

---

**Universidade Federal de São Carlos**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**

**Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**GLÁUCIA MARIA FABRÍCIO DE ANDRADE FRANZÉ**

**MECANISMOS DOS NÚCLEOS CENTRAL DA AMÍGDALA E  
PARABRAQUIAL LATERAL NO CONTROLE DA INGESTÃO DE  
SÓDIO**

**ARARAQUARA**

**2015**

---

**MECANISMOS DOS NÚCLEOS CENTRAL DA AMÍGDALA E  
PARABRAQUIAL LATERAL NO CONTROLE DA INGESTÃO DE  
SÓDIO**

---

---

**Universidade Federal de São Carlos**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**

**Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**GLÁUCIA MARIA FABRÍCIO DE ANDRADE FRANZÉ**

**MECANISMOS DOS NÚCLEOS CENTRAL DA AMÍGDALA E  
PARABRAQUIAL LATERAL NO CONTROLE DA INGESTÃO DE  
SÓDIO**

**Tese apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, associação ampla UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências, área de concentração Fisiologia.**

**Orientador: José Vanderlei Menani**

**Apoio financeiro: CNPq**

**ARARAQUARA**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

A553mn Andrade-Franzé, Gláucia Maria Fabrício de.  
Mecanismos dos núcleos central da amígdala e  
parabraquial lateral no controle da ingestão de sódio /  
Gláucia Maria Fabrício de Andrade Franzé. -- São Carlos :  
UFSCar, 2015.  
139 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,  
2015.

1. Fisiologia. 2. Apetite ao sódio. 3. Núcleo parabraquial  
lateral. 4. Núcleo central da amígdala. 5. GABA (Ácido  
Gama Amino Butírico). 6. Opióide. I. Título.

CDD: 612 (20<sup>a</sup>)



---

Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Gláucia Maria Fabrício de Andrade Franzé, realizada em 27/02/2015:

---

Prof. Dr. Jose Vanderlei Menani  
UNESP

---

Prof. Dr. Eduardo Colombari  
UNESP

---

Prof. Dr. Daniel Breseghello Zoccal  
UNESP

---

Prof. Dr. Thiago dos Santos Moreira  
USP

---

Prof. Dr. Lisandra Brandino de Oliveira  
UFOP

---

**AOS MEUS PAIS,  
SÔNIA E ANTÔNIO CARLOS**

**IRMÃS,  
CARINA E ALINE**

**E MARIDO  
FÁBIO**

**OBRIGADA PELO AMOR E APOIO CONSTANTE.**

---

*“Que os vossos esforços desafiem as  
impossibilidades,  
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem  
foram conquistadas do que parecia impossível...”*

**Charles Chaplin**

---

---

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Vanderlei Menani pela orientação, apoio e dedicação a este trabalho, que desde minha iniciação científica tive o privilégio de tê-lo como orientador.

Aos funcionários Ana Vitor, Reginaldo, Silvia, Silvana e Silas e também a todos os professores, pós-graduandos, estagiários e amigos do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pelo apoio, atenção e amizade. A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas pela dedicação às disciplinas ministradas. Aos meus amigos (as) e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, irmãs, e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida. Em especial, agradeço minha irmã **Carina**, pela paciência e ajuda durante os dias de experimento.

Ao meu marido **Fábio** por acrescentar razão e beleza aos meus dias, pelo amor, apoio, incentivo e principalmente pelo constante companheirismo.

Aos órgãos de fomento FAPESP, CAPES e CNPq, sem os quais, muito não seria concretizado. Especialmente à CNPq (nº 155211/2010-2) pela concessão da bolsa.

Agradeço a Deus, pois o que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.

---

---

## RESUMO

O núcleo central da amígdala (CeA) e o núcleo parabraquial lateral (NPBL) são regiões importantíssimas para o controle da ingestão sódio e água. A integridade funcional do CeA é fundamental para a ingestão de sódio e água quando ocorre redução da atividade dos mecanismos inibitórios do NPBL. Portanto, os objetivos do presente estudo foram investigar a participação de alguns neurotransmissores no CeA no controle da ingestão de sódio e água induzida a) por desidratação extracelular e b) após o bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL. Para tanto foram utilizados ratos Holtzman com cânulas guia de aço inoxidável implantadas bilateralmente apenas no CeA ou bilateralmente no CeA e no NPBL. A ingestão de NaCl 1,8% foi avaliada em animais saciados, hiperosmóticos ou com depleção de sódio.

Em animais depletados de sódio, a administração bilateral do agonista de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ /imidazólicos moxonidina (10 nmol), assim como a de muscimol (0,25 nmol) no CeA reduziram a ingestão de NaCl 1,8%. A ativação ou bloqueio dos receptores de ocitocina, o bloqueio de receptores muscarínicos, ativação de receptores seroténérgicos 5-HT<sub>2A/2C</sub>, ou ainda o bloqueio de receptores de aldosterona no CeA não modificaram a ingestão de sódio e água. Contudo, injeções bilaterais de losartan (20 µg) no CeA reduziram a ingestão de água, mas não modificaram a ingestão de sódio em animais depletados. Já a ingestão de sódio e água induzidas por muscimol (0,5 nmol) no NPBL em animais saciados foram abolidas após bloqueio de receptores AT<sub>1</sub> de angiotensina com administração de losartan no CeA.

Administração bilateral de naloxona (40 µg) no CeA não modificou a ingestão de NaCl 1,8% e de água em animais desidratados. No entanto, a ingestão de sódio e água induzidas por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL em animais saciados foram completamente bloqueadas após injeções bilaterais de naloxona no CeA. Além disso, a

---

---

ingestão paradoxal de NaCl 0,3 M observada em ratos hiperosmóticos após o tratamento bilateral de moxonidina no NPBL também foi bloqueada pelas injeções de naloxona no CeA.

Os presentes resultados sugerem que receptores ocitocinérgicos, colinérgicos muscarínicos, serotoninérgicos 5-HT<sub>2</sub> e receptores de aldosterona no CeA não participam do controle da ingestão de NaCl 1,8% induzida por depleção de sódio. Por outro lado, os presentes resultados sugerem que receptores GABAérgicos e receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no CeA apresentam um papel inibitório para o apetite ao sódio nessa situação. Embora os mecanismos opióides e angiotensinérgicos no CeA aparentemente não contribuam para a ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio, os mecanismos opióides e angiotensinérgicos no CeA são essenciais para a ingestão de sódio observada quando os mecanismos inibitórios do NPBL são desativados pela ação do muscimol nessa área. Além disso, os mecanismos opióides no CeA também são essenciais para a ingestão paradoxal de sódio em animais hiperosmóticos quando os mecanismos inibitórios são atenuados pela ação da moxonidina no NPBL. Portanto, a ativação de receptores opióides e de receptores angiotensinérgicos no CeA é necessária para a ingestão de sódio observada após a remoção ou atenuação dos mecanismos inibitórios NPBL.

**Palavras-chave:** Apetite ao sódio. Sede. Núcleo parabraquial lateral. Núcleo central da amígdala. GABA. Receptores adrenérgicos. Opióide.

---

---

## ABSTRACT

The central nucleus of the amygdala (CeA) and the lateral parabrachial nucleus (LPBN) are important areas for the control of sodium appetite. The functional integrity of the CeA is critical to sodium and water intake when LPBN the inhibitory mechanisms are deactivated. Therefore, the aims of this study were to investigate the role of different neurotransmitters of the CeA in the control of sodium and water intake induced by a) sodium depletion and b) after blockade of LPBN inhibitory mechanisms. Male Holtzman rats with stainless steel guide cannula implanted bilaterally only in CeA or both into the CeA and LPBN were used. Sodium (0.3 M NaCl) intake was evaluated in satiated, hyperosmotic and sodium-depleted rats.

In sodium-depleted animals, bilateral administration of  $\alpha_2$ -adrenergic/imidazoline receptor agonist moxonidine (10 nmol) into CeA reduced 0.3 M NaCl and water intake. Moreover, bilateral injections of muscimol (0.25 nmol) into CeA reduced sodium intake without change water intake. Oxytocin receptors activation or its blockade in the CeA, blockade of muscarinic cholinergic receptor or activation of 5HT<sub>2A/2C</sub> serotonergic receptor into the CeA did not change 0.3 M NaCl or water intake in sodium-depleted animals.

Bilateral injections of opioid receptor antagonist naloxone (40  $\mu$ g) into the CeA did not significantly change 0.3 M NaCl and water intake in sodium-depleted animals. However, sodium and water intake induced by bilateral injections of muscimol (0.5 nmol) into the LPBN in satiated animals were completely abolished after bilateral injections of naloxone (40  $\mu$ g) into CeA. Furthermore, paradoxical sodium intake observed in rats that received oral gavage with 2 M NaCl (2 ml/rat) combined with bilateral injections of moxonidine (0.5 nmol) in LPBN was also blocked by bilateral naloxone (40  $\mu$ g) into the CeA.

---

0.3 M NaCl and water intake induced by bilateral muscimol injections (0.5 nmol) into LPBN in satiated animals were abolished by blocking AT<sub>1</sub> angiotensin receptors (losartan - 20 µg) in CeA. In sodium-depleted animals, bilateral injections of losartan (20 µg) into the CeA significantly reduced water intake but did not affect sodium intake. Bilateral injections of the aldosterone antagonist RU 28318 (50 ng) did not change sodium and water intake induced by sodium depletion.

Present results suggest that oxicocinergic, cholinergic muscarinic, 5-HT<sub>2A/2C</sub> serotonergic receptors and aldosterone receptors of the CeA do not participate in the control of 0.3 M NaCl intake induced by sodium depletion. Moreover, present results suggest that GABAergic and α<sub>2</sub>-adrenergic receptors of the CeA have an inhibitory role for sodium appetite in this situation. Although opioids and angiotensinergic mechanisms of the CeA apparently do not contribute to sodium depletion-induced sodium intake, opioidergic and angiotensinergic mechanisms in CeA are essential for sodium intake when the LPBN inhibitory mechanisms are blockade by LPBN muscimol injection. In addition, opioidergic mechanisms in CeA are also essential for the paradoxical sodium intake by hyperosmotic animals when the inhibitory mechanisms are attenuated by LPBN moxonidine. Therefore, the activation of opioidergic and angiotensinergic receptors of the CeA is required for sodium intake observed after removal or attenuation of LPBN inhibitory mechanisms.

**Keywords:** Sodium appetite. Thirst. Lateral parabrachial nucleus. Central nucleus of the amygdala. GABA. Adrenergic receptors. Opioids.

---

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – por cento

< – menor

> – maior

± – mais ou menos

**5-HT** – serotonina

**ANG I** – angiotensina I

**ANG II** – angiotensina II

**AP** – área postrema

**AV3V** – região anteroventral do terceiro ventrículo

**AVP** – vasopressina

**CAP** – captopril

**CCK** – colecistocinina

**CeA** – núcleo central da amígdala

**CGP 35348** – antagonista gabaérgico

**DOCA** – acetato de desoxicorticosterona

**DOI** – agonista serotoninérgico

**FURO** – furosemida

**g** – grama(s)

**GABA** – ácido gama-aminobutírico

**h** – hora(s)

**icv** – intracerebroventricular

**ig** - intragástrica

**kg** – quilograma

**M** – molar (nº de mols/litro)

**mg** – miligrama(s)

**min** – minutos

**ml** – mililitro(s)

**mm** – milímetro(s)

**MnPO** – núcleo pre-óptico mediano

**NaCl** – cloreto de sódio

**nl** – nanolitro

---

**nmol** – nanomol ( $10^{-9}$  mol);  
**NPBL** – núcleo parabraquial lateral  
**NPV** – núcleo paraventricular  
**NSO** – núcleo supra-óptico  
**NTS** – núcleo do trato solitário  
**NTSm** – núcleo do trato solitário medial  
**OSF** – órgão subfornical  
**OT** – ocitocina  
**OVLT** – órgão vascular da lâmina terminal  
**OVT** – vasotocina  
**pcs** – pedúnculo cerebelar superior  
**PNA** – peptídeo natriurético atrial  
**RU 28318** - antagonista mineralocorticoide  
**sal** – salina  
**sc** – subcutâneo/subcutaneamente  
**SNC** – sistema nervoso central  
**top** - trato óptico  
**VL** – ventrículo lateral  
 $\alpha$  – alfa  
 $\beta$  – beta  
 $\mu\text{g}$  – micrograma(s)  
 $\mu\text{l}$  – microlitro(s)  
 $\mu\text{m}$  – micrometro(s)

---

---

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** A) Fotomicrografia de um corte transversal do encefalo de um animal representativo dos grupos testados mostrando os sitios de injeção no CeA e trato optico (top), e B) Fotomicrografia de um corte transversal do encefalo de um animal representativo dos grupos testados mostrando os sitios de injeção no NPBL e pedunculo cerebelar superior. .... 63
- Figura 2.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. .... 65
- Figura 3.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de bicuculina (1,6 nmol/0,2 µl), CGP (15 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. .... 68
- Figura 4.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de moxonidina (10 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. .... 71
- Figura 5.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de atropina (2 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. 77
- Figura 6.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de DOI (5 µg /0,2 µl) ou salina no CeA. .... 80
- Figura 7.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2 µl), losartan (20 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. .... 82
- Figura 8.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. 85
- Figura 9.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água induzida por FURO + CAP sc em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. .... 88

---

---

<b>Figura 10.</b> Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos saciados tratados com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL combinadas com injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. ....	90
<b>Figura 11.</b> Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos em ratos tratados com gavagem ig de NaCl 2 M que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou salina no NPBL combinadas com injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. ....	92
<b>Figura 12.</b> Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos saciados e tratados com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL combinadas com injeções bilaterais de losartan (20 µg/0,2 µl) ou salina no CeA.....	94
<b>Figura 13.</b> Ingestão diária de sacarose 0,06 M e água em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso a sacarose 0,06 M durante duas horas por dia. ....	98
<b>Figura 14.</b> Ingestão cumulativa de A) sacarose 0,06 M e B) água em ratos treinados a ingerir sacarose que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA.....	99
<b>Figura 15.</b> Ingestão cumulativa de A) alimento, B) NaCl 0,3 M e C) água em ratos submetidos a 24 horas de privação de alimento que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. ....	102
<b>Figura 16.</b> Ingestão diária de sacarose 0,06 M (ml) e água (ml) em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso às soluções durante duas horas por dia. ....	105
<b>Figura 17.</b> Ingestão cumulativa de A) sacarose 0,06 M (ml) e B) água (ml) em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. ....	106
<b>Figura 18.</b> Diagrama esquemático mostrando as possíveis conexões entre o mecanismo inibitório do NPBL e o mecanismo facilitatório do CeA para o controle da ingestão de sódio. ....	124

---

---

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	66
<b>Tabela 2.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de bicuculina (1,6 nmol/0,2 µl) ou CGP (15 nmol/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	69
<b>Tabela 3.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de moxonidina (10 nmol/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	72
<b>Tabela 4.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de ocitocina (1 µg/0,2 µl) ou vasotocina (1 µg/0,2 µl) no CeA.....	74
<b>Tabela 5.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de ocitocina (1 µg/0,2 µl) ou vasotocina (1 µg/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	75
<b>Tabela 6.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de atropina (2 nmol/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	78
<b>Tabela 7.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2 µl), losartan (20 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	83
<b>Tabela 8.</b> Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). .....	86
<b>Tabela 9.</b> Ingestão de NaCl 0,3 M e água após a redução dos mecanismos inibitórios do NPBL combinado com a ativação de receptores angiotensinérgicos no CeA.....	96

---

---

Tabela 10. Ingestão cumulativa de sacarose 0,06 M e água em ratos que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). ..... 100

**Tabela 11.** Ingestão cumulativa de alimento (g), NaCl 0,3 M (ml) e água (ml) associada a ingestão de alimento em ratos submetidos a 24 horas de privação de alimento que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas)..... 103

