

RENATA APARECIDA DA SILVA

ATIVAÇÃO DE RECEPTORES 5-HT<sub>1B</sub> E 5-HT<sub>1D</sub> NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA  
VENTRAL PROVOCA HIPERFAGIA EM POMBOS  
(*Columba livia*)

FLORIANÓPOLIS, 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
MESTRADO EM NEUROCIÊNCIAS E COMPORTAMENTO

ATIVACÃO DE RECEPTORES 5-HT<sub>1B</sub> E 5-HT<sub>1D</sub> NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA  
VENTRAL PROVOCA HIPERFAGIA EM POMBOS  
(*Columba livia*)

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Aparecida Paschoalini

FLORIANÓPOLIS, 2003

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor,  
mas lutamos para que o melhor fosse feito...  
não somos o que deveríamos ser,  
não somos o que iremos ser.  
Mas graças à Deus,  
não somos o que éramos.”  
(Martin Luther King)

AO MEU NOIVO, PAULO, PELO AMOR, PELA  
COMPREENSÃO, PELO COMPANHERISMO E  
POR TODA A AJUDA PARA QUE EU PUDESSE  
REALIZAR ESTE TRABALHO.

AOS MEUS PAIS, PEDRO E DECIDES, PELA  
EDUCAÇÃO QUE ME DERAM, PELO AMOR E  
CARINHO, E À TODA MINHA FAMÍLIA PELO  
GRANDE INCENTIVO.

À PROF<sup>a</sup>. MARTA APARECIDA PASCHOALINI,  
MEU AGRADECIMENTO PELA ORIENTAÇÃO,  
COMPREENSÃO E PELO APOIO E EXEMPLO  
DE DEDICAÇÃO E PROFISSIONALISMO.

## AGRADECIMENTOS

AO PROF. JOSÉ MARINO NETO, PELA FUNDAMENTAL AJUDA E PELO GRANDE INCENTIVO DURANTE O TRABALHO REALIZADO E EXEMPLO DE CAPACIDADE PROFISSIONAL.

AO MARCELO SABI, MEU AMIGO E "PROFESSOR", ALGUÉM QUE ME DEU A BASE PARA QUE EU PUDESSE REALIZAR ESTA CAMINHADA E A QUEM DEDICO MINHA ADMIRAÇÃO PELA FORÇA E GRANDEZA DE ESPÍRITO.

À SILVANA TOMAZONI E À SIMONE MAIDEL, GRANDES AMIGAS EM TODOS OS MOMENTOS.

AOS DEMAIS COLEGAS, SIMONE MEDEIROS, RENATA, MARINE, MURILO, CAROL, IVENS, RAFAEL, KELLY, GUSTAVO, RICARDO, AMANDA, PATRICIA BROCARDO, PATRICIA BATISTA, ISABEL, PELOS MOMENTOS AGRADÁVEIS E PELO APOIO NESSES DOIS ANOS DE CURSO.

AO PROF. MOACIR SERRALFO FARIA, PROF. ARNO GUNTER E PROF<sup>a</sup>. CRISTINA HENRIQUE PINTO PELA AMIZADE E PELO INCENTIVO.

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

À CAPES PELA BOLSA DE ESTUDOS.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	14
<b>OBJETIVO</b> .....	16
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
1 ANIMAIS.....	19
2 INJEÇÕES NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA E VENTRÍCULO CEREBRAL LATERAL.....	19
2.1 Implantação de cânula-guia.....	19
2.2 Injeções na área pré-óptica.....	20
2.3 Injeções por via i.c.v.....	21
2.4 Esquema experimental.....	21
2.5 Soluções administradas.....	23
2.6 Registro comportamental.....	24
3 ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	25
4 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	26
<b>RESULTADOS</b> .....	27
1 LOCAIS ATINGIDOS PELA INJEÇÃO DE AGONISTAS OU ANTAGONISTAS SEROTONÉRGICOS EM POMBOS SACIADOS.....	28
2 ADMINISTRAÇÃO DE METERGOLINA NA APV E NA APD E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E ÁGUA EM POMBOS SACIADOS.....	32
3 ADMINISTRAÇÃO DE METERGOLINA, 8-OH-DPAT, GR46611 E VEÍCULO NA APV E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS.....	37
3.1 Ingestão de alimento.....	37
3.2 Ingestão de água.....	40
3.3 Comportamentos não-ingestivos.....	40

4 ADMINISTRAÇÃO I.C.V. DE METERGOLINA E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA EM POMBOS SACIADOS.....	44
5 ADMINISTRAÇÃO I.C.V. DE GR46611 E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA EM POMBOS SACIADOS.....	49
6 ADMINISTRAÇÃO DE KETANSERINA, RITANSERINA E VEÍCULO NA APV E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS.....	55
6.1 Ingestão de alimento.....	55
6.2 Ingestão de água.....	57
6.3 Comportamentos não-ingestivos.....	57
<b>DISCUSSÃO</b> .....	61
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	74



Estudos realizados em nosso laboratório mostraram que a injeção intracerebroventricular de serotonina (5-HT) em pombos realimentados após jejum de 24 horas reduziu a quantidade de alimento ingerido e a duração total do comportamento de ingestão de alimento, acompanhado por aumento na latência para iniciar o consumo alimentar. O presente trabalho tem por objetivo investigar a presença e a possível participação de receptores serotoninérgicos da área pré-óptica no controle da ingestão de alimento e de água em pombos e caracterizar os subtipos de receptores envolvidos. Foram utilizados pombos adultos (*Columba livia*), de ambos os sexos, saciados, com cânulas-guia cronicamente implantadas em regiões próximas à área pré-óptica, de modo a permitir injeções com uma agulha injetora excedendo em 0,7; 1,4; 2,1; 2,8; e 3,5 mm a cânula-guia. Os animais foram tratados com veículo (ácido ascórbico 5%) ou metergolina (20 nmol), GR46611 (0,6 ou 6 nmol), ketanserina (20 nmol), ritanserina (20 nmol) ou 8-OH-DPAT (6 nmol), de forma aleatória. Após o tratamento, as aves retornavam às suas gaiolas, que continham água e alimento previamente medidos. Durante 1 hora foram realizados registros de latência e duração dos comportamentos ingestivos (alimento e água) e dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento. Ao final de 1 hora de observação, o consumo de alimento e água foi quantificado. Os resultados obtidos mostraram que o consumo médio de alimento exibido pelos animais tratados com 20 nmol de metergolina na área pré-óptica ventral (APV) foi aproximadamente 2 vezes superior àquele observado no grupo tratado com a mesma dose de metergolina na área pré-óptica dorsal (APD), acompanhado por um aumento na duração da resposta ingestiva e uma redução na latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento. Tanto a injeção de 20 nmol de metergolina como a de 6 nmol de GR46611 na APV causaram, respectivamente, um aumento no consumo de alimento 3,5 e 4 vezes superior aos valores-controle. A hiperfagia induzida por essas drogas foi acompanhada por um aumento na duração do consumo de alimento e uma tendência de redução na latência para desencadear o primeiro episódio de ingestão de alimento. A dose de 0,6 nmol de GR46611 também provocou um aumento na quantidade de alimento ingerido e na duração

do comportamento de ingestão de alimento, sem alterar a latência para iniciar a resposta ingestiva. Após o tratamento com 8-OH-DPAT, ketanserina e ritanserina na APV, não ocorreram alterações significantes no consumo de alimento, duração ou latência para iniciar o consumo alimentar. A hiperfagia induzida pela injeção local de metergolina ou GR46611 parece não estar associada a ações inespecíficas ou a alterações motoras, uma vez que não houveram alterações consideráveis nos comportamentos não-ingestivos. De maneira geral, o presente estudo apontou a participação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, presentes na APV de pombos, na inibição tônica exercida pela 5-HT sobre a ingestão de alimento. Essa influência serotoninérgica atua sobre os sinais que induzem o término de uma refeição, e não naqueles que definem o intervalo entre as refeições.

Palavras-chave: área pré-óptica; 5-HT<sub>1A</sub>; 5-HT<sub>1B</sub>; 5-HT<sub>1D</sub>; 5-HT<sub>2A</sub>; 5-HT<sub>2C</sub>; ingestão de alimento; pombos.

**ABSTRACT**

Studies made in our laboratory showed that the intracerebroventricular injection of serotonin (5-HT) into pigeons which were fed again after a fast of 24 hours reduced both the food intake and the duration of the feeding behavior, in addition to lengthen the latency of the first episode of food intake. This work aims at looking into the possible role of serotonergic receptors of the preoptic area in controlling the food intake of pigeons, and identifying the receptor subtypes involved in this control. Free-feeding adult pigeons (*Columba livia*) of both sexes, had guide cannulae chronically inserted in regions next to the preoptic area, so as to allow injections with a needle that could be 0.7, 1.4, 2.1, 2.8 and 3.5 mm greater than the guide cannula. The animals were treated at random with vehicle (ascorbic acid 5%) or metergoline (20 nmol), GR46611 (0.6 or 6.0 nmol), ketanserin (20 nmol), ritanserin (20 nmol) or 8-OH-DPAT (6 nmol). After the treatment, the birds returned to their cages, which contained water and food that had been previously measured. The latency and duration of (food and water) feeding behaviors and the preening, locomotion, alert immobility, typical sleep positions and food exploration were recorded for 1 hour. After 1 hour of observation, the water and food intake was measured. The results we obtained showed that the average food intake of those animals treated with 20 nmol of metergoline at the ventral preoptic area (VPA) was not only roughly twice greater than the one observed in the group treated with the same metergoline dose at the dorsal preoptic area (DPA), but also they lasted longer and the latent time to start the first event of food intake was shorter than in the later group. Both a 20 nmol metergoline injection and a 6 nmol GR46611 at the VPA caused food intake that was respectively 3.5 and 4 times greater than the control data. The hyperphagia that was induced by these drugs came along with a longer food intake and a shorter latency of the first event of food intake. A 0,6 nmol GR46611 dose also induced an increase in food intake and a longer feeding behavior, yet it did not change the latent time to start the food intake. After the treatment with 8-OH-DPAT, ketanserin and ritanserin at the VPA, there were no considerable changes in the food intake, in the duration or in the latent time to start the food intake. The hyperphagia that was induced by the local injection of metergoline or GR46611 seems to have no connection with nonspecific behaviors or motor alterations, in view of the fact that no

considerable changes in the non-feeding behaviors were observed. On the whole, the present study pointed the role of 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptors, which are found at the VPA of pigeons, in the tonic inhibition exerted by 5-HT on the food intake. This serotonergic influence acts upon the signals that induce the end of a meal and not upon those that define the time interval between meals.

**Keywords:** preoptic area; 5-HT<sub>1A</sub>; 5-HT<sub>1B</sub>; 5-HT<sub>1D</sub>; 5-HT<sub>2A</sub>; 5-HT<sub>2C</sub>; food intake; pigeons.



A ingestão de alimento é, na maioria das espécies, objeto de controle homeostático, tanto que a quantidade de energia absorvida iguala-se ao gasto energético durante uma grande parte da vida adulta. Esse controle homeostático é um exemplo de um sistema regulatório muito preciso, já que a frágil e ainda persistente combinação entre ingestão e gasto energético diário poderia levar, por si só, a alterações dramáticas no peso corporal (Strubbe e Dijk, 2002).

O sistema nervoso central (SNC) regula muitos aspectos da homeostasia energética ajustando ambos o impulso para comer e o gasto de energia em resposta a uma ampla escala de sinais metabólicos, endócrinos, neuronais e ambientais. Esse processo é altamente complexo e envolve várias regiões cerebrais, estendendo-se do córtex ao tronco encefálico; entretanto, a estrutura neuronal mais estudada tem sido o hipotálamo (Williams e cols., 2001).

No final do século XX, o conhecimento existente sobre redes neuronais e mediadores químicos que regulam a ingestão de alimento e o peso corporal aumentou significativamente. Além disso, tem-se tornado claro que vários circuitos neuronais operam em graus diferentes e provavelmente exercem funções específicas sob condições particulares de balanço energético alterado (Williams e cols., 2001).

Há várias evidências da participação de diversas moléculas sinalizadoras no controle central do comportamento alimentar, tais como os neurotransmissores clássicos, neuropeptídeos e hormônios (Hoebel, 1997; Kalra e cols., 1999). Entre os neurotransmissores clássicos, podem-se destacar as catecolaminas (Van Der Gugtena e cols., 1977; Rowland e cols., 1996), a serotonina (Blundell, 1977; Montgomery e cols. 1986; Fletcher e Paterson, 1989), e o glutamato (Stanley e cols., 1993a; Stanley e cols., 1993b, Burns e Ritter, 1997), além de neuropeptídeos, como o neuropeptídeo Y (NPY) (Hillebrand e cols. 2002; Sainsbury e cols., 2002), a galanina (Kyrkouli e cols., 1990), e a colecistocinina (Willis e cols., 1984; Blevins e cols., 2000), e os hormônios, como a insulina (Baskin e cols.,

1999; Woods e Seeley, 2000) e a leptina (Baskin e cols., 1999; Woods e Seeley, 2000; Reidy e Weber, 2000).

O sistema serotoninérgico tem sido intensivamente implicado no controle do comportamento alimentar, exercendo um efeito supressivo sobre a ingestão de alimento em mamíferos (Blundell, 1977; Montgomery e cols. 1986; Fletcher e Paterson, 1989). Além disso, de acordo com Halford e Blundell (2000), a serotonina está estritamente ligada com o processo de saciação e estado de saciedade. A saciação é o processo no qual sinais aferentes, como os estímulos sensoriais (visuais, gustativos, olfativos), o aumento na motilidade gastrointestinal, os hormônios liberados durante o processo digestivo ou os metabólitos originados da digestão dos alimentos, desencadeiam o término da refeição. A saciedade refere-se aos sinais que impedem o início de uma refeição, determinando o intervalo entre o final de uma e o início de outra, e é intensamente influenciada pela quantidade de calorias ingeridas e pela composição da dieta. Com base nesses conceitos, a saciação define o tamanho e a duração da refeição, enquanto a saciedade determina o intervalo entre as refeições (Blundell, 1991).

Os primeiros estudos que demonstraram uma ligação entre serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) e ingestão de alimento foram executados por volta da década de 70 do século passado (Blundell, 1977). De forma geral, quando a 5-HT (Montgomery e cols., 1986) ou seus precursores triptofano e 5-hidroxitriptofano (Blundell e Latham, 1979) são administrados em roedores, tanto a quantidade de alimento ingerido como a frequência e duração das refeições são significativamente reduzidas. Adicionalmente, drogas que elevam a concentração de 5-HT na sinapse (por exemplo, aumentando a liberação ou inibindo a recaptação de 5-HT) produzem mudanças similares no consumo de alimento (Halford e Blundell, 2000). Agentes como d-fenfluramina (Rowland e Carlton, 1986; Gibson e cols., 1993; Wellman e cols., 2003) e inibidores seletivos da recaptação de 5-HT, como fluoxetina (Halford e Blundell, 1996a; Wellman e cols., 2003) e sertralina (Simansky e Vaidya, 1990), têm demonstrado ser potenciais redutores da ingestão de alimento e induzir perda de peso

em mamíferos. Além disso, a sibutramina, um inibidor da recaptação de 5-HT e de noradrenalina, tem também mostrado ser um efetivo composto hipofágico e antiobesidade (Chapelot e cols. 2000; Wellman e cols., 2003). Por outro lado, bloqueando-se a síntese neuronal de 5-HT com p-clorofenilalanina (pCPA) (MacKenzie e cols., 1979; Dryden e cols., 1996), ou lesionando-se neurotxicamente neurônios serotoninérgicos (Saller e Stricker, 1976), tem-se observado aumento no consumo alimentar.

Os receptores que interagem com a 5-HT podem ser divididos em sete famílias diferentes, designadas 5-HT<sub>1</sub> (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>), 5-HT<sub>2</sub> (5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>), 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub> (5-HT<sub>5A</sub>, 5-HT<sub>5B</sub>), 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, as quais compreendem um total de 14 receptores serotoninérgicos, estruturalmente e farmacologicamente distintos. Com exceção do receptor 5-HT<sub>3</sub>, que está ligado a um canal iônico, os demais pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G (Barnes e Sharp, 1999).

Entre os diversos subtipos de receptores que medeiam os efeitos da 5-HT sobre a ingestão de alimento, os receptores 5-HT<sub>1A</sub> têm recebido uma atenção especial. Esses receptores podem ser localizados em sítios pré ou pós-sinápticos. Os pré-sinápticos têm sido encontrados em corpos celulares e dendritos de neurônios serotoninérgicos do tronco cerebral e são então denominados de auto-receptores somatodendríticos (Martin e cols., 1999). Evidências bioquímicas e autoradiográficas de receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sinápticos têm sido encontradas no hipotálamo (Verge e cols., 1986; Jhanwar-Uniyal e cols., 1994). A ativação de auto-receptores 5-HT<sub>1A</sub> hiperpolariza a membrana celular, acarretando uma diminuição nos níveis de disparo dos neurônios serotoninérgicos, bem como uma redução na síntese e liberação de 5-HT na fenda sináptica (Montigny e cols., 1984; Starkey e Skingle, 1994; Sharp e cols., 1996; Martin e cols., 1999).

Geralmente, é observado que agonistas de receptores 5-HT diminuem o consumo alimentar, enquanto os antagonistas serotoninérgicos aumentam a ingestão de alimento (Blundell, 1977; Blundell, 1984). Uma exceção para essa generalização foi encontrada

quando a injeção periférica de 8-OH-DPAT (8OH), agonista 5-HT<sub>1A</sub>, produziu hiperfagia em ratos saciados (Dourish e cols., 1985a; Dourish e cols., 1985b), e esse efeito foi abolido pelo tratamento com o antagonista não-seletivo de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, espiperona, (Hutson e cols., 1988) e pelo antagonista seletivo desse receptor serotoninérgico, WAY-100135 (Hartley e Fletcher; 1994). Essa hiperfagia induzida pelo 8OH parece ser um resultado da diminuição da liberação de 5-HT após a ativação de auto-receptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub>. Outra possibilidade é a de que a hiperfagia ocorra através do bloqueio de receptores serotoninérgicos pós-sinápticos, exercido pela ligação do 8OH com esses receptores; entretanto, ações antagonistas produzidas pelo 8OH em receptores serotoninérgicos não tenham sido relatadas (Hutson e cols., 1986).

Os efeitos do 8OH sobre a ingestão de alimento é um fenômeno relacionado à dose. Uma baixa dose de 8OH ativa auto-receptores pré-sinápticos, diminuindo o metabolismo serotoninérgico e aumentando o consumo alimentar, enquanto uma alta dose ativa receptores pós-sinápticos, produzindo síndrome estereotípica e, algumas vezes, aumentando ou reduzindo a ingestão de alimento (Dourish e cols., 1985a; Dourish e cols., 1985b; Ebenezer, 1992); este último dado é relacionado provavelmente com o aparecimento da síndrome estereotípica.

Em contraste ao observado acima, a administração de agonistas de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, que aumentam a ingestão de alimento em ratos saciados, suprime a ingestão em animais privados de alimento. De fato, a administração de 8OH tanto em ratos quanto em porcos parece causar efeitos ambíguos: em animais privados de alimento, essa droga não provoca efeito ou causa pequena inibição do comportamento ingestivo; porém, em animais saciados, induz intensa hiperfagia (Bendotti e Samanin, 1987; Baldwin e Riva, 1995; Ebenezer e cols., 1999; Voigt e cols., 2000). Embora não sejam conhecidos os mecanismos responsáveis pela ação anorexigênica dessas drogas em animais privados de alimento, os estudos realizados indicam que esses efeitos são mediados por receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

Entretanto, ainda não é possível concluir se há envolvimento de receptores pré ou pós-sinápticos (Arkle e Ebenezer, 2000; Ebenezer e cols., 2001).

Ao contrário dos efeitos observados após a administração de agonistas de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, que causam hiperfagia em animais saciados e suprimem a ingestão naqueles privados de alimento, a administração de agonistas de receptores 5-HT<sub>1B</sub> está relacionada com efeitos hipofágicos em mamíferos, tanto em animais saciados como naqueles privados de alimento (Bovetto e Richard, 1995; Halford e Blundell, 1996b; Schreiber e cols., 2000; De Vry e cols., 2003).

No fim dos anos 80 até a metade dos anos 90 do século XX foi considerado que apenas espécies como ratos, camundongos e *hamsters* possuíam receptores 5-HT<sub>1B</sub>, enquanto que somente em outros animais, como bovinos, cobaias, pombos, cães e humanos, eram encontrados receptores 5-HT<sub>1D</sub> (5-HT<sub>1D $\alpha$</sub>  e 5-HT<sub>1D $\beta$</sub>  com 77% de homologia de seqüência no domínio transmembrana entre esses dois receptores). A descoberta de que roedores possuíam receptores 5-HT<sub>1D $\alpha$</sub> , e de que os receptores 5-HT<sub>1B</sub> desses animais apresentavam alta homologia de seqüência (96% de homologia de seqüência no domínio transmembrana), com o receptor 5-HT<sub>1D $\beta$</sub>  humano (Barnes e Sharp, 1999), levou a uma recente avaliação da nomenclatura para os receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> (Barnes e Sharp, 1999). Assim, o 5-HT<sub>1D $\beta$</sub>  foi realinhado e classificado como receptor 5-HT<sub>1B</sub>, enquanto o 5-HT<sub>1D $\alpha$</sub>  tornou-se o receptor 5-HT<sub>1D</sub>. Levando-se em consideração que a farmacologia do receptor 5-HT<sub>1B</sub> mostra diferença significativa através das espécies, são utilizados prefixos para denotar o receptor 5-HT<sub>1B</sub> espécie-específico: o de rato tornou-se r5-HT<sub>1B</sub>; e o humano, h5-HT<sub>1B</sub> (Barnes e Sharp, 1999).

