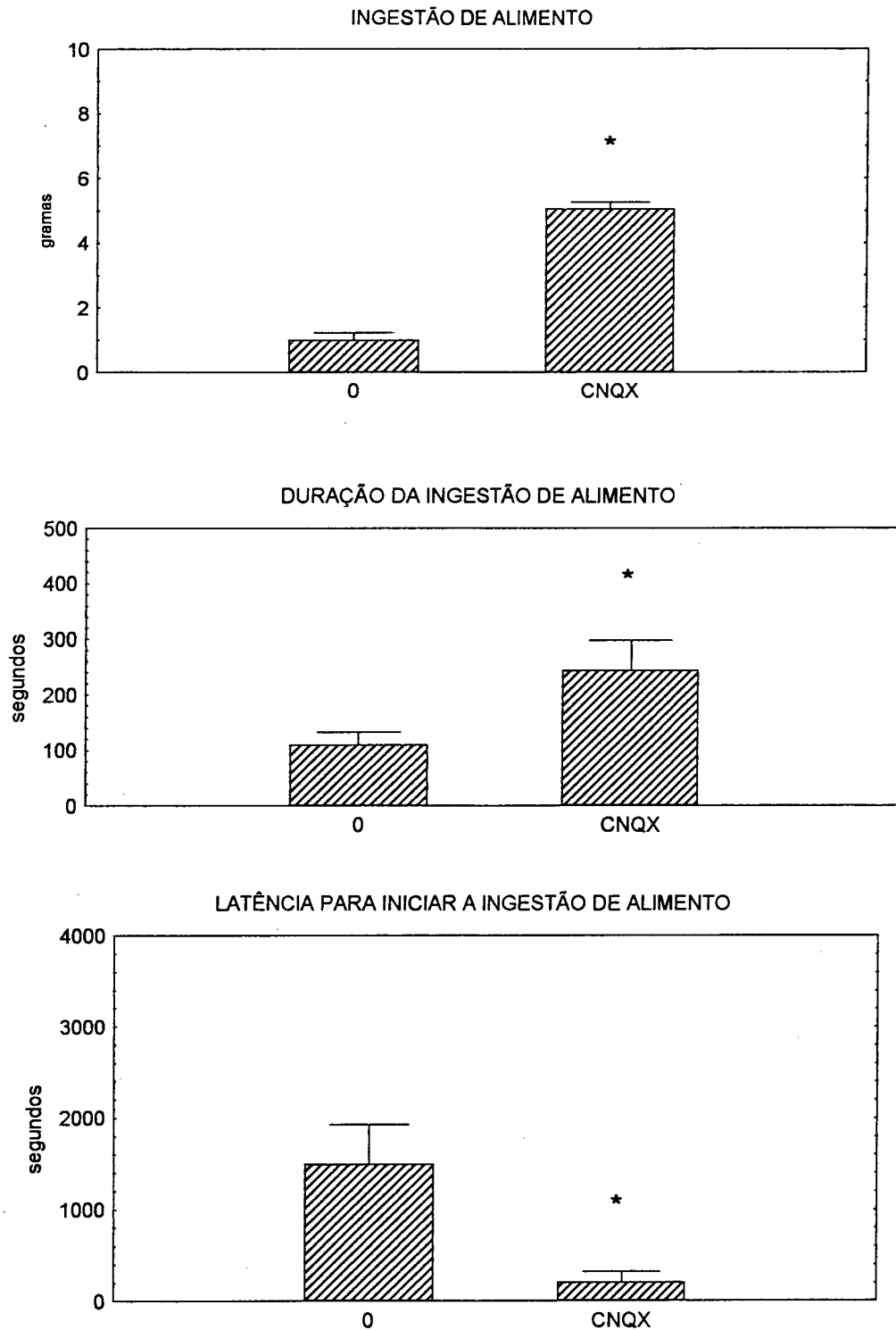


Figura 3: Administração de CNQX (160 nmol) na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 8 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (160 nmol de CNQX). (*) $p < 0,05$ em relação ao veículo (0).

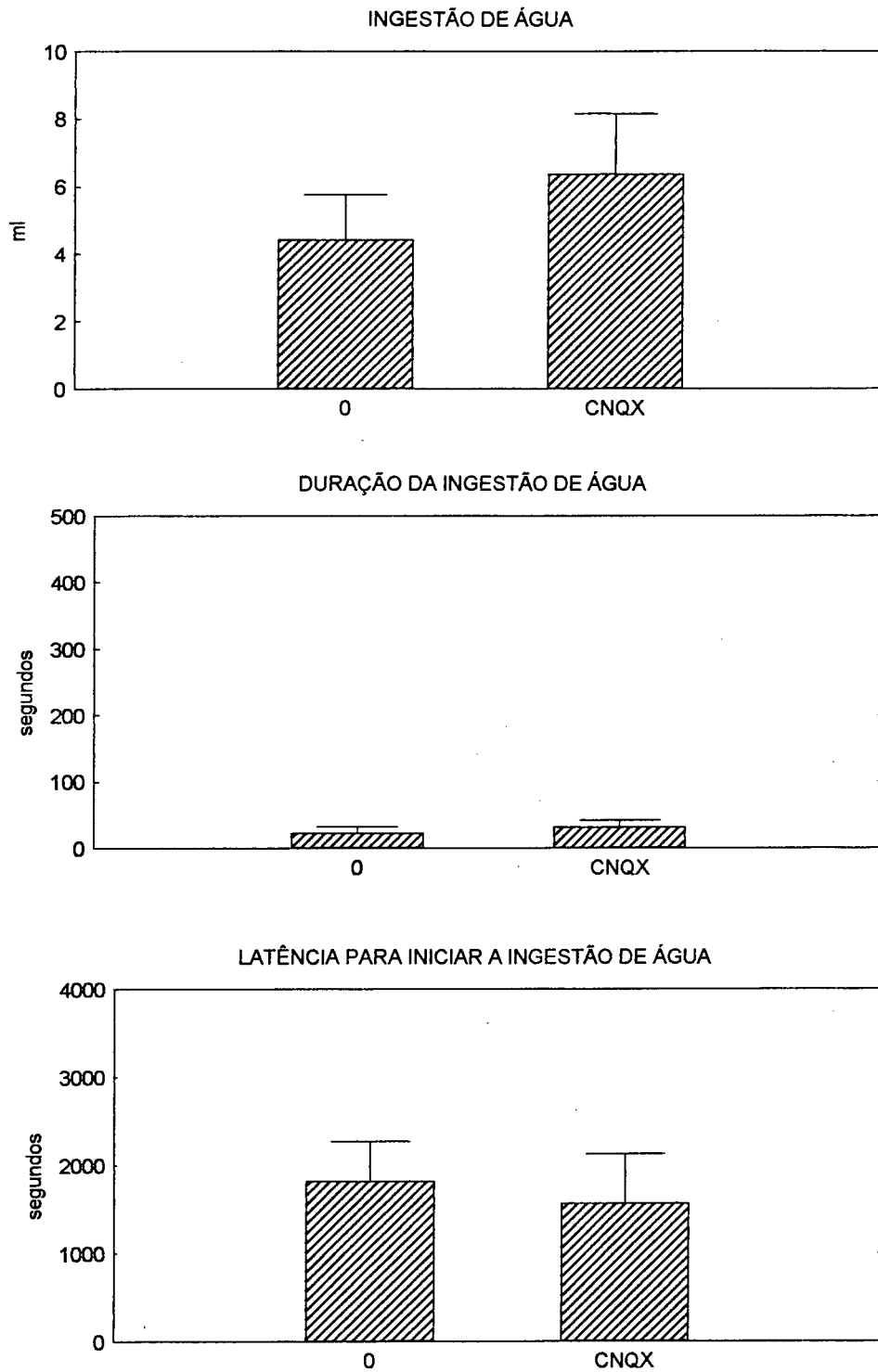


Figura 4: Administração de CNQX (160 nmol) na área hipotalâmica lateral e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 8 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (160 nmol de CNQX).

Tabela 3: Duração (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observadas após a injeção de CNQX na dose 160 nmol na área hipotalâmica lateral de pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (160 nmol de CNQX). A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora.

Comportamentos	Veículo	CNQX 160 nmol
Imobilidade alerta	277,00 \pm 36,58	696,37 \pm 127,83 *
Locomoção	209,03 \pm 116,03	149,00 \pm 43,48
Auto-limpeza	580,91 \pm 88,71	650,75 \pm 147,09
Postura típica de sono	1917,83 \pm 272,52	1285,50 \pm 266,28

(*) $p < 0,05$ em relação ao veículo

Tabela 4: Latência (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observadas após a injeção de CNQX na dose 160 nmol na área hipotalâmica lateral de pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 15 pombos (160 nmol de CNQX). A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora (n=8).