**Tabela 12.** Ingestão cumulativa de sacarose 0,06 M e água em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas). ..... 107

---

---

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>37</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Animais .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. Cirurgia encefálica.....</b>	<b>38</b>
<b>3.3. Injeção de fármacos no encéfalo.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4. Fármacos utilizados .....</b>	<b>40</b>
<b>3.5. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio.....</b>	<b>42</b>
<b>3.6. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento com FURO+CAP.....</b>	<b>42</b>
<b>3.7. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por sobrecarga intragástrica de NaCl 2,0 M.....</b>	<b>43</b>
<b>3.8. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados e normohidratados induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL.....</b>	<b>43</b>
<b>3.9. Medida da ingestão de sacarose 0,06 M e água.....</b>	<b>44</b>
<b>3.10. Medida da ingestão de alimento, água e NaCl 0,3 M induzida por privação de alimento.....</b>	<b>44</b>
<b>3.11. Análise histológica.....</b>	<b>45</b>
<b>3.12. Análise estatística.....</b>	<b>45</b>
<b>3.13. Protocolos experimentais.....</b>	<b>46</b>
3.13.1. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores GABA <sub>A</sub> no CeA.....	46
3.13.2. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores GABA <sub>A</sub> e GABA <sub>B</sub> no CeA.....	47
3.13.3. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores adrenérgicos $\alpha_2$ no CeA.....	48
3.13.4. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação ou bloqueio dos receptores de ocitocina no CeA.....	49
3.13.5. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores muscarínicos na CeA.....	50
3.13.6. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção submetidos a ativação de receptores serotoninérgicos 5-HT <sub>2A/2C</sub> no CeA.....	51
3.13.7. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos e dos receptores de aldosterona no CeA.....	52

---

3.13.8. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	53
3.13.9. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP sc em ratos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	54
3.13.10. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	55
3.13.11. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com desidratação intracelular que receberam injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinadas com o bloqueio de receptores opióides no CeA.....	56
3.13.12. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos no CeA.....	57
3.13.13. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados submetidos ao bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL com injeções bilaterais de moxonidina combinado com a ativação de mecanismos facilitatórios do CeA com injeções de ANG II.....	58
3.13.14. Efeitos da ativação de receptores GABA <sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M. ....	59
3.13.15. Efeitos da ativação de receptores GABA <sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de alimento induzida por privação de alimento. ....	60
3.13.16. Efeitos do bloqueio de receptores opióides no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M. ....	61
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>62</b>
<b>4.1. Histologia .....</b>	<b>62</b>
<b>4.2. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA.....</b>	<b>64</b>
<b>4.3. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> no CeA. ....</b>	<b>67</b>
<b>4.4. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores adrenérgicos <math>\alpha_2</math> no CeA.....</b>	<b>70</b>
<b>4.5. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação ou bloqueio dos receptores de ocitocina no CeA. ....</b>	<b>73</b>
<b>4.6. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores muscarínicos na CeA. ....</b>	<b>76</b>
<b>4.7. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção submetidos a ativação de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2A/2C</sub> no CeA. ....</b>	<b>79</b>
<b>4.8. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos e dos receptores de aldosterona no CeA.....</b>	<b>81</b>

---

---

4.9. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	84
4.10. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP sc em ratos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	87
4.11. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.....	89
4.12. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com desidratação intracelular que receberam injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinadas com o bloqueio de receptores opióides no CeA.....	91
4.13. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos na CeA.....	93
4.14. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados submetidos ao bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL com injeções bilaterais de moxonidina combinado com a ativação de mecanismos facilitatórios do CeA com injeções de ANG II.....	95
4.15. Efeitos da ativação de receptores GABA <sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.....	97
4.16. Efeitos da ativação de receptores GABA <sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de alimento induzida por privação de alimento.....	101
4.17. Efeitos do bloqueio de receptores opióides no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.....	104
5. <i>DISCUSSÃO</i> .....	108
5.1. Envolvimento de diferentes receptores no CeA no controle da ingestão de água e sódio.....	108
5.2. CeA e outros comportamentos ingestivos.....	113
5.3. Importância dos mecanismos opióides e angiotensinérgicos do CeA para os efeitos da desativação do mecanismo inibitório do NPBL.....	115
7. <i>REFERÊNCIAS</i> .....	125

---

## 1. INTRODUÇÃO

### **Regulação neuroendócrina da ingestão de água e sódio**

A todo instante perdemos água e eletrólitos, principalmente sódio, pela respiração, suor e predominantemente pela excreção urinária. A regulação precisa do volume dos líquidos corporais e da osmolaridade plasmática é fundamental para a sobrevivência das células. O cloreto de sódio (NaCl) é um importante constituinte do compartimento extracelular e o maior determinante da osmolaridade e do volume do líquido extracelular. A concentração de sódio nos líquidos corporais deve ser mantida dentro de estreitos limites de variação para assegurar um funcionamento ideal de inúmeros processos fisiológicos. A ingestão de água e de substâncias salgadas é uma resposta comportamental fundamental para um indivíduo repor suas necessidades de água e NaCl.

A desidratação pode ocorrer quando as quantidades de água e de sódio no organismo tornam-se muito reduzidas. Quando a concentração extracelular de sódio aumenta, há um aumento na pressão osmótica efetiva do compartimento extracelular, promovendo uma redução do volume de água das células, caracterizando assim a “desidratação intracelular”. A desidratação pode ser absoluta quando há perda de água dos compartimentos celular e extracelular, como acontece na privação de água, ou relativa se existir apenas uma perda de água celular, que se difunde para o líquido extracelular, como ocorre, por exemplo, na ingestão ou sobrecarga de solutos osmoticamente ativos. Em situações como hemorragia, diarreia, vômito, depleção de sódio, etc., ocorre redução unicamente do volume do líquido extracelular, caracterizando assim a “desidratação extracelular”. É importante destacar que nessa situação há uma perda conjunta de água e de sódio, e por isso ela é geralmente acompanhada de comportamento apetitivo ao sódio. Embora os dois tipos de desidratação

---

sejam experimentalmente e clinicamente separáveis, é comum a ocorrência simultânea de ambas, principalmente durante privação hídrica (DE LUCA JR et al., 2005).

Por outro lado, várias evidências correlacionam o consumo excessivo de sal ao desenvolvimento ou agravamento de doenças crônicas, incluindo a hipertensão (WHO, 2012; HE e MACGREGOR, 2012). Estima-se que a quantidade diária de sódio consumida pela população brasileira é de 4,5 g por pessoa, independente da região ou classe de renda, excedendo assim em mais de duas vezes o limite recomendado de ingestão desse nutriente (SARNO et al., 2013). O excesso de sódio ingerido na maioria das vezes está associado ao aumento da palatabilidade dos alimentos (KEAST e BRESLIN, 2003; LIEM et al., 2011).

Mecanismos que assegurem a ingestão continuada de água e sódio são fundamentais para a regulação do equilíbrio hidroeletrolítico. Em humanos, um aumento na osmolaridade plasmática cerca de 2% e hipovolemia em torno de 10% promovem sede (FITZSIMONS, 1985). Em relação à ingestão de sódio, vários estudos mostram aumento da preferência ao sódio em humanos submetidos a diversas situações em que o balanço hidromineral está alterado, como por exemplo, administração de diuréticos acompanhada de dieta hipossódica, privação hídrica mais sudorese, hemodiálise e gestação (BEAUCHAMP et al., 1990; TAKAMATA et al., 1994; LESHEM e RUDOY, 1997; DUFFY et al., 1998).

O comportamento de ingestão é a única forma pela qual um animal pode repor suas necessidades de água e sódio. A ingestão de água e sódio é regulada por mecanismos ativados em situações de hipovolemia ou alterações de osmolaridade plasmática e depende de receptores localizados em diferentes partes do corpo (por exemplo, barorreceptores e osmorreceptores) ou hormônios (angiotensina II e aldosterona) que ativam algumas regiões específicas do sistema nervoso central (SNC), desencadeando as respostas comportamentais de busca pela água (sede) e sódio (apetite ao sódio), (JOHNSON e THUNHORST, 1997; JOHNSON e THUNHORST, 2007).

---

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um importante sistema hormonal ativado em situações de hipovolemia. A renina, uma enzima proteolítica, atua sobre o substrato plasmático, o angiotensinogênio (uma proteína globular sintetizada no fígado), produzindo um decapeptídeo, a angiotensina I (ANG I). A ANG I sob a ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) produz um octapeptídeo ativo, denominado angiotensina II (ANG II). Sabe-se que a fonte de renina é o aparelho justaglomerular renal, e que as células da mácula densa também exercem importante função no controle da secreção da renina. Fatores como redução da pressão de perfusão arterial renal, redução da concentração do íon sódio para a mácula densa, aumento da atividade do nervo renal, ativação dos receptores do subtipo  $\beta_1$  adrenérgicos, catecolaminas ou prostaglandinas circulante, ativam a secreção de renina (FITZSIMONS, 1998).

Estudos clássicos de Fitzsimons e colaboradores (para revisão vide FITZSIMONS, 1998) foram os primeiros a demonstrar que a renina e seu peptídeo efetor ANG II eram efetivos como estímulos dipsogênicos. Além de estimular a ingestão de água e de sódio, a ANG II apresenta outras funções fisiológicas, como regulação da pressão arterial, excreção de sódio, e a secreção de vasopressina, podendo ter também importantes funções no aprendizado e memória (FITZSIMONS, 1998). Receptores centrais para ações da ANG II já foram demonstrados em diversas áreas encefálicas como órgão subfornical (OSF), órgão vascular da lâmina terminal (OVLT), núcleo paraventricular (PVN), núcleo pré-óptico mediano (MnPO), área postrema (AP) e núcleo do trato solitário (NTS) (LEWIS et al., 1986; MCKINLEY et al., 1987; ALLEN et al., 1988). Dos vários receptores de ANG II (existem pelo menos quatro) os mais importantes para seu efeito dipsogênico são os receptores  $AT_1$  presentes em órgãos circunventriculares prosencefálicos, tais como SFO e OVLT, podendo haver também alguma participação de receptores  $AT_2$  (FITZSIMONS, 1998).

---

A aldosterona, um mineralocorticóide, também tem papel fundamental na conservação de sódio no organismo, e é o sinal endócrino final do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A secreção de aldosterona pela zona fasciculada da adrenal é regulada pela ANG II e concentração extracelular de potássio. A aldosterona atua nos ductos coletores renais e cólon para regular a (re)absorção de sódio e secreção de potássio (BOOTH et al., 2002). Atuando no SNC a aldosterona induz aumento do apetite ao sódio (GALAVERNA et al., 1992; SAKAI et al., 1996; JIA et al., 2005; GEERLING e LOEWY, 2006a; GEERLING e LOEWY, 2006b; GEERLING e LOEWY, 2007; GEERLING e LOEWY, 2008; GEERLING e LOEWY, 2009).

O apetite ao sódio pode ser induzido experimentalmente por diferentes protocolos. A depleção de sódio de 24 h é produzida pela combinação de uma natriurese e diurese farmacológicas, por injeção subcutânea (sc) de furosemida (20 mg/kg de peso corporal), associada a uma dieta deficiente em sódio, tendo os animais livre acesso à água (SAKAI et al., 1986; WEISS et al., 1986; SAKAI et al., 1987). Neste protocolo ocorre a perda de sódio, mas em virtude do acesso livre à água, resulta em redução do volume e da osmolalidade do líquido extracelular com elevação das concentrações plasmáticas de ANG II e aldosterona (FLUHARTY e EPSTEIN, 1983; SAKAI e cols., 1986). Dessa forma, a ingestão de sódio seria acionada não pela deficiência de sódio em si, mas pelas consequências hormonais da perda do sódio, ou seja, por um aumento sustentado nos níveis plasmáticos tanto de ANG II quanto da aldosterona (FLUHARTY e EPSTEIN, 1983; SAKAI e cols., 1986). Além disso, para a expressão completa do quadro da ingestão de sódio que é induzida pela depleção de sódio de 24 h, é necessária a ação da ANG II no cérebro (WEISS e cols., 1986).

Também é possível induzir apetite ao sódio agudamente, por meio do tratamento com o diurético furosemida (10 mg/kg de peso corporal) associado ao inibidor da

---

enzima conversora de angiotensina II captopril (5 mg/kg de peso corporal) sc. Esse tratamento combinado induz uma significativa ingestão de NaCl 0,3 M que se inicia num curto período de tempo (uma hora após o tratamento) devido à hipotensão associada a um aumento da formação de ANG II no cérebro (FITTS e MASSON, 1989; THUNHORST e JOHNSON, 1994; MENANI et al., 1996).

Variações no volume e na osmolaridade plasmática desencadeiam alterações nos níveis plasmáticos de vasopressina (AVP), ocitocina (OT) e peptídeo natriurético atrial (ANP). Os neurônios responsáveis pela síntese e liberação de vasopressina e ocitocina localizam-se no núcleo paraventricular e núcleo supra-óptico (SON), tendo uma predominância de neurônios de ocitocina no PVN e neurônios vasopressinérgicos no SON [para revisão vide (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004)]. A vasopressina, também conhecida como hormônio antidiurético (ADH), desempenha importante função na homeostase hídrica, atuando diretamente nas células renais responsáveis pela reabsorção de água livre, conservando água corporal. Verney (1947) originalmente demonstrou que a liberação de AVP na circulação sanguínea é estimulada pela ativação dos osmorreceptores (VERNEY, 1947). A liberação de AVP também é estimulada pela hipovolemia e redução na pressão arterial.

Em situações de expansão do volume ou aumento da osmolaridade plasmática ocorre a liberação do peptídeo natriurético atrial, um peptídeo de 28 aminoácidos, sintetizado principalmente nos miócitos atriais. O ANP participa da manutenção do volume por produzir diurese, natriurese e vasodilatação (DE BOLD et al., 1981). O ANP também inibe a ação vasoconstritora da ANG II, AVP e noradrenalina (BAXTER et al., 1988). Administração central ou periférica de ANP reduz a ingestão de água (induzida por privação hídrica) e de sódio (induzida por depleção de sódio), (ANTUNES-RODRIGUES et al., 1985, ANTUNES-RODRIGUES et al., 1986; McCANN et al., 1996).

---

A ocitocina (OT) é secretada na circulação sanguínea durante expansão de volume, particularmente durante expansão hipertônica, e tem ação natriurética, um mecanismo importante para compensar ou pelo menos atenuar essa expansão (McCANN et al., 2003). Complementando a ação renal, esse hormônio também inibe a sede e o apetite ao sódio. A ocitocina plasmática aumenta em resposta a uma carga osmótica e este aumento é revertido em resposta à diluição do líquido extracelular durante a ingestão de água que precede o apetite ao sódio em animais hipovolêmicos (VERBALIS et al., 1995; BLACKBURN et al., 1995). Injeção intracerebroventricular de ocitocina reduz a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio e a injeção de antagonista de ocitocina pela mesma via potencia a ingestão de sódio induzida por angiotensina II (VERBALIS et al., 1995; SATO et al., 1997). Concomitantemente à ativação de mecanismos facilitadores do apetite ao sódio (ANG II, aldosterona, desativação de receptores de volume), a ocitocina central participa dos mecanismos que inibem o apetite ao sódio nas fases iniciais de hipovolemia. Os mecanismos inibitórios seriam desativados durante a redução da osmolaridade extracelular, liberando então a ação dos mecanismos facilitadores (VERBALIS et al., 1995; BLACKBURN et al., 1995). Assim como os mecanismos excitatórios, que levam a busca pela água e ao apetite ao sódio, os mecanismos inibitórios também são importantes no controle da ingestão de água e sódio.