Os subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> estão localizados predominantemente em terminais axônicos, enquanto que sua expressão é baixa ou ausente ao nível somatodendrítico (Pauwels, 1997; Varnäs e cols., 2001). Eles podem exercer a função de auto-receptores pré-sinápticos, uma vez que foi observado o fato de

eles inibirem a liberação de 5-HT na fenda sináptica (Starkey e Skingle, 1994; Skingle e cols., 1995; Davidson e Stamford, 1996; El Mansari e Blier, 1996; Pauwels, 1997; Mitchell e cols., 2001; Roberts e cols., 2001). Esses subtipos também parecem funcionar como heterorreceptores (receptores pós-sinápticos), como indicado por estudos em neurônios não-serotonérgicos, em que a 5-HT, por intermédio da ativação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>, parece inibir a liberação de acetilcolina, glutamato, dopamina, noradrenalina e ácido  $\gamma$ -aminobutírico (Pauwels, 1997; Roberts e cols., 2001).

A participação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> mediando as ações da 5-HT sobre a ingestão de alimento parece estar relacionada com a ação desses receptores pós-sinápticamente (Kennett e cols., 1987; Halford e Blundell, 2000). Alguns estudos demonstraram que a administração de RU24969, agonista de receptores 5-HT<sub>1B</sub>, causou hipofagia em ratos saciados (Kennett e cols., 1987; Bendotti e Samanin, 1987) e em animais privados de alimento (Bendotti e Samanin, 1987). Essa resposta hipofágica induzida pelo RU24969 foi bloqueada pela metergolina (MET), antagonista não-seletivo de receptores 5-HT<sub>1/2</sub> (Kennett e cols., 1987; Bendotti e Samanin, 1987), e por ( $\pm$ ) cianopindolol, antagonista 5-HT<sub>1B</sub> (Kennett e cols., 1987), reforçando a participação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> na mediação da hipofagia provocada pelo RU24969. A persistente anorexia causada pela administração de RU24969, após o pré-tratamento com pCPA, uma droga que bloqueia a síntese neuronal de 5-HT, sugere que o agonista 5-HT<sub>1B</sub> induz hipofagia após sua ligação com receptores pós-sinápticos. Adicionalmente, a administração de RU24969 aumenta a atividade locomotora; porém, parece improvável que o efeito hipofágico desse agonista seja meramente secundário a seus efeitos sobre a locomoção (Kennett e cols., 1987), visto que a resposta locomotora (tardia) foi marcadamente atenuada pelo tratamento com haloperidol, antagonista dopaminérgico, sem afetar a anorexia induzida pelo RU24969 (Kennett e cols., 1987; Bendotti e Samanin, 1987).

Como não há ainda *in vivo* nenhuma avaliação funcional, não se pode relacionar seguramente a ativação de receptores 5-HT<sub>1D</sub> no SNC com os diferentes mecanismos

fisiológicos de controle do meio interno. A ausência de diferentes drogas que possam discriminar os receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> é particularmente um problema. Alguns estudos não excluem a participação do receptor 5-HT<sub>1D</sub> nas alterações ocorridas na ingestão de alimento, embora as drogas utilizadas, como o mCPP, TFMPP (Schreiber e cols, 2000), d-norfenfluramina (Caccia e cols, 1993), e CP-93,129 (Macor e cols., 1990) apresentem uma baixa afinidade pelos receptores 5-HT<sub>1D</sub>. Algumas evidências indicam que os efeitos sobre consumo de alimento causados pela administração de mCPP e de d-norfenfluramina parecem ser mediados exclusivamente pelos receptores 5-HT<sub>1C</sub> (atual 5-HT<sub>2C</sub>) (Kennett e Curzon, 1991) e 5-HT<sub>2C</sub> (Vickers e cols, 2001), nessa ordem.

Os receptores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> parecem também mediar pós-sinapticamente os efeitos da 5-HT sobre a regulação da ingestão de alimento em mamíferos (Mancilla-Díaz e cols., 2002). Foi observado que a administração periférica de agonistas de receptores 5-HT<sub>2C</sub> causa hipofagia dose-dependente em ratos (Schreiber e De Vry, 2002), enquanto o tratamento com antagonistas desses subtipos de receptores provoca aumento na ingestão de alimento e ganho de peso nesses animais (Bonhaus e cols., 1997). Tem-se sugerido também que o receptor 5-HT<sub>2C</sub> pode mediar os efeitos hipofágicos da d-fenfluramina e norfenfluramina e ser responsável pela seqüência comportamental de saciedade (ingestão seguida por pequena atividade, autolimpeza e sonolência) observada após a administração dessas drogas (Vickers e cols., 2001; Hewitt e cols., 2002).

Alguns autores sugerem que a ativação de receptores 5-HT<sub>2A</sub> interrompe de maneira não-específica o comportamento alimentar (Simansky, 1996; De Vry e Schreiber, 2000), uma vez que a administração periférica de DOI, um agonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, diminui o tempo gasto para a ingestão de alimento e provoca a fragmentação da refeição, fazendo com que os animais freqüentemente interrompam a ingestão para realizar outros comportamentos (Simansky, 1996). Por outro lado, quando administrados compostos com baixa ou nenhuma afinidade para receptores 5-HT<sub>2A</sub>, esses parecem exercer um perfil hipofágico mais específico (De Vry e cols., 2003). De acordo com De Vry e Schreiber (2000),

o DOI pode primariamente ativar o receptores 5-HT<sub>2C</sub> quando injetado diretamente no SNC, resultando em uma hipofagia comportalmente específica, ao passo que a administração sistêmica desse agonista ativa receptores 5-HT<sub>2A</sub>, induzindo uma interrupção não-específica do comportamento alimentar.

Como abordado inicialmente, a homeostasia energética é um processo extremamente complexo que envolve várias regiões do SNC, e o hipotálamo é a estrutura mais estudada, na qual tem-se observado a presença de numerosos circuitos neuronais (Williams e cols., 2001; Berthoud, 2002). No início da década de 40 do século XX, o emprego de lesões eletrolíticas ou a estimulação elétrica de núcleos específicos dentro do hipotálamo mostraram causar alterações no comportamento alimentar. Conseqüentemente, alguns desses núcleos foram considerados como centros da “fome” ou “saciedade” (Kalra e cols., 1999; Williams e cols., 2001). À medida que o conhecimento sobre as redes neuronais e suas ramificações tem se expandido, a concepção de “centros” funcionais tem sido substituída pela a de populações neuronais discretas, expressando neurotransmissores específicos, os quais medeiam efeitos particulares sobre a ingestão e/ou gasto energético, e que são reguladas por sinais específicos do estado nutricional (Williams e cols., 2001).

Numerosos estudos realizados têm demonstrado a participação de vários sítios hipotalâmicos no controle neuronal da ingestão de alimento, tais como a área hipotalâmica lateral e os núcleos dorsomedial, arqueado, ventromedial e paraventricular (NPV); esses dois últimos são os que têm recebido maior atenção no controle hipotalâmico do apetite (Blundell, 1991; Kalra e cols., 1999; Berthoud, 2002).

Apesar de poucos estudos terem sido realizados, a área pré-óptica hipotalâmica parece ter circuitos neuronais que regulam o comportamento ingestivo em mamíferos. Alguns estudos têm indicado a existência de uma relação entre o aumento de NPY na área pré-óptica e consumo de alimento em ratos saciados ou privados de alimento (Sahu e cols., 1988; Roscoe e Myers, 1991; Bouali e cols., 1995). O tratamento com outros

neurotransmissores e neuropeptídeos, como a noradrenalina (Avery, 1971) e o fator de liberação do hormônio de crescimento (Vaccarino e Hayward, 1988), tem também causado hiperfagia quando injetados no núcleo pré-óptico anterior e pré-óptico medial, respectivamente.

Da mesma forma como nos mamíferos, o circuito serotoninérgico nas aves parece desempenhar um controle fisiológico sobre a regulação da ingestão de alimento. Dados da literatura têm revelado que a distribuição de pericários e fibras serotoninérgicas no SNC de aves é essencialmente similar àquela encontrada em mamíferos (Yamada e cols., 1984; Yamada e Sano, 1985, Metzger e cols., 2002). Os neurônios serotoninérgicos em muitas espécies de aves podem ser observados principalmente nos núcleos da rafe, em distritos mais laterais do tronco cerebral e em um órgão circumventricular (órgão paraventricular) (Yamada e cols., 1984; Cozzi e cols., 1991; Challet e cols. 1996). Além disso, um grande número de fibras serotoninérgicas foram constatadas no tubérculo olfativo, na banda diagonal, no núcleo tenia, no núcleo do trato frontoarquistriado, no arquiestriado, na área septal, no núcleo hipotalâmico ventromedial, no núcleo mamilar, nos núcleos dorsolaterais, no tálamo dorsomedial e ventrolateral, no núcleo geniculado lateral, no núcleo istmo-óptico, no núcleo intercolicular, no locus ceruleus, na região olivar superior, nos núcleos da rafe, no núcleo olivar inferior, no órgão paraventricular e na área pré-óptica (Yamada e Sano, 1985).

Challet, e cols. (1996) observaram com o auxílio de técnicas de imunohistoquímica e de imunofluorescência, combinadas com transporte axonal retrógrado, que a distribuição de pericários, fibras e terminais que contêm 5-HT em pombos é muito semelhante ao encontrado nas demais aves, répteis e mamíferos. Células imunorreativas a 5-HT foram identificadas no hipotálamo (órgão periventricular e recesso infundibular) e nas regiões mesencefálicas-tegmentais e rombencefálicas, nas quais se inclui a rafe pontomesencefálica. Fibras e terminais imunorreativos à 5-HT também foram observados, de um modo geral, distribuídos dentro do SNC dessas aves e proeminentes em várias estruturas do telencéfalo (parte dorsal do arquiestriado, núcleo tenia, área parahipocampal,

área septal), diencéfalo (núcleos pré-óptico medial e magnocelular, parte ventral do núcleo geniculado lateral, núcleo triangular, núcleo pré-tectal), mesencéfalo e rombencéfalo.

Estudos dos efeitos causados pela administração central de 5-HT sobre os comportamentos ingestivos em aves são ainda escassos e parecem depender, muitas vezes, da linhagem examinada. Injeções intracerebroventriculares (i.c.v.) de 5-HT em galinhas selecionadas para crescimento rápido não provocaram modificações na ingestão de alimento nas aves mantidas em jejum de 24 horas, mas induziram uma inibição da ingestão de alimento nos animais saciados (Denbow e cols., 1982). Entretanto, em galinhas Leghorn (selecionadas para intensa ovoposição) e em perus, injeções i.c.v. de 5-HT causaram significativa diminuição na ingestão alimentar, tanto em aves saciadas quanto naquelas realimentadas após jejum de 24 horas (Denbow e cols., 1983; Denbow, 1984). Essas evidências parecem indicar que, quando há seleção para elevado crescimento, uma grande correlação entre ingestão de alimento e compostos que estimulam a ingestão poderia ser esperada, enquanto que a seleção para diminuição na ingestão de alimento (ovoposição) poderia resultar em resposta aumentada para compostos que reduzem a ingestão (Denbow e cols., 1983).

Experimentos realizados em nosso laboratório têm demonstrado que, em pombos, injeções i.c.v. de 5-HT reduziram significativamente o consumo de alimento e a duração total desse comportamento nas aves realimentadas após jejum de 24 horas, acompanhado por uma grande elevação na latência para iniciar a ingestão de alimento. Em aves saciadas, apenas a latência para iniciar a resposta ingestiva foi aumentada. Esse último dado pode ser justificado pela curta duração do experimento (1 hora), visto que, em outros estudos conduzidos em nosso laboratório, foi observado que, ao final de 2 horas após a injeção i.c.v. de 5-HT, ocorreu uma redução na quantidade de alimento ingerido em pombos saciados combinada com um retardo na latência para iniciar o primeiro episódio de consumo de alimento (Steffens, 1999).

De modo semelhante ao verificado em mamíferos, em galos Hyline (selecionados para ovoposição) privados de alimento por 16 horas, injeções intravenosas de 8OH provocaram significativa redução na ingestão de alimento, enquanto nas aves saciadas a mesma injeção causou significativa aumento no consumo alimentar (Saadoun e Cabrera, 2002). Por outro lado, experimentos desenvolvidos em nosso laboratório demonstraram que a administração i.c.v. de 8OH em pombos saciados ou realimentados após jejum de 24 horas provocou uma resposta hiperfágica, além de intensa ingestão de água. Apesar disso, a intensidade dessa resposta foi maior nas aves saciadas que naquelas privadas de alimento, sugerindo a existência de um tônus serotoninérgico inibitório sobre a ingestão de alimento nesses animais, cuja inibição é mais intensa em pombos saciados (Steffens, 1999).

Posteriormente, em estudos feitos por Häckl (2001), foi observado que injeções de 8OH em diversos sítios do tegmento pontomesencefálico (com destaque à rafe superior, que inclui as estruturas paramedianas e da linha média do tegmento pontomesencefálico) foram capazes de causar alterações no consumo de alimentos sólidos e de água em pombos mantidos com alimento e água *ad libitum*. Embora as injeções de 8OH na linha média tenham desencadeado aumentos significantes tanto na ingestão de alimento quanto na de água, os efeitos dipsogênicos foram mais intensos e consistentes que os hiperfágicos.

De um modo geral, os dados obtidos nesses experimentos realizados com 8OH administrado por via i.c.v. (Steffens, 1999) ou no tegmento pontomesencefálico de pombos saciados (Häckl, 2001) sugerem um mecanismo de ação exercido pela via neuronal serotoninérgica nessas aves semelhante àquele constatado em mamíferos, em que a redução de 5-HT na fenda sináptica levaria a um aumento na ingestão de alimento. Contudo, nos pombos submetidos a jejum, a administração i.c.v. de 8OH causou efeito oposto àquele observado nos estudos realizados com ratos ou porcos, induzindo hiperfagia nessas aves, apesar de esses efeitos terem sido de menor intensidade quando comparados aos obtidos nos animais saciados.

A presença de receptores 5-HT<sub>1B</sub> ou 5-HT<sub>1D</sub> tem sido relatada tanto em humanos como em pombos, e a localização desses receptores entre ambas espécies parece ser intensamente similar (Waeber e cols. 1989; Waeber e cols., 1990; Varnäs e cols., 2001). Interessantemente, as distribuições dos sítios para o receptor 5-HT<sub>1B</sub> no SNC de ratos e humanos mostram grande semelhança (Barnes e Sharp, 1999), sugerindo uma similaridade também para a localização desses receptores entre pombos e roedores. Até o presente momento não foram efetuadas pesquisas com o objetivo de investigar a participação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> ou 5-HT<sub>1D</sub> na regulação dos comportamentos ingestivos em aves.

Estudos revelaram que a administração i.c.v de DOI em pombos com livre acesso ao alimento apenas alterou a saciedade, uma vez que ocorreu retardo na latência para iniciar a alimentação. Apesar disso, nas aves realimentadas após jejum de 24 horas, injeções i.c.v. de DOI afetaram a saciação, visto que esse tratamento induziu um decréscimo significativo na ingestão de alimento e na duração do comportamento alimentar similar àquele evocado pela 5-HT via i.c.v., sem alterar, porém, a latência para iniciar essa resposta. Esses resultados indicam que os efeitos hipofágicos da 5-HT via i.c.v. em pombos podem ser mediados pelos receptores 5-HT<sub>2A</sub> ou 5-HT<sub>2C</sub> e que outros subtipos de receptores serotoninérgicos podem estar envolvidos na regulação da ingestão de alimento, haja vista que a droga utilizada neste estudo, a DOI, foi efetiva somente na diminuição da duração e da intensidade do comportamento alimentar, porém sem adiar o seu início (Steffens e cols., 1997; Steffens, 1999).

**JUSTIFICATIVA**

Após o indicativo de que a manipulação farmacológica da neurotransmissão serotoninérgica pode afetar a ingestão de alimento em pombos (Steffens e cols., 1997; Steffens, 1999), investigações posteriores têm sido executadas com o objetivo de identificar as estruturas neuronais próximas aos ventrículos, as quais poderiam ser o sítio de ação da 5-HT. Dados obtidos por Silva (2001) indicam a presença de receptores serotoninérgicos no NPV de pombos e seu envolvimento com a regulação da ingestão de alimento. Além disso, injeções realizadas próximas ao NPV, as quais atingiram áreas mais rostrais ao núcleo hipotalâmico anterior, o núcleo pré-óptico medial, apontaram que essa última estrutura também poderia conter receptores serotoninérgicos envolvidos com o controle da ingestão alimentar em pombos.

Alguns dados têm revelado a existência de um número substancial de aferências serotoninérgicas do núcleo dorsal da rafe (Peyron e cols., 1998) e aferentes do complexo nuclear mediano e paramediano da rafe (Behzadi e cols., 1990) para a área pré-óptica medial e lateral. Em aves, parece não existir estudos que indiquem o envolvimento da área pré-óptica com a regulação neuronal dos comportamentos ingestivos ou mesmo a participação de receptores serotoninérgicos mediando a regulação da ingestão de alimento nessa área, embora, como referido acima, experimentos em nosso laboratório tenham indicado alguns poucos sítios no núcleo pré-óptico medial sensíveis à administração de 5-HT que provocam alterações na ingestão de alimento em pombos (Silva, 2001).

**OBJETIVO**

Este trabalho tem por objetivo investigar a presença e a possível participação de receptores serotoninérgicos da área pré-óptica no controle da ingestão de alimento e de água em pombos e caracterizar os subtipos de receptores envolvidos.

**MATERIAL E MÉTODOS**

## 1 ANIMAIS

Foram utilizados 53 pombos domésticos (*Columba livia*) adultos, de ambos os sexos, com peso entre 300 e 400 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Antes e após a cirurgia, os pombos foram mantidos em gaiolas individuais em uma sala própria para a manutenção das aves, no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS/CCB – UFSC), com água e ração *ad libitum*. A iluminação foi mantida artificialmente através de lâmpadas fluorescentes com ciclo claro/escuro de 12 em 12 horas (período escuro com início às 19 horas); e a temperatura, controlada entre 22 e 25 °C. Os experimentos foram realizados respeitando-se os princípios éticos de experimentação animal, de acordo com o COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1991).

## 2 INJEÇÕES NA ÁREA PRÉ-ÓPTICA E VENTRÍCULO CEREBRAL LATERAL

### 2.1 Implantação de cânula-guia

Para implantação da cânula-guia, os pombos foram anestesiados com uma solução de Equitesin (0,15 ml/100 g) injetada por via intraperitoneal. Em seguida, as aves foram colocadas em um aparelho estereotáxico (David Kopf Instruments), com a cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo e no bico e uma distância entre os dois pontos ajustada para 16 mm, formando um ângulo de 45 graus. 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 se perfurar e implantar a cânula-guia. No local marcado, fez-se um orifício no crânio de 3 mm de diâmetro com auxílio de uma broca esférica de uso odontológico, e dois parafusos de aço inoxidável foram distribuídos e fixados ao redor desse orifício. As coordenadas utilizadas para a implantação da cânula-guia na área pré-óptica ou no ventrículo cerebral lateral derivaram do atlas estereotáxico para cérebro de pombos (Karten e Hodos, 1967).

#### Área pré-óptica:

Plano frontal – 8,5 mm anterior à linha interaural

Plano sagital – 0,5 mm lateral à sutura sagital

Plano horizontal – 6,0 mm abaixo da dura-máter

#### Ventrículo cerebral lateral:

Plano frontal – 6,0 mm anterior à linha interaural

Plano sagital – 1,0 mm lateral à sutura sagital

Plano horizontal – 6,0 mm abaixo da dura-máter

Na posição previamente determinada foi implantada a cânula-guia, confeccionada com agulhas hipodérmicas de 0,7 mm de diâmetro externo e 15 mm de comprimento. O contato da cânula-guia com o ventrículo lateral naqueles animais com implantação de cânula destinada a esse local foi identificado pela queda na coluna líquida registrada em um manômetro com solução fisiológica.

Para evitar o contato do acrílico com o tecido cerebral, o orifício feito na calota craniana foi preenchido com fibrina de plasma de sangue bovino (Fibrinol-Baldacci). O conjunto (orifício e calota craniana) foi envolvido por acrílico autopolimerizável de uso odontológico, formando uma estrutura sólida capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola.

#### 2.2 Injeções na área pré-óptica

As injeções na área pré-óptica foram realizadas através de uma agulha injetora (Mizzi-Slide-Park), introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno a uma microseringa Hamilton de 5 µl. As injeções excederam a cânula-guia em 0,7; 1,4; 2,1; 2,8; e 3,5 mm de modo a permitir injeções em pelo menos 5 pontos distintos no mesmo animal. Com o objetivo de minimizar as variações na pressão intracraniana, as soluções foram administradas num período de 1 minuto, e o volume injetado foi sempre de 200 nl.

### 2.3 Injeções via i.c.v.

As administrações das drogas via i.c.v. foram realizadas através de uma agulha injetora (Mizzi-Slide-Park), introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno a uma microsseringa Hamilton de 5  $\mu$ l. A agulha injetora excedeu a cânula-guia em 1 mm. Com o objetivo de minimizar as variações na pressão i.c.v., as soluções foram administradas no período de 1 minuto, e o volume injetado foi sempre constante e igual a 1  $\mu$ l.

### 2.4 Esquema experimental

Os procedimentos experimentais foram iniciados entre 5 a 7 dias após a cirurgia de implantação da cânula-guia. No dia anterior ao da sessão experimental, os pombos eram transferidos para uma sala de observação com as mesmas condições de temperatura ambiente, luminosidade (ciclo claro/escuro), e disponibilidade de água e ração, encontradas no Biotério Setorial do CFS, proporcionando dessa forma um período de adaptação do animal ao ambiente experimental. Todos os procedimentos experimentais foram realizados entre as 9 e 12 horas.