Comportamentos	Veículo	CNQX 160 nmol
Imobilidade alerta	37,66 \pm 21,00	0,00 \pm 0,00
Locomoção	782,66 \pm 390,38	275,87 \pm 117,32
Auto-limpeza	91,50 \pm 23,00	157,62 \pm 56,00
Postura típica de sono	704,58 \pm 174,27	828,12 \pm 211,12

3. ADMINISTRAÇÃO DE MK-801 E CNQX NO TUBÉRCULO OLFATIVO E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTOS E DE ÁGUA EM POMBOS SACIADOS .

Os resultados apresentados na Fig. 5 indicam que a administração de 6 nmol de MK-801 no tubérculo olfativo, provocou um aumento no consumo alimentar ($1,5 \pm 0,7$ controle; $7,5 \pm 0,8$ MK-801, média \pm EPM de 6 pontos de injeção) e na duração total dessa resposta, quando comparado ao grupo controle tratado com líquor [$F(2,15)=20,39$; $p=0,000053$]. A resposta de ingestão de alimentos observada após tratamento com MK-801 no tubérculo olfativo foi aproximadamente quatro (4) vezes superior àquela exibida pelo grupo controle. Essa hiperfagia induzida pelo MK-801 foi acompanhada por um aumento na duração da resposta de ingestão de alimentos sem alterar, no entanto, a latência para iniciar o consumo de nutrientes (Fig. 5).

A injeção de 160 nmol de CNQX no tubérculo olfativo não provocou qualquer efeito sobre a quantidade de alimento ingerido, nem sobre a duração desse comportamento e nem mesmo afetou a latência para desencadear o primeiro episódio de consumo de alimentos.

A administração de MK-801 ou CNQX no tubérculo olfativo também não alterou o volume total de água ingerida pelos pombos, nem a duração desse comportamento e nem a latência para iniciar a resposta dipsogênica (Fig. 6).

As Tab. 5 e 6 apresentam os dados relativos aos efeitos do MK-801 e do CNQX sobre a duração e a latência dos comportamentos de auto-limpeza, locomoção, imobilidade alerta e postura típica de sono após a injeção de ambas as drogas. A análise estatística mostrou que ambos os tratamentos não desencadearam qualquer modificação significativa nos comportamentos não ingestivos emitidos pelas aves, quando é feita a comparação com o grupo controle. De maneira geral, os animais emitem primeiro comportamentos não ingestivos, logo após consomem alimento,

dormem, e, finalmente, ingerem água após a administração de líquor, MK-801 ou CNQX.

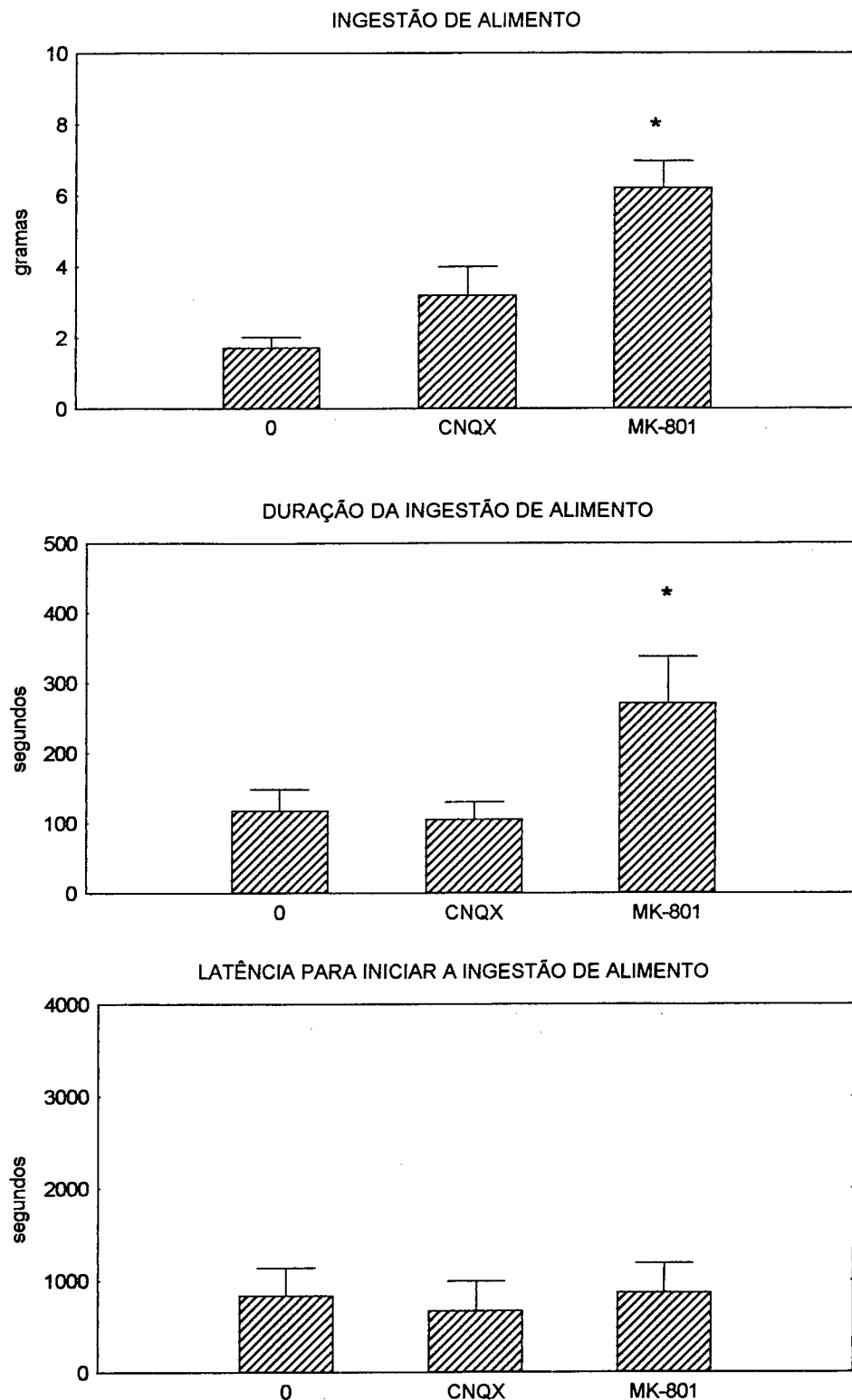


Figura 5: Administração de CNQX (160 nmol) e MK-801 (6 nmol) no tubérculo olfativo e seus efeitos sobre o consumo de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 6 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 6 pombos para ambos os tratamentos. (*) $p < 0,05$ em relação ao veículo (0).