### **Mecanismos inibitórios do núcleo parabraquial lateral na ingestão de água e sódio**

No tronco encefálico, um importante mecanismo inibitório que controla a ingestão de água e NaCl foi descrito no núcleo parabraquial lateral (NPBL), uma estrutura pontina que situa-se dorsolateralmente ao pedúnculo cerebelar superior, (EDWARDS e JOHNSON, 1991; MENANI e JOHNSON, 1995; COLOMBARI et al., 1996; MENANI e cols., 1996; MENANI et al., 1998a; MENANI et al., 1998b; MENANI et al., 2000). Os primeiros estudos mostraram que lesão eletrolítica ou a lesão neurotóxica (com injeção de

---

ácido ibotênico) no NPBL em ratos levava a um aumento da ingestão de água induzida pela administração central ou periférica de ANG II ou injeção periférica de isoproterenol (OHMAN e JOHNSON, 1986; OHMAN e JOHNSON, 1989; JOHNSON e EDWARDS, 1990; EDWARDS e JOHNSON, 1991).

Injeções bilaterais no NPBL de metisergida, um antagonista de receptores serotoninérgicos, aumenta a ingestão de NaCl induzida pela ANG II administrada tanto intracerebroventricular (icv) quanto no órgão subfornical (OSF) (MENANI et al., 1996; COLOMBARI et al., 1996). Metisergida injetada bilateralmente no NPBL também aumentou a ingestão de NaCl induzida pelo tratamento combinando o diurético furosemida e o bloqueador da enzima conversora de angiotensina captopril, ambos injetados sc (MENANI et al., 1996). Por outro lado, a injeção de DOI (agonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) no NPBL reduziu a ingestão de NaCl induzida pelo tratamento com furosemida + captopril subcutaneamente (sc), (MENANI et al., 1996). Além disso, metisergida injetada no NPBL aumenta a ingestão de água e NaCl hipertônico induzida por 24 horas de privação hídrica, depleção de sódio (furosemida sc seguida de 24 horas com dieta deficiente de sódio) ou pelo tratamento crônico com desoxicorticosterona (DOCA), um composto esteróide com propriedades semelhantes a aldosterona (MENANI et al., 1998a; MENANI et al., 1998b; DE GOBBI et al., 2000). Metisergida no NPBL combinada com o aumento da osmolaridade plasmática produzido por sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M também induz uma paradoxal ingestão de NaCl hipertônico (DE LUCA JR et al., 2003).

Além da serotonina (5-HT), também a colecistocinina (CCK) no NPBL tem um papel inibitório na ingestão de água e sódio (MENANI e JOHNSON, 1998). Inclusive, foi demonstrada uma interdependência e cooperatividade entre 5-HT e CCK no NPBL no controle da ingestão de água e sódio (DE GOBBI et al., 2001), pois a liberação de 5-HT induz também a liberação de CCK no LPBN e vice-versa. Outros estudos também já demonstraram

---

o papel inibitório do glutamato e do fator liberador de corticotrofina no NPBL na ingestão de água e sódio e também o envolvimento dos receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no controle da ingestão de sódio (XU et al., 1997; DE CASTRO E SILVA et al., 2006; DE GOBBI et al., 2009; ANDRADE et al., 2004; ANDRADE et al., 2006). Injeções bilaterais de muscimol (agonista GABA<sub>A</sub>) no NPBL induzem ingestão de NaCl 0,3 M em ratos saciados, e o prévio tratamento com bicuculina (antagonista de receptores GABA<sub>A</sub>) reverteu esses efeito (CALLERA et al., 2005). Injeções do agonista opióide  $\beta$ -endorfina no NPBL também induzem ingestão de NaCl 0,3 M em ratos saciados e o pré-tratamento com o antagonista opióide naloxona aboliu esse efeito (DE OLIVEIRA et al., 2008).

As células do NPBL são ativadas após a ingestão de soluções de sódio em animais com desidratação intra e extracelular, (KOBASHI et al., 1993; YAMAMOTO et al., 1993; FRANCHINI e VIVAS, 1999), sugerindo que as células do NPBL podem ser ativadas por estímulos viscerais e talvez de sabor. O NPBL recebe muitas fibras provenientes da AP e porção adjacente do NTS medial (AP/NTSm), (NORGREN, 1981; SHAPIRO e MISELIS, 1985; HERBERT et al., 1990). O NPBL possui conexões recíprocas com áreas prosencefálicas, tais como o núcleo paraventricular do hipotálamo, núcleo central da amígdala e núcleo pré-óptico mediano, e também com áreas bulbares, como a área postrema (AP) e a porção medial do núcleo do trato solitário (NTSm), (NORGREN, 1981; CIRIELLO et al., 1984; FULWILER e SAPER, 1984; LANÇA e van der KOOY, 1985; HERBERT et al., 1990; JHAMANDAS et al., 1992; KRUKOFF et al., 1993; JHAMANDAS et al., 1996). Portanto, o NPBL poderia integrar sinais que ascendem da AP/NTSm para as áreas prosencefálicas envolvidas no controle do equilíbrio hidroeletrólítico.

---

---

### **Importância do núcleo central da amígdala para a ingestão de sódio**

A amígdala (ou complexo amigdalóide), uma estrutura límbica localizada nos lobos temporais, participa do fundamental circuito cerebral envolvido no controle de ingestão de sódio e água (COVIAN et al., 1975), e tem como principais regiões os núcleos: medial, lateral, basal, e o núcleo central. A amígdala apresenta particular interesse no comportamento motivado de ingestão de sódio por manter conexões recíprocas com áreas do tronco encefálico, que são centros processadores de informações gustatórias e viscerais (NORGREN, 1995).

Lesões bilaterais do núcleo central da amígdala (CeA) abolem a ingestão diária de NaCl 3% e o apetite ao sódio induzido por DOCA e também por ativação da angiotensina II cerebral por meio de injeções intracerebroventriculares (icv) de renina (GALAVARNA et al., 1992). Esse mesmo trabalho mostrou que animais com lesões bilaterais do CeA não sofreram alterações na ingestão de soluções palatáveis de sacarose, comida ou água, sugerindo assim um efeito específico para a ingestão de sódio hipertônico. ZARDETTO-SMITH e colaboradores (1994) também mostraram uma redução do apetite ao sódio após lesão do CeA em animais tratados com ioimbina sc ou depletados de sódio com furosemida.

Por outro lado, a ingestão de água induzida por angiotensina II (ANG II) sc ou por desidratação celular promovida por salina hipertônica sc não é afetada pelas lesões do CeA, reforçando o conceito que lesões do CeA reduzem especificamente o apetite ao sódio, (ZARDETTO-SMITH et al., 1994). Lesões bilaterais do CeA reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M, sem alterar a ingestão de água, em animais com 36 horas de privação hídrica submetidos a um protocolo de reidratação parcial na primeira hora seguida de acesso ao NaCl 0,3 M e água nas duas horas seguintes e também reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por 24 horas de depleção de sódio (VENDRAMINI, 2009), confirmando os efeitos da lesão do CeA já descritos na literatura.

---

Diversos estudos sugerem que a angiotensina II (ANG II) e a aldosterona podem estar envolvidos nos mecanismos facilitadores no CeA para controlar a ingestão de sódio (LIND et al., 1985; SAKAI et al., 1986; NITABACH et al., 1989; SCHULKIN et al., 1989; GALAVERNA et al., 1992; ZHANG et al., 1993; ZARDETTO-SMITH et al., 1994; SAKAI et al., 1996; SAKAI et al., 2000; FRANCIS et al., 2001; SULLIVAN et al., 2004). Receptores centrais para ações da ANG II já foram bem estudados em diversas áreas como órgão subfornical, órgão vascular da lâmina terminal, núcleo paraventricular, núcleo pré-óptico mediano, área postrema e núcleo do trato solitário e é a uma ação da ANG II nesses receptores que se atribui seu efeito natriorexigênico (LEWIS et al., 1986; McKINLEY et al., 1987; ALLEN et al., 1988). Além disso, também um denso conteúdo de terminais contendo ANG II foi observado no CeA (LIND et al., 1985).

Estudos mais recentes identificaram um grupo específico de neurônios (neurônios HSD2) no núcleo do trato solitário (NTS) que co-expressam receptores mineralocorticóides e a enzima 11  $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2 (HSD2), uma enzima que inativa glicocorticóides e, portanto, permite ligação com os receptores mineralocorticóides apenas da aldosterona (GEERLING et al., 2006). Esses neurônios HSD2 do NTS sensíveis à aldosterona são ativados durante a depleção de sódio e desativados após a ingestão de sódio e, portanto, poderiam estar envolvidos com o controle da ingestão de sódio (GEERLING e LOEWY, 2006b; GEERLING e LOEWY, 2007). Porém, outros estudos sugerem que a amígdala e áreas periventriculares prosencefálicas seriam as principais áreas centrais envolvidas nos efeitos natriorexigênicos da aldosterona (SAKAI et al., 1986; NITABACH et al., 1989; SCHULKIN et al., 1989; GALAVERNA et al., 1992; ZHANG et al., 1993; SAKAI et al., 1996; SAKAI et al., 2000; FRANCIS et al., 2001; SULLIVAN et al., 2004). O CeA também está diretamente conectado com o NTS particularmente com a região do NTS rica em neurônios HSD2 (GEERLING e LOEWY, 2007), assim, esse circuito NTS –

---

NPBL – CeA – NTS pode ser considerado como uma base neuroanatômica para a modulação da ingestão de sódio pelo CeA (GEERLING e LOEWY, 2006a; GEERLING e LOEWY, 2007).

Recentemente foi demonstrado que a ingestão de água e NaCl 0,3 M produzido pelas injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolemicos foi completamente abolida pelas lesões bilaterais do CeA (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010b). Ademais, o aumento da ingestão de água e NaCl 0,3 M produzido pelas injeções bilaterais de moxonidina ou metisergida no NPBL em animais previamente tratados com FURO+CAP sc também foi completamente abolida pelas lesões bilaterais do CeA (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a).

Esses resultados (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a,b) sugerem uma forte conexão entre o NPBL e o CeA para o controle do apetite ao sódio. Parece que o aumento na ingestão de sódio produzida pela desativação dos mecanismos inibitórios do NPBL é totalmente dependente dos mecanismos facilitatórios presentes no CeA. É possível que os mecanismos inibitórios do NPBL atuem reduzindo a atividade dos neurônios do CeA e, portanto, após lesões do CeA os mecanismos inibitórios do NPBL não possam mais modular a ingestão de sódio, devido à inexistência do mecanismo facilitatório no CeA.

Resultados mais recentes ainda não publicados mostraram que o bloqueio farmacológico do CeA, com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) nessa área, também aboliu a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzidas pelas injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010c). Da mesma forma, injeções de muscimol (0,25 nmol) no CeA também aboliram o aumento da ingestão de água e NaCl 0,3 M produzido pelas injeções de moxonidina no NPBL em animais tratados com FURO + CAP sc (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010c). Esses resultados com bloqueio farmacológico

---

reversível do CeA confirmam a importância da atividade dos neurônios do CeA modulando a ingestão de sódio durante a atenuação dos mecanismos inibitórios do NPBL.

Esses resultados obtidos com injeções de muscimol no CeA sugerem que é possível bloquear os mecanismos facilitatórios do CeA e com isso a ingestão de sódio por intervenções diretas no CeA. Um estudo recentemente publicado mostrou que injeções bilaterais de muscimol no CeA diminuíram de maneira dose-dependente a ingestão de NaCl 0,3 M e água em animais depletados de sódio (WANG et al., 2012), um efeito abolido pelo pré-tratamento com bicuculina (0,4 nmol) injetada bilateralmente na mesma área. Entretanto, apenas injeções de bicuculina (0,4 nmol) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ou água (WANG et al., 2012). Embora os efeitos do muscimol no CeA possam sugerir que, além dos mecanismos facilitatórios, também poderiam existir mecanismos inibitórios atuando diretamente no CeA, mais estudos são necessários para se entender como estes mecanismos inibitórios atuam na CeA para controlar a ingestão de sódio. Assim, seria interessante se testar os efeitos do bloqueio dos mecanismos gabaérgicos do CeA na ingestão de sódio induzida por depleção de sódio com injeções bilaterais de doses mais altas dos antagonistas de receptores GABA<sub>A</sub> ou GABA<sub>B</sub>, respectivamente, bicuculina e CGP 35348.

Considerando-se que o CeA apresenta denso conteúdo de terminais contendo ANG II (LIND et al., 1985), que também está diretamente conectado com o NTS particularmente com a região do NTS rica em neurônios HSD2 (GEERLING & LOEWY, 2007), e que a lesão dessa área afeta a ingestão de sódio dependente de ANG II e aldosterona (GALAVARNA et al., 1992, ZARDETTO-SMITH et al., 1994; SAKAI et al., 2000), é possível que ANG II e/ou a aldosterona agindo diretamente no CeA possa estimular o apetite ao sódio. No entanto, os efeitos do bloqueio de receptores de ANG II e de aldosterona no CeA sobre a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio ainda não são claros. Isso pode ser testado injetando-se diretamente no CeA antagonistas de receptores AT<sub>1</sub> como losartan ou de

---

receptores mineralocorticóides, como RU 28318 em ratos submetidos a 24 h de depleção de sódio. Considerando esses recentes resultados (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a,b) é possível que apenas injeção de ANG II no CeA não seja suficiente para induzir ingestão de sódio em animais saciados. Assim, também foi proposto no presente estudo investigar se injeções de ANG II no CeA modificaria a ingestão de NaCl 0,3 M em animais saciados após a atenuação dos mecanismos inibitórios com injeção de moxonidina no NPBL. Além disso, resultados do nosso laboratório mostraram que a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por muscimol injetado no NPBL foi reduzida por injeções de losartan (antagonista do receptor AT<sub>1</sub>) no VL (RONCARI et al., 2011) e, mais especificamente, no OSF (RONCARI et al., 2014). Sabendo que o OSF envia projeções diretas para o CeA (JOHNSON e GROSS, 1993), seria interessante verificar se a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por muscimol injetado no NPBL também poderia ser modificada por injeções de losartan diretamente no CeA.

Concomitantemente à ativação de mecanismos facilitadores do apetite ao sódio (ANG II, aldosterona, desativação de receptores de volume), na hipovolemia ocorreria a liberação de ocitocina centralmente que inibiria o apetite ao sódio nas fases iniciais de hipovolemia. Mais tarde, com a ingestão de água, os mecanismos inibitórios dependentes de OT seriam desativados pela redução da osmolaridade extracelular, liberando então a ação dos mecanismos facilitadores para a ingestão de sódio (VERBALIS et al., 1995; BLACKBURN et al., 1995). Embora esteja bem estabelecido o efeito inibitório da OT na ingestão de sódio, ainda não se tem evidência de possíveis áreas centrais onde ela atuaria. Dessa forma, seria de grande interesse testar se a injeção de OT ou de seu antagonista no CeA também modificaria a ingestão de sódio em animais submetidos à depleção de sódio.

Vários estudos mostram que a ativação adrenérgica  $\alpha_2$  em áreas prosencefálicas promove um efeito inibitório na ingestão de água e de NaCl induzida por diferentes

---

tratamentos (para revisão vide MENANI, et. al., 2006). Estudos de DE OLIVEIRA e colaboradores (2003b) mostraram que injeções bilaterais de moxonidina (agonista de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  e imidazólicos, 10 e 20 nmol/1  $\mu$ l) no complexo amigdalóide reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio. No mesmo estudo, foi verificado que a administração bilateral de moxonidina diretamente no núcleo basal da amígdala reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio apenas na dose de 20 nmol/0,4  $\mu$ l, mas não alterou a ingestão nas doses de 5 e 10 nmol/0,2  $\mu$ l, enquanto que injeções bilaterais de moxonidina (5 e 10 nmol/0,2  $\mu$ l e 20 nmol/0,4  $\mu$ l) no CeA não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M também induzida por depleção de sódio (DE OLIVEIRA et al., 2003b). Considerando a importância dos mecanismos adrenérgicos  $\mu_2$  para o controle da ingestão de sódio, os efeitos de injeções bilaterais de moxonidina no CeA sobre a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio foram novamente testados no presente estudo.