Etapa experimental 1 – Efeitos das injeções de agonistas e antagonistas serotoninérgicos na área pré-óptica de pombos.

Foram utilizadas aves saciadas, despertas e com alimento e água *ad libitum*. Os animais receberam em um dos pontos de injeção o tratamento com MET na dose de 20 nmol. Em seguida, em um ponto localizado 0,7 mm ventralmente ao anterior, era administrada mais uma vez a MET, e assim sucessivamente até exceder em 3,5 mm a cânula-guia. Nos pontos em que a aplicação de MET provocou um consumo de ração maior ou igual a 3 g, acompanhado por uma latência curta (menor que 500 segundos) para iniciar a resposta ingestiva (2 desvios padrões abaixo da latência média para iniciar a ingestão de alimento exibida por animais controle, ver Steffens, 1999), ou um consumo de alimento maior ou igual a 4,4 g com alteração ou não na latência (ver Hagemann e cols., 1998), foi

feito o tratamento com veículo, ou GR46611 (GR; 0,6 ou 6 nmol), ou ketanserina (KET; 20 nmol), ou ritanserina (RIT; 20 nmol), ou 8OH (6 nmol), e esses tratamentos eram distribuídos de acordo com um esquema amostral do tipo quadrado latino. Respeitou-se um intervalo de, no mínimo, 48 horas entre cada sessão experimental. Imediatamente após o tratamento, as aves retornavam as suas gaiolas, as quais continham água e alimento previamente medidos. Em seguida, o registro comportamental era efetuado por meio de observação direta e sistemática dos comportamentos ingestivos e não-ingestivos emitidos pelo animal (ver quadro 1). Ao final de uma hora de observação, o consumo de alimento e água eram mensurados pela diferença entre sua quantidade inicial e final.

Etapa experimental 2 – Efeitos das injeções de metergolina por via i.c.v. em pombos.

Foram usadas aves saciadas, despertas e com alimento e água *ad libitum*. Os animais receberam injeções i.c.v. de solução de ácido ascórbico 5%, ou MET nas doses de 10, 30, 100, ou 300 nmol, aleatoriamente, com intervalo de, no mínimo, 48 horas entre cada um dos experimentos. Os demais procedimentos experimentais foram similares aos descritos na etapa 1.

Etapa experimental 3 – Efeitos das injeções de GR46611 por via i.c.v. em pombos.

Foram empregados animais saciados, despertos e com alimento e água *ad libitum*. As aves receberam injeções i.c.v. de solução de ácido ascórbico 5%, ou GR nas doses de 3, 15, ou 30 nmol, aleatoriamente, com intervalo de, no mínimo, 48 horas entre cada um dos experimentos. Os demais procedimentos experimentais foram similares aos descritos na etapa 1.

Etapa experimental 4 – Efeitos das injeções de GR46611 em áreas vizinhas à área pré-óptica de pombos.

Foram utilizadas aves saciadas, despertas e com alimento e água *ad libitum*. Os animais receberam injeções de 6 nmol de GR em áreas vizinhas à área pré-óptica. Nos pontos em que a aplicação de GR provocou um consumo de ração maior ou igual a 4,4 g

acompanhado ou não de alteração na latência (ver Hagemann e cols., 1998), foi realizado o tratamento com veículo (ácido ascórbico 5%). Respeitou-se um intervalo de, no mínimo, 48 horas entre cada um dos experimentos. Os demais procedimentos experimentais foram similares aos descritos na etapa 1.

## 2.5 Soluções administradas

- a) A solução de ácido ascórbico 5% foi utilizada para dissolver metergolina, GR46611 e 8-OH-DPAT. A solução de dimetilsulfóxido (DMSO) foi usada para dissolver ketanserina e ritanserina. Tanto a solução de ácido ascórbico 5% quanto a de dimetilsulfóxido foram injetadas nos animais do grupo controle.
- b) Solução de N-CB2-[(8 $\beta$ )-1,6Dimethylergolin-8-YL]-methylamine (metergolina, antagonista não-seletivo de receptores 5-HT<sub>1/2</sub>) nas doses de 10, 30, 100 ou 300 nmol por  $\mu$ l em injeções por via i.c.v. e de 20 nmol por 200 nl em injeções locais.
- c) Solução de (3-[3-(2-Dimethylaminoethyl)-1H-indol-5-Yl]-N-(4-methoxybenzyl) acrylamide) (GR46611, agonista de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>) nas doses de 3, 15 ou 30 nmol por  $\mu$ l em injeções por via i.c.v. e de 0,6 ou 6 nmol por 200 nl em injeções locais.
- d) Solução de 3-[2-[4-(4-Fluorobenzoyl)-1-piperidinyl] ethyl]-2,4 (1H,3H)-quinazolinedione tartrate (ketanserina, antagonista de receptores 5-HT<sub>2A</sub>) na dose de 20 nmol por 200 nl em injeções locais.
- e) Solução de 6-[2-[4-[bis (4-Fluorophenyl) methylene]-1-piperidinyl]-ethyl]-7-methyl-5h-thiazolo [3,2-a] pyridimidin-5-one (ritanserina, antagonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) na dose de 20 nmol por 200 nl em injeções locais.
- f) Solução de 8 – hidróxi – 2 (di – n – propilamino) tetralin (8-OH-DPAT, agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>) na dose de 6 nmol por 200 nl em injeções locais.

As doses utilizadas para metergolina e 8-OH-DPAT foram derivadas de experimentos realizados em nosso laboratório por Silva (2001) e Häckl (2001), respectivamente. Para ketanserina e ritanserina as doses foram obtidas através de testes piloto.

A droga mencionada no item **b** foi adquirida da SIGMA (Chemical Co., St. Louis, Mo, USA); no item **c** da TOCRIS (Tocris Cookson Inc., Ballwin, Mo, USA); nos itens **d**, **e** e **f** da RBI (Research Biochemicals International, Natick, MA, USA); as demais foram adquiridas do comércio local.

## 2.6 Registro 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 emitido pelo animal, induzido pela droga utilizada.

O registro e a monitorização visual foram feitos através de uma janela de vidro pequena de forma a permitir que o animal fosse observado sem que percebesse a presença do observador.

Para analisar as possíveis mudanças comportamentais, foram levados em consideração a postura e os movimentos corporais executados pelo pombo e ainda a duração e a latência para os comportamentos, cuja descrição é apresentada no quadro a seguir.

Quadro 1 – Definições dos comportamentos registrados

Autolimpeza	Movimento de esfregar o bico (ou bicar) nas penas de qualquer parte do corpo.
Locomoção	Qualquer deslocamento do animal pela gaiola ou alternância de sustentação do corpo pelas pernas.
Imobilidade alerta	O animal permanece imóvel com a cabeça elevada e os olhos abertos e fixos, com movimentos de piscar muito rápidos.
Posturas típicas de sono	O animal permanece com os olhos fechados e a cabeça fletida e apoiada sobre o peito. Apresenta pescoço retraído e penas do peito arrepiadas. Eventualmente permanece apoiado sobre uma das pernas ou deitado sobre o piso da gaiola, ou no poleiro.
Comer	Comportamento de deglutição quando o animal ingere o alimento sólido.
Exploração do alimento	O animal bica o alimento, porém não efetua a deglutição.
Beber	O pombo mergulha o bico na água e a bebe intensa e rapidamente com uma vigorosa ação de bombeamento.

### 3 ANÁLISE HISTOLÓGICA

No final do experimento, os animais foram anestesiados com Equitesin e submetidos à perfusão transcardíaca com solução salina a 0,9% seguida por uma solução de formol a 10%. O posicionamento da cânula-guia e os pontos de injeção foram verificados por meio de injeções do corante azul de Evans (1  $\mu$ l e 200 nl para injeções i.c.v. e locais, respectivamente). Em seguida os cérebros foram dissecados e imersos por 5 dias em solução de formol a 10%. Após esse período, as peças foram incluídas em ágar e submetidas a microtomia no plano frontal (cortes de aproximadamente 100  $\mu$ m de espessura) com o auxílio de um vibrátomo (Campdem Instruments). Os cortes foram

montados em lâminas de vidro gelatinizadas e colocados para secar em temperatura ambiente por 5 dias. Para posterior observação e análise no microscópio óptico (Olympus, BHS) os cortes foram corados pela tionina, tratados com álcool em concentrações crescentes, clareados em xilol e finalmente cobertos com lamínulas; o meio de montagem foi o Permount (Fischer). A reprodução gráfica dos cortes e pontos de injeção analisados ao microscópio foi efetuada manualmente; e a nomenclatura utilizada para identificar as diferentes regiões dos cérebros de pombos, derivada dos estudos realizados por Kuenzel e Tienhoven (1982) e Aste e cols. (1998) e do atlas estereotáxico de Karten e Hodos (1967).

#### 4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados de ingestão de alimento e de água obtidos após os diferentes tratamentos foram avaliados por intermédio de uma análise de variância de uma via. A comparação posterior entre as médias foi feita pela aplicação do teste de Duncan. A duração e a latência dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento foram avaliados empregando-se uma análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis seguida pelo teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS**

## 1 LOCAIS ATINGIDOS PELA INJEÇÃO DE AGONISTAS OU ANTAGONISTAS SEROTONÉRGICOS EM POMBOS SACIADOS

A análise histológica mostrou que, de um total de 35 pombos com cânulas-guia cronicamente implantadas em regiões próximas ao hipotálamo anterior, 20 animais tiveram suas cânulas injetoras localizadas em regiões mais ventrais da área pré-óptica, considerada neste trabalho como Área Pré-óptica Ventral (APV) (correspondente ao núcleo pré-óptico paraventricular magnocelular e o núcleo pré-óptico anterior). Foi obtido, para cada animal, um ponto de injeção situado na APV, com exceção de 5 pombos que tiveram, cada um, mais 1 ou 2 pontos de injeção nesse local, totalizando 26 pontos atingidos (Fig. 1). Na maioria desses pontos (19 deles), a administração de 20 nmol de MET provocou hiperfagia, induzindo um aumento no consumo de alimento aproximadamente 3 vezes superior ao apresentado pelos animais tratados com veículo. Por outro lado, em 7 pontos localizados na APV, a injeção desse antagonista serotonérgico não induziu alteração na quantidade de alimento ingerido de acordo com os critérios adotados (ver Material e Métodos). Em outros 5 pontos, a agulha injetora atingiu o terceiro ventrículo, e, em nenhum desses, o tratamento com MET ocasionou alteração no comportamento ingestivo.

Nos 19 pontos situados na APV em que a administração de MET provocou respostas ingestivas de acordo com os critérios adotados, além do veículo, foram administrados em 12 pontos o 8OH na dose de 6 nmol, e, em 7 pontos, KET e RIT, ambas na dose de 20 nmol. Nenhum desses tratamentos induziu modificações no consumo de alimento.

A administração de GR nas doses de 0,6 e 6 nmol também foi realizada em 13 dos 19 pontos encontrados na APV, nos quais a injeção de MET induziu um aumento na ingestão de alimento de acordo com os critérios adotados. Além disso, o GR na dose de 6 nmol foi aplicado em 2 sítios na APV não-expostos ao tratamento prévio com MET. Com exceção de um sítio, todos os animais exibiram aumento no consumo alimentar após a administração de 6 nmol de GR (Fig. 1).

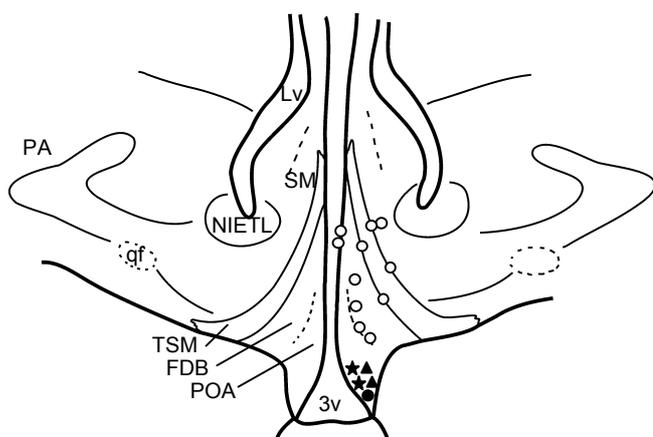
As injeções de MET atingiram também 18 locais situados em uma área mais dorsal da área pré-óptica, considerada neste trabalho como Área Pré-óptica Dorsal (APD) (correspondente ao núcleo pré-óptico medial) (Fig. 1). Nessa região, a administração de MET, na maior parte dos pontos, não provocou alteração na ingestão de alimento de acordo com os critérios adotados, e em somente 3 desses sítios ocorreu um aumento na quantidade de alimento ingerido quando comparado ao controle tratado com ácido ascórbico ( $1,16 \pm 0,9$  g de alimento consumido depois do tratamento com o veículo vs.  $3,77 \pm 0,13$  g de alimento consumido após o tratamento com MET, média  $\pm$  e.p.m., N = 3 sítios diferentes da APD de 3 pombos). Essa hiperfagia foi acompanhada por um aumento na duração do comportamento ingestivo e uma redução na latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento. Somada a isso, a injeção de GR também atingiu 5 sítios na APD e, em 3 sítios, o tratamento com o GR induziu aumento no consumo de alimento, e esses eram os mesmos sítios em que a injeção de MET causou modificações na ingestão de alimento (Fig. 1).

O tratamento com GR na dose de 6 nmol foi efetuado em 7 sítios diferentes na área septal lateral; entretanto, em apenas um local situado ao lado da região terminal do ventrículo lateral, próximo ao Núcleo Intersticial da Estria Terminal Lateral a injeção de GR induziu um aumento no consumo de alimento, de acordo com os critérios estabelecidos (Fig. 1). Além disso, a injeção de 6 nmol de GR provocou uma resposta ingestiva em um sítio localizado próximo ao trato ocitomesencefálico, no qual se encontra o Núcleo Intersticial da Estria Terminal Medial. De 9 pontos situados no paleostriado ventral, em 3 foi observado um consumo de alimento acima dos critérios estabelecidos após o tratamento com esse agonista serotoninérgico (Fig. 1).

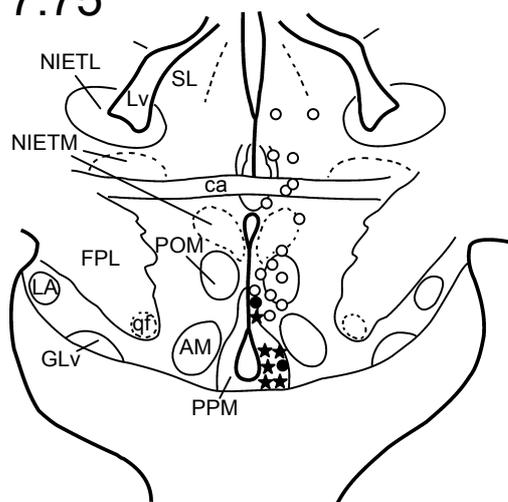
## Lista de abreviaturas

3v	Terceiro ventrículo
ca	Comissura anterior
AM	Núcleo <i>anterior medialis hypothalami</i>
FDB	Fascículo <i>diagonalis Brocae</i>
FPL	Fascículo <i>prosencephali lateralis</i>
GLv	Núcleo <i>geniculatus lateralis, pars ventralis</i>
LA	Núcleo <i>lateralis anterior thalami</i>
Lv	Ventrículo lateral
NIETL	Núcleo intersticial da estria terminal lateral
NIETM	Núcleo intersticial da estria terminal medial
OM	<i>Tracto occipitomesencephalicus</i>
PA	<i>Paleoestriatum augmentatum</i>
POA	Núcleo pré-óptico anterior
POM	Núcleo pré-óptico medial
PPM	Núcleo pré-óptico paraventricular magnocelular
PVN	Núcleo <i>paraventricularis</i>
qf	<i>Tracto quintofrontalis</i>
SL	Núcleo <i>septalis lateralis</i>
SM	Núcleo <i>septalis medialis</i>
TSM	<i>Tracto septomesencephalicus</i>
VMNL	Núcleo <i>ventromedialis hypothalami lateralis</i>
VMNM	Núcleo <i>ventromedialis hypothalami medialis</i>

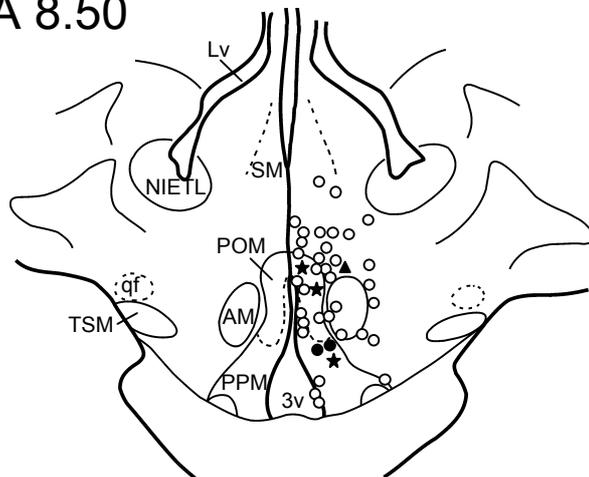
A 9.00



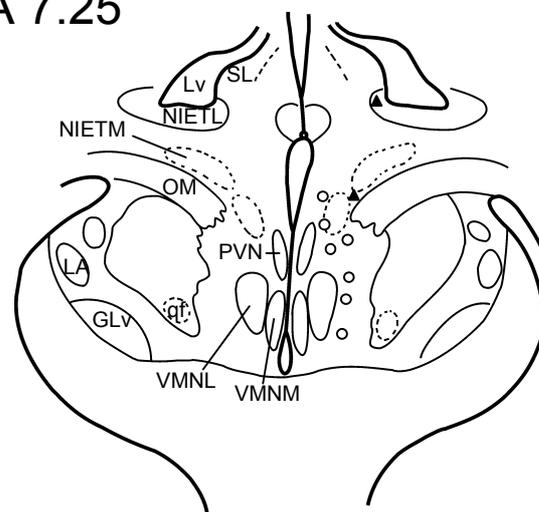
A 7.75



A 8.50



A 7.25



A 8.00

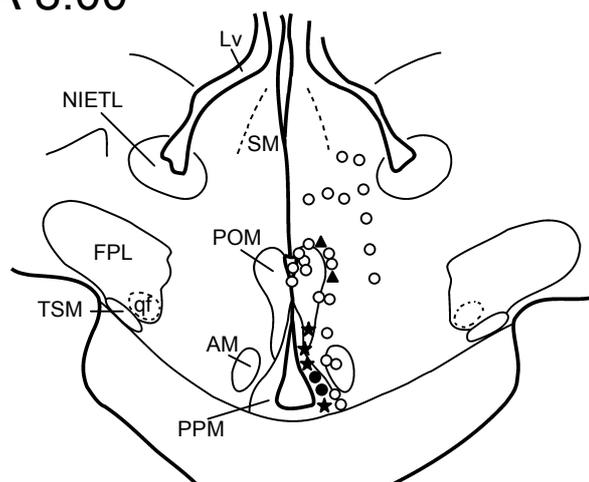


Figura 1: Desenhos semi-esquemáticos que representam cortes coronais do cérebro de pombo e ilustram os locais onde apenas as injeções de MET (●), ou apenas as de GR (▲), ou pontos nos quais tanto a MET como o GR (★) produzem aumento na ingestão de alimento. Também são apresentados os sítios nos quais nenhum tratamento modificou a ingestão de alimento de acordo com os critérios adotados (ver Material e Métodos) (○). Os caracteres alfanuméricos acima e à esquerda de cada corte indicam seu plano estereotáxico de acordo com o atlas de Karten e Hodós (1967). Ver abreviaturas na página anterior.

## 2 ADMINISTRAÇÃO DE METERGOLINA NA APV E NA APD E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS

A ANOVA de uma via mostrou que, após a injeção de 20 nmol de MET na APV ou na APD, houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de alimento ingerido por pombos saciados [ $F(1,42) = 14,5$ ;  $p = 0,00007$ ]. O consumo médio de alimento pelos animais tratados com MET na APV foi aproximadamente 2 vezes superior àquele observado no grupo tratado com a mesma dose de MET na APD ( $1,65 \pm 0,29$  g de alimento consumido depois da injeção de MET na APD vs.  $3,86 \pm 0,36$  g de alimento consumido após a injeção de MET na APV; média  $\pm$  e.p.m.,  $N = 18$  sítios diferentes da APD de 7 pombos e  $N = 26$  sítios diferentes da APV de 20 pombos). Essa hiperfagia induzida pela injeção de MET na APV foi acompanhada por um aumento na duração da resposta ingestiva e uma redução na latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento, quando comparado ao grupo tratado com a mesma dose de MET na APD (Fig. 2).

Como apresentado na Fig. 3, após a injeção de 20 nmol de MET na APV de pombos saciados, o volume de água ingerido não foi estatisticamente diferente daquele obtido após a injeção da mesma dose de MET na APD dessas aves. Além disso, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na duração e latência para iniciar a resposta dipsogênica após o tratamento realizado com MET nesses dois locais (Fig. 3).

A avaliação dos comportamentos não-ingestivos mostra que não houve diferenças significantes na duração e latência dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta e posturas típicas de sono, depois do tratamento com MET na APD ou APV. Contudo, ocorreu um aumento na duração do comportamento de exploração do alimento e uma leve tendência de redução na latência para iniciar essa conduta nos animais tratados com MET na APV, quando comparado ao grupo tratado com a dose equimolar desse antagonista na APD (Tab. 1 e Tab. 2).