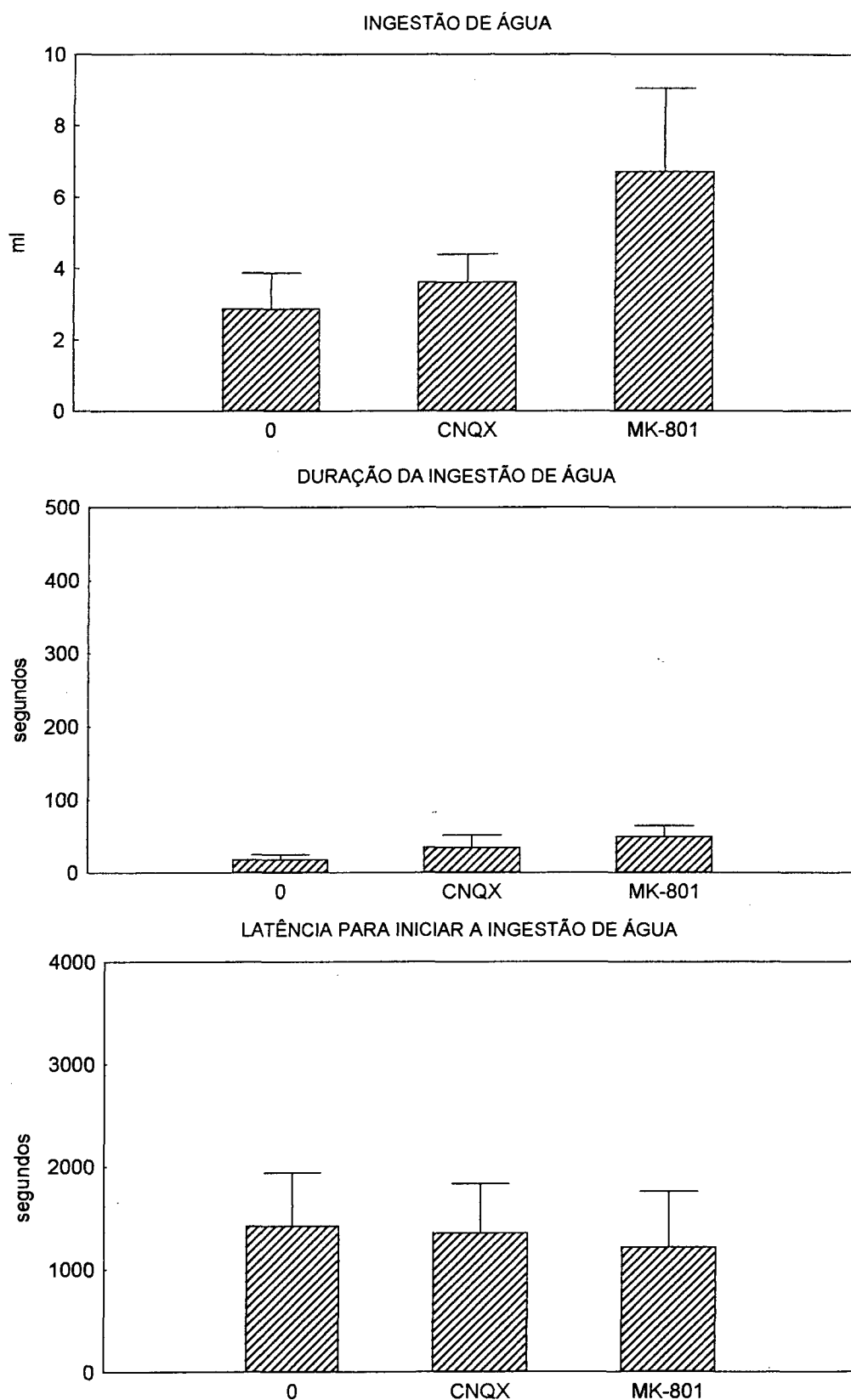


Figura 6: Administração de CNQX (160 nmol) e MK-801 (6 nmol) no tubérculo olfativo e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 6 pontos de injeção obtidos a partir do tratamento efetuado em 6 pombos para ambos os tratamentos (n=6).

Tabela 5: Duração (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observados após a injeção de MK-801 na dose de 6 nmol e CNQX na dose de 160 nmol no tubérculo olfativo de pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 6 pombos para ambos os tratamentos. A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora.

Comportamentos	Veículo	CNQX 160 nmol	MK-801 6 nmol
Imobilidade alerta	917,50 \pm 175,76	800,75 \pm 174,62	1155,00 \pm 243,13
Locomoção	128,50 \pm 87,84	380,12 \pm 199,38	131,00 \pm 63,30
Auto-limpeza	697,50 \pm 163,37	941,87 \pm 173,88	845,85 \pm 151,71
Postura típica de sono	1352,75 \pm 264,37	1077,37 \pm 318,79	884,28 \pm 189,42

Tabela 6: Latência (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de imobilidade alerta, locomoção, auto-limpeza e postura típica de sono observados após a injeção de MK-801 na dose de 6 nmol e CNQX na dose 160 nmol no tubérculo olfativo de pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 6 pombos para ambos os tratamentos. A avaliação comportamental foi realizada por 1 hora (n=6).

Comportamentos	Veículo	CNQX 160 nmol	MK-801 6 nmol
Imobilidade alerta	95,00 \pm 62,45	158,37 \pm 104,90	0,00 \pm 0,00
Locomoção	990,25 \pm 570,48	988,87 \pm 572,16	1339,42 \pm 617,46
Auto-limpeza	332,00 \pm 266,78	242,25 \pm 106,52	210,28 \pm 128,84
Postura típica de sono	880,50 \pm 277,15	1140,62 \pm 398,25	869,71 \pm 222,39

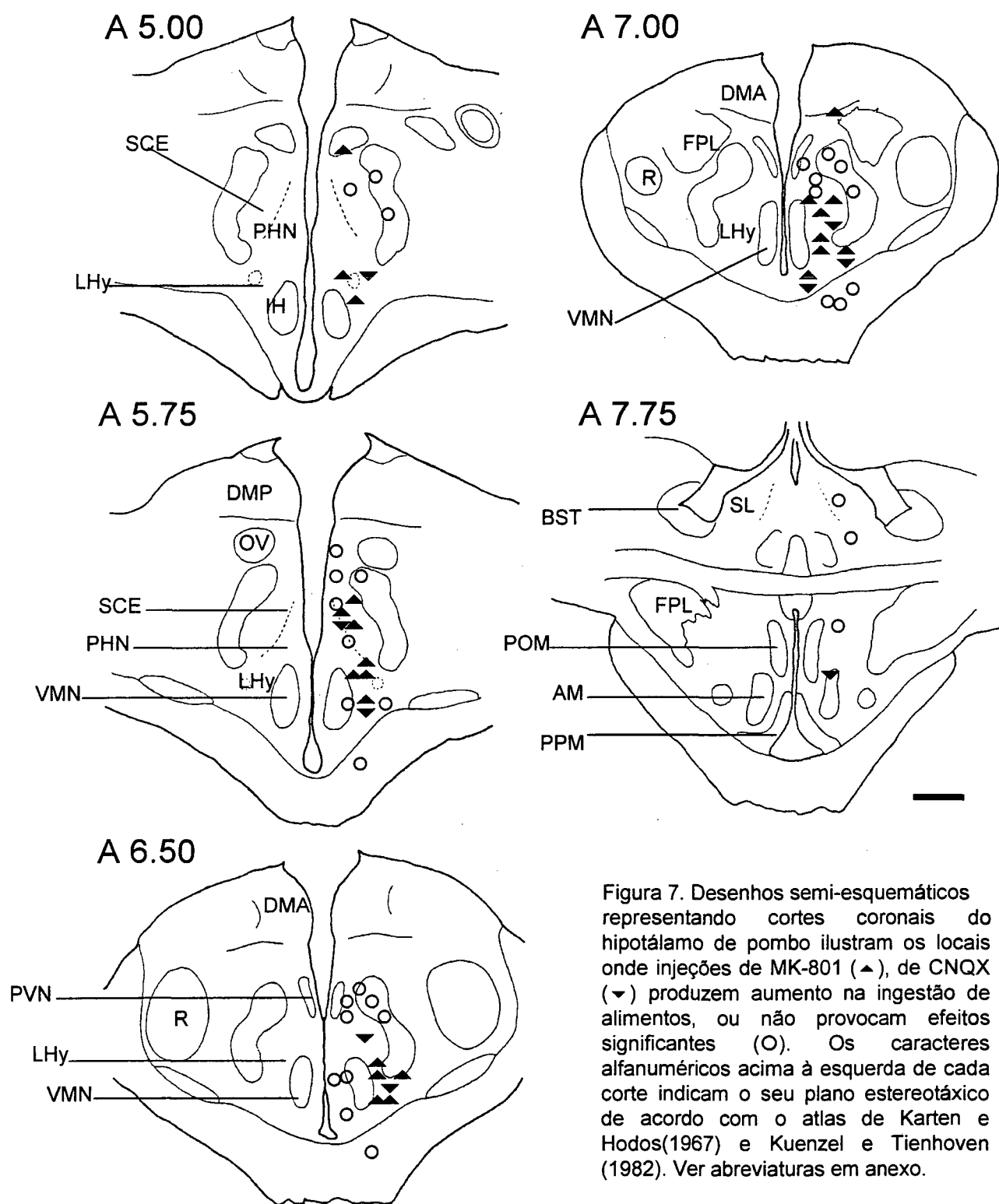


Figura 7. Desenhos semi-esquemáticos representando cortes coronais do hipotálamo de pombo ilustram os locais onde injeções de MK-801 (▲), de CNQX (▼) produzem aumento na ingestão de alimentos, ou não provocam efeitos significantes (O). Os caracteres alfanuméricos acima à esquerda de cada corte indicam o seu plano estereotáxico de acordo com o atlas de Karten e Hodos(1967) e Kuenzel e Tienhoven (1982). Ver abreviaturas em anexo.