Luz e colaboradores (2007) demonstraram a participação dos receptores 5HT<sub>3</sub> na ingestão de sódio induzida por 24 horas de depleção de sódio, uma vez que a ativação desses receptores no CeA reduz a ingestão de sódio. Porém, os mesmos autores demonstraram que os receptores 5HT<sub>2C</sub> no CeA parecem não estar associados com a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio (LUZ et al., 2007). Assim, também seria interessante estudar os efeitos de injeções bilaterais de DOI (agonista de receptores 5HT<sub>2A/2C</sub>) no CeA sobre a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio.

Estudos recentes de Asnar e colaboradores (2013) demonstraram que o bloqueio de receptores colinérgicos centrais com atropina (20 nmol/1  $\mu$ l, i.c.v.) reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL. Por outro lado, o mesmo tratamento i.c.v. não produziu qualquer alteração da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO+CAP em ratos tratados com moxonidina no NPBL (ASNAR

---

et al., 2013). Diversos trabalhos demonstraram a presença de receptores muscarínicos no complexo amigdalóide, incluindo o CeA (ANDRÉ et al., 1984; MASH et al., 1986; BUCKLEY et al., 1988), especificamente na porção lateral do CeA (van der ZEE et al., 1997). Assim, seria interessante verificar se o CeA teria alguma participação nessa redução da ingestão de sódio, especificamente na ingestão de sódio induzida por 24 hs de depleção de sódio.

E finalmente, devemos destacar a importância dos mecanismos opioidérgicos no controle do comportamento ingestivo, especificamente, sobre a ingestão de sódio e água (COOPER e GILBERT, 1984; HUBBELL e McCUTCHEON, 1993; LUCAS et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2014). Recentemente, trabalho de Yan e colaboradores (2013) demonstraram uma importante participação dos mecanismos opioidérgicos do CeA no controle da ingestão de sódio. Injeções bilaterais de DAMGO (agonista opióide  $\mu$ ) no CeA aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e água no modelo de privação hídrica e rehidratação parcial (PH-RP), e a administração prévia de CTAP (antagonista opióide  $\mu$ ) reverteu os efeitos do DAMGO em animais PH-RP (YAN et al., 2013). Da mesma forma, injeções bilaterais de DAMGO também aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por FURO+CAP sc, e o prévio tratamento com CTAP também reverteu os efeitos do DAMGO na ingestão de sódio e água induzida por FURO+CAP sc (YAN et al., 2013). Entretanto, apenas a administração de CTAP no CeA não foi capaz de reduzir a ingestão de sódio induzida por FURO+CAP sc (YAN et al., 2013). Assim, seria interessante testar se o bloqueio dos mecanismos opioidérgicos do CeA modificariam a ingestão de sódio induzida por outros protocolos de ingestão de sódio, tais como a depleção de sódio. Também, levando-se em consideração à interação entre o NPBL e CeA já demonstrada por trabalhos anteriores do laboratório, seria interessante investigar se a

---

facilitação da ingestão de sódio que ocorre após o bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL depende da liberação de opióide no CeA.

Apesar dos resultados de GALAVERNA e colaboradores (1992), os quais mostraram que animais com lesões bilaterais do CeA não sofreram alterações na ingestão de soluções palatáveis de sacarose, comida ou água, até o momento não foi testado se o bloqueio farmacológico reversível, sem lesão do CeA, também não alteraria outros comportamentos de ingestão, como a ingestão de alimento ou sacarose, sugerindo assim um efeito específico para a ingestão de sódio hipertônico.

Apesar dos estudos que mostram que a) o CeA é uma área prosencefálica muito importante para o comportamento de ingestão de sódio; b) o NPBL é uma estrutura pontina que exerce um importante mecanismo inibitório para o controle da ingestão sódio e água; c) a integridade funcional do CeA é fundamental para a ingestão de sódio e de água quando ocorre redução da atividade dos mecanismos inibitórios do NPBL; até o momento os neurotransmissores facilitatórios e inibitórios do CeA envolvidos com esse controle da ingestão de sódio ainda não estão bem claros.

---

## **2. OBJETIVOS**

Os objetivos do presente estudo foram: a) investigar a participação de diferentes neurotransmissores no CeA no controle da ingestão de sódio e água induzida por protocolos de depleção de sódio; b) investigar a participação de alguns neurotransmissores no CeA no controle da ingestão de sódio e água após o bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL e c) avaliar o papel do CeA sobre outros comportamentos ingestivos, tais como alimento e sacarose.

---

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Animais**

Foram utilizados ratos Holtzman, adultos, com peso em torno de 270-290 g (no dia da cirurgia encefálica) provenientes do Biotério do Campus de Araraquara da UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, com livre acesso a ração, água e solução de NaCl 0,3 M (1,8%). Os animais permaneceram em salas climatizadas (temperatura de  $23 \pm 2$  °C e umidade de  $50 \pm 10\%$ ), com ciclo claro-escuro de doze horas (presença de luz das 7h00 às 19h00), no Laboratório Experimental de Fisiologia do Departamento de Patologia e Fisiologia da FOAr, UNESP, Araraquara.

Todos os procedimentos experimentais foram autorizados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA (Proc. CEEA nº 35/2010). No final dos experimentos, os animais foram sacrificados e incinerados de acordo com normas de controle ambiental.

#### **3.2. Cirurgia encefálica**

Os ratos foram anestesiados com uma combinação de cetamina (80 mg/kg peso corporal) e xilazina (7 mg/kg peso corporal) administrada intraperitonealmente. Inicialmente, foi feita uma tricotomia do topo da cabeça do animal para facilitar a cirurgia e evitar possíveis infecções. Em seguida, os ratos foram adaptados a um aparelho estereotáxico (modelo Kopf 900). A cirurgia foi iniciada com uma incisão realizada com o bisturi, com posterior remoção do perióstio para exposição da caixa craniana. Através da incisão, foram visualizadas as suturas bregma e lambda que foram utilizadas como referência para nivelar as cabeças dos ratos. Em seguida, foram feitas três perfurações na caixa craniana para a introdução de parafusos necessários para a fixação das cânulas e da resina acrílica que foi utilizada

---

posteriormente. Utilizando-se o bregma foram determinados os pontos para a introdução de cânulas de aço inoxidável de 12 x 0,5 mm d.i. (diâmetro interno) nas cabeças dos ratos.

Para o implante bilateral no núcleo central da amígdala, as cânulas foram posicionadas bilateralmente no cérebro de acordo com as seguintes coordenadas: 2,5 mm caudal ao bregma, 4,3 mm lateral ao seio sagital e 4,5 mm de profundidade a partir da dura-máter. Nesses pontos foi feita trepanação no crânio, abrindo-se orifícios de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro onde as cânulas foram introduzidas. As cânulas foram então fixadas nas cabeças dos ratos com o auxílio da resina acrílica. Após sua completa secagem, retirou-se o animal do aparelho estereotáxico e introduziu-se o mandril na cânula.

Para atingir a região do NPBL, cânulas foram posicionadas bilateralmente no encéfalo de acordo com as seguintes coordenadas: 9,2 mm caudal ao bregma, 2,1 mm lateral à linha mediana e 3,5 mm abaixo da dura-máter, de acordo com PAXINOS e WATSON, 2005. Nesses pontos foi feita outra trepanação no crânio, abrindo-se orifícios de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro onde as cânulas foram introduzidas. As cânulas foram então fixadas nas cabeças dos ratos com o auxílio da resina acrílica. Após sua completa secagem, retirou-se o animal do aparelho estereotáxico e introduziu-se o mandril na cânula.

Após a cirurgia encefálica, os ratos receberam uma injeção intramuscular (0,2 ml/rato) de Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte (Fort Dodge Saúde Animal Ltda.) e do analgésico/anti-inflamatório Ketoflex (cetoprofeno 1%, 0,03 ml/rato). Diariamente os ratos foram manipulados e treinados com manobras utilizadas durante os procedimentos experimentais. Os experimentos foram iniciados pelo menos 5 dias após a cirurgia encefálica.

### **3.3. Injeção de fármacos no encéfalo**

Os fármacos foram dissolvidos em solventes adequados, conforme o caso: solução salina fisiológica ou uma mistura de propilenoglicol e água 2:1 (veículo). Os

---

fármacos foram injetados no encéfalo dos ratos utilizando-se uma seringa Hamilton (5 µl), conectada com um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora que foi introduzida no encéfalo pelas cânulas guias previamente fixadas nele. A cânula injetora (0,3 mm diâmetro) era 2 mm mais longa do que a cânula guia. O volume de injeção no NPBL e no CeA foi de 0,2 µl de cada lado.

### 3.4. Fármacos utilizados

**Brometo de muscimol**, agonista de receptores GABA<sub>A</sub>, (Research Biochemicals Internationals-RBI, Natick, MA, USA) foi dissolvido em salina e administrado no CeA na dose de 0,25 nmol/0,2 µl e no NPBL na dose de 0,5 nmol/0,2 µl. As doses citadas foram baseadas em estudos anteriores de ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010c e CALLERA et al., 2005, respectivamente. **Bicuculina**, antagonista de receptores GABA<sub>A</sub>, (Tocris, Ellisville, MO, USA) foi dissolvida em veículo e administrada no CeA na dose de 1,6 nmol/0,2 µl, baseado em estudo anterior de MARGATHO et al., 2009. Ácido 3-aminopropil(dietoximetil fosfênico) - **CGP 35348**, antagonista GABA<sub>B</sub>, (Tocris, Ellisville, MO, USA) foi dissolvido em salina e administrado no CeA na dose de 15 nmol/0,2 µl, baseado em estudo anterior de DE OLIVEIRA et al., 2007.

**Cloridrato de moxonidina**, agonista de receptores adrenérgicos α<sub>2</sub>/imidazólicos, (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) foi dissolvido em veículo e administrado no NPBL na dose de 0,5 nmol/0,2 µl e no CeA na dose de 10 nmol/0,2 µl. A dose utilizada no NPBL foi baseada em estudos anteriores de MENANI et al., 2006 e a dose utilizada no CeA foi baseada em estudos anteriores de DE OLIVEIRA, 2003b.

**Ocitocina** (Research Biochemicals Internationals-RBI, Natick, MA, USA) foi dissolvida em salina e administrada no CeA na dose de 1 µg/0,2 µl, baseado em estudos de MARGATHO et al., 2013. **Vasotocina** (OVT), antagonista ocitocinérgico, (Phoenix

---

Pharmaceutical, USA) foi dissolvido em salina e administrado no CeA na dose de 1 µg/0,2 µl, baseado em estudos de MARGATHO et al., 2013.

**Brometo de atropina metilada**, antagonista de receptor muscarínico, (Sigma Chemical Co., Saint Louis, MO, USA) foi dissolvida em salina e administrada no CeA na dose de 2 nmol/0,2 µl. A dose utilizada foi baseada em estudos anteriores de ASNAR et al., 2012.

**Hidrocloreto de dimetoxi-4-iodoanfetamina (DOI)**, agonista de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2A/2C</sub>, (Research Biomedical International-RBI, Natick, MA, USA), foi dissolvido em salina isotônica e administrado no CeA na dose de 5 µg/0,2 µl. A dose de DOI utilizada foi baseada em estudos anteriores, tais como: MENANI e JOHNSON, 1995; MENANI et al., 1996; MENANI et al., 1998a; MENANI et al., 1998b; MENANI et al., 2002.

**Cloridrato de naloxona**, antagonista inespecífico opióide (Tocris Bioscience, Ellisville, MO), foi dissolvida em veículo e administrada no CeA na dose de 40 µg/0,2 µl. A dose utilizada foi baseada em estudos anteriores de YAN et al., 2013.

**RU 28318**, antagonista de receptor mineralocorticóide, (Tocris Bioscience, Ellisville, MO) foi dissolvido em veículo e administrado no CeA na dose de 50 ng/0,2 µl. A dose utilizada no presente estudo foi baseada no trabalho FORMENTI et al., 2013.

**Angiotensina II** (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) foi dissolvida em salina e administrada no CeA na dose de 20 ng/0,2 µl. **Losartan**, antagonista de receptores de AT<sub>1</sub>, (Galena, Campinas, SP, Brasil) foi dissolvido em salina e administrado no CeA na dose de 20 ng/0,2 µl. As doses utilizadas foram baseadas no trabalho de COLOMBARI et al., 1996.

**Furosemida** (FURO, Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA), diurético salinúrico, (10 mg/kg ou 20 mg/kg de peso corporal, administração subcutânea) foi dissolvido em salina isotônica com pH próximo a 9,0 ajustado com solução de hidróxido de

---

sódio 0,1 N. **Captopril** (CAP, Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA), inibidor da enzima conversora de angiotensina, (5 mg/kg de peso corporal, administração subcutânea) foi dissolvido em salina isotônica. O tratamento com FURO+CAP foi utilizado como descrito previamente por FITTS e MASSON, 1989 e MENANI et al., 1996.

### **3.5. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio.**

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição tubos com NaCl 0,3 M, desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos. A depleção de sódio foi feita pelo tratamento com o diurético furosemida (20 mg/kg de peso corporal) subcutaneamente, seguido da manutenção dos animais por 24 horas com alimento deficiente de sódio (fubá) e água *ad libitum* antes de se iniciarem as medidas de ingestão de água e de NaCl 0,3 M. Para o registro da ingestão de água e de NaCl 0,3 M foram utilizados tubos graduados (divisão de 0,1 ml). A ingestão cumulativa de cada solução foi medida a cada 30 minutos, totalizando 3 ou 4 horas. Durante o período de medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M, os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.6. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento com FURO+CAP.**

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição tubos com NaCl 0,3 M, desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos. A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento combinado de FURO (10 mg/kg de peso corporal) + CAP (5 mg/kg de peso corporal) sc. Inicialmente, água, NaCl 0,3 M e ração foram removidos das gaiolas. Imediatamente após o tratamento com FURO+CAP, os ratos foram mantidos sem água e sem NaCl 0,3 M por uma hora. Após esse período, foram oferecidos aos animais água

---

e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml e a ingestão cumulativa de cada solução foi medida a cada 30 minutos, totalizando 2 h. Durante o período de medida da ingestão de água e NaCl, os ratos também não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.7. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por sobrecarga intragástrica de NaCl 2,0 M.**

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição tubos com NaCl 0,3 M, desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos. No momento do experimento, água, ração e NaCl 0,3 M foram removidos das gaiolas e os animais receberam sobrecarga intragástrica de NaCl 2,0 M (2 ml/rato). Este procedimento foi utilizado para induzir uma desidratação intracelular, e, portanto ingestão de líquidos (FITZSIMONS, 1985), devido a uma elevação de cerca de 4 % da osmolaridade e concentração de sódio plasmática (PEREIRA et al., 2002). Água e NaCl 0,3 M foram oferecidos aos animais uma hora após a sobrecarga intragástrica. Para o registro da ingestão de água e NaCl 0,3 M foram utilizados tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão cumulativa de cada solução foi medida a cada 30 minutos, totalizando 2 horas. Durante o período de medida da ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.8. Medida da ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados e normohidratados induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL.**

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição tubos com NaCl 0,3 M, desde pelo menos 5 dias antes do início dos experimentos. A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida em ratos saciados e normohidratados por injeções bilaterais de muscimol (0,5

---

nmol/0,2 µl) no NPBL. Imediatamente após as injeções de muscimol no NPBL, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão cumulativa de cada solução foi medida a cada 30 minutos, totalizando 4 horas. Durante o período de medida da ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.9. Medida da ingestão de sacarose 0,06 M e água.**

Após o período de recuperação da cirurgia encefálica, os animais foram treinados para a ingestão de sacarose 0,06M. Para isso, os animais, além de receberem ração e água *ad libitum*, tiveram acesso a solução de sacarose 0,06 M por duas horas diariamente, durante uma semana. Assim que se observou uma estabilidade no volume ingerido de sacarose 0,06 M foram feitos os experimentos. Os animais tiveram então acesso a água e à solução de sacarose 0,06 M em tubos com divisão de 0,1 ml e a ingestão cumulativa de água e sacarose 0,06 M foi medida a cada 30 minutos por 2 horas. Durante o período de medida da ingestão de água e sacarose 0,06 M os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.10. Medida da ingestão de alimento, água e NaCl 0,3 M induzida por privação de alimento.**

A ingestão de alimento foi induzida por 24 horas de privação de alimento, tendo os animais apenas água e NaCl 0,3 M disponíveis. Após esse período, ração foi oferecida aos animais juntamente com água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de ração, água e sódio foi medida a cada 30 minutos, totalizando 2 horas. Para o registro da ingestão de alimento foram utilizados recipientes contendo ração previamente

---

pesada, e por diferença de peso foi calculado a quantidade de ração ingerida em gramas. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

### **3.11. Análise histológica**

Terminados os experimentos, os ratos receberam injeções bilaterais de corante (azul de Evans 1%, 0,2 ml) no NPBL e no CeA. Em seguida, os ratos foram profundamente anestesiados com tiopental sódico (70 mg/kg de peso corporal) e submetidos a uma perfusão cerebral por meio de injeção no coração de solução salina tamponada (50 ml) seguida de solução de formalina 10% (50 ml). A seguir os encéfalos foram retirados e fixados em formalina 10% por alguns dias. Cortes transversais (60 mm de espessura) foram feitos nos pontos de injeção com auxílio de um criostato (Leica). Os cortes histológicos montados em lâmina foram corados pelo método Giemsa e analisados em microscópio para se localizar os pontos das injeções no NPBL e no CeA.