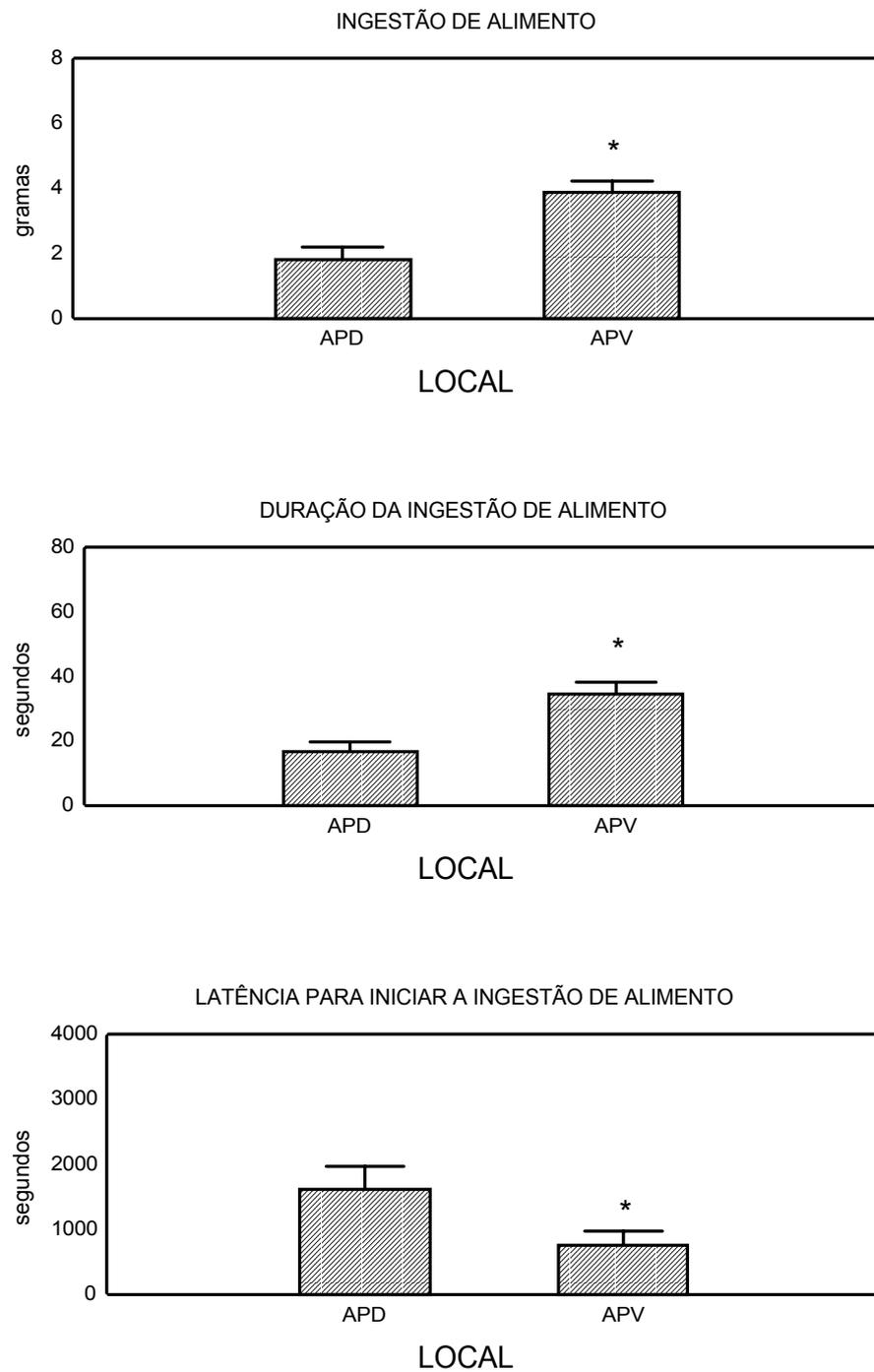


Figura 2: Administração de MET (20 nmol) na APD ou na APV e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 18 sítios diferentes da APD de 12 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET e 26 sítios diferentes da APV de 20 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET. (\*)  $p < 0,05$  em relação a APD.

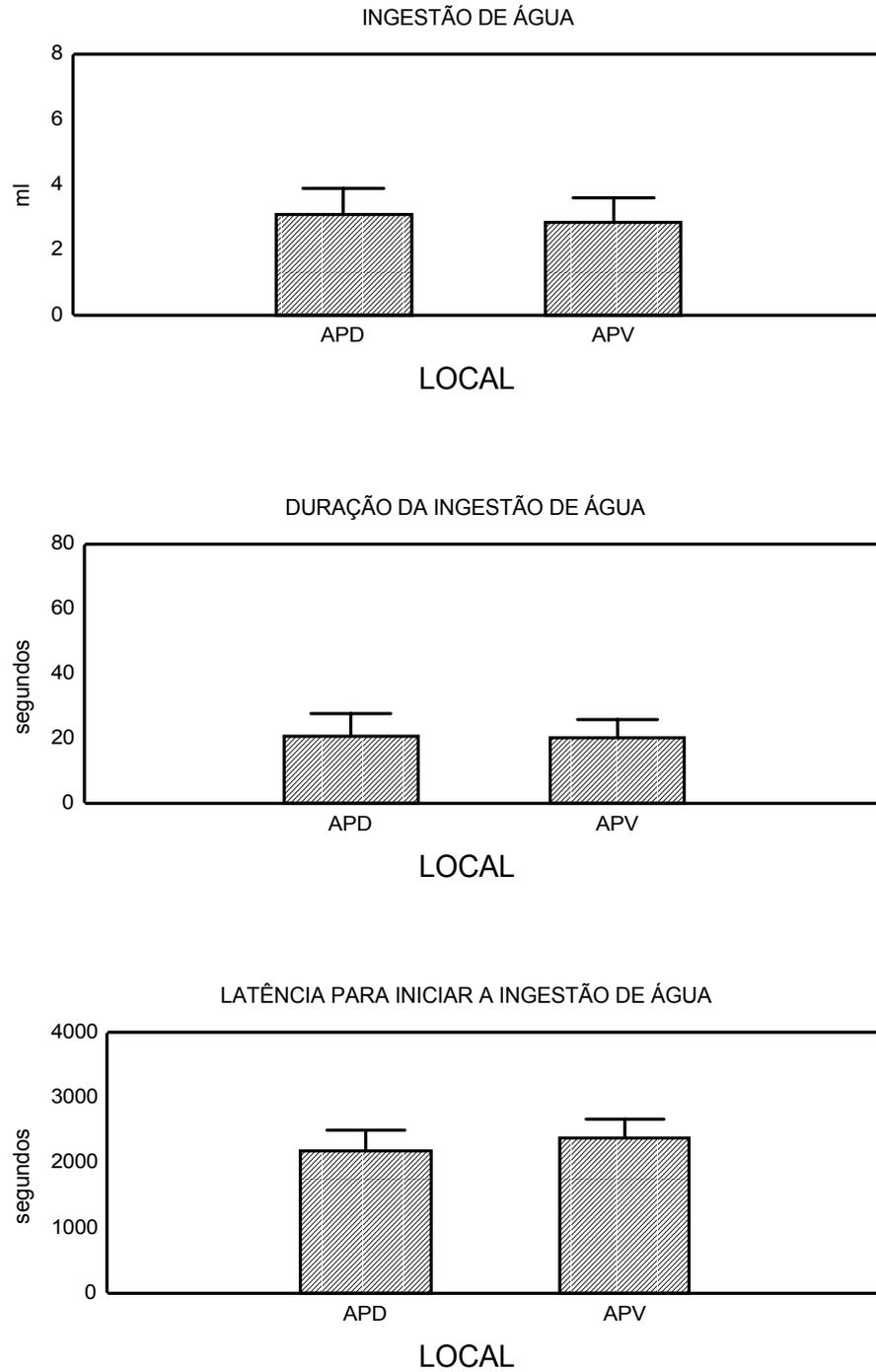


Figura 3: Administração de MET (20 nmol) na APD ou na APV e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 18 sítios diferentes da APD de 12 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET e 26 sítios diferentes da APV de 20 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET.

Tabela 1: Duração total (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de 20 nmol de MET na APD ou APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de MET em 18 sítios diferentes da APD de 12 pombos ou de MET em 26 sítios diferentes da APV de 20 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>APD (MET 20 nmol)</b>	<b>APV (MET 20 nmol)</b>
Autolimpeza	726,22 $\pm$ 131,76	537,69 $\pm$ 63,40
Locomoção	82,00 $\pm$ 27,29	177,50 $\pm$ 38,39
Imobilidade alerta	1289,77 $\pm$ 139,03	1305,03 $\pm$ 105,45
Posturas típicas de sono	1407,55 $\pm$ 165,17	1283,46 $\pm$ 140,26
Exploração do alimento	56,94 $\pm$ 11,52	247,20 $\pm$ 45,27*

(\*)  $p < 0,05$  em relação a APD

Tabela 2: Latência (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) para iniciar a exibição dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de 20 nmol de MET na APD ou APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de MET em 18 sítios diferentes da APD de 12 pombos, ou de MET em 26 sítios diferentes da APV de 20 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>APD (MET 20 nmol)</b>	<b>APV (MET 20 nmol)</b>
Autolimpeza	160,00 $\pm$ 62,83	173,80 $\pm$ 31,74
Locomoção	521,44 $\pm$ 212,89	329,46 $\pm$ 96,56
Imobilidade alerta	14,72 $\pm$ 7,96	5,38 $\pm$ 1,89
Posturas típicas de sono	843,66 $\pm$ 180,71	942,11 $\pm$ 139,50
Exploração do alimento	1266,94 $\pm$ 326,96	581,76 $\pm$ 182,19

### 3 ADMINISTRAÇÃO DE METERGOLINA, 8-OH-DPAT, GR46611 E VEÍCULO NA APV E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS

#### 3.1 Ingestão de alimento

A análise estatística mostrou que, após o tratamento com MET, 8OH, GR e veículo no APV de pombos saciados, houve diferença significativa na quantidade de alimento ingerido [ $F(4,27) = 27,7$ ;  $p = 10^{-6}$ ] e na duração do comportamento ingestivo [ $F(4,72) = 14,7$ ;  $p = 10^{-6}$ ]. Não ocorreram diferenças estatisticamente significantes na latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento (Fig. 4).

A injeção de 20 nmol de MET na APV de pombos saciados aumentou a quantidade de alimento ingerido em aproximadamente 3,5 vezes, quando comparado ao grupo-controle tratado com veículo no mesmo local ( $1,29 \pm 0,23$  g de alimento ingerido depois da injeção de veículo vs.  $4,78 \pm 0,25$  g de alimento ingerido após a injeção de MET; média  $\pm$  e.p.m., N = 19 sítios diferentes da APV de 18 pombos). Essa hiperfagia foi acompanhada por um aumento na duração do consumo de alimento e uma tendência de redução na latência para desencadear o primeiro episódio de ingestão de alimento (Fig. 4).

Os resultados apresentados na Fig. 4 indicam que a administração de 0,6 nmol de GR na APV provocou um aumento no consumo alimentar ( $1,29 \pm 0,23$  g de alimento ingerido depois da injeção de veículo vs.  $2,63 \pm 0,58$  g de alimento ingerido após a injeção de 0,6 nmol de GR; média  $\pm$  e.p.m., N = 12 sítios diferentes da APV de 12 pombos). Essa hiperfagia induzida pela dose de 0,6 nmol de GR foi seguida por um aumento na duração da resposta de ingestão de alimento, sem modificar a latência para o começo da resposta ingestiva. O tratamento com a dose maior de GR (6 nmol) na APV também induziu aumento no consumo de alimento. A quantidade de alimento ingerido após esse tratamento foi aproximadamente 4 vezes superior àquela verificada no grupo-controle tratado com ácido

ascórbico 5% ( $1,29 \pm 0,23$  g de alimento consumido depois da injeção de veículo vs.  $5,34 \pm 0,45$  g de alimento consumido após a injeção de 6 nmol de GR; média  $\pm$  e.p.m., N = 14 sítios diferentes da APV de 12 pombos). Esse aumento no consumo de alimento foi estatisticamente superior àquele observado depois do tratamento com a dose menor de GR na APV. Além da hiperfagia, verificou-se um aumento estatisticamente significativo na duração do comportamento de ingestão de alimento, que também foi diferente do constatado após a administração de 0,6 nmol de GR. Ocorreu uma leve tendência de redução na latência para principiar a resposta ingestiva após o tratamento com 6 nmol de GR, quando comparado ao veículo (Fig. 4).

Depois da injeção de 6 nmol de 8OH na APV de pombos saciados, as alterações observadas na quantidade de alimento ingerido não foram estatisticamente diferentes daquelas obtidas após o tratamento com o veículo. Da mesma forma, a duração e latência para iniciar esse comportamento ingestivo mantiveram-se inalteradas após a administração de 8OH (Fig. 4).

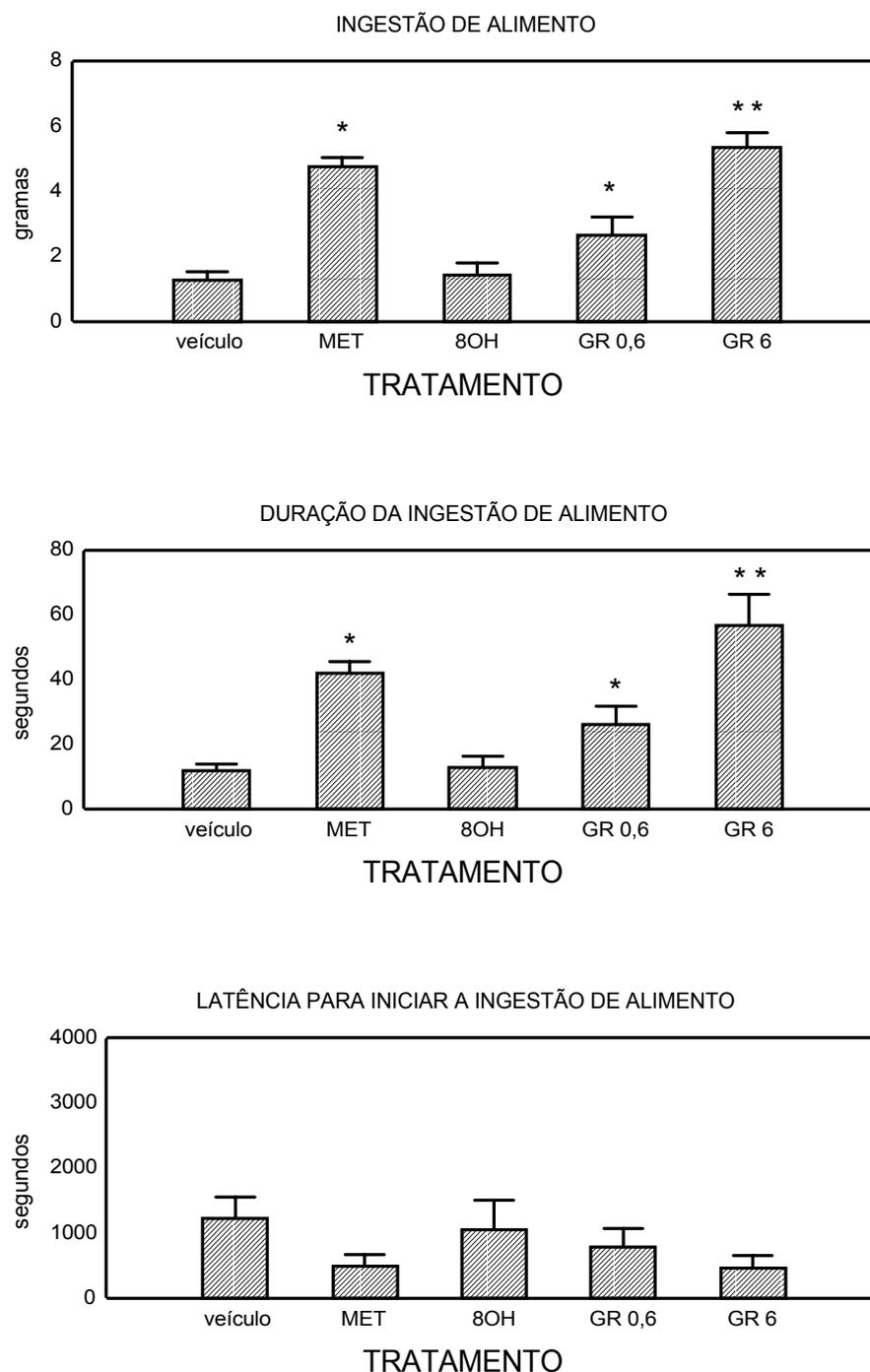


Figura 4: Administração de veículo (ác. ascórbico 5%), MET (20 nmol), 8OH (6 nmol) ou GR (0,6 e 6 nmol) na APV e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 19 sítios diferentes da APV de 18 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET, 12 sítios diferentes da APV de 11 pombos tratados localmente com 6 nmol de 8OH, 12 sítios diferentes da APV de 12 pombos tratados localmente com 0,6 nmol de GR e 14 sítios diferentes da APV de 12 pombos tratados localmente com 6 nmol de GR. (\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo. (\*\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo e a dose de 0,6 nmol de GR.

### 3.2 Ingestão de água

A análise estatística dos dados obtidos após a administração de MET, 8OH, GR (0,6 e 6 nmol) ou de veículo na APV de pombos saciados mostrou que não ocorreram diferenças significantes no volume de água ingerido, na duração e na latência para iniciar a resposta dipsogênica entre os tratamentos efetuados (Fig. 5).

### 3.3 Comportamentos não-ingestivos

A análise de variância dos dados comportamentais não-ingestivos mostrou que não existiram diferenças estatisticamente significantes na duração e latência para iniciar os comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta e posturas típicas de sono após a administração de MET, 8OH e GR (0,6 e 6 nmol) na APV de pombos saciados. Entretanto, a comparação com os valores-controle mostra que ocorreu um aumento significativo na duração do comportamento de exploração do alimento induzido pela MET e pelas doses de 0,6 e 6 nmol de GR, acompanhado por uma redução na latência para principiar essa postura no tratamento com ambas as doses de GR. Além disso, foi observada uma redução na latência para iniciar o comportamento de autolimpeza depois do tratamento com dose de 6 nmol de GR e para iniciar a locomoção após a injeção de 0,6 nmol de GR (Tab. 3 e Tab. 4).

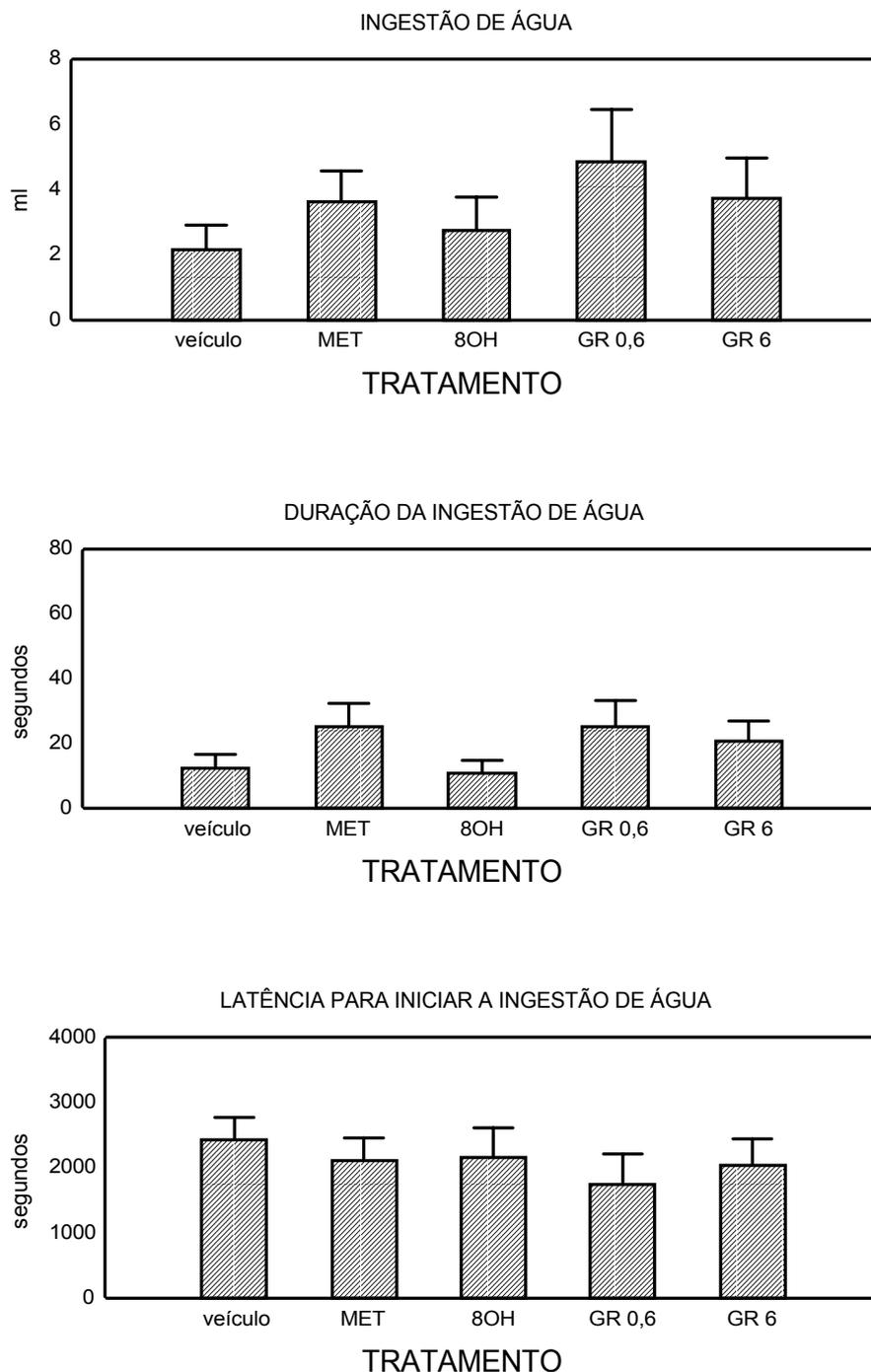


Figura 5: Administração de veículo (ác. ascórbico 5%), MET (20 nmol), 8OH (6 nmol) ou GR (0,6 e 6 nmol) na APV e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 19 sítios diferentes da APV de 18 pombos tratados localmente com 20 nmol de MET, 12 sítios diferentes da APV de 11 pombos tratados localmente com 6 nmol de 8OH, 12 sítios diferentes da APV de 12 pombos tratados localmente com 0,6 nmol de GR e 14 sítios diferentes da APV de 12 pombos tratados localmente com 6 nmol de GR.