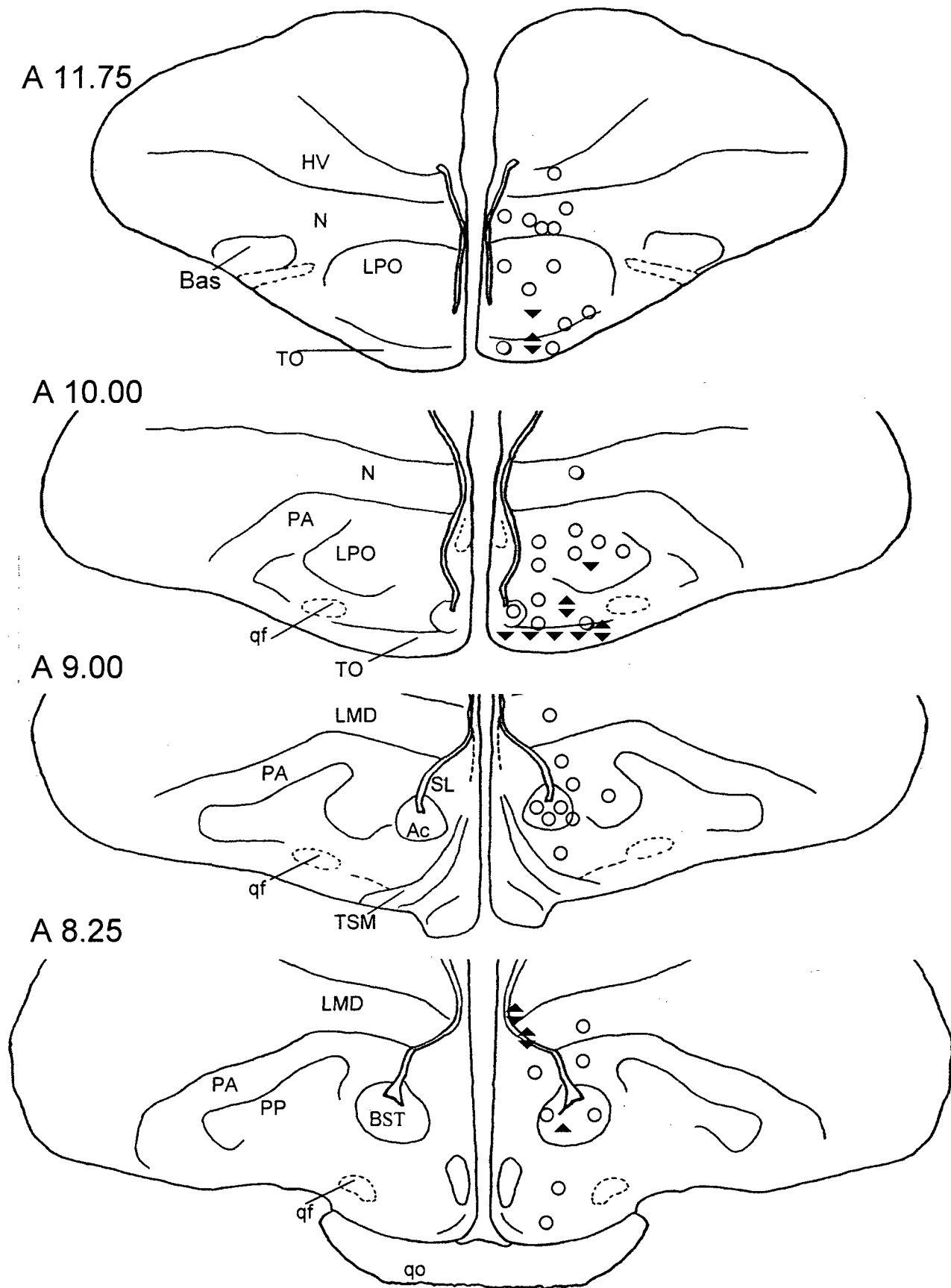


Figura 8. Desenhos semi-esquemáticos representando cortes coronais do telencéfalo do pombo ilustram os locais onde injeções de MK-801 (▼), de CNQX (▲) produzem aumento na ingestão de alimentos, ou não provocaram efeitos significantes (○). Os caracteres alfa numéricos acima e à esquerda de cada corte indicam o seu plano estereotáxico de acordo com o atlas de Karten e Hodós (1967). Ver abreviaturas na lista em anexo.

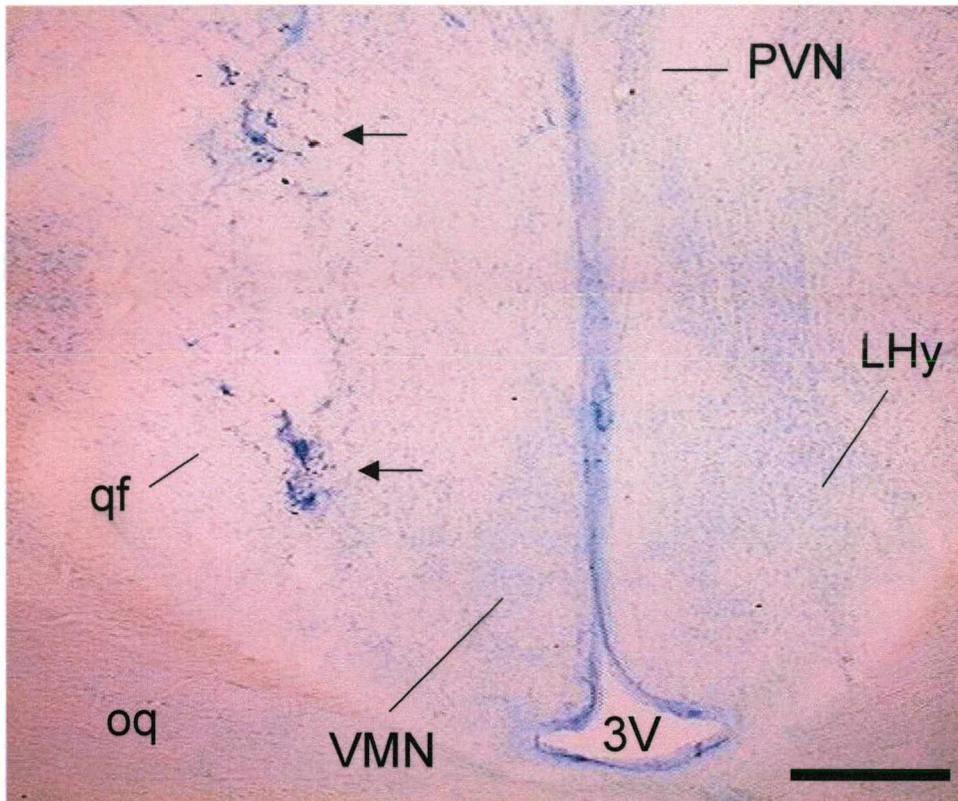


Figura 9. Fotomicrografia ilustrando o trajeto das cânulas de injeção e a localização dos pontos de injeção no hipotálamo lateral (setas). Coloração de Nissl (tionina). Barra de escala = 500 μ m. Ver lista de abreviaturas.

LISTA DE ABREVIATURAS:

AM – Núcleo rostralis anterior hipotalami

BST – Núcleo intersticial da estria terminal

DMA – Núcleo dorsolateralis anterior thalami, pars medialis

DMP – Núcleo dorsomedialis posterior thalami

FPL – Fasciculus prosencephalis lateralis

IH – Núcleo Inferior hypothalami

LHy – Area lateralis hypothalami

OV- Núcleo ovoidalis

PHN – Núcleo periventricularis hypothalami

POM – Núcleo preopticus medialis

PPM – Núcleo magnocellularis preopticus

PVN – Núcleo paraventricularis

R – Núcleo rotundus

SCE – Stratum cellularis externum

SL – Núcleo septalis lateralis

VMN – Núcleo ventromedialis hypothalami

LISTA DE ABREVIATURAS

- Ac – Núcleo accumbens
- Bas – Núcleo basalis
- BST – Núcleo intersticial da estria terminal
- HV – Hiperstriatum
- LMD – Lamina medullaris dorsalis
- LPO – Lobus paraolfatorius
- N – Neostriatum
- PA – Paleostriatum augmentatum
- PP – Paleostriatum primitivum
- SL – Área septal lateral
- QF – Tratus quintofrontalis
- QO – Quiasma óptico
- TO – Tubérculo olfativo
- TSM – Tratus septomesencephalicus

DISCUSSÃO

Na discussão do presente trabalho serão utilizados os conceitos de saciação e saciedade postulados por Blundell (1991). A saciação é o processo no qual sinais aferentes como os estímulos sensoriais (visuais, gustativos, olfativos), o aumento na motilidade do trato gastrointestinal, os hormônios liberados durante a digestão ou os metabólitos originados a partir da digestão dos alimentos, desencadeiam o término da refeição. A saciedade é um sinal intensamente influenciado pela quantidade de calorias ingeridas e pela composição da dieta. Ela se refere aos sinais que impedem o início de uma refeição, determinando o intervalo entre o final de uma e o início de outra. A partir desses conceitos, a saciação define o tamanho e a duração da refeição, enquanto a saciedade define o intervalo entre as refeições.

Os dados obtidos no presente trabalho mostram que o tratamento com MK-801 efetuado na AHL induziu à hiperfagia em pombos saciados, bloqueando o processo de saciação, uma vez que elevou a quantidade de alimento consumido e a duração total desse comportamento. Os sinais de saciedade também foram alterados pelo MK-801, uma vez que a latência foi diminuída. Além disso, a resposta hiperfágica causada pelo MK-801 parece ser um efeito específico da droga, já que não houve comprometimento motor, nem alteração em outros comportamentos não ingestivos após a administração desse antagonista glutamatérgico na AHL. Esses dados indicam a existência de receptores NMDA na AHL envolvidos no controle da ingestão de nutrientes em aves, aparentemente exercendo uma contínua influência inibitória.

Os dados obtidos com a administração de MK-801 na AHL de pombos saciados estão de acordo com aqueles apresentados por Zeni e cols. (2000), demonstrando que a injeção i.c.v de doses maiores de MK-801 em pombos saciados desencadeava hiperfagia acompanhada por um aumento na duração total dessa resposta e de uma diminuição da latência para iniciar a ingestão de alimento, sugerindo que o bloqueio dos receptores

NMDA interfere tanto nos sinais de saciação como nos de saciedade. Entretanto, esses mesmos autores mostraram que a injeção i.c.v. de doses menores de MK-801 provocava hiperfagia sem afetar a latência para iniciar a alimentação, sugerindo a existência de locais no SNC, onde o bloqueio de receptores NMDA afetava apenas os sinais de saciação sem interferir nos sinais que induzem saciedade.