### **3.12. Análise estatística**

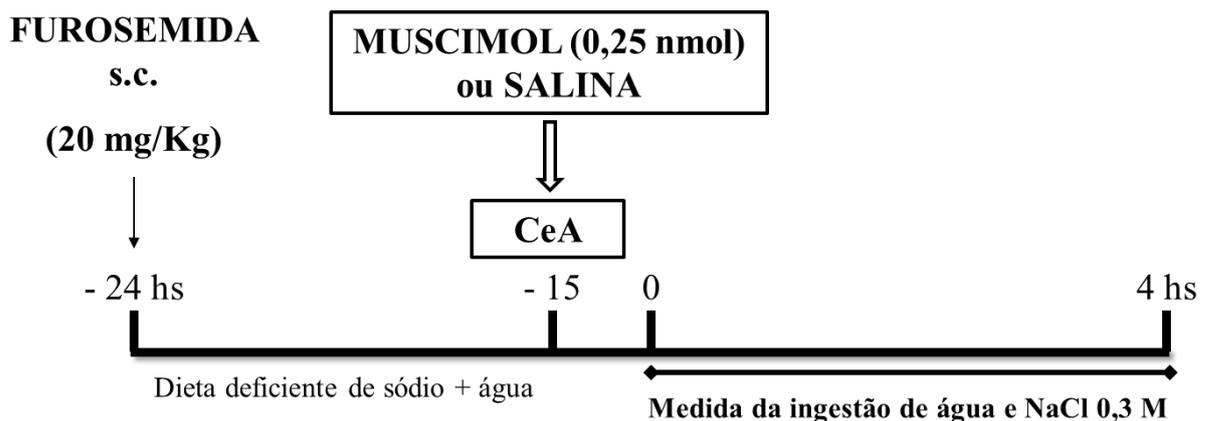
Os resultados foram tabelados. A média e o erro padrão da média foram representados em gráficos e/ou tabelas. Análise de variância (ANOVA) e o pós-teste de Newman-Keuls foram utilizados para as comparações entre diferentes tratamentos. Diferenças foram consideradas significantes para  $p < 0,05$ .

### 3.13. Protocolos experimentais

#### 3.13.1. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl os ratos não tiveram acesso à ração.

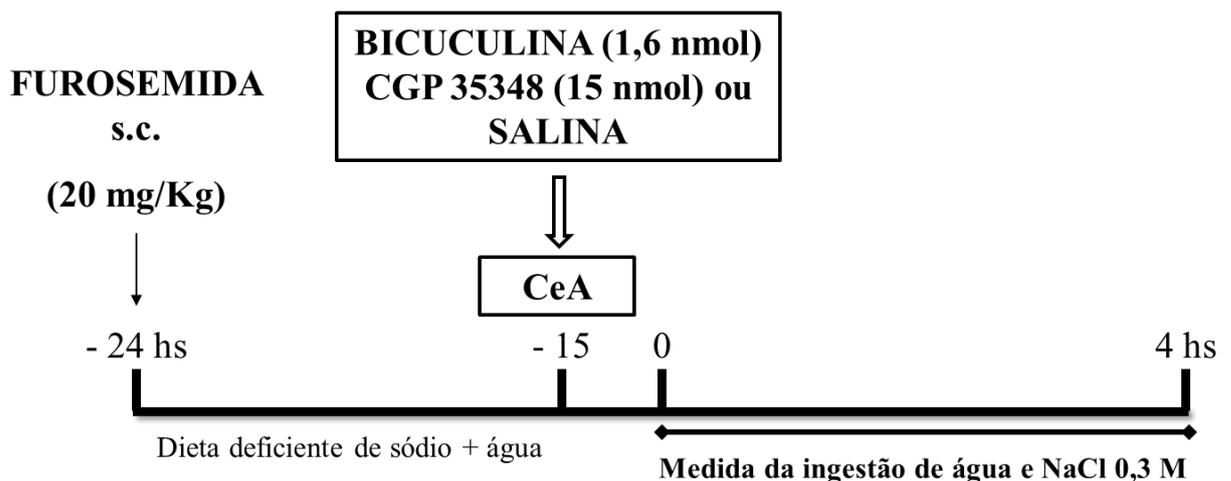
Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina no CeA ou 2) muscimol no CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalaneada.



### 3.13.2. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de salina, bicuculina (1,6 nmol/ 0,2 ml) ou CGP 35348 (15 nmol/0,2 ml) no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl os ratos não tiveram acesso à ração.

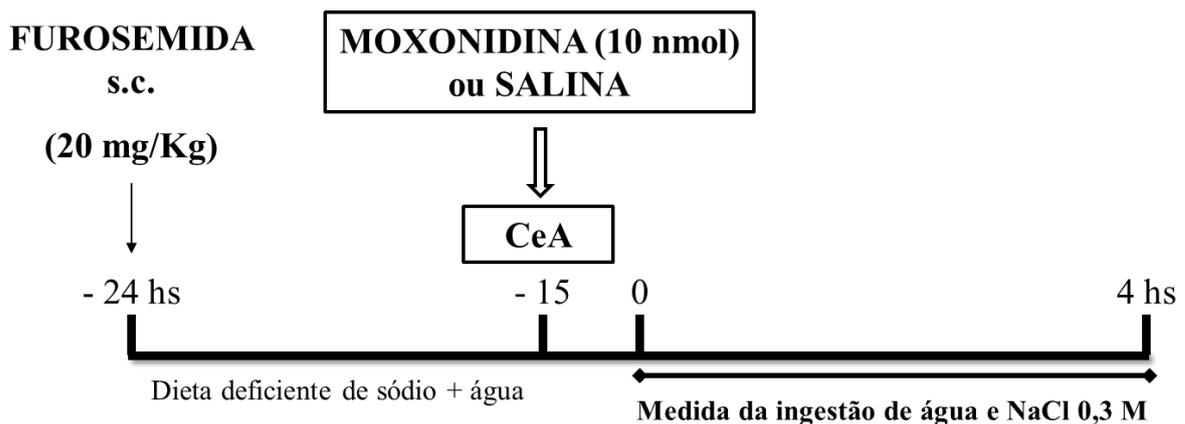
Para este estudo, os animais foram submetidos a 3 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina no CeA; 2) bicuculina no CeA ou 3) CGP no CeA. A seqüência dos tratamentos nos diferentes experimentos foi aleatória e ao final dos experimentos todos os ratos receberam todos os tratamentos.



### 3.13.3. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores adrenérgicos $\alpha_2$ no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de salina ou moxonidina (10 nmol/0,2  $\mu$ l) no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina no CeA ou 2) moxonidina no CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalanceada.

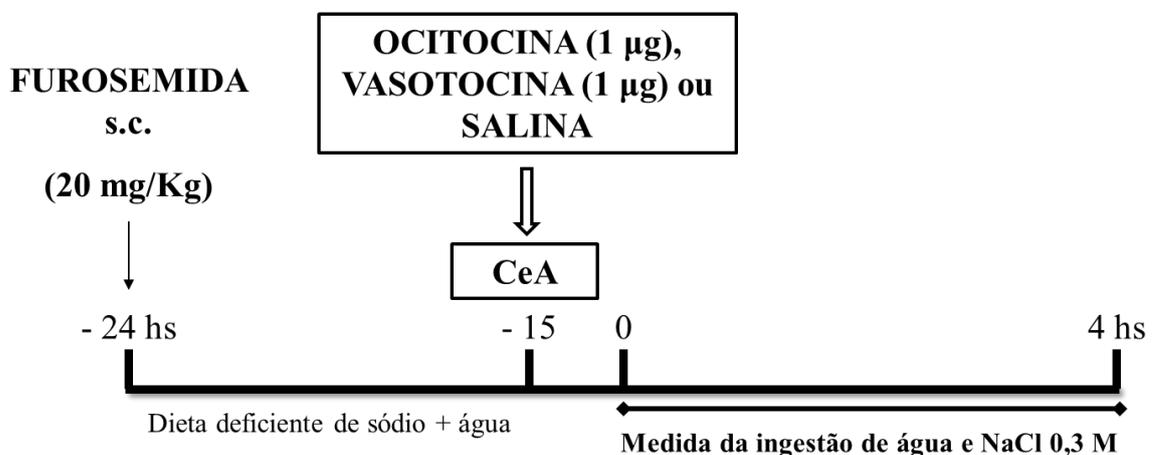


### 3.13.4. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação ou bloqueio dos receptores de ocitocina no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA e submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de salina, OT (1 µg/0,2 µl) ou OVT (1 µg/0,2 µl) no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio também foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não terão acesso à ração.

Um grupo de animais foi submetido a 2 testes, com um intervalo de pelo menos 48 h entre. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina CeA ou 2) OT CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalaneada.

Outro grupo de animais foi submetido também a 2 testes, com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina CeA ou 2) OVT CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalaneada.





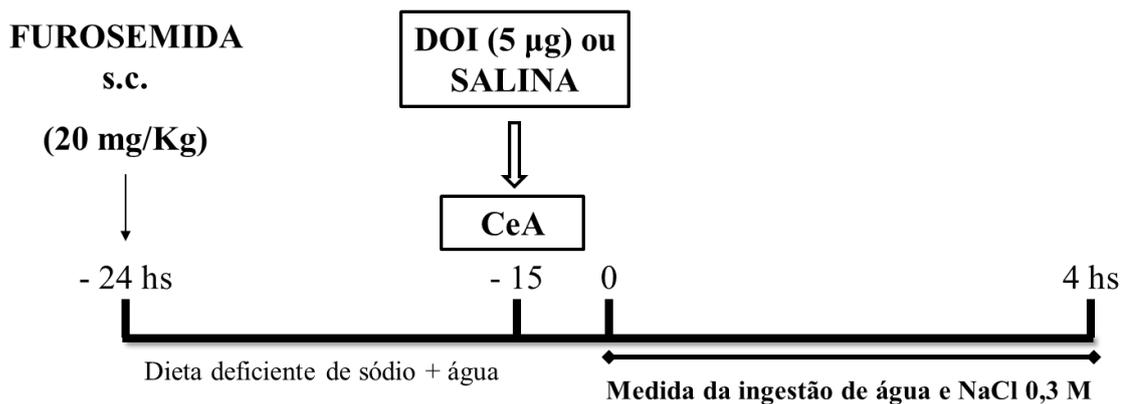
---

---

### 3.13.6. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção submetidos a ativação de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2A/2C</sub> no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de salina ou DOI (5 µg/0,2 µl) no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina no CeA ou 2) DOI no CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalanceada.

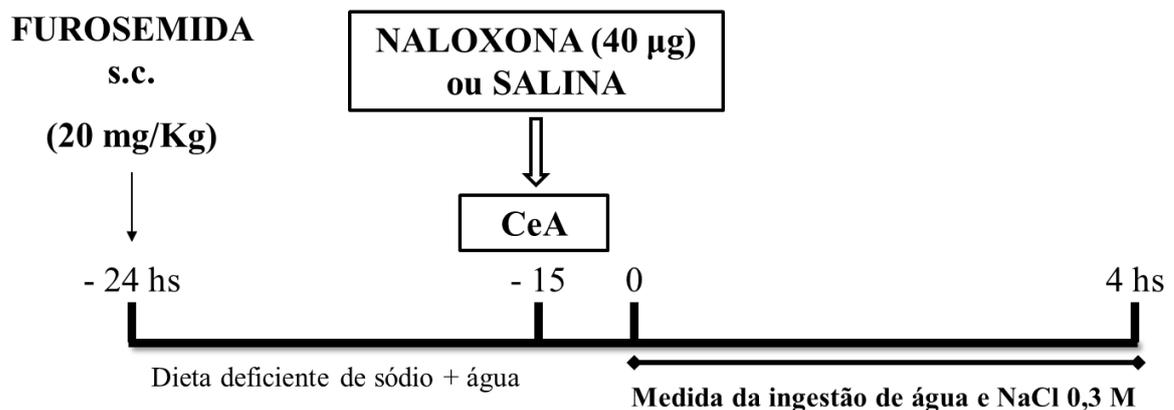




### 3.13.8. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA submetidos à 24 horas de depleção de sódio. Após as 24 horas, os animais receberam injeções bilaterais de salina ou naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA. Quinze minutos após as injeções no CeA, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) veículo no CeA ou 2) naloxona no CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalanceada.



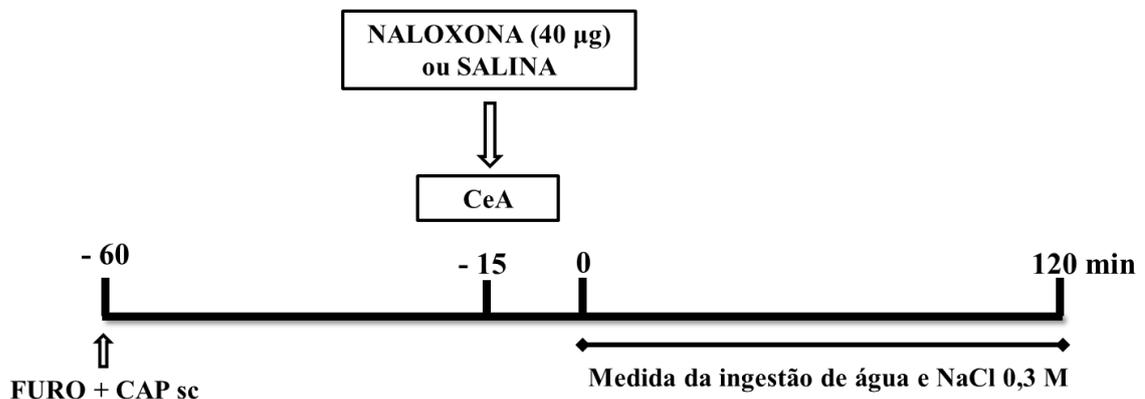
---

---

### 3.13.9. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP sc em ratos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA. Uma hora antes dos experimentos, os animais receberam o tratamento com FURO + CAP sc. Após 45 min, os animais receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg) ou salina no CeA. Quinze minutos após, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 2 horas. Durante o período de medida da ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) veículo no CeA ou 2) naloxona no CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalanceada.