Tabela 3: Duração total (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de 20 nmol de MET, 6 nmol de 8OH, 0,6 ou 6 nmol de GR na APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de: MET em 19 sítios diferentes da APV de 18 pombos, 8OH em 12 sítios diferentes da APV de 11 pombos, 0,6 nmol de GR em 12 sítios diferentes da APV de 12 pombos ou 6 nmol de GR em 14 sítios diferentes da APV de 12 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>MET 20 nmol</b>	<b>8OH 6 nmol</b>	<b>GR 0,6 nmol</b>	<b>GR 6 nmol</b>
Autolimpeza	688,40 $\pm$ 77,62	534,42 $\pm$ 80,27	646,83 $\pm$ 86,35	547,33 $\pm$ 78,48	644,50 $\pm$ 94,51
Locomoção	175,75 $\pm$ 89,13	130,42 $\pm$ 40,85	173,66 $\pm$ 71,09	138,66 $\pm$ 41,05	153,57 $\pm$ 45,52
Imobilidade alerta	1292,65 $\pm$ 172,57	1216,94 $\pm$ 113,13	1092,75 $\pm$ 207,76	1187,16 $\pm$ 200,44	1170,00 $\pm$ 196,00
Posturas típicas de sono	1379,65 $\pm$ 175,98	1376,89 $\pm$ 159,17	1593,50 $\pm$ 286,30	1272,25 $\pm$ 288,67	1134,78 $\pm$ 214,21
Exploração do alimento	118,63 $\pm$ 33,07	283,72 $\pm$ 50,14*	136,41 $\pm$ 43,89	403,08 $\pm$ 115,24*	419,64 $\pm$ 98,18*

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

Tabela 4: Latência (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) para iniciar a exibição dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de 20 nmol de MET, 6 nmol de 8OH, 0,6 ou 6 nmol de GR na APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de: MET em 19 sítios diferentes da APV de 18 pombos, 8OH em 12 sítios diferentes da APV de 11 pombos, 0,6 nmol de GR em 12 sítios diferentes da APV de 12 pombos ou 6 nmol de GR em 14 sítios diferentes da APV de 12 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>MET 20 nmol</b>	<b>8OH 6 nmol</b>	<b>GR 0,6 nmol</b>	<b>GR 6 nmol</b>
Autolimpeza	198,85 $\pm$ 78,50	171,00 $\pm$ 39,37	249,33 $\pm$ 83,46	92,75 $\pm$ 32,71	54,57 $\pm$ 15,03*
Locomoção	1003,25 $\pm$ 322,68	427,94 $\pm$ 124,97	522,50 $\pm$ 255,06	238,16 $\pm$ 158,39*	305,42 $\pm$ 144,58
Imobilidade alerta	19,75 $\pm$ 7,72	4,73 $\pm$ 2,13	7,66 $\pm$ 4,85	8,5 $\pm$ 7,5	14,28 $\pm$ 5,90
Posturas típicas de sono	805,55 $\pm$ 175,32	856,94 $\pm$ 117,42	970,58 $\pm$ 310,07	1028,25 $\pm$ 247,23	1091,57 $\pm$ 261,26
Exploração do alimento	1412,73 $\pm$ 368,91	461,44 $\pm$ 172,66	857,58 $\pm$ 375,41	599,58 $\pm$ 296,14	393,00 $\pm$ 183,94*

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

#### 4 ADMINISTRAÇÃO I.C.V. DE METERGOLINA E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS

A análise estatística dos dados obtidos após a injeção i.c.v. de diferentes doses de MET ou de veículo em pombos saciados mostrou que não houve diferenças estatisticamente significantes na quantidade de alimento ingerido entre os tratamentos efetuados. Também não ocorreram alterações na duração e latência para desencadear o primeiro episódio de ingestão de alimento (Fig. 6).

Não foi observada nenhuma mudança no volume de água ingerido depois da injeção das diferentes doses de MET ou veículo, embora tenha se verificado uma leve tendência em diminuir esse volume após o tratamento com a maior dose desse antagonista serotoninérgico. Além disso, não foram constatadas alterações estatisticamente significantes na duração e latência para iniciar a resposta dipsogênica (Fig. 7).

A avaliação dos dados comportamentais não-ingestivos mostra que as administrações i.c.v. de veículo ou das doses de 10, 30, 100 ou 300 nmol de MET não provocaram modificações estatisticamente significantes na duração e latência dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta e posturas típicas de sono (Tab. 5 e Tab. 6).

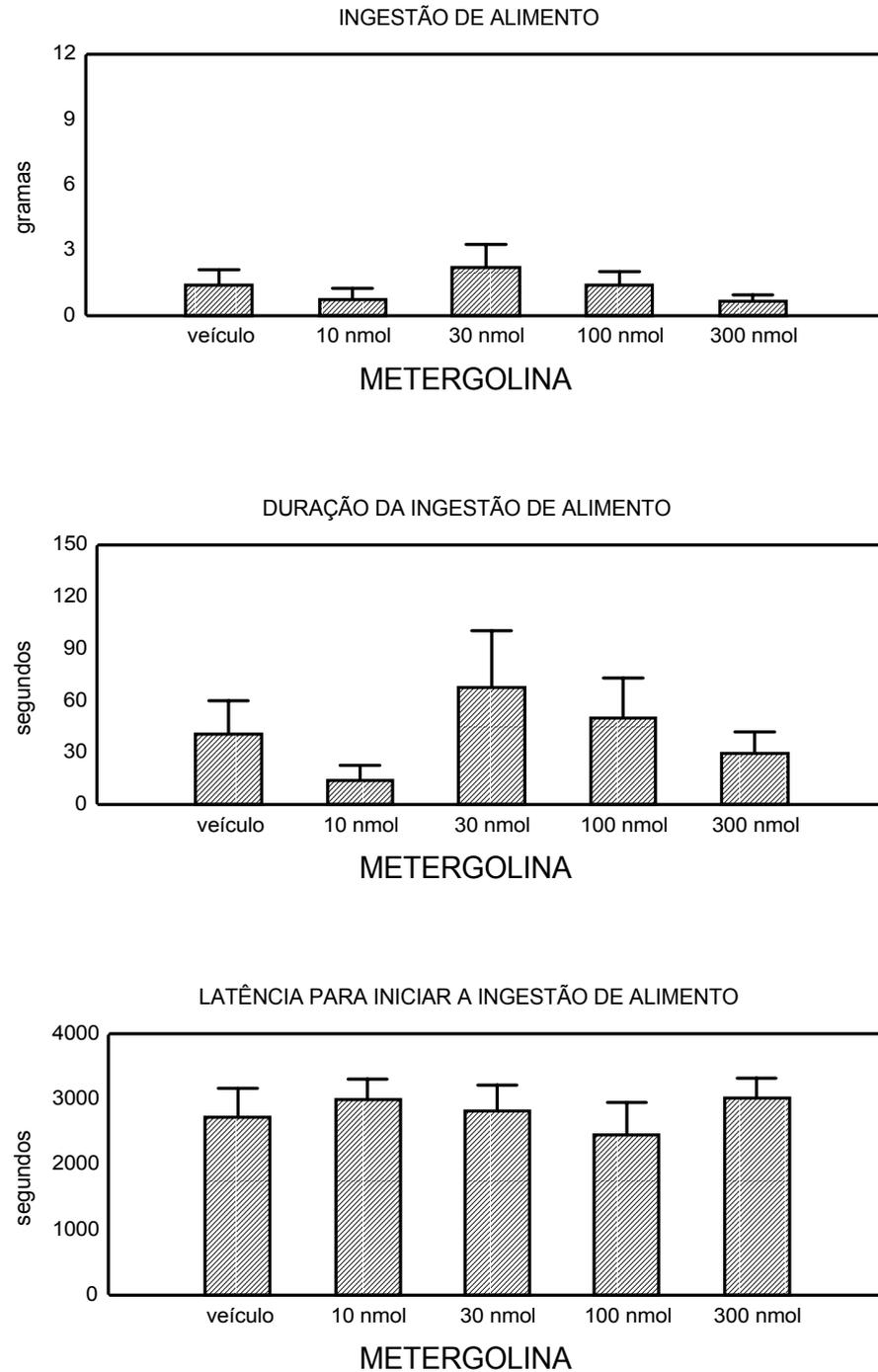


Figura 6: Administração i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de MET (10, 30, 100 ou 300 nmol) e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média a partir do tratamento efetuado em 10 pombos.

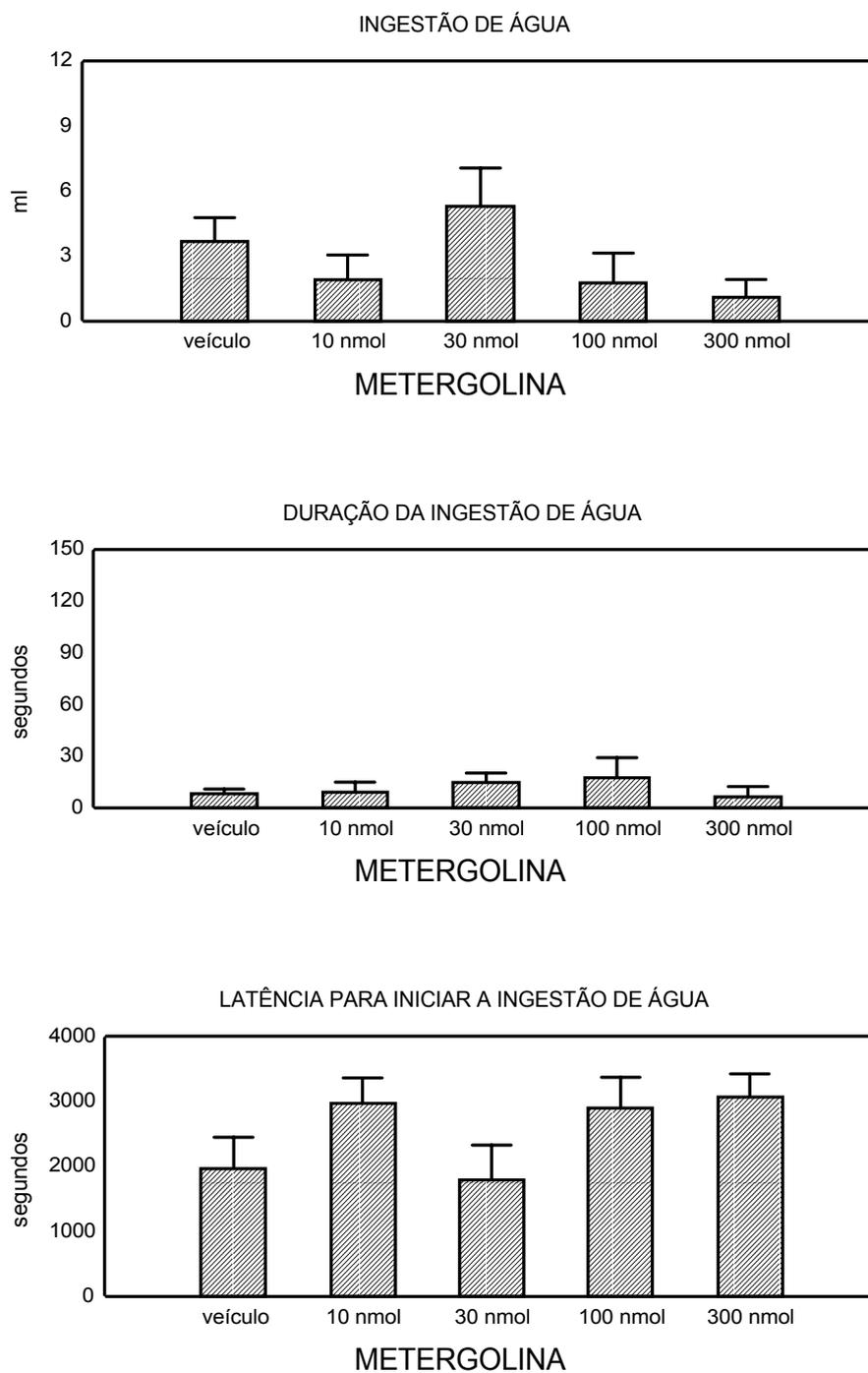


Figura 7: Administração i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de MET (10, 30, 100 ou 300 nmol) e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média a partir do tratamento efetuado em 10 pombos.



Tabela 5: Duração total (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de MET (10, 30, 100 ou 300 nmol) em pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 10 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>MET 10 nmol</b>	<b>MET 30 nmol</b>	<b>MET 100 nmol</b>	<b>MET 300 nmol</b>
Autolimpeza	458,10 $\pm$ 79,59	561,60 $\pm$ 137,38	682,20 $\pm$ 162,38	687,80 $\pm$ 168,84	677,30 $\pm$ 172,63
Locomoção	27,80 $\pm$ 12,66	28,50 $\pm$ 24,17	25,90 $\pm$ 20,23	11,50 $\pm$ 6,19	20,20 $\pm$ 10,75
Imobilidade alerta	1019,00 $\pm$ 266,05	866,00 $\pm$ 200,15	976,00 $\pm$ 167,11	823,70 $\pm$ 121,58	945,70 $\pm$ 182,07
Posturas típicas de sono	2046,30 $\pm$ 254,40	2117,60 $\pm$ 281,10	1833,40 $\pm$ 202,35	2009,40 $\pm$ 231,30	1920,10 $\pm$ 298,97

Tabela 6: Latência (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) para iniciar a exibição dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de MET (10, 30, 100 ou 300 nmol) em pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 10 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>MET 10 nmol</b>	<b>MET 30 nmol</b>	<b>MET 100 nmol</b>	<b>MET 300 nmol</b>
Autolimpeza	77,40 $\pm$ 25,47	187,70 $\pm$ 118,64	249,00 $\pm$ 174,15	69,70 $\pm$ 33,54	68,20 $\pm$ 20,89
Locomoção	1437,90 $\pm$ 514,07	2316,00 $\pm$ 513,36	2177,10 $\pm$ 547,33	1961,40 $\pm$ 553,77	2579,90 $\pm$ 486,34
Imobilidade alerta	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	2,20 $\pm$ 1,20	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Posturas típicas de sono	458,50 $\pm$ 86,60	744,10 $\pm$ 325,74	437,90 $\pm$ 96,39	438,70 $\pm$ 80,34	666,10 $\pm$ 173,70

## 5 ADMINISTRAÇÃO I.C.V. DE GR46611 E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS

A análise estatística dos dados obtidos após a injeção i.c.v. de diferentes doses de GR ou de veículo em pombos saciados mostrou que ocorreram diferenças estatisticamente significantes na quantidade de alimento ingerido entre os tratamentos utilizados [ $F(3,28) = 7,1; p = 10^{-3}$ ].

Os resultados apresentados na Fig. 8 mostram que a administração i.c.v. de 30 nmol de GR provocou hiperfagia, com um aumento na quantidade de alimento ingerido de aproximadamente 9 vezes quando comparado ao grupo-controle tratado com ácido ascórbico 5% ( $0,77 \pm 0,35$  g de alimento consumido depois da injeção de veículo vs.  $6,83 \pm 1,56$  de alimento após a injeção de 30 nmol de GR; média  $\pm$  e.p.m., N = 8 pombos). Essa hiperfagia foi acompanhada por uma redução na latência para desencadear o primeiro episódio de ingestão de alimento e um aumento na duração dessa resposta. As injeções i.c.v. de 3 e 15 nmol de GR não provocaram qualquer alteração estatisticamente significativa na quantidade de alimento ingerido, duração do comportamento ingestivo e latência para iniciar a ingestão de alimento (Fig. 8).

O volume de água ingerido não foi alterado após o tratamento i.c.v. com as diferentes doses de GR; do mesmo modo, não foram verificadas modificações estatisticamente significantes na duração e latência para desencadear a resposta dipsogênica (Fig. 9).

A análise de variância dos dados comportamentais não-ingestivos mostrou que não ocorreram diferenças estatísticas na duração e latência para principiar os comportamentos de autolimpeza, locomoção, exploração do alimento e posturas típicas de sono depois da administração i.c.v. das doses de 3, 15 ou 30 nmol de GR. Entretanto, constataram-se diferenças significantes na duração do comportamento de imobilidade alerta

[K-W  $H(3,28) = 12,0$ ;  $p = 0,0074$ ]. A comparação com os valores-controle mostra que houve um aumento na duração do comportamento de exploração do alimento para as doses de 3 e 30 nmol de GR e uma redução na latência para iniciar esse comportamento quando foram administradas as doses de 15 e 30 nmol desse agonista serotoninérgico. Além disso, foi observado um aumento na duração do comportamento de autolimpeza após as injeções de 3 e 30 nmol de GR e uma tendência de aumento para esse comportamento na dose de 15 nmol. Uma redução na duração do comportamento de imobilidade alerta depois do tratamento com as doses de 15 e 30 nmol desse agonista também foi constatada (Tab. 7 e Tab. 8).

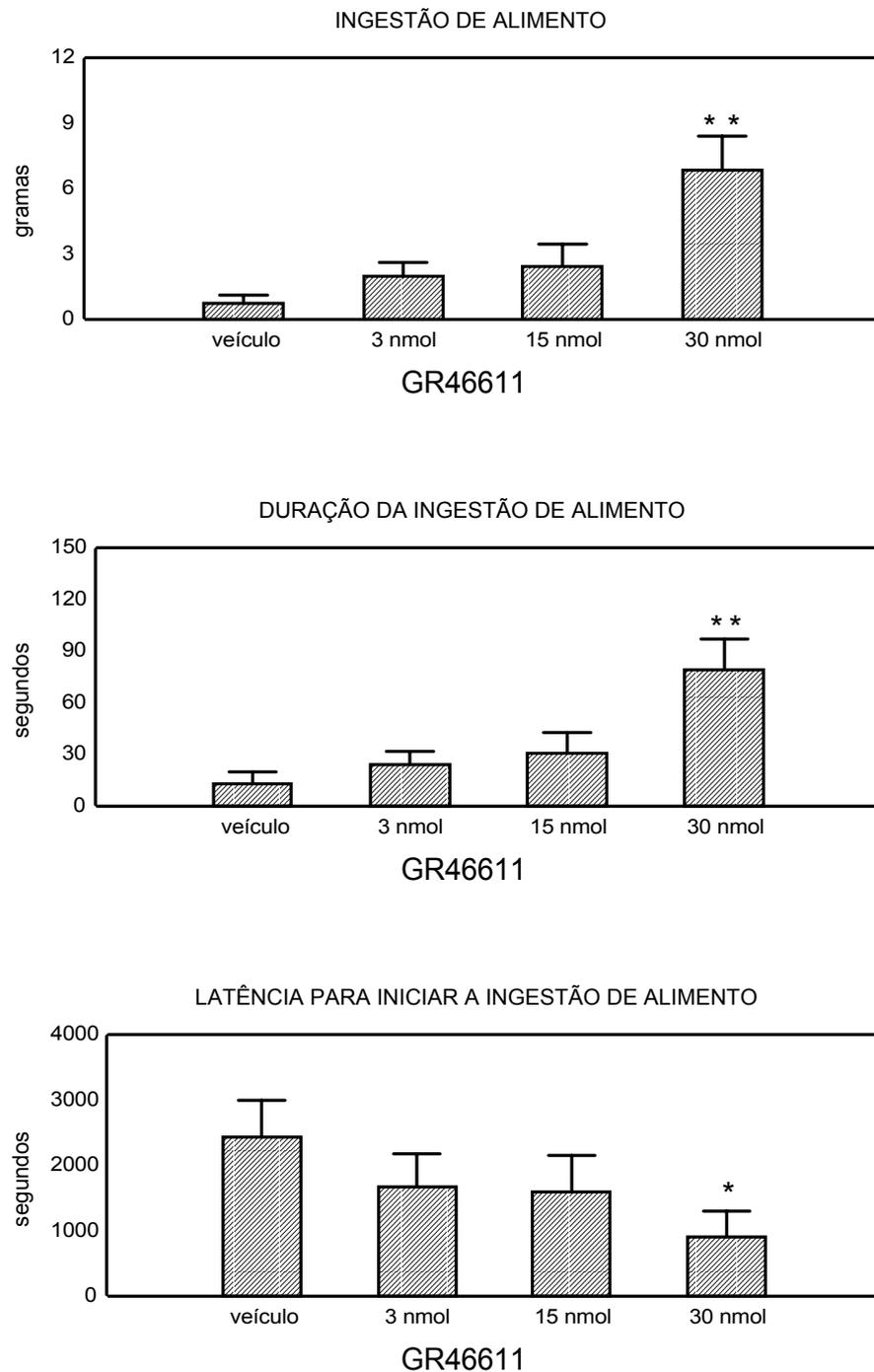


Figura 8: Administração i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de GR (3, 15 ou 30 nmol) e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média a partir do tratamento efetuado em 8 pombos. (\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo. (\*\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo e às demais doses de GR.