A diferença entre os efeitos desencadeados pelo MK-801, após sua administração por via i.c.v. e aqueles observados após sua administração na AHL, é que, enquanto o bloqueio dos receptores NMDA localizados na AHL modifica tanto os sinais de saciação como os de saciedade, o bloqueio dos receptores NMDA realizado por via i.c.v. sugere a existência de locais no SNC, onde a ativação dos receptores NMDA afetaria apenas a saciação e outros distritos centrais onde a ativação desses receptores afetaria os sinais de saciação e os de saciedade. Juntos, esses dados sugerem a possibilidade de outros locais do SNC, além da AHL, possuírem receptores NMDA envolvidos no controle da ingestão de alimentos afetando, entretanto, somente os sinais de saciação.

Experimentos realizados em mamíferos sugerem a presença de receptores NMDA na rafe mediana (Wirtshafter e Trifunovic, 1988) e área postrema (Ritter e Stone, 1987). Além disso, dados do presente trabalho mostram a presença de receptores NMDA no tubérculo olfativo que afetam somente os sinais de saciação. A administração de MK-801 no tubérculo olfativo de pombos saciados também provocou elevação no consumo de alimento, assim como na duração total desse comportamento, mantendo a latência para iniciar o consumo de alimento inalterada. Esse dado sugere que o bloqueio dos receptores NMDA localizados nesse sítio retarda os sinais de saciação, provocando, dessa forma, hiperfagia. Então esse poderia ser um provável local atingido pelo tratamento com doses menores de MK-801 por via i.c.v.

Essa manifestação tardia dos sinais de saciação causada pelo MK-801 pode ser o resultado de sua interferência em sinais desencadeados pela presença de nutrientes na parede gastrointestinal, os quais determinam o final de uma refeição. De acordo com essa idéia encontram-se os dados de Covasa e cols. (2000) mostrando que em ratos alimentados com sacarose 15%, a administração intraperitoneal de MK-801 acelera o esvaziamento gástrico através da sua interferência em sinais oriundos de mecano-receptores gástricos.

Em galinhas, lesões na AHL e de distritos situados próximos à AHL, como por exemplo, tratus quinto-frontalis (QF), stratum cellular externum (SCE) e ansa lenticularis (AL), causaram afagia por um período de um 1 a 2 dias, além de perda de peso corporal (Kuenzel, 1982). No presente trabalho, 3 pontos de injeção com MK-801 alcançaram o SCE, desencadeando hiperfagia após o emprego do antagonista glutamatérgico nesse local (ver Fig. 7). Esse resultado sugere a presença de receptores NMDA no SCE, cuja ativação inibiria a resposta de ingestão de alimentos; entretanto, o pequeno número de pontos dificulta o procedimento estatístico e a confiabilidade do resultado. Desse modo, experimentos adicionais estão sendo encaminhados em nosso laboratório para determinar com maior segurança a possível participação de receptores NMDA, presentes no SCE, na regulação da ingestão de alimentos em pombos.

Concluindo, os dados do presente trabalho indicam a presença de receptores NMDA na AHL e no tubérculo olfativo, aparentemente exercendo uma influência inibitória sobre o consumo de alimento em pombos. Entretanto, não se pode excluir a possibilidade de que receptores NMDA também possam estar situados em outros locais como SCE, rafe e área postrema, modificando o consumo de alimento em aves.

Outro aspecto interessante observado a partir das informações apresentadas nesse trabalho, é que o MK-801, quando administrado na AHL, foi capaz de aumentar o consumo de alimentos em animais alimentados com uma dieta balanceada e na forma granulada própria para aves. Em contrapartida, injeções periféricas desse antagonista não desencadearam mudanças no comportamento alimentar de ratos saciados, mas elevaram a ingestão de alimentos somente após a apresentação de uma dieta mais palatável (sacarose 15%) (Burns e Ritter, 1997). Ao contrário do que foi observado em ratos, em pombos isso parece não ocorrer, uma vez que animais saciados que receberam injeções de MK-801 na AHL ou por via i.c.v, elevaram a ingestão de nutrientes, independentemente da palatabilidade ou da deprivação alimentar.

Outra diferença encontrada entre o papel de receptores glutamatérgicos presentes na AHL de aves e mamíferos é o fato de que administração de NMDA na AHL provocar hiperfagia em ratos. Os dados apresentados no presente trabalho mostram que a inibição de receptores NMDA provoca elevação do consumo de alimentos em pombos. Desse modo, parece que o controle glutamatérgico do consumo de alimentos atua de forma diferente em aves e mamíferos. Em mamíferos, o controle glutamatérgico desempenhado pela AHL parece estimular o consumo de alimentos, enquanto que em aves o circuito glutamatérgico parece exercer uma inibição tônica sobre o consumo de nutrientes, de tal forma que o bloqueio dos receptores NMDA resulta em elevação da ingestão de alimentos.

Em mamíferos, os receptores NMDA também parecem afetar os mecanismos gastrointestinais modificando, dessa forma, a velocidade do esvaziamento gástrico e o consumo do alimento (Covasa e cols., 2000). No presente trabalho, torna-se difícil avaliar uma possível contribuição desse sinal na resposta hiperfágica induzida pelo MK-801 após sua administração na AHL, uma vez que não foram realizados experimentos

controlando o esvaziamento da moela (órgão encontrado em aves com função similar ao estômago de mamíferos) e os seus possíveis efeitos sobre a ingestão de alimento após o bloqueio de receptores NMDA localizados na AHL ou no tubérculo olfativo.

A hiperfagia induzida pela inibição dos receptores NMDA no tubérculo olfativo atribui um papel inibitório tônico de neurônios glutamatérgicos localizados nesse local sobre o consumo de alimentos em pombos. Dados na literatura indicam que a retirada do bulbo olfatório, procedimento denominado bulbectomia, altera o padrão de ingestão de alimentos em ratos. Os animais bulbectomizados bilateralmente passaram a ingerir refeições com aproximadamente metade do tamanho das do grupo controle. Além disso, a frequência das refeições aumentou no grupo bulbectomizado. Em contrapartida, a retirada do bulbo olfatório não modificou a quantidade total de alimento ingerido pelos animais. Desse modo, os pesquisadores sugerem que a bulbectomia não exerce influência sobre o consumo de alimento total, mas modula o padrão de ingestão de nutrientes (Meguid e cols., 1993).

Em aves, são poucos os estudos sobre a influência dos sinais olfativos no comportamento de ingestão de alimentos. No entanto, experimentos realizados com galinhas jovens mostraram que elas são capazes de identificar, precocemente, sinais olfativos associados aos alimentos e podem também direcionar suas respostas de ingestão de alimentos a odores que lhes são familiares (Turro e cols., 1993). Esses dados confirmam a importância das vias olfativas na modulação do padrão alimentar de ingestão de alimentos em aves.

Os experimentos realizados com CNQX indicaram a presença de receptores AMPA-kainato além dos receptores NMDA na AHL envolvidos no controle da ingestão de alimentos em aves. O bloqueio dos receptores AMPA-kainato parece afetar tanto os sinais

de saciação como os sinais de saciedade. O antagonista de receptor AMPA-kainato parece interferir nos sinais de saciação, pois altera a quantidade de alimento consumido e a duração desse comportamento. Da mesma forma, os sinais de saciedade também são modificados, pois, após a administração de CNQX, a latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimentos foi reduzida. Além disso, a resposta obtida a partir da administração de CNQX é consequência de uma ação específica da droga, uma vez que não foi observado nem comprometimento motor ou sensorial, nem alterações em outros comportamentos não ingestivos emitidos pelos animais.

Esses dados reforçam aqueles obtidos por Zeni e cols. (2000), mostrando que o CNQX poderia afetar, dependendo da dose administrada por via i.c.v., apenas a saciedade (doses menores) ou os sinais de saciação e saciedade, quando doses maiores foram empregadas. Dessa forma, a AHL seria um distrito onde o bloqueio dos receptores AMPA-kainato afetaria tanto os sinais de saciação como os de saciedade. Se outros locais possuem receptores AMPA-kainato que alteram apenas a saciedade não foram apontados pelo presente estudo. Dentre os possíveis locais, pode-se incluir o QF, o SCE, a área postrema e núcleos da rafe, sítios já mencionados na discussão do presente trabalho e que estão envolvidos com a regulação da ingestão de alimento.

Os dados do presente trabalho apontam que o tubérculo olfativo não apresenta receptores AMPA-kainato relacionados à ingestão de alimentos. No entanto, dados preliminares obtidos em experimentos que estão sendo realizados em nosso laboratório indicam que porções mais caudais do tubérculo olfativo apresentam receptores AMPA-kainato, cujo bloqueio induzido pela administração de CNQX, provoca hiperfagia. Dessa forma, no tubérculo olfativo existiriam além dos receptores NMDA os receptores tipo AMPA-kainato envolvidos com a regulação da ingestão de alimento em pombos.