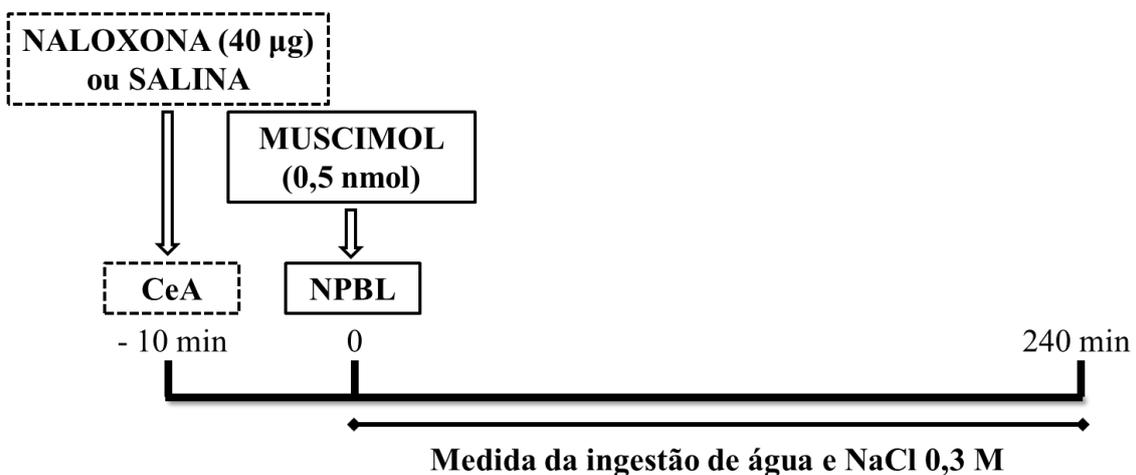
---

---

**3.13.10. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos saciados com cânulas implantadas bilateralmente no CeA e no NPBL. A ingestão de água e sódio foi induzida por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL. Os animais receberam injeções bilaterais de salina ou naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA dez minutos antes das injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL e, imediatamente após, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl 0,3 M os ratos não tiveram acesso à ração.

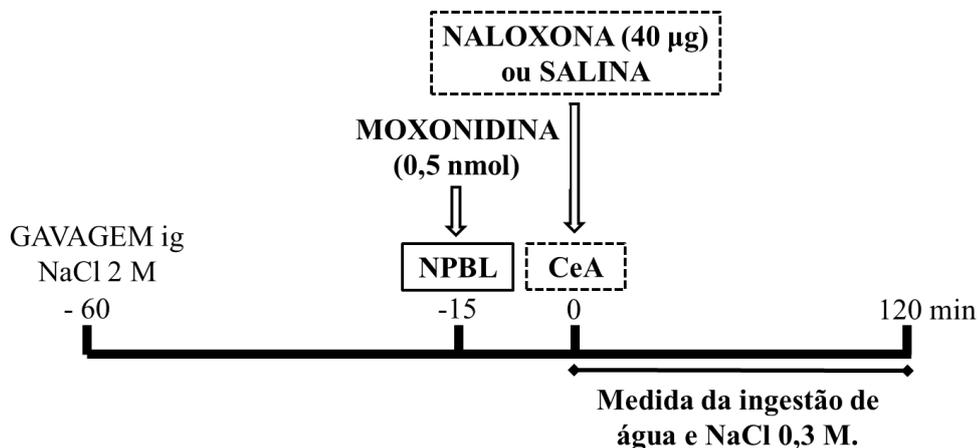
Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Em cada teste, os animais foram dividido em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu uma das seguintes combinações de tratamentos: 1) salina CeA + muscimol NPBL; 2) naloxona CeA + muscimol NPBL. No teste seguinte, os animais receberam as mesmas combinações de tratamentos de maneira contrabalanceada.



**3.13.11. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com desidratação intracelular que receberam injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinadas com o bloqueio de receptores opióides no CeA.**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos com cânulas implantadas bilateralmente no CeA e no NPBL que foram submetidos a desidratação intracelular. A desidratação intracelular foi induzida pela realização de gavagem intragástrica (ig) de NaCl 2 M (2 ml por rato). Uma hora antes dos experimentos, todos os animais receberam a gavagem ig de NaCl 2 M. Após 45 minutos, foram realizadas as injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) no NPBL. Quinze minutos após, foram realizadas as injeções bilaterais de naloxona (40 µg) ou salina no CeA e imediatamente foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 2 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl os ratos não tiveram acesso à ração.

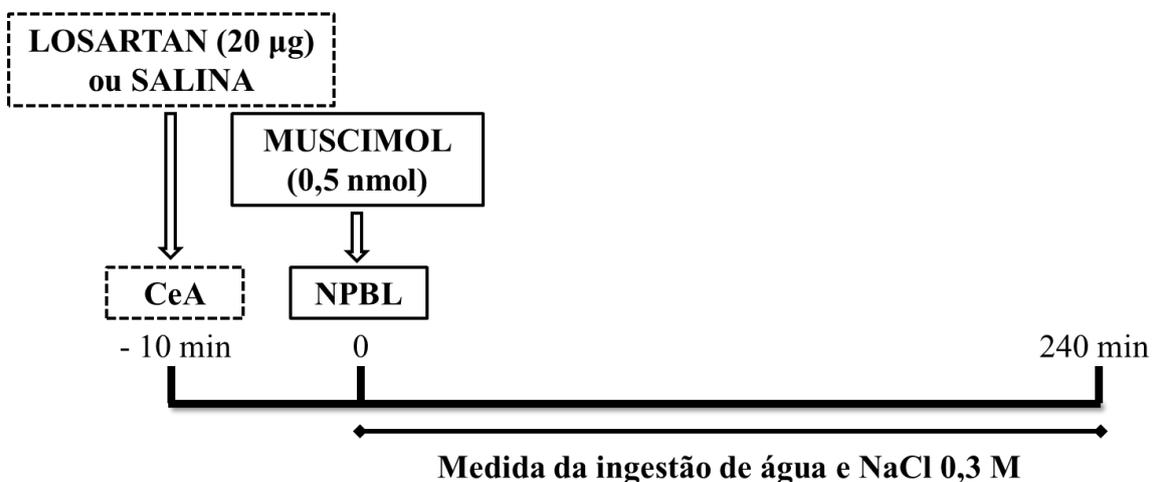
Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Em cada teste, os animais foram dividido em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu uma das seguintes combinações de tratamentos: 1) gavagem 2 M + moxonidina NPBL + salina no CeA; 2) gavagem 2 M + moxonidina NPBL + naloxona no CeA. No teste seguinte, os animais receberam as mesmas combinações de tratamentos de maneira contrabalanceada.



**3.13.12. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos no CeA.**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos saciados com cânulas implantadas bilateralmente no CeA e no NPBL. A ingestão de água e sódio foi induzida por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL. Os animais receberam injeções bilaterais de salina ou losartan (1 µg/0,2 µl) no CeA dez minutos antes das injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL e, imediatamente após, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 4 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Em cada teste, os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu uma das seguintes combinações de tratamento: 1) salina CeA + muscimol NPBL; 2) losartan CeA + muscimol NPBL. No teste seguinte, os animais receberam as mesmas combinações de tratamentos de maneira contrabalanceada.



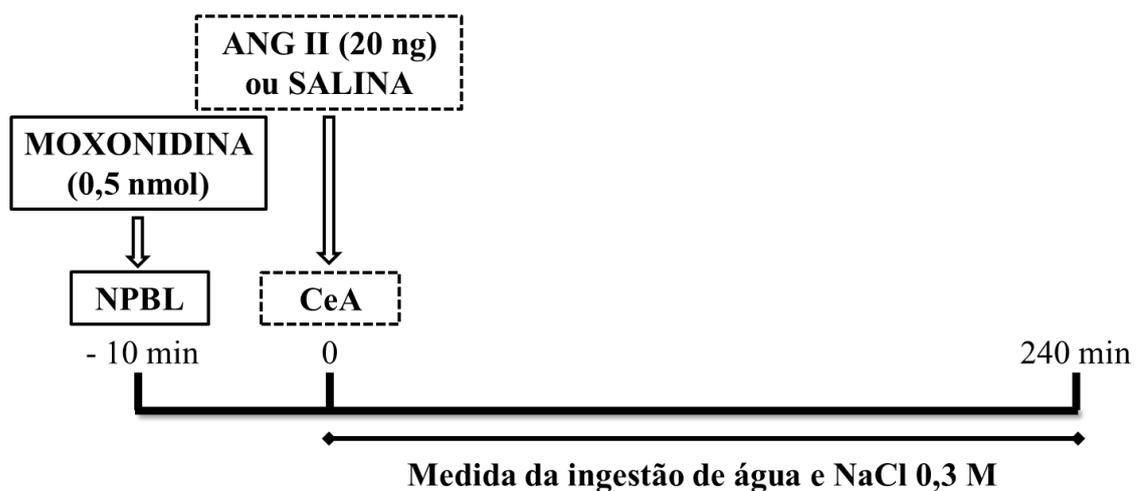
---

---

**3.13.13. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados submetidos ao bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL com injeções bilaterais de moxonidina combinado com a ativação de mecanismos facilitatórios do CeA com injeções de ANG II.**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi estudada em ratos saciados com cânulas implantadas bilateralmente no CeA e no NPBL. Os ratos receberam injeções bilaterais de ANG II (20 ng/0,2 µl) ou salina no CeA dez minutos após injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL. Imediatamente após as injeções no CeA foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M em tubos com divisão de 0,1 ml. A ingestão de água e sódio foi medida a cada 30 minutos durante 2 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

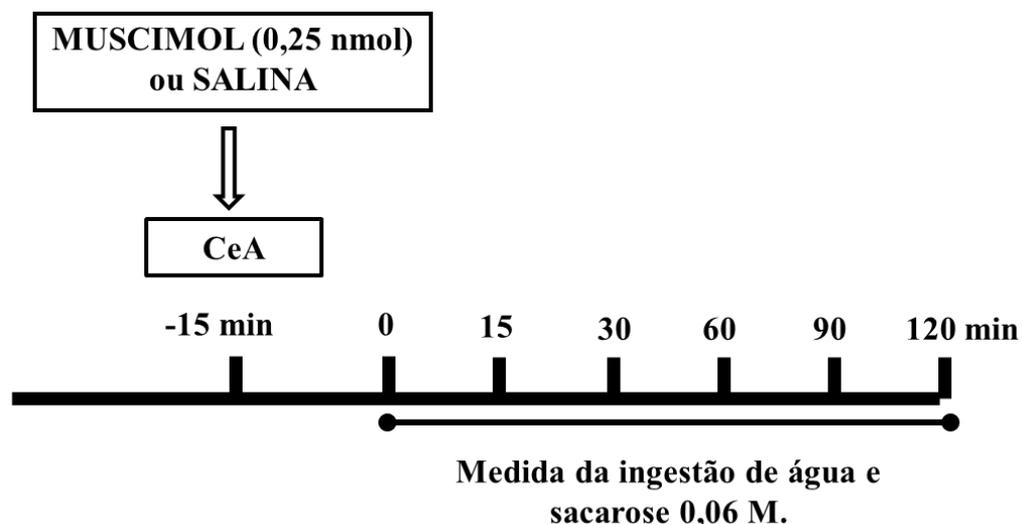
Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Em cada teste, os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu uma das seguintes combinações de tratamento: 1) salina CeA + moxonidina NPBL; 2) ANG II CeA + moxonidina NPBL. No teste seguinte, os animais receberam as mesmas combinações de tratamentos de maneira contrabalanceada.



### 3.13.14. Efeitos da ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.

Para testar a especificidade das injeções de muscimol no CeA, um grupo de animais foi submetido ao treinamento para a ingestão de sacarose 0,06 M. Após esse período, muscimol (0,25 nmol) ou veículo foi injetado bilateralmente no CeA quinze minutos antes dos animais terem acesso à solução de sacarose 0,06 M e água. A ingestão cumulativa de água e de sacarose 0,06 M foi medida por 2 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

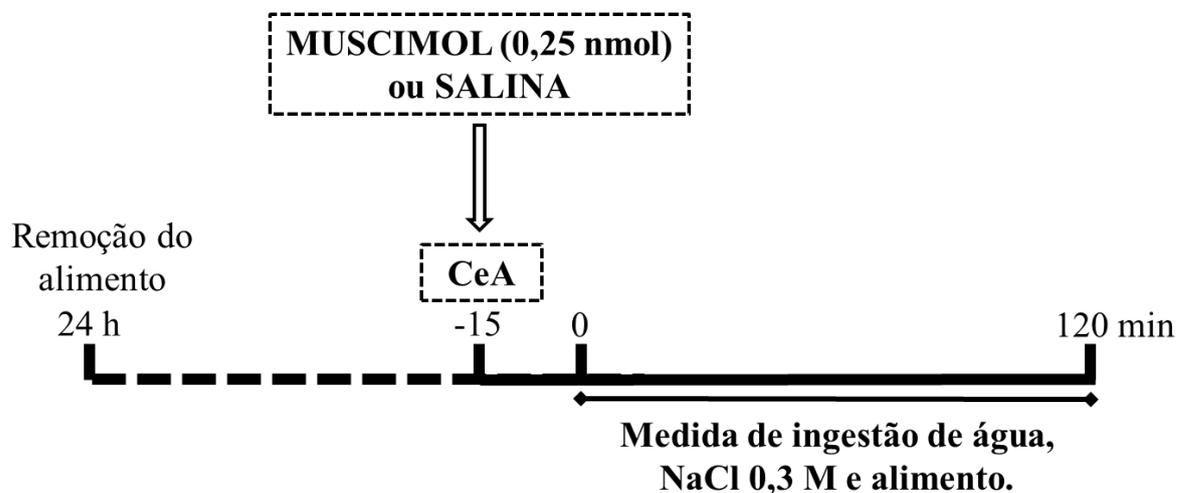
Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Em cada teste, os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu uma das seguintes combinações de tratamento: 1) salina CeA ou 2) muscimol CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalanceada.



### 3.13.15. Efeitos da ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de alimento induzida por privação de alimento.

Com o objetivo de verificar se muscimol injetado no CeA poderia modificar a ingestão de alimento induzida por privação alimentar, um grupo de animais foi submetido a 24 horas de privação de alimento, com apenas água e NaCl 0,3 M disponíveis. Injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou veículo no CeA foram feitas quinze minutos antes do acesso dos animais à ração. A ingestão de alimento, água e NaCl 0,3 M foram medidas a cada 30 minutos durante 2 horas após o acesso dos animais à ração.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) veículo CeA ou 2) muscimol CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalaneada.