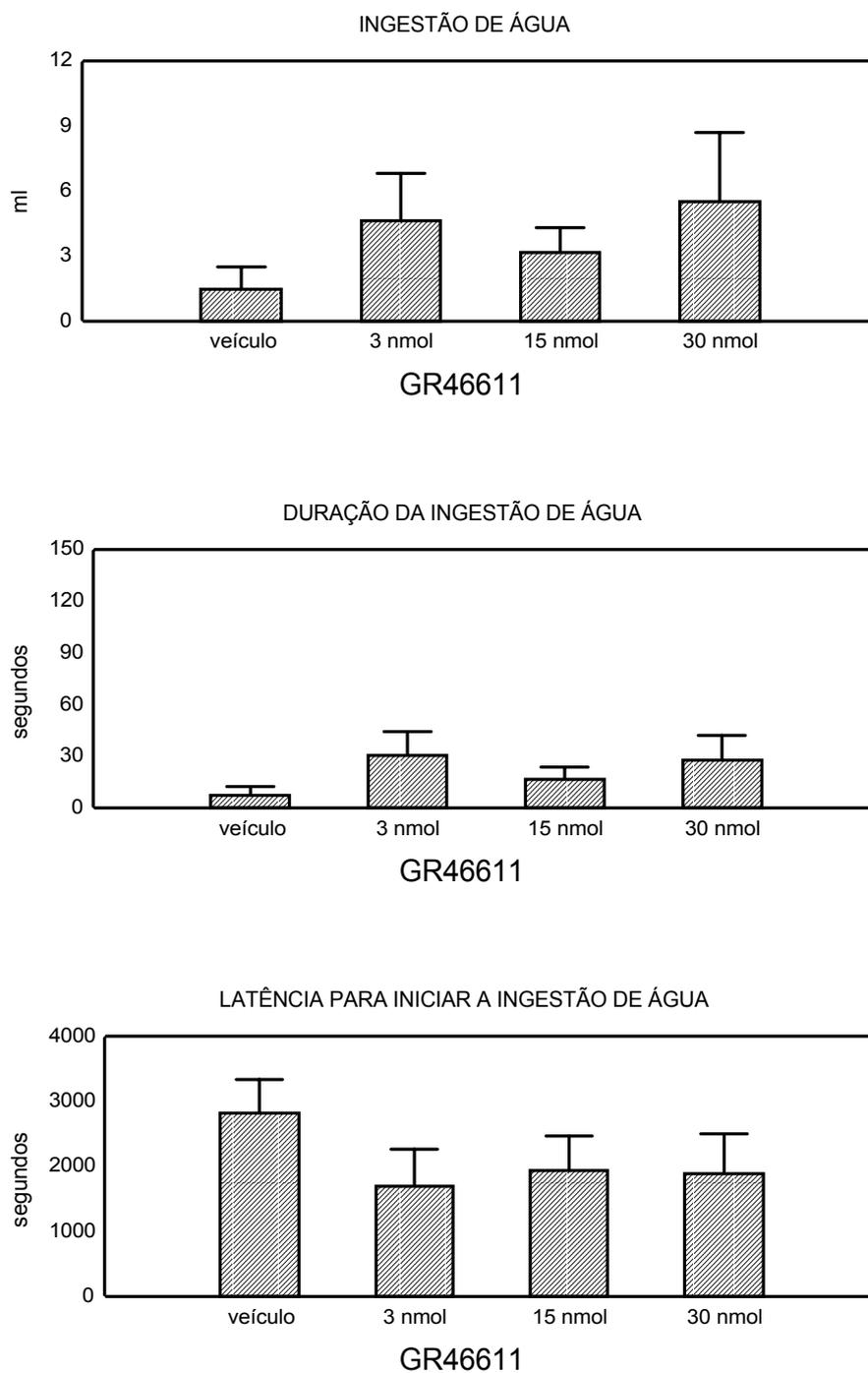


Figura 9: Administração i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de GR (3, 15 ou 30 nmol) e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média a partir do tratamento efetuado em 8 pombos.

Tabela 7: Duração total (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de GR (3, 15 ou 30 nmol) em pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 8 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>GR 3 nmol</b>	<b>GR 15 nmol</b>	<b>GR 30 nmol</b>
Autolimpeza	368,00 $\pm$ 184,36	775,87 $\pm$ 120,33*	1007,00 $\pm$ 234,27	784,50 $\pm$ 180,00*
Locomoção	77,50 $\pm$ 16,09	213,87 $\pm$ 139,62	90,87 $\pm$ 32,15	56,62 $\pm$ 13,38
Imobilidade alerta	2390,75 $\pm$ 225,33	1853,75 $\pm$ 203,15	1204,87 $\pm$ 278,34*	872,25 $\pm$ 211,43*
Posturas típicas de sono	710,00 $\pm$ 252,57	548,87 $\pm$ 228,02	875,00 $\pm$ 375,22	1351,87 $\pm$ 207,11
Exploração do alimento	33,25 $\pm$ 19,40	152,12 $\pm$ 40,06*	374,62 $\pm$ 188,20	427,87 $\pm$ 98,81*

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

Tabela 8: Latência (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) para iniciar a exibição dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção i.c.v. de veículo (ác. ascórbico 5%) ou de GR (3, 15 ou 30 nmol) em pombos saciados. Os dados foram obtidos a partir do tratamento efetuado em 8 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>GR 3 nmol</b>	<b>GR 15 nmol</b>	<b>GR 30 nmol</b>
Autolimpeza	489,50 $\pm$ 226,21	145,12 $\pm$ 57,22	66,00 $\pm$ 20,86	104,00 $\pm$ 29,80
Locomoção	667,62 $\pm$ 429,44	598,75 $\pm$ 356,80	634,62 $\pm$ 440,24	375,12 $\pm$ 253,61
Imobilidade alerta	2,65 $\pm$ 1,62	4,00 $\pm$ 3,00	2,12 $\pm$ 1,12	17,5 $\pm$ 11,06
Posturas típicas de sono	1476,62 $\pm$ 424,43	1993,50 $\pm$ 480,75	1790,62 $\pm$ 544,57	763,12 $\pm$ 107,42
Exploração do alimento	2384,37 $\pm$ 574,47	1886,12 $\pm$ 458,92	743,50 $\pm$ 429,69*	909,00 $\pm$ 386,71*

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

## 6 ADMINISTRAÇÃO DE KETANSERINA, RITANSERINA E VEÍCULO NA APV E SEUS EFEITOS SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTO E DE ÁGUA E COMPORTAMENTOS NÃO-INGESTIVOS EM POMBOS SACIADOS

### 6.1 Ingestão de alimento

A análise estatística de uma via mostrou que, após o tratamento com KET, RIT e veículo na APV, não houve diferença estatística no consumo de alimento. Além disso, não ocorreram alterações estatisticamente significantes na duração ou na latência para iniciar a ingestão de alimento (Fig. 10).

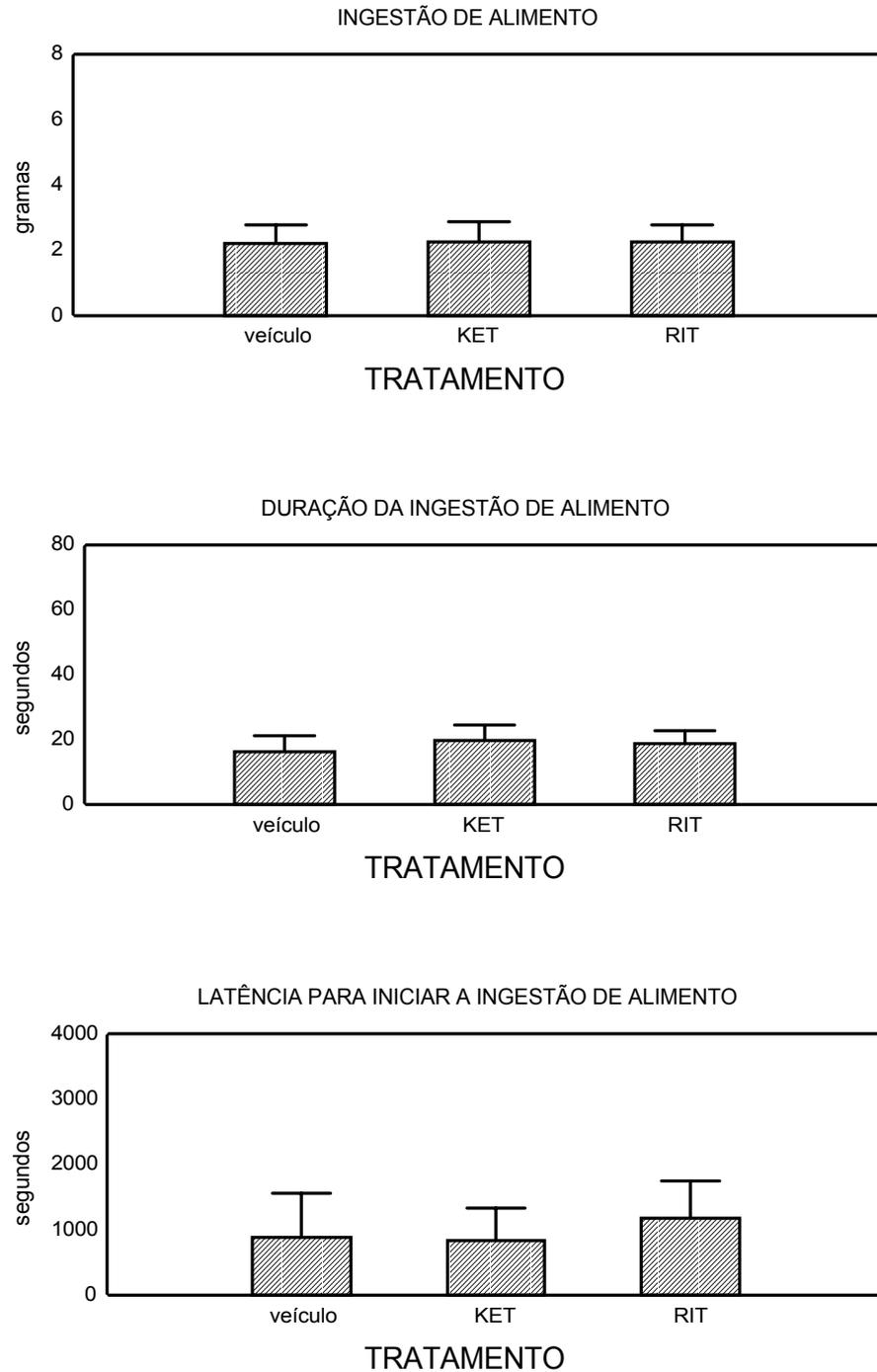


Figura 10: Administração de veículo (DMSO), KET (20 nmol) ou RIT (20 nmol) na APV e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido, duração total e latência para iniciar o comportamento de ingestão de alimento em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos tratados localmente com 20 nmol de KET e 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos tratados localmente com 20 nmol de RIT.

## 6.2 Ingestão de água

De acordo com análise de variância, não houve diferenças estatisticamente significantes na quantidade de água ingerida, duração e latência após os tratamentos efetuados na APV com KET, RIT ou veículo. Embora tenha ocorrido uma tendência em diminuir o volume de água ingerido depois da administração de 20 nmol de KET na APV de pombos saciados, a comparação com os valores-controle indicou a inexistência de diferenças estatisticamente significantes (Fig. 11).

## 6.3 Comportamentos não-ingestivos

A avaliação das modificações nos comportamentos não-ingestivos provocadas pela injeção de 20 nmol de KET e a mesma dose de RIT na APV de pombos saciados, mostrou que não ocorreram alterações significantes na duração total e latência para iniciar os comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta e exploração do alimento. Entretanto, a comparação com os valores-controle mostra que houve um aumento significativo na duração das posturas típicas de sono, além de uma redução na latência para exibição desse comportamento após a administração de RIT na dose de 20 nmol na APV. Ocorreu também uma tendência de aumento na duração das posturas típicas de sono depois do tratamento com KET nesse local (Tab. 9 e Tab.10).

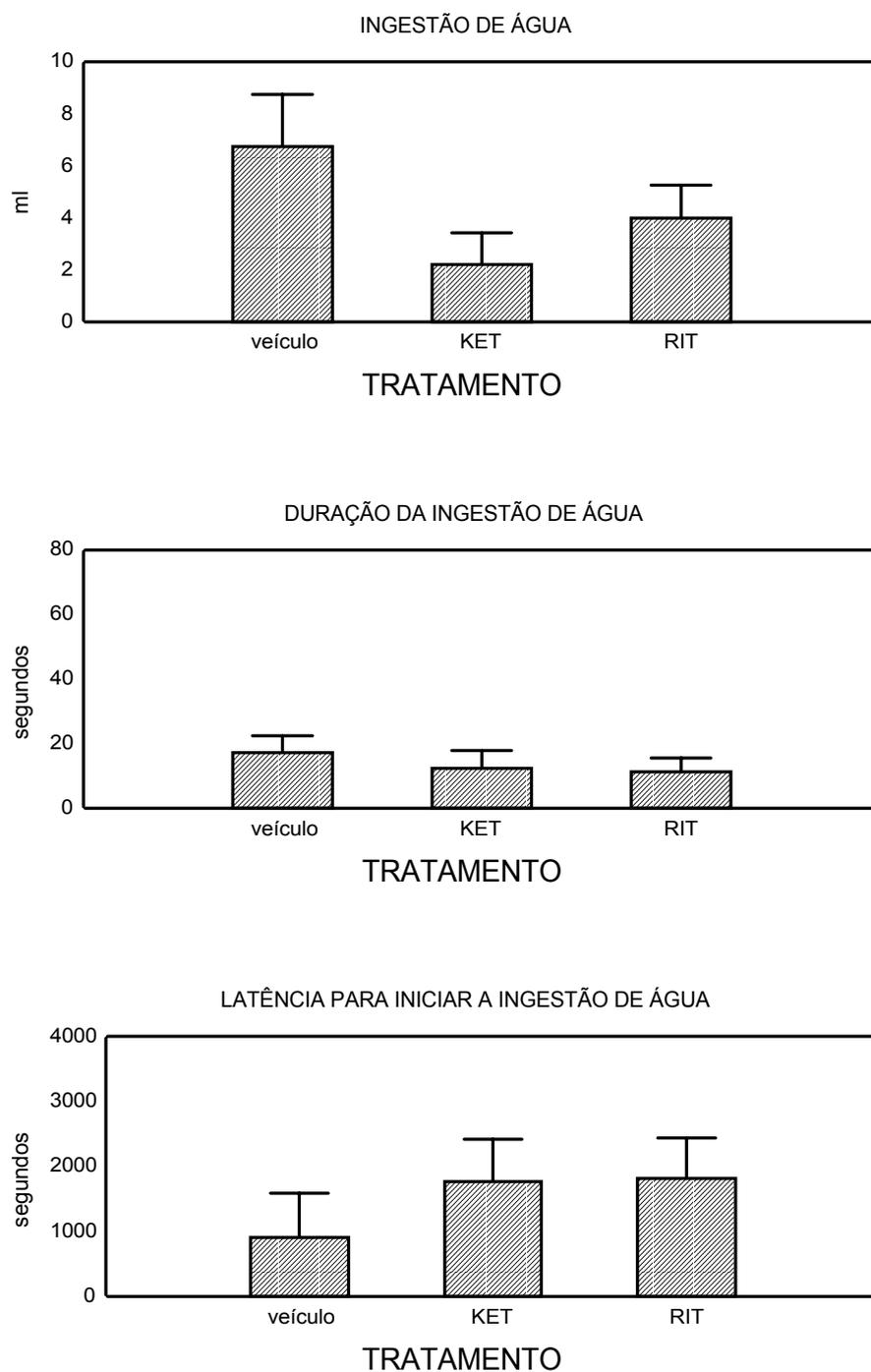


Figura 11: Administração de veículo (DMSO), KET (20 nmol) ou RIT (20 nmol) na APV e seus efeitos sobre a quantidade de água ingerida, duração total e latência para iniciar o comportamento dipsogênico em pombos saciados. A avaliação comportamental foi realizada durante 1 hora. Os dados representam a média  $\pm$  erro-padrão da média de 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos tratados localmente com 20 nmol de KET e 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos tratados localmente com 20 nmol de RIT.

Tabela 9: Duração total (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de veículo (DMSO), ou de 20 nmol de KET, ou de 20 nmol de RIT na APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de KET em 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos ou após a injeção local de RIT em 7 diferentes da APV de 7 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>KET 20 nmol</b>	<b>RIT 20 nmol</b>
Autolimpeza	942,20 $\pm$ 136,94	728,14 $\pm$ 131,53	790,42 $\pm$ 140,74
Locomoção	148,20 $\pm$ 45,81	99,00 $\pm$ 24,15	74,42 $\pm$ 21,12
Imobilidade alerta	1600,20 $\pm$ 344,98	1140,28 $\pm$ 234,00	1062,00 $\pm$ 140,62
Posturas típicas de sono	592,80 $\pm$ 282,97	1249,71 $\pm$ 209,02	1408,28 $\pm$ 210,03*
Exploração do alimento	283,00 $\pm$ 101,93	350,42 $\pm$ 118,56	241,42 $\pm$ 56,84

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

Tabela 10: Latência (média  $\pm$  erro-padrão da média, em segundos) para iniciar a exibição dos comportamentos de autolimpeza, locomoção, imobilidade alerta, posturas típicas de sono e exploração do alimento, observados durante 1 hora após a injeção de veículo (DMSO), ou de 20 nmol de KET, ou de 20 nmol de RIT na APV de pombos saciados. Os dados foram obtidos após a injeção local de KET em 7 sítios diferentes da APV de 7 pombos ou após a injeção local de RIT em 7 diferentes da APV de 7 pombos.

<b>Comportamentos</b>	<b>Veículo</b>	<b>KET 20 nmol</b>	<b>RIT 20 nmol</b>
Autolimpeza	57,20 $\pm$ 19,01	83,42 $\pm$ 27,03	48,85 $\pm$ 24,66
Locomoção	216,60 $\pm$ 195,70	131,28 $\pm$ 63,18	1172,00 $\pm$ 507,16
Imobilidade alerta	19,80 $\pm$ 18,80	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Posturas típicas de sono	1905,40 $\pm$ 536,80	783,14 $\pm$ 221,41	702,42 $\pm$ 102,21*
Exploração do alimento	827,00 $\pm$ 693,48	570,71 $\pm$ 433,42	951,71 $\pm$ 591,69

(\*)  $p < 0,05$  em relação ao veículo

**DISCUSSÃO**

Os dados obtidos no presente trabalho mostram que a administração de MET (antagonista não-seletivo de receptores 5-HT<sub>1/2</sub>) na APV de pombos saciados provocou aumento na quantidade de alimento ingerido durante o período de 1 hora de sessão experimental. Essa hiperfagia foi acompanhada por um aumento na duração total da resposta ingestiva, sem afetar, entretanto, a latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento. Esses dados indicam que o bloqueio dos receptores serotoninérgicos na APV, induzido pelo tratamento com MET, provoca hiperfagia, retardando os sinais que causam a saciação, mas não afeta os sinais que induzem à saciedade. Além disso os resultados também sugerem que na APV de aves saciadas existiria o predomínio de um tônus serotoninérgico impedindo ou atenuando o consumo de alimento. Quando houvesse uma redução dessa influência, através da administração de MET e do bloqueio de receptores 5-HT<sub>1/2</sub>, ocorreria uma resposta hiperfágica.

As alterações na ingestão de alimento provocadas pela administração de MET na APV de pombos parecem ser conseqüências de um efeito específico da droga, já que não houve comprometimento motor ou sensorial nem alterações notáveis em outros comportamentos não-ingestivos emitidos pelos animais. Entretanto, ocorreu um aumento na duração do comportamento de exploração do alimento após o tratamento com MET. Essa alteração na duração do comportamento de exploração do alimento foi sempre seguida por um aumento na resposta ingestiva, sugerindo que essa modificação seja decorrente a uma maior proximidade do animal ao “alvo de interesse”, o alimento, um efeito que parece estar intimamente relacionado à influência desse antagonista serotoninérgico sobre a ingestão de alimento.

A proximidade existente entre a APV e a região intracerebroventricular poderia criar a possibilidade de a MET, quando injetada na APV, difundir-se para o interior do terceiro ventrículo e, seguindo o fluxo do fluido cerebrospinal, atingir outras estruturas localizadas mais caudalmente no neuroeixo. Assim, os efeitos hiperfágicos causados pela administração de MET na APV poderiam ser conseqüência da sua interação com receptores

serotonérgicos situados nesses locais, e não propriamente na APV. Os dados obtidos após a administração i.c.v. de MET, comparados àqueles alcançados após administração desse antagonista na APV de pombos saciados, demonstram que a hiperfagia ocorrida se dá realmente pela presença de receptores serotonérgicos na APV e que estes estão envolvidos na geração de sinais que determinam a quantidade de alimento ingerido e que definem o término da refeição, sem interferir no intervalo entre as refeições.

Semelhante aos dados relacionados à administração de MET, os resultados obtidos depois do tratamento com GR (agonista de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>) na APV de pombos saciados mostraram que a dose de 0,6 nmol e mais eficazmente a de 6 nmol desse agonista serotonérgico foram capazes de induzir um aumento no consumo de alimento, além de aumentar a duração desse comportamento, sem que houvesse alterações na latência para o início do primeiro episódio de ingestão alimentar.

Esses resultados sugerem que, após a administração de GR, ocorreu uma diminuição na transmissão serotonérgica na APV, já que várias evidências indicam que os receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> podem estar localizados pré-sinápticamente, com predominância em terminais axônicos (escasso ou ausente ao nível somatodendrítico) (Waeber e cols. 1990; Pauwels, 1997), e sua ativação levaria a uma diminuição na exocitose de 5-HT (Waeber e cols, 1990; Starkey e Skingle, 1994; Skingle e cols, 1995; El Mansari e Blier, 1996; Pauwels, 1997). Assim, a inibição da transmissão serotonérgica na APV induzida pela administração de GR nesse local induz à hiperfagia, adiando os sinais que causam a saciação, sem modificar, contudo, os sinais que levam à saciedade. De acordo com esses resultados, o controle serotonérgico na APV sobre a ingestão de alimento parece envolver a presença de receptores 5-HT<sub>1B</sub> e/ou 5-HT<sub>1D</sub>.