O CNQX, quando administrado em outros distritos do SNC, também é capaz de alterar o comportamento alimentar. Quando o CNQX, o NBQX e o DNQX, todos antagonistas de receptores AMPA-kainato, foram administrados na região medial do núcleo accumbens, desencadearam hiperfagia em ratos saciados. A resposta hiperfágica foi seguida de aumento na duração total do comportamento, além de antecipação do início de uma nova refeição. Já a injeção de MK-801 e de AP-5 na região medial do n. accumbens, não induziu ao acréscimo no consumo de alimentos. A partir dos dados obtidos com as injeções de CNQX, NBQX e DNQX no n. accumbens, sugere-se que nesse distrito do SNC o bloqueio de receptores AMPA-kainato interfira tanto nos sinais de saciação, como nos de saciedade em ratos (Maldonado-Irizarry e cols., 1995).

No presente trabalho, no entanto, a administração de MK-801 ou CNQX no n. accumbens não alterou o comportamento alimentar de pombos (ver Fig. 8), indicando desse modo que esse distrito do SNC, diferentemente do que é observado em mamíferos, não faz parte de um circuito glutamatérgico envolvido com a regulação da ingestão de alimentos em aves.

Com relação ao consumo de água, a administração de MK-801 ou CNQX na AHL ou tubérculo olfativo foi ineficaz em alterar o comportamento dipsogênico das aves. O volume de água ingerido, a duração total desse comportamento e a latência para iniciar o consumo de água mantiveram-se inalterados após a administração de MK-801 ou CNQX em ambos os locais, excluindo a participação de receptores NMDA e AMPA-kainato localizados na AHL e no tubérculo olfativo sobre a regulação da ingestão de água em aves.

De maneira geral, a distribuição dos pontos de injeção de MK-801 e CNQX dentro da AHL (ver Fig.7) indica que, exceto por quatro (4) pontos de injeção, nos locais onde foi

obtida uma resposta hiperfágica após o tratamento com MK-801, o consumo de alimento manteve-se inalterado após o tratamento com CNQX e vice-versa, sugerindo uma distribuição distinta para neurônios portadores de receptores NMDA, ou AMPA-kainato dentro da AHL. Além disso, a hiperfagia foi obtida com maior frequência após a injeção de MK-801 (15 pontos de injeção) do que após a injeção de CNQX (8 pontos de injeção); se esse dado reflete o número de receptores NMDA ou AMPA-kainato dentro da AHL, é difícil esclarecer com a abordagem experimental utilizada no presente estudo.

Com relação ao tubérculo olfativo, a Fig. 8 aponta que as porções mais rostrais dessa região apresentam somente receptores NMDA, cujo bloqueio induz à hiperfagia, resultados preliminares obtidos em experimentos, que estão sendo conduzidos no laboratório, indicam que os receptores AMPA-kainato se localizam em regiões mais caudais do tubérculo olfativo. Além disso, é interessante observar que, exceto por dois pontos, os locais onde a administração de MK-801 provocou hiperfagia, a administração de CNQX não afetou o consumo de alimento ingerido, sugerindo a presença de populações diferentes de neurônios, uma portando receptores NMDA, e a outra portando receptores AMPA-kainato, distribuídas diferentemente pelo tubérculo olfativo.

Concluindo, a administração de MK-801 e CNQX na AHL em aves indica que a modulação glutamatérgica dos sinais de saciedade e saciação pode incluir tanto a participação dos receptores NMDA, como dos receptores AMPA-kainato e que, os dois subtipos de receptores ionotrópicos envolvidos com o controle do comportamento alimentar podem estar diferencialmente distribuídos pela AHL. Além disso, no tubérculo olfativo de pombos, parece que o bloqueio dos receptores NMDA modifica os sinais de saciação, sem alterar os sinais de saciedade, resultado já observado quando o MK-801 é administrado em doses menores por via i.c.v. .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, B.; BROBECK, J.R. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J. Biol. Med.*, 24: 123-146, 1951.
- ANGEL, I.; TARANGER, M. Coupling between hypothalamic α 2-adrenoceptors and (3H) mazindol binding sites in response to several hyperglycemic stimuli in mice. *Brain Res.*, 490: 367-372, 1991.
- BEAUMONT, K.; KENNEY, M.A.; YOUNG, A.A.; RINK, T.J. High affinity amylin binding sites in rat brain. *Mol. Pharmacol.*, 44: 493-497, 1993.
- BLUNDELL, J.E. Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*, 23: 1537-1551, 1984.
- BLUNDELL, J.E. Pharmacological approaches to appetite suppression. *Pharmacol. Sci.*, 12: 147-157, 1991.
- BURNS, G. A.; RITTER, R.C. The non-competitive NMDA antagonist MK-801 increases food intake in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 56: 145-149, 1997.
- BUTLER, P.C.; CHOU, J.; CARTER, W.B.; WANG, Y-N.; BU, B-H.; CHANG, J-K.; RIZZA, R.A. Effects of meal ingestion on plasma amylin concentration in NIDD and nondiabetic humans. *Diabetes.*, 39: 752-756, 1990.
- CANELLO, M.; RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Food deprivation vs. intraventricular adrenaline. Induced feeding and postprandial behaviors in the pigeon (*Columba livia*). *Physiol. Behav.*, 94: 1075-1079, 1993.
- CHRONWALL, B.M. Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides*, 2: 6-11, 1985.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – COBEA. Os princípios éticos da experimentação animal. São Paulo, 1991.
- COTMAN, C.W.; KAHLE, S.; MILLER, S.E.; ULAS, J.; BRIDGE, R.J. Excitatory amino acid neurotransmission. In BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. (Eds). *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995. p. 75-85.
- COVASA, M.; RITTER, R.C.; BURNS, A. G. NMDA receptor participation in control of food intake by the stomach. *Regul. I. Comp. Physiol.*, 278: 1362-1368, 2000.
- CURTIS, D. R.; PHILLIS, J.W.; WATKINS, J.C. Chemical excitation of spinal neurones. *Nature.*, 183: 611-612, 1959.

- DECAVEL, J.N.; VAN DEN POL, B. GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.*, 302: 1019-1037, 1990.
- DELGADO, J.; ANAND, B.K. Increase in food intake induced by electrical stimulation of the lateral hypothalamus. *Am. J. Physiol.*, 172: 162-168, 1953.
- DENBOW, D.M.; CHERRY, J.A.; SIEGEL, P.B.; VAN KREY, H.P. Eating, drinking and temperature response of chicks to brain catecholamine injections. *Physiol. Behav.*, 27: 265-269, 1981.
- DENBOW, D.M.; VAN KREY, H.P.; CHERRY, J.A. Feeding and drinking responses of young chicks to injections of serotonin into the lateral ventricle of the brain. *Poult. Sci.*, 61: 150-155, 1982.
- DENBOW, D.M.; VAN KREY, H.P.; LACY, M.P.; DIETRICK, T.J. Feeding, drinking and body temperature of Leghorn chicks: effects of i.c.v. injections of biogenic amines. *Physiol. Behav.*, 31: 85-90, 1983.
- DENBOW, D.M.; SHEPPARD, B.J. Food and water intake responses of the domestic fowl to norepinephrine infusion at circumscribed neural sites. *Brain Res. Bull.*, 31: 121-128, 1993.
- DUBE, M.G.; KALRA, S.P.; KALRA, P.S. Food intake elicited by central administration of orexins: identification of hypothalamic sites of action. *Program of the 28th Annual Meeting of the Society for Neuroscience*, Los Angeles, CA, 1998, vol 24: 448.
- DUNNET, S.B.; LANE, D.M.; WINN, P. Ibotenic acid lesions of the lateral hypothalamus: comparison with 6-hydroxydopamine-induced sensorimotor deficits. *Neuroscience.*, 14: 509-518, 1985.
- FELDMAN, S.E.; LARSSON, S.; DIMICK, D.M.; LEPKOVSKY, S. Aphagia in chickens. *Am J Physiol.*, 191: 259-261, 1957.
- FERNSTROM, M.H.; FERNSTROM, J.D. Effect of chronic protein ingestion on rat central nervous system tyrosine levels and in vivo tyrosine hydroxylation rate. *Brain Res.*, 672: 97-103, 1995.
- GROSSMAN, S.P.; GROSSMAN, L. Iontophoretic injections of kainic acid into the rat lateral hypothalamus : effects on ingestive behavior. *Physiol. Behav.*, 29: 553-559, 1982.
- HAGEMANN, L.F.; COSTA, C.V.; ZENI, L.Z.R.; FREITAS, C.G.; MARINO-NETO, J.; PASCHOALINI, M.A. Food intake after adrenaline and noradrenaline injections into the hypothalamic paraventricular nucleus in pigeons. *Physiol. Behav.*, 64: 645-652, 1998.