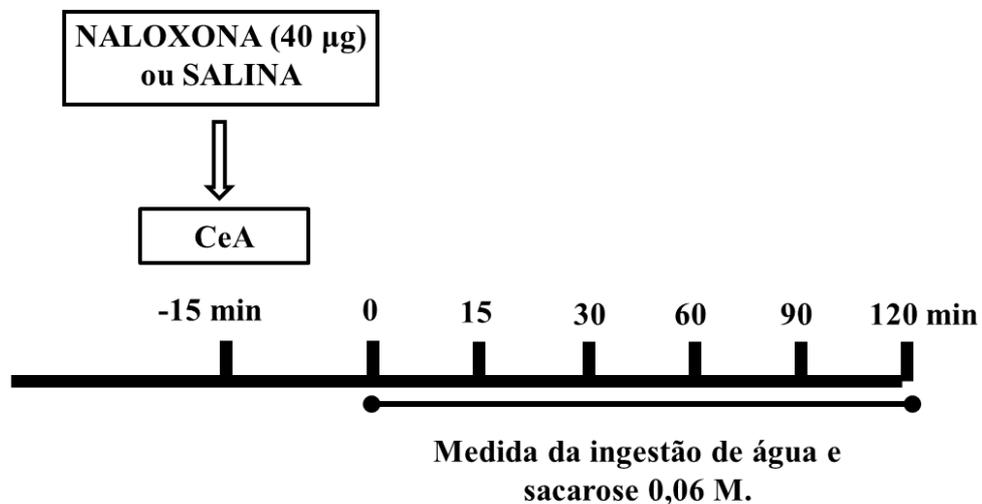


---

### 3.13.16. Efeitos do bloqueio de receptores opióides no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.

Para testar a especificidade das injeções de naloxona no CeA, um grupo de animais foi submetido ao treinamento para a ingestão de sacarose 0,06 M. Após esse período, naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina foi injetado bilateralmente no CeA quinze minutos antes dos animais terem acesso à solução de sacarose 0,06 M e água. A ingestão cumulativa de água e de sacarose 0,06 M foi medida a cada 30 minutos por 2 horas. Durante o período de medida de ingestão de água e NaCl, os ratos não tiveram acesso à ração.

Para este estudo, os animais foram submetidos a 2 testes com um intervalo de pelo menos 48 h entre eles. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, e cada subgrupo recebeu um dos seguintes tratamentos: 1) salina CeA ou 2) naloxona CeA. No teste seguinte, os animais receberam os mesmos tratamentos de maneira contrabalaneada.



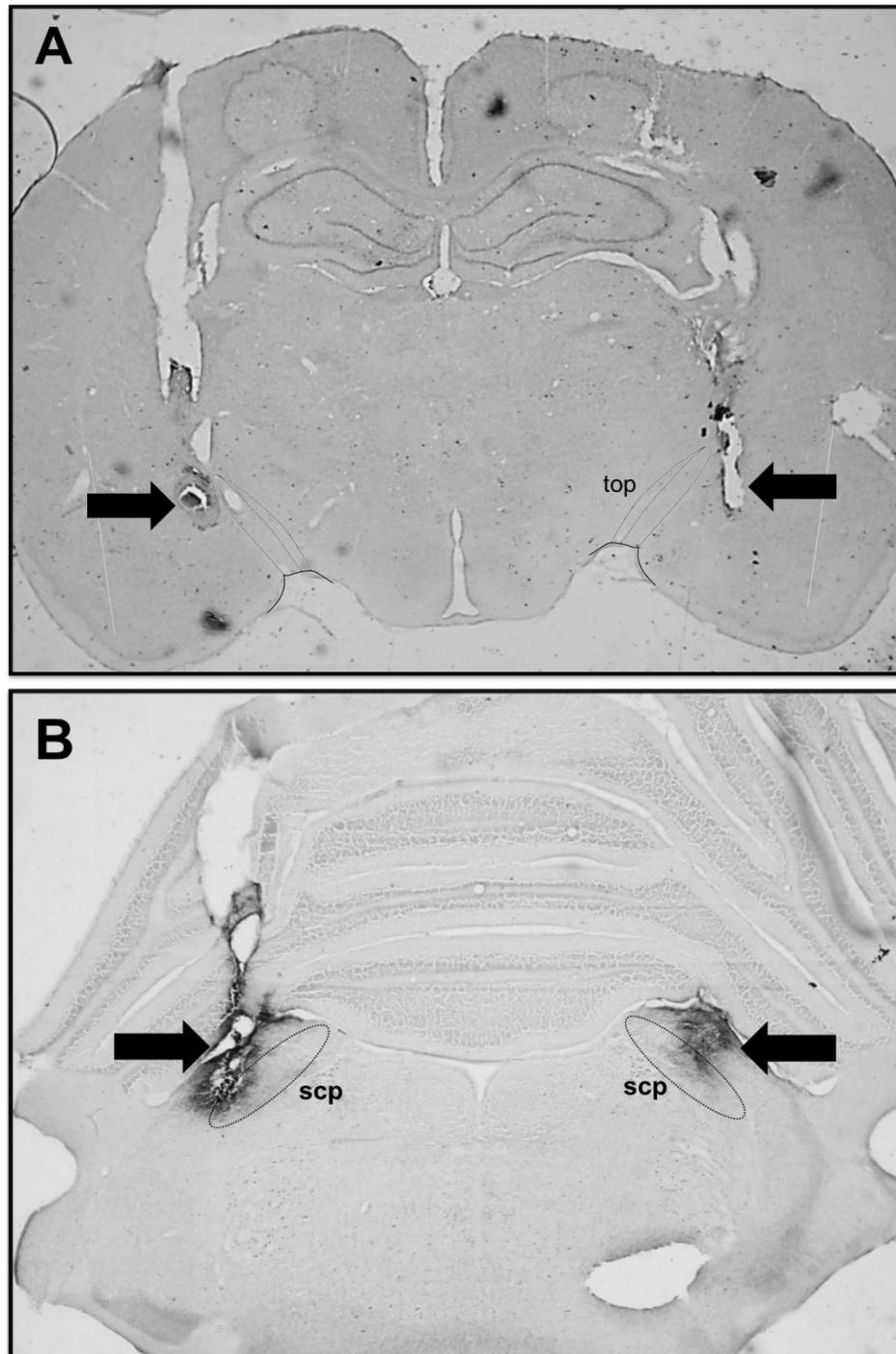
---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Histologia

A Figura 1A apresenta uma fotomicrografia de um corte histológico mostrando os pontos de injeção típico no CeA (setas) e o trajeto das cânulas no encéfalo de um rato representativo dos animais estudados. O CeA é uma estrutura bilateral e faz parte do complexo amigdalóide, localizado nos lobos temporais, situado dorso-lateralmente a extremidade do trato óptico (top), acima do núcleo amigdalóide basomedial (BMA) e medial ao núcleo basolateral (BLA). Lâminas montadas contendo os cortes histológicos da região compreendendo o CeA foram analisadas e somente os animais cujos pontos de injeção estavam bilateralmente localizadas no CeA foram considerados positivos e usados para a análise principal dos resultados. Os resultados com injeções em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas) também foram analisados.

A Figura 1B apresenta uma fotomicrografia de um corte histológico mostrando os pontos de injeção típico no NPBL (setas) e o trajeto das cânulas no encéfalo de um rato representativo dos animais estudados. O NPBL é uma estrutura pontina, bilateral, que situa-se dorsolateralmente ao pedúnculo cerebelar superior (pcs, área destacada). Os sítios de injeção no NPBL estavam concentrados nas porções centro-lateral e dorso-lateral do NPBL (ver FULWILER e SAPER, 1984, para definição dos subnúcleos do NPBL). Injeções que atingiram as porções ventro-lateral e lateral externa, assim como o núcleo Kölliker-Fuse, foram observadas apenas em alguns ratos e os resultados desses animais foram incluídos na análise.



**Figura 1.** A) Fotomicrografia de um corte transversal do encefalo de um animal representativo dos grupos testados mostrando os sitios de injeção no CeA (indicados pelas setas) e trato optico (top), e B) Fotomicrografia de um corte transversal do encefalo de um animal representativo dos grupos testados mostrando os sitios de injeção no NPBL (indicados pelas setas) e pedunculo cerebelar superior (pcs, destacados pelos circulos pontilhados).

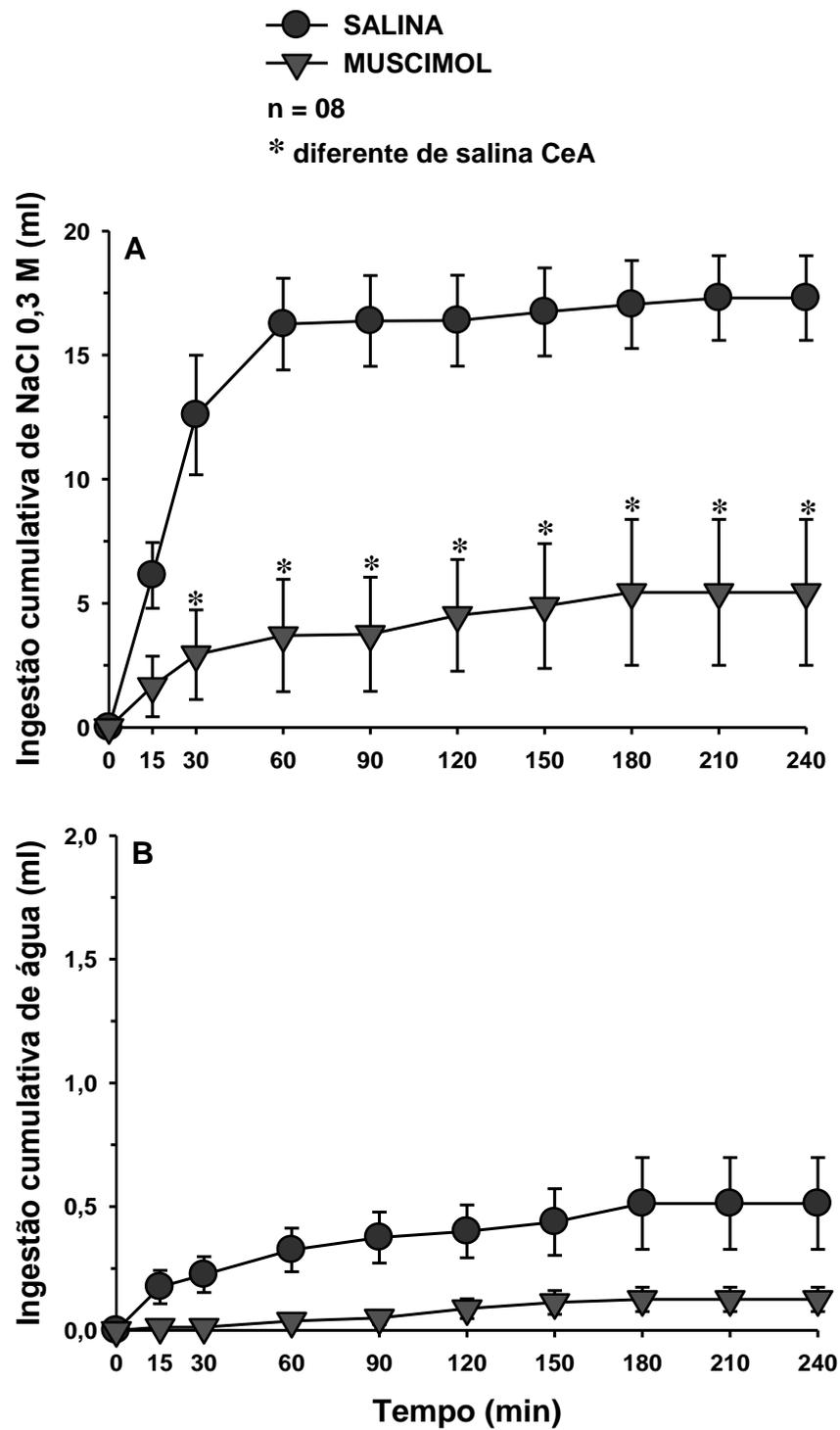
---

---

## 4.2. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA.

Injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) no CeA reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio ( $5,4 \pm 2,9$  ml/4 h, vs. salina:  $17,3 \pm 1,7$  ml/4 h), [F(1,7) = 18,64;  $p < 0,05$ ] (Figura 2A). Porém, injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) no CeA não reduziram a ingestão de água ( $0,1 \pm 0,1$  ml/4 h, vs. salina:  $0,5 \pm 0,2$  ml/4 h), [F(1,7) = 4,797;  $p > 0,05$ ] (Figura 2B).

Injeções de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) localizadas fora do CeA não produziram qualquer efeito na ingestão de NaCl 0,3 M ( $16,9 \pm 3,1$  ml/4 h, vs. salina:  $16,8 \pm 1,4$  ml/4 h), [F(1,6) = 1,714;  $p > 0,05$ ], mas apresentaram uma redução na ingestão de água ( $0,1 \pm 0,03$  ml/4 h, vs. salina:  $2,2 \pm 0,8$  ml/4 h), [F(1,6) = 8,079;  $p < 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Tabela 01).



**Figura 2.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 1.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2  $\mu$ l) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	8,1 $\pm$ 1,8	14,4 $\pm$ 2,0	16,0 $\pm$ 1,7	16,6 $\pm$ 1,4	16,8 $\pm$ 1,4				
muscimol	6,7 $\pm$ 1,9	8,9 $\pm$ 2,6	9,1 $\pm$ 2,7	9,3 $\pm$ 2,7	9,8 $\pm$ 2,9	9,8 $\pm$ 2,9	10,2 $\pm$ 2,9	10,3 $\pm$ 3,0	10,3 $\pm$ 3,0

Tratamento	Ingestão de água (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,7	2,2 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8
muscimol	0,07 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,02*	0,08 $\pm$ 0,02*	0,1 $\pm$ 0,03*	0,1 $\pm$ 0,03*	0,1 $\pm$ 0,03*

Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = 07. \* diferente de salina

---

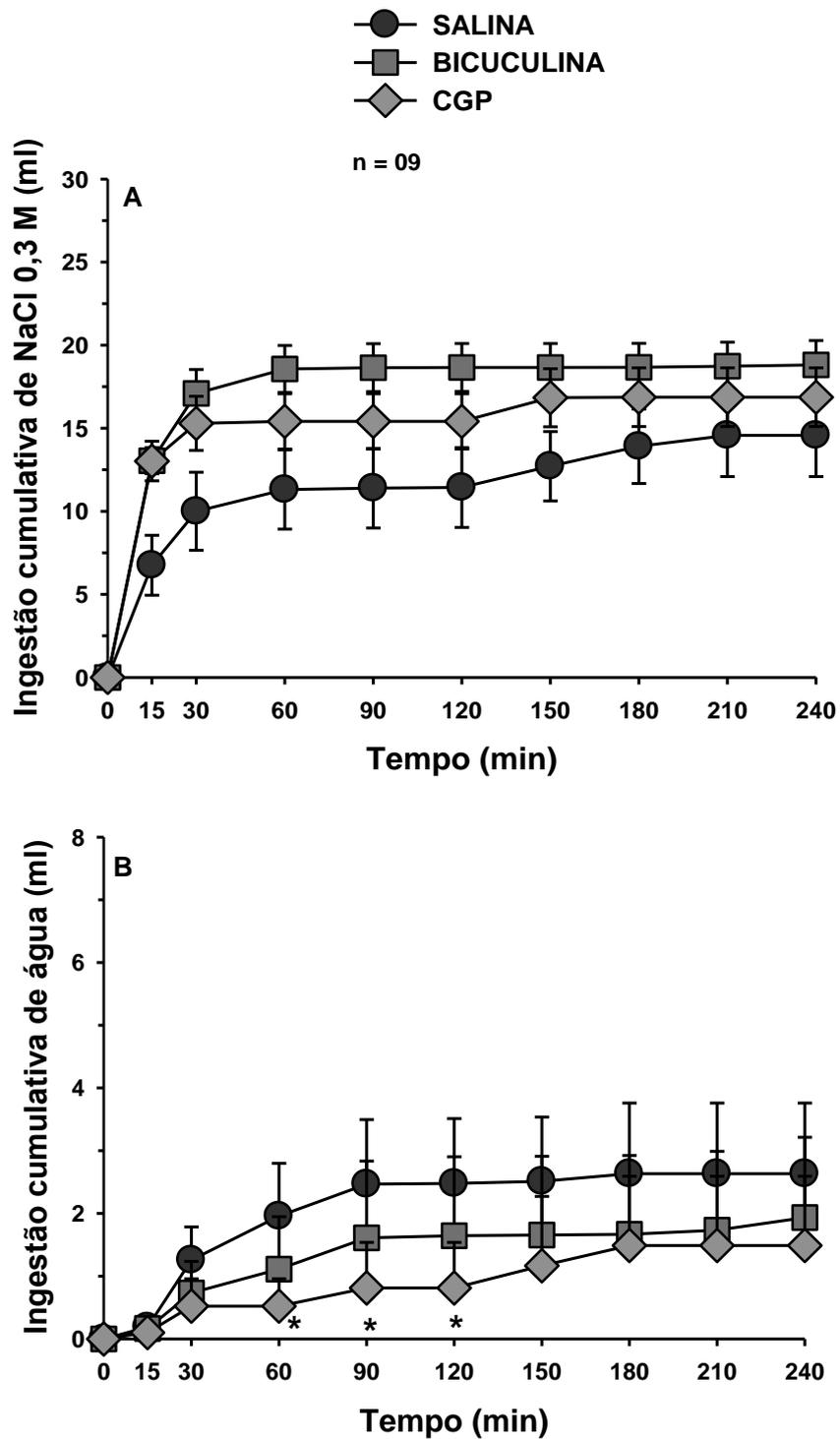
---

### 4.3. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> no CeA.

Injeções bilaterais do antagonista de receptores GABA<sub>A</sub> bicuculina (1,6 nmol/0,2 µl) não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $18,8 \pm 1,4$  ml/240 min, vs. salina  $14,5 \pm 2,4$  ml/240 min), [F(2,16) = 2,74; p>0,05] (Figura 3A), nem a ingestão de água ( $1,9 \pm 1,2$  ml/240 min, vs. salina  $1,4 \pm 0,6$  ml/240 min) induzida por depleção de sódio, [F(2,16) = 2,753; p>0,05], (Figura 3B).