Entretanto, não se pode excluir a participação dos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, pós-sinápticamente, uma vez que eles também parecem funcionar como heteroreceptores, conforme indicado por estudos em neurônios não-serotonérgicos, nos quais a 5-HT parece

inibir a liberação de acetilcolina, glutamato, dopamina, noradrenalina e ácido  $\gamma$ -aminobutírico (Pauwels, 1997; Roberts e cols., 2001). Desse modo, os dados do presente trabalho, somados àqueles obtidos por Zeni e cols. (2000), os quais apontam que a ativação de receptores glutamatérgicos NMDA e AMPA, através da administração i.c.v. de seus agonistas, NMDA e AMPA, respectivamente, suprime a ingestão de alimento de pombos em jejum de 24 horas, e ao contrário disso, a inibição desses receptores pelo tratamento i.c.v. com antagonista NMDA, MK-801, e AMPA, CNQX, em pombos saciados, eleva o consumo de alimento, levantam a possibilidade de que esses receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> poderiam estar localizados em neurônios glutamatérgicos encontrados na APV. Dessa forma, a ativação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> pelo GR poderia inibir a liberação de glutamato, induzindo à hiperfagia. Por outro lado, é ainda necessário investigar a presença de neurônios glutamatérgicos na APV.

Embora não se tenham utilizado abordagens experimentais que pudessem esclarecer se a hiperfagia resultante da administração de GR na APV de pombos saciados é devida à ativação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> pré ou pós-sinápticos, algumas possibilidades podem ser sugeridas. Os dados obtidos em nosso trabalho levam a crer que a hiperfagia induzida pela injeção de GR pode ter relação com mecanismos pré-sinápticos, uma vez que em mamíferos, mais especificamente em roedores, a administração de agonistas de receptores 5-HT<sub>1B</sub> parece estar relacionada à ativação desses receptores pós-sinápticamente, causando hipofagia (Kennett e cols., 1987; Bovetto e Richard, 1995; Halford e Blundell, 1996b; Schreiber e cols., 2000; Halford e Blundell, 2000; De Vry e cols., 2003). Ademais, os dados obtidos em nosso trabalho indicam que o bloqueio de receptores 5-HT<sub>1/2</sub> pós-sinápticos na APV, após a administração de MET neste local, causa hiperfagia em pombos saciados. Ao contrário disso, para que a hiperfagia constatada após o tratamento com GR na APV de pombos seja decorrente de mecanismos pós-sinápticos, seria necessário que esses receptores estivessem localizados em neurônios não-serotonérgicos, como, por exemplo, neurônios glutamatérgicos, inibindo a liberação de glutamato e

induzindo aumento no consumo de alimento (ver discussão anterior), ou que esses receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> pós-sinápticos em pombos fossem funcionalmente diferentes daqueles observados em mamíferos, já que nesses últimos a ativação desses receptores pós-sinápticos causa hipofagia.

Pôde-se observar que a utilização i.c.v. de 30 nmol de GR nos pombos saciados bloqueou o processo de saciação, uma vez que elevou a quantidade de alimento consumido e a duração total desse comportamento. Além disso, houve uma alteração nos sinais de saciedade, visto que a latência foi diminuída. Esses dados corroboram aqueles obtidos após injeções locais de GR na APV; entretanto, nesse local, apenas os sinais de saciação foram alterados pela ativação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>. Assim, é provável que outros distritos neuronais possuam receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> exercendo influência sobre os sinais de saciedade, haja vista que o GR administrado diretamente no líquido cefalorraquidiano pode atingir diversas áreas situadas ao longo do eixo neuronal e banhadas por esse líquido.

Esses dados também sugerem que os efeitos hiperfágicos causados pela administração de GR na APV são consequência da interação dessa droga com receptores serotoninérgicos situados nesse local, e não em outras estruturas possivelmente atingidas devido a uma difusão do GR para o interior do terceiro ventrículo. Para obter-se uma resposta hiperfágica com injeções i.c.v. de GR, são necessárias doses extremamente maiores que àquelas administradas no tegmento. Além disso, foi verificada uma redução na latência para iniciar a ingestão de alimento quando esse agonista serotoninérgico foi administrado por via i.c.v., fato não observado após a administração na APV.

As injeções i.c.v. de 3 e 30 nmol de GR provocaram um aumento no comportamento de autolimpeza, que envolve intensa atividade orofacial. Estudos eletrofisiológicos mostraram que populações de neurônios dos núcleos dorsal e mediano da rafe são ativadas seletivamente durante movimentos orofaciais (mastigar, lambem e limpar a superfície do corpo com a língua) em gatos (Valle e cols., 1989; Fornal e cols., 1996). Com base nisso,

tem-se sugerido que as alterações na ingestão de alimento obtidas com o agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, o 8OH, poderiam ser secundárias à estimulação do comportamento de roer (uma atividade orofacial) (Fletcher, 1987; Montgomery e cols., 1988), embora outros estudos apontem uma possível especificidade do comportamento ingestivo induzido por essa droga (Dourish e cols., 1985a).

Com relação aos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, estudos indicam que a ativação desses receptores, induzida pela administração isolada de GR, não provoca ativação locomotora em cobaias; no entanto, a resposta locomotora induzida por agonistas seletivos de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, como o 8OH e a buspirona, é intensificada quando o GR é administrado em conjunto com essas drogas (O'Neill e Sanger, 1999). Não se pode descartar a possibilidade de que a hiperfagia, provocada em pombos pela administração i.c.v. de GR, seja decorrente de um aumento na atividade motora ou orofacial por meio da ativação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, visto que esse agonista provocou um aumento no comportamento de autolimpeza. Somado a isso, o GR também parece induzir alterações na autolimpeza quando administrado no tegmento, haja vista que a dose de 6 nmol desse agonista na APV causou uma redução na latência para o início desse comportamento. Com base nisso, seria plausível associar a hiperfagia induzida pela injeção de GR com um aumento em atividades motoras orofaciais, como a autolimpeza.

Por outro lado, as alterações na ingestão de alimento ocasionadas pela administração de GR na APV de pombos saciados parecem ser conseqüências de um efeito específico da droga, uma vez que tanto a intensidade da ingestão de alimento como a duração e a latência para iniciar essa resposta obtidas após a injeção de GR são semelhante àsquelas observadas depois da injeção de MET no mesmo local, a qual provoca hiperfagia sem alterar a maioria dos comportamentos não-ingestivos, com exceção do comportamento de exploração do alimento. Além disso, as modificações no comportamento de exploração do alimento, após o tratamento com o GR na APV, parecem ser semelhante ao ocorrido posteriormente à administração de MET.

Em aves não há nenhuma evidência sobre a participação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> no controle neuronal da ingestão de alimento. Contudo, experimentos realizados em nosso laboratório têm demonstrado a participação desses receptores no controle da disponibilidade de substratos energéticos em pombos. Foi mostrado que a injeção i.c.v. de GR causa uma elevação nas concentrações de glicose e ácidos graxos livres no plasma desses animais (Zizemer, 1999). Adicionalmente, Sabi (2003) demonstrou que a ativação dos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, induzida pelo tratamento com GR no hipotálamo posterior medial, provoca um aumento na atividade lipolítica, sugerindo que receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> localizados nessa região do hipotálamo participam da ativação da lipólise em pombos.

Com o objetivo de avaliar a participação de outros subtipos de receptores serotoninérgicos envolvidos no controle neuronal da ingestão de alimento, foram realizadas administrações de 8OH na APV de pombos saciados. Assim como o GR, que é um agonista de receptores pré-sinápticos 5-HT<sub>1B/1D</sub>, o 8OH também é um agonista de auto-receptores, porém do subtipo 5-HT<sub>1A</sub>. A ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> inibe a liberação de 5-HT na fenda sináptica (Hjorth e Sharp, 1991; Starkey e Skingle, 1994; Sharp e cols., 1996) pela diminuição dos níveis de disparo dos neurônios serotoninérgicos (Montigny e cols., 1984). Um estudo feito por Gleeson e cols. (1992) indica que em pombos o 8OH desencadearia um efeito semelhante sobre a liberação de 5-HT, uma vez que ocorreu uma redução nos níveis do ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA), um metabólito da 5-HT, no líquido cefalorraquidiano após a injeção i.c.v de 8OH.

A administração de 8OH na APV de aves saciadas não gerou modificações na quantidade de alimento consumido, duração ou latência para o início do primeiro episódio de ingestão de alimento. Além disso, nenhuma evidência de efeitos inespecíficos da droga foi observada, como comprometimento motor (por exemplo, a hiperatividade), ou alterações na duração da resposta ou na latência para exibir comportamentos não-ingestivos, como modificações nas posturas típicas de sono, que de maneira geral poderiam alterar o consumo alimentar, mascarando possíveis efeitos do 8-OH sobre a resposta ingestiva.

Experimentos realizados por Steffens (1999) em nosso laboratório, mostraram que a administração i.c.v. de 8OH em pombos saciados provocou hiperfagia e que essa administração retardou o processo de saciação, aumentando a duração da resposta de ingestão de alimento e a quantidade de alimento ingerido. O processo de saciedade também foi alterado devido à redução na latência para iniciar o consumo de alimento. Somado aos efeitos sobre a ingestão de alimento, constataram-se alterações no consumo de água, com um aumento na ingestão hídrica, duração total e redução na latência para o início desse comportamento. Então, é possível que receptores 5-HT<sub>1A</sub>, envolvidos com o controle da ingestão de alimento, possam estar localizados em outras regiões do SNC.

Estudos realizados por Häckl (2001) mostram que a administração de 8OH em diversos sítios do tegmento pontomesencefálico destacou a rafe superior (que inclui as estruturas paramedianas e da linha média do tegmento pontomesencefálico) como o local onde o tratamento com esse agonista serotoninérgico exerceu os efeitos mais expressivos sobre os comportamentos ingestivos. Embora as injeções de 8OH na linha média tenham desencadeado aumentos significantes tanto na ingestão de alimento quanto na de água, os efeitos dipsogênicos foram mais intensos e consistentes que os hiperfágicos. Desse modo, receptores 5-HT<sub>1A</sub> dessa região parecem estar envolvidos no controle de ingestão de água e provavelmente também no de alimento.

Vale ressaltar que, nos experimentos efetuados por Steffens e cols. (1997), as injeções i.c.v. de 8OH provocaram um grande aumento no consumo de alimento (12 g) quando comparado com a média de consumo alimentar (2,6 g) obtida após a aplicação deste tratamento na linha média no estudo realizado por Häckl (2001). A média do consumo de água observada após as injeções i.c.v. de 8OH foi de 11 ml (Steffens e cols, 1997), enquanto que na linha média foi de 6,7 ml (Häckl, 2001). Assim, ao passo as injeções de 8OH na linha média aumentam principalmente o consumo de água (Häckl, 2001), a mesma droga injetada no ventrículo lateral provoca, além da ingestão hídrica, efeitos específicos sobre ingestão de alimento (Steffens e cols, 1997). Segundo Häckl (2001), esses dados

sugerem que, enquanto efeitos dipsogênicos do 8OH podem ser mediados principalmente por receptores 5-HT<sub>1A</sub> localizados na linha média do tegmento pontomesencefálico, os efeitos hiperfágicos do 8OH injetado i.c.v. podem estar relacionados a interações dessa droga com sítios receptores situados mais rostralmente no neuroeixo. Apesar dessa hipótese, parece não haver relação entre a presença ou ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> com a mediação da regulação serotoninérgica da ingestão de alimento ou de água na APV, uma vez que nenhuma alteração nos comportamentos ingestivos foi verificada após a injeção de 6 nmol 8OH nesse local.

Além da investigação de subtipos de receptores serotoninérgicos, como o 5-HT<sub>1B/1D</sub> e 5-HT<sub>1A</sub>, no controle serotoninérgico da ingestão na APV de pombos saciados, o presente estudo também avaliou a participação de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> com a utilização de KET e RIT. A KET é um antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>2A</sub>, ao passo que a RIT é um antagonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>. As injeções na APV, tanto de KET como de RIT, não desencadearam modificações no consumo de alimento nem na duração e latência para principiar a ingestão de alimento. De maneira geral, nenhuma alteração na duração das respostas ou nas latências para exibir a maioria dos comportamentos não-ingestivos foi observada; entretanto, no que se refere às posturas típicas de sono, pôde-se constatar que a administração de RIT na APV induziu uma redução na latência e um aumento na duração total desse comportamento. Adicionalmente, o tratamento com KET nesse mesmo local, mostrou uma leve tendência em aumentar a duração das posturas típicas de sono.

Ainda não está muito claro se a ausência de modificações na ingestão de alimento provocadas pela administração de RIT e de KET seja resultado de um possível efeito hipnagênico induzido por essas drogas. Contudo, foi observado que a administração i.c.v. de 28 e 56 nmol de DOI, um agonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, em pombos realimentados após jejum de 24 horas parece inibir o sono, pois nenhuma das aves exibiu posturas típicas de sono depois de ambos os tratamentos. Portanto, parece que os efeitos hipofágicos provocados pela administração central de DOI em pombos submetidos ao jejum podem

estar associados a uma hiperatividade (Steffens, 1999). É provável, que ao se bloquear os receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> com a RIT e os 5-HT<sub>2A</sub> com a KET, tenham-se efeitos opostos àqueles obtidos com o DOI e seja observado um aumento na duração das posturas típicas de sono. Apesar dessas evidências, estudos mais detalhados devem ser desenvolvidos com o objetivo de caracterizar melhor a participação dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> no controle da ingestão de alimento pela APV.

Resultados do presente estudo também indicaram que a administração de MET, GR, 8OH, KET ou RIT na APV de pombos saciados foram ineficazes para induzir uma resposta dipsogênica, embora tenha ocorrido uma tendência em diminuir o volume de ingestão de água naqueles animais que foram tratados com KET na APV. Dados obtidos em nosso laboratório mostraram que a administração i.c.v. de 5-HT provocou um potente efeito dipsogênico, tanto em pombos saciados como naqueles privados de alimento sólido. Além disso, a administração i.c.v. de agonistas de receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 8OH e DOI, respectivamente, causaram aumento na ingestão de água em pombos, em ambas condições nutricionais, muito semelhante àquele obtido com o tratamento i.c.v. de 5-HT (Steffens, 1999). Portanto, se a ativação ou o bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B/1D</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> na APV de pombos não alterou a ingestão hídrica, exclui-se a participação desses receptores presentes na APV no controle neuronal da ingestão de água. Apesar disso, não se pode desconsiderar totalmente a participação da APV no controle neuronal da ingestão hídrica, visto que não foi administrada a 5-HT ou mesmo outros agonistas ou antagonistas correspondentes aos diversos subtipos de receptores que interagem com esse neurotransmissor e que poderiam participar na regulação neuronal do comportamento dipsogênico pela APV.

É interessante destacar que tanto a administração i.c.v. de GR como de MET foram incapazes de provocar modificações no volume de água ingerido em pombos saciados. É provável que a participação dos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> sobre controle neuronal do comportamento ingestivo seja apenas nos circuitos serotoninérgicos envolvidos com a

ingestão de alimentos sólidos, e não com a ingestão hídrica. A injeção i.c.v. de MET manteve inalterada tanto a ingestão de alimento, como a ingestão hídrica nessas aves. É possível que a injeção i.c.v. desse antagonista possa atingir vários receptores serotoninérgicos situados ao longo no neuroeixo, e a inibição de diferentes subtipos de receptores em diversos distritos responsáveis pela manutenção da ingestão de água e alimento possam acabar anulando esses comportamentos. Apesar disso, houve uma leve tendência em diminuir o volume de água ingerido depois da administração da maior dose de MET (300 nmol), um efeito oposto ao verificado após a administração i.c.v. dos agonistas de receptores 5-HT<sub>1A</sub> ou 5-HT<sub>2A/2C</sub>, conforme relatado anteriormente.

Outros locais no SNC podem estar envolvidos no controle da ingestão hídrica em pombos. Os resultados obtidos num estudo realizado por Häckl (2001) mostram que a ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, após a administração de 8OH na rafe superior, aumentou significativamente o volume de água ingerido em pombos saciados, sugerindo a participação dessa estrutura no controle neuronal da ingestão hídrica. Além do que, Häckl (2001) demonstrou haver pericários imunorreativos à serotonina em diversos distritos da rafe, como estruturas paramedianas e da linha média do tegmento pontomesencefálico, e também regiões mais dorsolaterais desse tegmento. Assim, é possível que outras estruturas estejam envolvidas na modulação neuronal da ingestão de água, uma vez que em pombos (Challet e cols., 1996) e em outras aves (Yamada e Sano, 1985; Cozzi e cols, 1991) constatou-se que várias projeções originadas no tronco encefálico, com destaque àquelas originadas na rafe, estendam-se para diversos sítios prosencefálicos. Apesar disso, descarta-se a possibilidade de participação de receptores serotoninérgicos presentes no núcleo paraventricular de pombos (NPV) no controle neuronal da ingestão de água, pois estudos feitos em nosso laboratório mostraram que a administração de 5-HT ou MET não alterou em nenhum aspecto a ingestão hídrica em pombos saciados ou realimentados após jejum de 24 horas (Silva, 2001).

Ao contrário dos resultados alcançados em nosso trabalho com a administração de MET na APV de pombos saciados, o mesmo não pode ser observado com base na injeção desse antagonista serotoninérgico na APD desses animais. Na maioria dos sítios atingidos pelas injeções de MET na APD, não ocorreram alterações na ingestão de alimento acima dos critérios estabelecidos, e em média esses valores estavam bem abaixo daqueles verificados após o tratamento com MET na APV. Mesmo assim, não se pode afirmar com certeza que regiões mais dorsais da área pré-óptica de pombos não participem do controle da ingestão de alimento, já que foram observados em nossos experimentos alguns sítios nesse local (3 sítios), onde a administração de MET causou hiperfagia. Além do que, outros experimentos desenvolvidos em nosso laboratório também demonstraram que, no núcleo pré-óptico medial, o tratamento com MET causou, em 3 sítios, hiperfagia em pombos saciados. O tratamento com 5-HT nessa mesma região induziu um efeito hipofágico importante nas aves realimentadas após jejum de 24 horas (Silva, 2001). Esses dados sugerem a existência de pequenas áreas localizadas em regiões mais dorsais ou mediais da área pré-óptica participando do controle serotoninérgico da ingestão de alimento; no entanto, seria importante uma avaliação mais minuciosa dessa região.

Há poucas evidências na literatura que envolvam a área pré-óptica com o controle da ingestão alimentar em aves. Apesar disso, dados de nosso laboratório sugerem que receptores serotoninérgicos situados no núcleo pré-óptico medial estariam envolvidos no controle da ingestão de alimento em pombos (Silva, 2001). Resultados obtidos em nosso trabalho indicam a existência desses receptores na APV, sugerindo que eles exerçam uma influência sobre os mecanismos que induzem à saciação. Além disso, nossos dados também apontam que tanto a área pré-óptica de aves como a de mamíferos (Avery, 1971; Sahu e cols., 1988; Vaccarino e Hayward, 1988; Roscoe e Myers, 1991; Bouali e cols., 1995) participam dos mecanismos neuronais de regulação da ingestão de alimento.

Estudos têm revelado que a distribuição de fibras serotoninérgicas no SNC de aves é essencialmente similar àquela constatada em mamíferos (Yamada e Sano, 1985, Metzger e

cols., 2002). Um grande número de fibras serotoninérgicas foram encontradas no tubérculo olfativo, na banda diagonal, no núcleo tenia, no núcleo do trato frontoarquistriádico, no arquiestriado, na área septal, no núcleo hipotalâmico ventromedial, no núcleo mamilar, nos núcleos dorsolaterais, no tálamo dorsomedial e ventrolateral, no núcleo geniculado lateral, no núcleo istmo-óptico, no núcleo intercolicular, no locus ceruleus, na região olivar superior, nos núcleos da rafe, no núcleo olivar inferior, no órgão paraventricular e na área pré-óptica (Yamada e Sano, 1985). Além disso, através de técnicas de imunohistoquímica e de imunofluorescência, combinadas com transporte axonal retrógrado, foi observado que a distribuição de pericários, fibras e terminais que contêm 5-HT em pombos é muito semelhante à verificada nas demais aves, répteis e mamíferos. Não obstante, fibras e terminais imunorreativos à 5-HT foram encontrados, de um modo geral, distribuídos dentro do SNC de pombos e de modo particular, proeminentes em várias estruturas do telencéfalo e diencefalo, como o núcleo pré-óptico medial e magnocelular (Challet, e cols., 1996).

Concluindo, nosso estudo apontou a participação de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> presentes na APV de pombos na inibição tônica exercida pela 5-HT sobre a ingestão de alimento, especialmente sobre os sinais que induzem à saciação; e não naqueles que levam à saciedade. Entretanto, não podemos afirmar se a ativação desses receptores é pré ou pós-sináptica nem se somente os receptores 5-HT<sub>1B</sub>, ou 5-HT<sub>1D</sub>, ou os dois simultaneamente, são responsáveis pelos efeitos obtidos. Por outro lado, parece não haver envolvimento dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> presentes na APV com a regulação neuronal da ingestão de alimento em pombos, uma vez que a administração de 8OH, KET ou RIT não causaram modificações na resposta alimentar desses animais.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ARKLE, M.; EBENEZER, I. S. Ipsapirone suppresses food intake in food-deprived rats by na action at 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 408:273-276, 2000.
- ASTE, N.; BALTHAZART, J.; ABSIL, P.; GROSSMANN, R.; MÜLHBAUER, E.; VIGLIETTI-PANZICA, C.; PANZICA, G. C. Anatomical and neurochemical definition of the nucleus of the stria terminalis in japanese quail (*Cortunix japonica*). *J. Comp. Neurol.*, 396:141-157, 1998.
- AVERY, D. D. Intrahypothalamic adrenergic and cholinergic injection effects on temperature and ingestive behavior in the rat. *Neuropharmacology*, 10:753-763, 1971.
- BALDWIN, B. A.; RIVA, C. Effects of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-OH-DPAT on operant feeding in pigs. *Physiol. Behav.*, 58:611-613, 1995.
- BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38:1083-1152, 1999.
- BASKIN, D. G.; LATTEMANN, D. F.; SEELEY, R. J.; WOODS, S. C.; PORTE-JR., D.; SCHWARTZ, M. W. Interactive report insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res.*, 848:114-123, 1999.
- BEHZADI, G.; KALÉN, P.; PARVOPASSU F.; WIKLUND, L. Afferents to the median raphe nucleus of the rat: retrograde cholera toxin and wheat germ conjugated horseradish peroxidase tracing, and selective D-[3H]aspartate labelling of possible excitatory amino acid inputs. *Neuroscience*, 37:77-100, 1990.
- BENDOTTI, C.; SAMANIN, R. The role of putative 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the control of feeding in rats. *Life Sci.*, 41:635-642, 1987.
- BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 26:393-428, 2002.