- HAYASHI, T. Effects of sodium glutamate on the nervous systems. *Keio J Med.*, 3: 183-192, 1954
- HETHERINGTON, A.; RANSON, S. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat. Rec.*, 78: 149-172, 1940.
- JACCOBY, S.; ARNON, E.; SNAPIR, N.; ROBINZON, B. Effects of bilateral basomedial hypothalamic lesions on feeding, fattiness, and reproductive functions in the White Leghorn hen. *Physiol Behav.*, 56: 1081-1089, 1994.
- JHAWAR-UNIYAL, M.; BECK, B.; JHANWAR, Y.S.; BURLET, C.; LEIBOWITZ, S.F. Neuropeptide Y projection from arcuate nucleus to parvocellular division of the paraventricular nucleus: specific relation to the ingestion of carbohydrate. *Brain Res.*, 631: 97-101, 1993.
- KALRA, S.P.; DUBE, M.G.; PU, S.; XU, B.; TAMAS, L.H. Interacting appetite-regulating pathways the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine Reviews.*, 20: 68-100, 1999.
- KARTEN, H.J.; HODOS, W.A. *A stereotaxic Atlas of the brain of the pigeon (Columba livia)*. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins Press, 1967.
- KELLY, J.; ALHEID, G.F.; NEWBERG, L.; GROSSMAN, S.P. Gaba stimulation and blockade in the hypothalamus and midbrain: effects on feeding and locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 7: 537-541, 1977.
- KELLY, J.; GROSSMAN, S.P. GABA and hypothalamic feeding systems. *Brain Res Bull.*, 5: 237-244, 1980.
- KENNEDY, G.C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc. R. Soc. Series B.*, 140: 578-588, 1953.
- KHACHATURIAN, H.; LEWIS, M.E.; SHAFER, M.K.H.; WATSON, S.J. Anatomy of CNS opioid system. *Trends Neurosci.*, 8: 111-119, 1985.
- KRAHN, D.D.; GOSNELL, B.; LEVINE, A.S.; MORLEY, J.E. Localization of the effects of corticotropin releasing factor on feeding., *Soc. Neurosci. Abstr.*, 10: 302-308, 1984.
- KUENZEL, W.J.; HELMS, C.W. Obesity produced in a migratory bird by hypothalamus lesions. *Bioscience.*, 17: 395-396, 1967.
- KUENZEL, W.J.; HELMS, C.W. Hiperphagia, polydipsia, and other effects of hypothalamic lesions in the white-throated sparrow, *Zonotrichia albicollis*. *Condor.*, 72: 66-75, 1970.

- KUENZEL, W.J. Dual hypothalamic feeding system in a migratory bird, *Zonotrichia albicollis*. *Am J Physiol.*, 223: 1138-1142, 1972.
- KUENZEL, W.J. Multiple effects of ventromedial hypothalamus lesions in the White-throated sparrow, *Zonotrichia albicollis*. *J Comp Physiol.*, 90: 169-182, 1974.
- KUENZEL, W.J. Transient aphagia produced following bilateral destruction of lateral hypothalamic area and quintofrontal tract of chicks. *Physiol Behav.*, 28: 237-244, 1982.
- KUENZEL, W.J.; van TIENHOVEN, A. Nomenclature and location of avian hypothalamic nuclei and associated circumventricular organs. *J. Comp. Neurol.*, 206: 293-313, 1982.
- KUENZEL, W.J.; BECK, M.M.; 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.
- KYRKOULI, S.E.; STANLEY, B.G.; LEIBOWITZ, S.F. Galanin: stimulation of feeding induced by medial hypothalamic injection of this novel peptide. *Eur J Pharmacol.*, 122: 159-160, 1986.
- KYRKOULI, S.E.; STANLEY, B.G.; SEIFARI, R.D.; LEIBOWITZ, S.F. Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. *Peptides*, 11: 995-1001, 1990.
- LEIBOWITZ, S.F. Ingestion in the satiated rat: role of alpha and beta receptors in mediating effects hypothalamic adrenergic stimulation. *Physiol. Behav.*, 14: 743-754, 1975.
- LEIBOWITZ, S.F. Paraventricular nucleus: a primary site mediating adrenergic stimulation of feeding and drinking. *Pharmacol Biochem Behav.*, 8: 163-175, 1978.
- LEIBOWITZ, S.F.; HAMMER, N.J.; CHANG, K. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produced overeating and obesity in the rat. *Physiol Behav.*, 27: 1031-1040, 1981.
- LEIBOWITZ, S.F.; SHOR-POSNER, G. Hypothalamic monoamine systems for control of food intake: analysis of meal patterns and macronutrient selection. In: CARUBE, M.O.; BLUNDELL, J.E. (Eds.). *Psychopharmacology of Eating Disorders: Theoretical and Clinical Advances*. New York: Raven Press, p. 29-49, 1986.
- LEIBOWITZ, S.F. Specificity of hypothalamic peptides in the control of behavioral and physiological processes. In: STRAND, F.L.; BECKWITH, B.E.; CHRONWALL, B.; SANDMAN, C.A. (Eds). *Models of neuropeptide action*. New York: Academy of Sciences, Vol. 739, p. 12-35, 1994.

- LEPKOVSKY, S.; YASUDA, M.; Hypothalamic lesions, growth and body composition of male chickens. *Poult Sci.*, 45: 582-588, 1966.
- LEVIN, B.E.; PLANAS, B. Defective glucoregulation of brain α 2-adrenoreceptors in obesity-prone rats. *Am. J. Physiol.*, 264: R305-R311, 1993.
- LEVIN, B.E. Reduced norepinephrine turnover in organs and brains of obesity-prone rats. *Am. J. Physiol.*, 264: R305-R311, 1995.
- LUTZ, L.A.; DEL PRETE, E.; SCHARRER, E. Subdiaphragmatic vagotomy does not influence the anorectic effect of amylin. *Peptides*, 16: 457-462, 1995.
- MALDONADO-IRIZARRY, C.S.; SWASON, C.J.; KELLEY, A.E. Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control feeding behavior via the lateral hypothalamus. *J. Neurosci.*, 15: 6779-6788; 1995.
- MARSHALL, J.F.; TURNER, B.H.; TEITELBAUM, P. Sensory neglect produced by lateral hypothalamic damage. *Science.*, 174: 523-525, 1971.
- MAYER, J. Regulation of energy intake and the body weight. The glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 63: 15-43, 1955.
- MEGUID, M.M.; GLEASON, J.R.; YANG, Z-I. Olfactory bulbectomy in rats modulates feeding pattern but not food intake. *Physiol Behav.*, 54: 471-475, 1993.
- McCALEB, M.L.; MYERS, R.D. Cholecystokinin acts on the hypothalamic noradrenergic system involved in feeding. *Peptides*, 1: 47-49, 1980.
- McGREGOR, I.S.; MENENDEZ, J.A.; ATRENS, D.M. Metabolic effects of neuropeptide Y injected into the sulcal prefrontal cortex. *Brain Res. Bull*, 24: 363-367, 1990.
- MERCHENTHALER, I.; LOPEZ, F.J.; NEGRO-VILAR, A. Anatomy and physiology of central galanin-containing pathway. *Prog. Neurobiol.*, 40: 711-769, 1993.
- MORA, F.; ROLLS, E.T.; BURTON, M.J. Modulation during learning of the responses of neurons in the lateral hypothalamus to the sight of food. *Exp. Neurol.*, 53: 508-519, 1976.
- NAGAI, K.; NISHIO, T.; NAKAGAWA, H.; NAKAMURA, S.; FUKUDA, Y. Effect of bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei on the circadian rhythm of food-intake. *Brain Res.*, 142: 384-389, 1978.

- NAKAMURA, K.; ONO, T.; TAMURA, R.; INDO, M.; TAKASHIMA, Y.; KAWASAKI, M. Characteristics of lateral hypothalamic neuron responses to smell and taste in emotional behavior. *Brain Res.*, 491: 15-32, 1989.
- NICOLAIDIS, S.; ROWLAND, N.E. Metering of intravenous versus oral nutrients and regulation of energy balance. *Am. J. Physiol.*, 231: 661-668, 1976.
- OLIGIATI, V.R.; NETTI, C.; GUIDOBONO, F.; PECILE, B. The central GABAergic system and control of food intake under different experimental conditions. *Psychopharmacology*, 68: 163-167, 1980.
- ONO, T.; SASAKI, K.; NISHINO, H.; FUKUDA, M.; SHIBATA, R. Feeding and diurnal related activity of lateral hypothalamic neurons in freely behaving rats. *Brain Res.*, 373: 92-102, 1986.
- OOMURA, Y.; OYAMA, H.; SUGIMORI, M.; NAKAMURA, T.; YAMADA, Y. Glucose inhibition of the glucose-sensitive neurones in the rat lateral hypothalamus. *Nature*, 247: 284-286, 1974.
- OOMURA, Y.; NISHINO, H.; KARADI, Z.; AOU, S.; SCOTT, T.R. Taste and olfactory modulation of feeding related neurons in behaving monkey. *Physiol. Behav.*, 49: 943-950, 1991.
- PRESSE, F.; SOROKOVSKY, I.; MAX, J.P.; NICOLAIDIS, S.; NAHON, J.L. Melanin-concentrating hormone is a potent anorectic peptide regulated by food-deprivation and glucopenia in the rat. *Neuroscience*, 71: 735-745, 1996.
- RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A. Participation of alpha receptors in the neural control of food intake in pigeons. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 24: 943-946, 1991.
- RAVAZIO, M.R.; PASCHOALINI, M.A. Modulation of food and water intake by catecholamines injected into the lateral ventricle of the pigeon brain. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 25: 841-844, 1992.
- REDDY, V.M.; MEHARG, S.S.; RITTER, S. Dose-related stimulation of feeding by systemic injection of monosodium glutamate. *Physiol. Behav.*, 38: 465-469, 1986.
- RITTER, S.; STONE, S.L. Area postrema lesions block feeding induced by systemic injections of monosodium glutamate. *Physiol. Behav.*, 41: 21-24, 1987.
- RITTER, S.; DINH, T.T.; FRIEDMAN, M.I. Induction of Fos-like immunoreactivity (Fos-li) and stimulation of feeding by 2,5-anhydro-d-mannitol (2,5-AM) require the vagus nerve. *Brain Res.*, 646: 53-64, 1994.

- ROLLS, E.T.; BURTON, M.J.; MORA, F. Neurophysiology analysis of brain-stimulation reward in the monkey. *Brain Res.*, 194: 339-357, 1980.
- ROSSI, M.; CHOI, S.J.; O'SHEA, D.; MIYOSHI, T.; GHATEI, M.; BLOOM, S.R. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. *Endocrinology.*, 138: 351-355, 1997.
- ROWLAND, N.E.; MORIEN, A.; LI, B.H. The physiology and brain mechanisms of feeding. *Nutrition.*, 12: 626-639, 1996.
- SAHU, A.; KALRA, S.P.; CROWLEY, WR.; KALRA, PS. Evidence that NPY-containing neurons in the brain stem project into select hypothalamic nuclei: implication in feeding behavior. *Brain Res.*, 457: 376-378, 1988.
- SAKURAI, T.; AMEMIYA, A.; ISHII, M.; MATSUZAKI, I.; CHEMELLI, R.M.; TANAKA, H.; WILLIAMS, S.C.; RICHARDSON, J.; KOZLOWSKI, G.P.; WILSON, S.; ARCH, J.R.; BUCKINGHAM, R.E.; HAYNES, C.; CARR, S.; ANNAN, R.S.; MCNULTY, D.E.; LIU, W.S.; TERRET, J.; ELSHOUBAGY, N.; BERGSMA, D.J.; YANAGISAWA, M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.*, 92:573-585, 1998.
- SATOH, N.; OGAWA, Y.; KATSUURA, G.; TSUIJI, T.; MASUZAKI, H.; HIROAKA, J.; KASAKI, T.; TAMOKI, M.; HYASHI, M.; YOSHIMASA, Y.; NISHI, S.; NOSODA, K.; NAKAO, K. Pathophysiological significance of the obese gene product, leptin, in ventromedial hypothalamus (VMH)-lesioned rats:evidence for loss of its satiety effect in VMH-lesioned rats. *Endocrinology.*, 138: 947-954, 1997.
- SMITH, G.P.; GIBBS, J. Postprandial satiety. In: SPRANGUE, J.M.; EPSTEIN, A.N. (Eds). *Progress Psychobiology Psysiological Physiological*. New York: Academic Press, 1979. p. 179-242.
- SNAPIR, N.; RAVONA, H.; PEREK, M. Effect of eletrolytic lesions in various regions of the basal hypothalamus in White Leghorn cockerels upon food intake, obesity, blood triglycerides and protein. *Poult Sci.*, 52: 629-636, 1973.
- SONODA, R.; KAI, I.; ECHUCA, Z. Effects of hypothalamus lesion on the feed intake in the hens. *Jpn Poult Sci.*, 12: 37-42, 1975.
- STANLEY, B.G.; CHIN, A.S.; LEIBOWITZ, S.F. Feeding and drinking elicited by central injection of neuropeptide Y: evidence for a hypothalamic site(s) of action. *Brain Res Bull*, 14: 521-524, 1985.
- STANLEY, B.G.; HA, L.H.; SPEARS, L.C.; DEE, M.G. Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, D,L- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole propionic acid or N-

methyl-D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in rats. *Brain Res.*, 613: 88-95, 1993_a.

STANLEY, B.G.; WILLET, V.L.; DONIAS, H.W.; HÁ, L.H.; SPEARS, L.C. The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatory amino acid – elicited eating. *Brain Res.*, 630: 41-49, 1993_b.

STANLEY, B.G.; WILLET, V.L.; DONIAS, H.W.; DEE, M.G. Lateral hypothalamic NMDA receptors and glutamate as physiological mediators of eating and weight control. *Am J Physiol.*, 270: 443-449, 1996.

STEFFENS, S.M.; CASAS, D.C.; MILANEZ, B.C.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M.; MARINO-NETO, J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, 44(2): 681-688, 1997.

STEFFENS, S.M. Identificação funcional de subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1a}, 5-HT_{2a}/5-HT_{2c} e 5-HT₃ no controle neural da ingestão de alimento e de água em pombos (*Columba livia*), 1999 (dissertação de mestrado, UFSC, Brasil).

STRICKER, E.M.; ROWLAND, N.; SALLER, C.F.; FRIEDMAN, M.A. Homeostasis during hypoglycemia: central control of adrenal secretion and peripheral control of feeding. *Science*, 196: 79-81, 1977.

STRICKER-KRONGRAD, A.; BECK, B.; NICOLAS, J.P.; BURLET, C. Central effects of monosodium glutamate on feeding behavior in adult Long-Evans rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43: 881-886, 1992.

TURRO, I.; PORTER, R.H.; PICARD, M. Olfactory cues mediate food selection by young chicks. *Physiol Behav.*, 55: 761-767, 1994.

UNGERSTEDT, U. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol. Scand.*, 367: 95-121, 1971.

VALENSTEIN, E.S.; COX, V.C.; KAKOLEWSKI, J.W. Re-examination of the role of the hypothalamus in motivation. *Psychol. Rev.*, 77: 16-31, 1970.

van den POL, B.N.; WUARIN, J.P.; DUDEK, F.E. Glutamate, the dominant excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Science.*, 250: 1276-1278, 1990.

van HARREVELD, A. Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. *J. Neurochem.*, 3: 300-315, 1959.

- WANDJI, S. A.; SEOANE, J.R.; ROBERGE, A.G.; BÉDARD, L.; THIBAUT, L. Effects of intrahypothalamic injections of GABA, muscimol, pentobarbital and L-glutamic acid on food intake of satiated sheep. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 67: 5-9, 1988.
- WESTERTERP-PLANTENGA, M.S.; FREDRIX, E.W.H.M.; STEFFENS, A.B. Food intake and energy expenditure. In: Concepts and methods in the psychobiology of ingestion. , 31-45, 1994.
- WINN, P.; CLARK, B.; HASTINGS, M.; CLARK, J.; LATIMER, M.; RUGG, E.; BROWNLEE, B. Excitotoxin lesions of the lateral hypothalamus made by N-methyl-d-aspartate in the rat: behavioural, histological and biochemical analyses. *Exp. Brain Res.*, 82: 628-636, 1990.
- WIRTSHAFTER, D.; TRIFUNOVIC, R. Stimulation of ingestive behavior following injections of excitatory amino acid antagonists into the median raphe nucleus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30: 529-533, 1988.
- WOODS, S.C.; STRICKER, E.M. Food intake and metabolism. In: *Fundamental neuroscience.*, New York: Academic Press, 1999. p.1091-1109.
- XU, B.; KALRA, P.S.; KALRA, S.P. Food restriction abolishes the daily rhythm in gene expression of hypothalamic neuropeptide Y (NPY), galanin (GAL) and β -endorphin (POMC) and adipocyte leptin but not in leptin secretions. *Program of the 80th Annual Meeting of The Endocrine Society*, New Orleans, P3-246, 1998.
- ZEIGLER, H.P.; GREEN, H.L.; KARTEN, H.J. Neural control of feeding behavior in the pigeon. *Psychon Sci Anim Physiol Psychol.*, 15: 156-157, 1969.
- ZEIGLER, H.P.; KARTEN, H.J. Brain mechanisms and feeding behavior in the pigeon, *Columba livia*: quintofrontal structures. *J Comp Neurol.*, 152: 59-82, 1973.
- ZENI, L.A.Z.R.; SEIDLER, H.B.K.; de CARVALHO, N.A.S.; FREITAS, C.G.; MARINONETO, J.; PASCHOALINI, M.A. Glutamatergic control of food intake in pigeons: Effects of central injections of glutamate, NMDA, and AMPA receptor agonists and antagonists. *Pharmacol Biochem Behav.*, 65: 67-74, 2000.