- BLEVINS, J. E.; STANLEY, B. G.; REIDELBERGER, R. D. Brain regions where cholecystinin suppresses feeding in rats. *Brain Res.*, 860:1-10, 2000.
- BLUNDELL, J. E. Is there a role for serotonin (5-hydroxytryptamine) in feeding? *Int. J. Obes.*, 1(1):15-42, 1977.
- BLUNDELL, J. E. Pharmacological approaches to appetite suppression. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12:147-157, 1991.
- BLUNDELL, J. E.; LATHAM, C. J. Serotonergic influences on food intake: effect of 5-hydroxytryptophan on parameters of feeding behaviour in deprived and free-feeding rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 11:431-437, 1979.
- BLUNDELL, J. E. Serotonin and appetite. *Neuropharmacology*, 23:1537-1551, 1984.
- BONHAUS, D. W.; WEINHARDT, K. K.; TAYLOR, M.; DESOUZA, A.; MCNEELEY, P. M.; SZCZEPANSKI, K.; FONTANA, D. J.; TRINH, J.; ROCHA, C. L.; DAWSON, M. W.; FLIPINN, L. A.; EGLEN, R. M. RS-102221: a novel high affinity and selective, 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist. *Neuropharmacology*, 36:621-629, 1997.
- BOUALI, S. M.; FOURNIER, A.; ST-PIERRE, S.; JOLICOEUR, F. B. Effects of NPY and NPY<sub>2-36}</sub> on body temperature and food intake following administration into hypothalamic nuclei. *Brain Res. Bull.*, 36:131-135, 1995.
- BOVETTO, S.; RICHARD, D. Functional assesment of the 5-HT 1A-, 1B-, 2A/2C-, e 3-receptor subtypes on food intake and metabolic rate in rats. *Am. J. Physiol.*, 268:14-20, 1995.
- 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.

- CACCIA, S.; ANELI, M.; FRACASSO, C.; FRITTOLI, E.; GIORCELLI, P.; GOBBI, M., GARATTINI, S.; MENNINI, T. Anorectic effect and brain concentrations of d-fenfluramine in the marmoset: relationship to the in vivo and in vitro effects on serotonergic mechanisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol*, 347:306-312, 1993.
- CHALLET, E.; MICELI, D.; PIERRE, J.; REPÉRANT, J.; MASICOTTE, G.; HERBIN, M.; VESSELKIN, N. P. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the brain of the pigeon (*Columba livia*). *Anat. Embryol.*, 193:209-227, 1996.
- CHAPELOT, D.; MARMONIER, C.; THOMAS, F.; HANOTIN, C. Modalities of the food intake-reducing effect of sibutramine in humans. *Physiol. Behav.*, 68:299–308, 2000.
- COZZI, B.; PANZICA, C. V.; ASTE, N.; PANZICA, G. C. The serotonergic system in the brain of the japanese quail: an immunohistochemical study. *Cell Tissue Res.*, 263:271-284, 1991.
- DAVIDSON, C.; STAMFORD, J. A. Serotonin efflux in the rat ventral lateral geniculate nucleus assessed by fast cyclic voltammetry is modulated by 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> autoreceptores. *Neuropharmacology*, 35:1627-1634, 1996.
- DENBOW, D. M. Body temperature and food intake of turkeys following icv injections of serotonin. *Nutr. Behav.*, 1:301-308, 1984.
- DENBOW, D. M.; VAN KREY, H. P.; LACY, M. P.; DIETRICK, T. J. Feeding, drinking and body temperature of leghorn chicks: effects of icv injections of biogenic amines. *Physiol. Behav.*, 31:85-90, 1983.
- DENBOW, D. M.; VAN KREY, H. P.; CHERRY, J. A. Feeding and drinking response of young chicks to injections of serotonin into the lateral ventricle of the brain. *Poult. Sci.*, 61:150-155, 1982.

- DE VRY, J.; SCHREIBER, R.; DASCHKE, A.; JENTZSCH, K. R. Effects of serotonin 5-HT<sub>1/2</sub> agonists in a limited-access operant food intake paradigm in the rat. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 1:1-9, 2003.
- DE VRY, J.; SCHREIBER, R. Effects of selected serotonin 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptor agonists on feeding behavior: possible mechanism of action. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 24:341-353, 2000.
- DOURISH, C. T.; HUTSON, P. H.; CURZON, G. Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Res. Bull.*, 15:377-384, 1985a.
- DOURISH, C. T.; HUTSON, P. H.; CURZON, G. Low doses of the putative serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicit feeding in the rat. *Psychopharmacology*, 86:197-204, 1985b.
- DRYDEN, S.; FRANKISH, H. M.; WANG, K.; WILLIAMS, G. Increased feeding and neuropeptide Y (NPY) but not NPY mRNA levels in the hypothalamus of the rat following central administration of serotonin synthesis inhibitor p-chlorophenylalanine. *Brain Res.*, 724:232-237, 1996.
- EBENEZER, I. S. Effects of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist, 8-OH-DPAT, on operant food intake in non-deprived rats. *Neuroreport*, 3:62-64, 1992.
- EBENEZER, I. S.; PARROTT, R. F.; VELLUCCI, S. V. Effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT on operant food intake in food-deprived pigs. *Physiol. Behav.*, 67:213-217, 1999.
- EBENEZER, I. S.; VELLUCCI, S. V.; PARROTT, R. F. The differential effects of intravenously administered 8-OH-DPAT on operant food intake in satiated and food-

- deprived pigs are mediated by central 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Physiol. Behav.*, 73:223-227, 2001.
- EL MANSARI, M.; BLIER, P. Functional characterization of 5-HT<sub>1D</sub> autoreceptors on the modulation of 5-HT release in guinea-pig mesencephalic raphe, hippocampus and frontal cortex. *B. J. Pharmacol.*, 118:681-689, 1996.
- FLETCHER, P. J. 8-OH-DPAT elicits gnawing and eating of solid but not liquid foods. *Psychopharmacology*, 92:192-196, 1987.
- FLETCHER, P. J.; PATERSON, I. A. A comparison of the effects of tryptamine and 5-hydroxytryptamine on feeding following injection into the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 32:907-911, 1989.
- FORNAL, C. A.; METZLER, C. W.; MARROSU, F.; VALLE, L. E. R.; JACOBS, B. L. A subgroup of dorsal raphe serotonergic neurons in the cat is strongly activated during oral-buccal movements. *Brain Res.*, 716:123-133, 1996.
- GIBSON, E. L.; KENNEDY, A. J.; CURZON, G. D-Fenfluramine- and d-norfenfluramine-induced hypophagia: differential mechanisms and involvement of postsynaptic 5-HT receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 242:83-90, 1993
- GLEESON, S.; WEISSMAN, B. A.; SEGCEL, M. R.; BARRETT, J. E. Neurochemical effects of 5-HT<sub>1</sub> receptor ligands in pigeons. *Eur. J. Pharmacol.*, 229:109-115, 1992.
- HÄCKL, L. P. N. *Efeitos ingestivos de injeções de 8-OHDPAT em distritos pontomesencefálicos que contêm pericários imunorreativos à serotonina em pombos (Columba livia)*. Florianópolis, 2001. 101p. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina.

- 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(5):645-652, 1998.
- HALFORD, J. C. G.; BLUNDELL, J. E. Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 54:745-751, 1996a.
- HALFORD, J. C. G.; BLUNDELL, J. E. Separate system for serotonin and leptin in appetite control. *Ann. Med.*, 32(3):222-232, 2000.
- HALFORD, J. C. G.; BLUNDELL, J. E. The 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. *Physiol. Behav.*, 60:933-939, 1996b.
- HARTLEY, J. E.; FLETCHER, A. The effects of WAY-100135 and 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin on feeding in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 252:329-332, 1994.
- HEWITT, K. N.; LEE, M. D.; DOURISH, C. T.; CLIFTON, P. G. Serotonin 2C receptors agonists and the behavioural satiety sequence in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 71:691-700, 2002.
- HILLEBRAND, J. J. G.; WIED, D.; ADAN, R. A. H. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. *Peptides*, 23:2283-2306, 2002.
- HJORTH, S.; SHARP, T. Effect of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci.*, 48:1779-1786, 1991.
- HOEBEL, B. G. Neuroscience and appetitive behavior research: 25 years. *Appetite*, 29:119-113, 1997.

- HUTSON, P. H.; DOURISH, C. T.; CURZON, G. Evidence that hyperphagic response to 8-OH-DPAT is mediated by 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 150:361-366, 1988.
- HUTSON, P. H.; DOURISH, C. T.; CURZON, G. Neurochemical and behavioural evidence for mediation of the hyperphagic action of 8-OH-DPAT by 5-HT cell body autoreceptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 129:347-352, 1986.
- JHANWAR-UNIYAL, M.; MOORJANI, B.; KAHN, A. H. Indications of pre- and post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor interactions in feeding behavior and neuroendocrine regulation. *Brain Res.*, 646:247-257, 1994.
- KALRA, S. P.; DUBE, M. G.; PU, S.; XU, B.; HORVATH, T., L.; KALRA, P. S. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr. Rev.*, 20(1):68-100, 1999.
- KARTEN, J.; HODOS, W. A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (*Columba livia*). Baltimore, Maryland: *Johns Hopkins Press*, 1967.
- KENNETT, G. A.; CURZON, G. Potencies of antagonists indicate that 5-HT<sub>1C</sub> receptors mediate 1-(3-chlorophenyl)piperazine-induced hypophagia. *Br. J. Pharmacol.*, 103:2016-2020, 1991.
- KENNETT, G. A.; DOURISH, C. T.; CURZON, G. 5-HT<sub>1B</sub> agonists induce anorexia at a postsynaptic site. *Eur. J. Pharmacol.*, 141:429-435, 1987.
- KUENZEL, W. J.; TIENHOVEN, A. V. Nomenclature and location of avian hypothalamic nuclei and associated circumventricular organs. *J. Comp. Neurol.*, 206:293-313, 1982.
- KYRKOULI, S. E.; STANLEY, B. G.; SEIRAFI, R. D.; LEIBOWITZ, S. F. Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. *Peptides*, 11:995-100, 1990.

- MACKENZIE, R. G.; HOEBEL, B. G.; DUCRET, R. P.; TRULSON, M. E. Hyperphagia following intraventricular p-chlorophenylalanine-, leucine- or tryptophan-methyl esters: Lack of correlation with whole brain serotonin levels. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 10:951-955, 1979.
- MANCILLA-DÍAZ, J. M.; ESCARTÍN-PÉREZ, R. E.; LÓPEZ-ALONSO, V. E.; CRUZ-MORALES, S.E. Effect of 5-HT in mianserin-pretreated rats on the structure of feeding behavior. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 12:445–451, 2002.
- MACOR, J. E.; BURKHART, C. A.; HEYM, J. H.; IVES, J. L.; LEBEL, L. A.; NEWMAN, M. E.; NIELSEN, J. A.; RYAN, K.; SCHULZ, D. W.; TORGERSEN, L. K. 3-(1,2,5,6-tetrahydropyrid-4-yl)pyrrolo[3,2-b]pyrid-5-one: a potente and selective serotonin (5-HT<sub>1B</sub>) agonist and rotationally restricted phenolic analogue of 5-methoxy-3-(1,2,5,6-tetrahydropyrid-4-yl)indole. *J. Med. Chem.*, 33:2087-2093, 1990.
- MARTIN, L. P.; JACKSON, D. M.; WALLSTEN, C.; WAZCZAK, B. L. Electrophysiological comparison of 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists on dorsal raphe cell firing. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 288:820-826, 1999.
- METZGER, M.; TOLEDO, C.; BRAUN, K. Serotonergic innervation of the telencephalon in the domestic chick. *Brain Res. Bull.*, 57:547-551, 2002.
- MITCHELL, S. N.; GREENSLADE, R. G.; COOPER, J. LY393558, a 5-hydroxytryptamine reuptake inhibitor and 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptor antagonist: effects on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine in the guinea pig and rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 432:19-27, 2001.
- MONTGOMERY, A. M. J.; FLETCHER, P. J.; BURTON, M. J. Behavioral and pharmacological investigations of 5-HT hypophagia and hyperdipsia. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 25:23-28, 1986.

- MONTGOMERY, A. M. J.; WILLNER, P.; MUSCAT, R. Behavioural specificity of 8-OH-DPAT-induced feeding. *Psychopharmacology*, 94:110-114, 1988.
- MONTIGNY, C.; BLIER, P.; CHAPUT, Y. Electrophysiologically-identified serotonin receptors in the rat CNS. *Neuropharmacology*, 23:1511-1520, 1984.
- O'NEILL, M. F.; SANGER, G. J. GR potentiates 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated locomotor activity in the guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.*, 370:85-92, 1999.
- PAUWELS, P. J. 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptor antagonists. *Gen. Pharmac.*, 29:293,303, 1997.
- PEYRON, C.; PETIT, J. M.; RAMPON, C.; JOUVET, M.; LUPPI, P.H. Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience*, 82:443-468, 1998.
- REIDY, S. P.; WEBER, J. M. Leptin: an essential regulator of lipid metabolism. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 125:285-297, 2000.
- ROBERTS, C.; PRICE, G. W.; MIDDLEMISS, D. N. Ligands for the investigation of 5-HT autoreceptor function. *Brain Res. Bull.*, 56:463-469, 2001.
- ROSCOE, A. K.; MYERS, R. D. Hypothermia and feeding induced simultaneously in rats by perfusion of neuropeptide Y in preoptic area. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 39:1003-1009, 1991.
- ROWLAND, N. E.; CARLTON, J. Effects of fenfluramine on food intake, body weight, gastric emptying and brain monoamines in syrian hamsters. *Brain Res. Bull.*, 17:575-581, 1986.
- ROWLAND, N. E.; MORIEN, A.; LI, B. The physiology and brain mechanisms of feeding. *Nutrition*, 12:626-639, 1996.

- SAADOUN, A.; CABRERA, M.C. Effect of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonista 8-OH-DPAT on food and water intake in chickens. *Physiol. Behav.*, 75:271-275, 2002.
- SABI, M. *Participação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> no hipotálamo posterior medial e no núcleo intersticial da estria terminal no controle serotoninérgico da ingestão de alimento e da lipólise em pombos*. Florianópolis, 2003. 61p. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina.
- SAHU, A.; KALRA, P. S.; KALRA, S. P. Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentration in the paraventricular nucleus. *Peptides*, 9:83-86, 1988.
- SAINSBURY, A.; COONEY, G. J.; HERZOG, H. Hypothalamic regulation of enegy homeostasis. *Best Practice Clin. Endocrinol. Metabol.*, 16:623-637, 2002.
- SALLER, C. F.; STRICKER, E. M. Hyperphagia and increased growth in rats after intracerebroventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Science*, 192:385-387, 1976.
- SCHREIBER, R.; DE VRY, J. Role of 5-HT<sub>2C</sub> receptors in the hypophagic effect of m-CPP, ORG 37684 and CP-94,253 in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 26:441-449, 2002.
- SCHREIBER, R.; SELBACH, K.; ASMUSSEN, M.; HESSE, A.; DE VRY, J. Effects of serotonin<sub>1/2</sub> receptor agonists on dark-phase food and water intake in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 67:291-305, 2000.
- SHARP, T.; UMBERS, V.; HJORTH, S. The role of 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptores and  $\infty_1$ -adrenoceptors in the inhibition of 5-HT release – II NAN-190 and SDZ 216-525. *Neuropharmacology*, 35:735-741, 1996.

- SILVA, A. S. S. *Presença de receptores serotoninérgicos no núcleo paraventricular do hipotálamo e sua participação no controle neural da ingestão de alimento em pombos (Columba livia)*. Florianópolis, 2001. 74p. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina.
- SIMANSKY, K. J.; VAIDYA, A. H. Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonists. *Brain Res. Bull.*, 25:953-960, 1990.
- SIMANSKY, K. J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav. Brain Res.*, 73:37-42, 1996.
- SKINGLE, M.; SLEIGHT, A. J.; FENIUK, W. Effects of the 5-HT<sub>1D</sub> receptor antagonist GR127935 on extracellular levels of 5-HT in the guinea-pig frontal cortex as measured by microdialysis. *Neuropharmacology*, 34:377-382, 1995.
- STANLEY, B. G.; HA, L. H.; SPEARS, L. C.; DEE, M. G. Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, D,L- $\alpha$ -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, 1993a.
- STANLEY, B. G.; WILLETT, V. L.; DONIAS, H. W.; HA, L. H.; SPEARS, L. C. The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatory amino acid-elicited eating. *Brain Res.*, 630:41-49, 1993b.
- STARKEY, S. J.; SKINGLE, M. 5-HT<sub>1D</sub> as well as 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors modulate 5-HT release in the guinea-pig dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology*, 33:393-402, 1994.

- STEFFENS, S. M.; CASAS, D. C.; MILANEZ, B. C.; FREITAS, C. G.; PASCHOALINE, M. A.; MARINO-NETO, J. Hypophagic and dipsogenic effects of central 5-HT injections in pigeons. *Brain Res. Bull.*, 44:681-688, 1997.
- STEFFENS, S. M. *Identificação funcional de subtipos de receptores serotérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> no controle neural da ingestão de alimento e água em pombos (Columba livia)*. Florianópolis, 1999. 93p. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina.
- WOODS, S. C.; SEELEY, R. J. Adiposity signals and the control of energy homeostasis. *Nutrition*, 16:894 -902, 2000.
- STRUBBE, J., H.; DIJK, G. V. The temporal organization of ingestive behavior and its interaction with regulation of energy balance. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 26:485-498, 2002.
- VACCARINO, F. J.; HAYWARD, M. Microinjections of growth hormone-releasing factor into the medial preoptic area/suprachiasmatic nucleus region of the hypothalamus stimulate food intake in rats. *Regul. Pept.*, 21:21-28, 1988.
- VALLE, L. E. R.; FORNAL, C. A.; LITTO, W. J.; JACOBS, B. L. Serotonergic dorsal raphe unit activity related to feeding/grooming behaviors in cats. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 15:1283, 1989.
- VAN DER GUGTENA, J.; KLOETA, E. R.; VERSTEEGA, D. H. G.; SLANGENB, J. L. Regional hypothalamic catecholamine metabolism and food intake regulation in the rat. *Brain Res.*, 135: 325-336 , 1977.

- VARNÄS, K.; HALL, H.; BONAVENTURE, P.; SEDVALL, G. Autoradiografic mapping of 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptors in the post mortem human brain using [<sup>3</sup>H]GR 125743. *Brain Res.*, 915:47-57, 2001.
- VERGE, D.; DAVAL, G.; MARCINKIEWICZ, M.; PATEY, A.; MESTIKAWY, S. E.; GOZLAN, H.; HAMON, M. Quantitative autoradiography of multiple 5-HT<sub>1</sub> receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J. Neurosci.*, 6:3474-3482, 1986.
- VICKERS, S. P.; DOURISH, C. T.; KENNETT, G. A. Evidence that hypophagia induced by d-fenfluramine and d-norfenfluramine in the rat is mediated by 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Neuropharmacology*, 41:200-209, 2001.
- VOIGT, J.; KIENZLE, F.; SOHR, R.; REX, A.; FINK, H. Feeding and 8-OH-DPAT-related release of serotonin in the rat lateral hypothalamus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 65:183-189, 2000.
- WAEBER, C.; SCHOEFFTER, P.; HOYER, D.; PALACIOS, J. M. The serotonin 5-HT<sub>1D</sub> receptor: a progress review. *Neurochem. Res.*, 15:567-582, 1990.
- WAEBER, C.; SCHOEFFTER, P.; PALACIOS, J. M.; HOYER, D. 5-HT<sub>1D</sub> receptor in guinea-pig and pigeon brain: radioligand binding and biochemical studies. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 340:479-485, 1989.
- WELLMAN, P. J.; JONES, S. L.; MILLER, D. K. Effects of preexposure to dexfenfluramine, phentermine, dexfenfluramine-phentermine, or fluoxetine on sibutramine-induced hypophagia in the adult rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 75:103-114, 2003.
- WILLIAMS, G.; BING, C.; CAI, X. J.; HARROLD, J. A.; KING, P. J.; LIU, X. H. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol. Behav.*, 74:683-701, 2001.

WILLIS, G. L.; HANSKY, J.; SMITH, G. C. Ventricular, paraventricular and circumventricular structures involved in peptide-induced satiety. *Regul. Pept.*, 9:87-99, 1984.

YAMADA, H.; SANO, Y. Immunohistochemical studies on the serotonin neuron system in the brain of the chicken (*Gallus domesticus*) – II. The distribution of the nerve fibers. *Biogenic Amines*, 2:21-36, 1985.

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

ZENI, L. A. Z. R.; SEIDLER, H. B. K.; 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 receptors agonists and antagonists. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 65:67-74, 2000.

ZIZEMER, J. R. Avaliação da participação de neurônios serotoninérgicos no controle da lipólise em pombos. *Progr. Bolsa In. Cient.*, DAP/UFSC, 25p., 1999.