Administração bilateral do antagonista de receptores GABA<sub>B</sub>, CGP, (15 nmol/0,2 µl) no CeA não modificou a ingestão de NaCl 0,3 M ( $17,2 \pm 1,9$  ml/240 min, vs. salina  $14,5 \pm 2,4$  ml/240 min), [F(2,16) = 0,74; p>0,05] (Figura 3A). Porém, esse tratamento reduziu a ingestão de água aos 60, 90 e 120 minutos de experimento ( $0,5 \pm 0,4$  ml/240 min, vs. salina  $1,05 \pm 0,6$  ml/240 min;  $0,8 \pm 0,7$ , vs. salina  $1,36 \pm 0,6$  ml/240 min;  $0,8 \pm 0,7$ , vs. salina  $1,36 \pm 0,6$  ml/240 min, respectivamente) em animais depletados de sódio, [F(16,128) = 1,79; p<0,05], (Figura 3B).

Injeções localizadas fora do CeA, tanto de bicuculina (1,6 nmol/0,2 µl) como a de CGP (15 nmol/0,2 µl) não produziram qualquer efeito na ingestão de NaCl 0,3 M ( $17,1 \pm 2,6$  ml/240 min;  $16,3 \pm 2,0$  ml/240 min, vs. salina:  $12,6 \pm 2,1$  ml/240 min, respectivamente), [F(2,14) = 0,654; p>0,05], nem na ingestão de água ( $0,8 \pm 0,3$  ml/240 min;  $1,6 \pm 0,4$  ml/240 min, vs. salina:  $1,0 \pm 0,4$  ml/240 min, respectivamente), [F(2,14) = 0,518; p>0,05], em animais depletados de sódio (Tabela 02).



**Figura 3.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de bicuculina (1,6 nmol/0,2  $\mu$ l), CGP (15 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais (\* diferente de salina; p = 0,039).

**Tabela 2.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de bicuculina (1,6 nmol/0,2 µl) ou CGP (15 nmol/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	8,2 ± 1,3	11,2 ± 1,4	11,8 ± 1,5	12,2 ± 1,8	12,2 ± 1,8	12,2 ± 1,8	12,5 ± 1,9	12,6 ± 2,1	12,6 ± 2,1
bicuculina	9,8 ± 1,7	13,9 ± 2,4	15,8 ± 3,1	15,9 ± 3,1	16,0 ± 3,1	16,0 ± 3,1	16,9 ± 2,5	17,1 ± 2,6	17,1 ± 2,6
CGP	10,9 ± 2,1	13,2 ± 2,3	14,0 ± 2,5	15,1 ± 2,2	15,5 ± 2,1	15,5 ± 2,1	16,0 ± 1,9	16,3 ± 2,0	16,3 ± 2,0
	Ingestão de água (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,05	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4
bicuculina	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,3
CGP	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,9 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,4

Resultados são expressos como média ± EPM, n = 08.

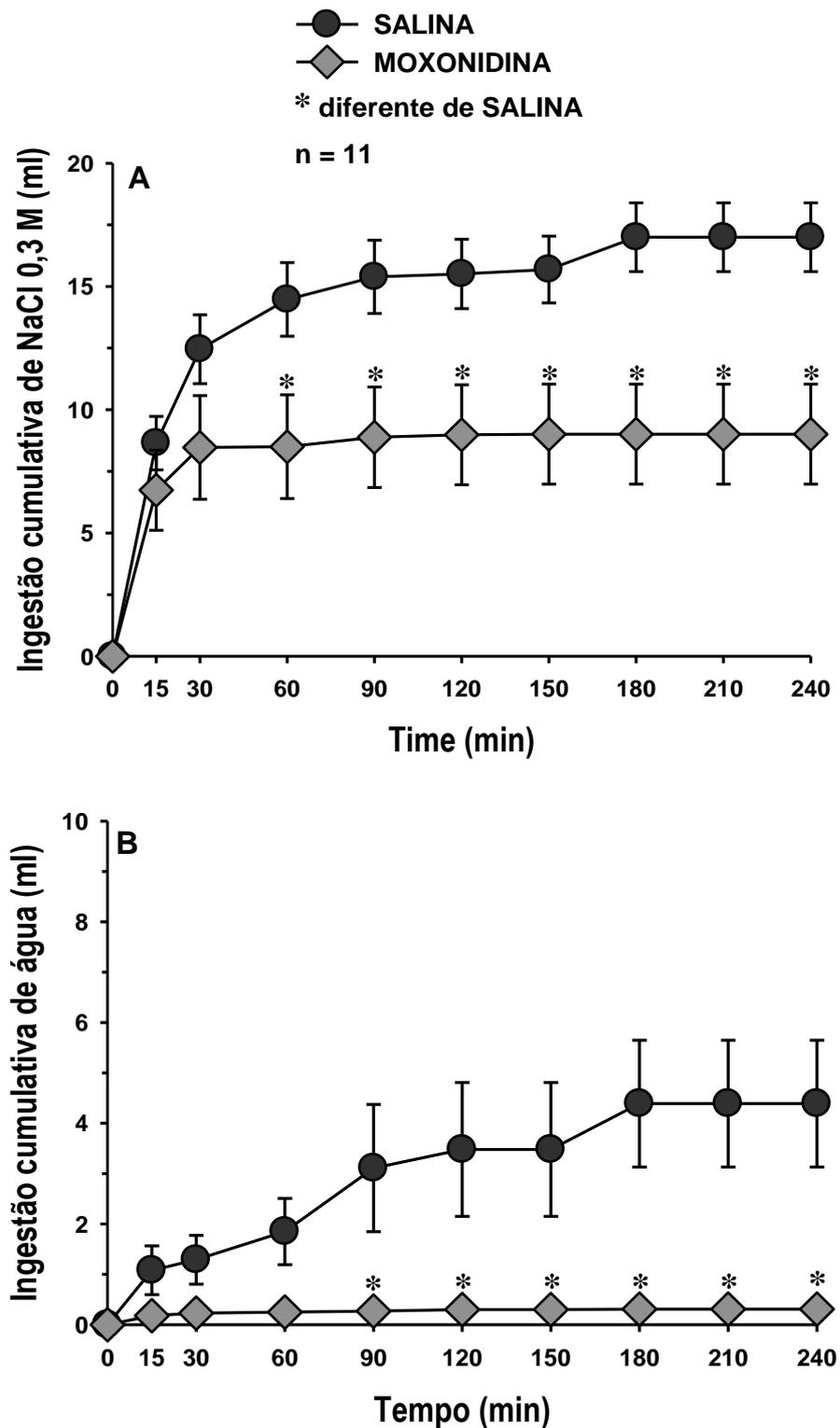
---

---

#### **4.4. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação de receptores adrenérgicos $\alpha_2$ no CeA.**

A administração bilateral do agonista de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ /imidazólicos moxonidina (10 nmol/0,2  $\mu$ l) no CeA reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M ( $9,0 \pm 2,0$  ml/4 h, vs. salina:  $17,0 \pm 1,4$  ml/4 h), [F(1,10) = 15,089;  $p < 0,05$ ] (Figura 4A), e também a ingestão de água ( $0,3 \pm 0,07$  ml/4 h, vs. salina:  $4,0 \pm 1,2$  ml/4 h), [F(1,10) = 7,223;  $p < 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Figura 4B).

Moxonidina (10 nmol/0,2  $\mu$ l) administrada fora do CeA não alterou a ingestão de NaCl 0,3 M ( $10,3 \pm 3,0$  ml/4 h, vs. salina:  $12,8 \pm 0,9$  ml/4 h), [F(1,9) = 1,073;  $p > 0,05$ ], nem na ingestão de água ( $0,8 \pm 0,6$  ml/4 h, vs. salina:  $1,0 \pm 0,4$  ml/4 h), [F(1,9) = 0,225;  $p > 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Tabela 03)



**Figura 4.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de moxonidina (10 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 3.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de moxonidina (10 nmol/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	7,6 ± 0,7	11,0 ± 1,1	11,4 ± 1,1	12,5 ± 0,8	12,7 ± 1,0	12,7 ± 1,0	12,8 ± 0,9	12,8 ± 0,9	12,8 ± 0,9
moxonidina	6,7 ± 1,9	8,9 ± 2,6	9,1 ± 2,7	9,3 ± 2,7	9,8 ± 2,9	9,8 ± 2,9	10,2 ± 2,9	10,3 ± 3,0	10,3 ± 3,0

Tratamento	Ingestão de água (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,03 ± 0,4	1,03 ± 0,4	1,03 ± 0,4
moxonidina	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,5	0,6 ± 0,5	0,7 ± 0,6	0,8 ± 0,6	0,8 ± 0,6	0,8 ± 0,6	0,8 ± 0,6

Resultados são expressos como média ± EPM, n = 10.

---

---

#### **4.5. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos a ativação ou bloqueio dos receptores de ocitocina no CeA.**

Injeções bilaterais de OVT (1 µg/0,2 µl) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M (11,3± 2,6 ml/180 min, vs. salina 12,8 ± 3.4 ml/180 min), [F(1,3) = 0,514; p > 0,05], nem a ingestão de água (2,4 ± 1,2 ml/180 min, vs. salina 1,2 ± 0,5 ml/180 min) em animais depletados de sódio, [F(1,3) = 0,637; p>0,05], (Tabela 4).

Administração bilateral de OT (1 µg/0,2 µl) no CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M (17,2 ± 1,4 ml/180 min, vs. salina 18,9 ± 1,7 ml/180 min), [F(1,11) = 0,0937; p>0,05], e a ingestão de água (2,3 ± 0,9 ml/180 min, vs. salina 1,6 ± 0,6 ml/180 min) em animais depletados de sódio, [F(1,11) = 1,332; p > 0,05], (Tabela 4).

Injeções bilaterais de OT (1 µg/0,2 µl) localizadas fora do CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M (17,6 ± 1,3 ml/180 min, vs. salina 14,1 ± 1,5 ml/180 min), [F(1,6) = 3,453; p>0,05], e a ingestão de água (2,8 ± 0,3 ml/180 min, vs. salina 1,7 ± 1,0 ml/180 min) em animais depletados de sódio, [F(1,6) = 2,284; p > 0,05], (Tabela 5). Da mesma forma, injeções bilaterais de OVT (1 µg/0,2 µl) localizadas fora do CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M (8,3 ± 2,5 ml/180 min, vs. salina 8,0 ± 1,3 ml/180 min), [F(1,3) = 0,0002; p>0,05], e a ingestão de água (3,6 ± 1,5 ml/180 min, vs. salina 2,8 ± 1,4 ml/180 min) em animais depletados de sódio, [F(1,3) = 0,22; p > 0,05], (Tabela 5).

**Tabela 4.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de ocitocina (1 µg/0,2 µl) ou vasotocina (1 µg/0,2 µl) no CeA.

Tratamento	<i>Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)</i>						
	<i>n</i>	<b>30 min</b>	<b>60 min</b>	<b>90 min</b>	<b>120 min</b>	<b>150 min</b>	<b>180 min</b>
salina	12	11,9 ± 2,3	15,0 ± 2,1	15,9 ± 2,1	17,2 ± 1,8	18,2 ± 1,9	18,9 ± 1,7
ocitocina	12	11,2 ± 1,5	14,7 ± 1,3	16,1 ± 1,3	17,1 ± 1,3	17,2 ± 1,3	17,3 ± 1,3
salina	4	10,8 ± 2,8	12,6 ± 3,4	12,7 ± 3,4	12,8 ± 3,5	12,8 ± 3,5	12,8 ± 3,5
vasotocina	4	10,3 ± 3,3	10,4 ± 3,3	11,3 ± 2,7	11,3 ± 2,7	11,3 ± 2,7	11,3 ± 2,7

	<i>Ingestão de água (ml)</i>						
	<i>n</i>	<b>30 min</b>	<b>60 min</b>	<b>90 min</b>	<b>120 min</b>	<b>150 min</b>	<b>180 min</b>
salina	12	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,6	1,6 ± 0,6
ocitocina	12	0,6 ± 0,2	1,3 ± 0,4	1,9 ± 0,8	2,1 ± 0,8	2,1 ± 0,8	2,3 ± 0,9
salina	4	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,5	1,1 ± 0,5	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,5
vasotocina	4	2,0 ± 1,1	2,1 ± 1,1	2,4 ± 1,2	2,4 ± 1,2	2,4 ± 1,2	2,4 ± 1,2

**Resultados são expressos como média ± EPM, n = número de animais.**

**Tabela 5.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de ocitocina (1 µg/0,2 µl) ou vasotocina (1 µg/0,2 µl) em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	<i>Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)</i>						
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
salina	7	9,8 ± 2,5	12,7 ± 2,3	12,7 ± 2,3	13,3 ± 1,8	13,7 ± 1,5	14,1 ± 1,5
ocitocina	7	14,1 ± 2,0	16,2 ± 1,3	17,0 ± 1,2	17,0 ± 1,2	17,6 ± 1,3	17,6 ± 1,3
salina	4	6,9 ± 1,3	7,3 ± 1,2	7,4 ± 1,2	7,4 ± 1,2	7,7 ± 1,3	8,0 ± 1,3
vasotocina	4	5,8 ± 3,4	6,1 ± 3,5	7,9 ± 2,9	8,3 ± 2,5	8,3 ± 2,5	8,3 ± 2,5

	<i>Ingestão de água (ml)</i>						
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
salina	7	0,6 ± 0,3	1,3 ± 1,0	1,4 ± 1,0	1,4 ± 1,0	1,5 ± 1,0	1,7 ± 1,0
ocitocina	7	1,0 ± 0,7	1,6 ± 1,1	2,3 ± 1,2	2,5 ± 1,3	2,8 ± 1,3	2,8 ± 1,3
salina	4	0,7 ± 0,3	1,3 ± 0,9	1,5 ± 1,1	1,9 ± 1,1	2,6 ± 1,3	2,8 ± 1,3
vasotocina	4	0,4 ± 0,3	0,9 ± 0,4	1,3 ± 0,6	2,2 ± 1,0	3,6 ± 1,5	3,6 ± 1,5

**Resultados são expressos como média ± EPM, n = número de animais.**

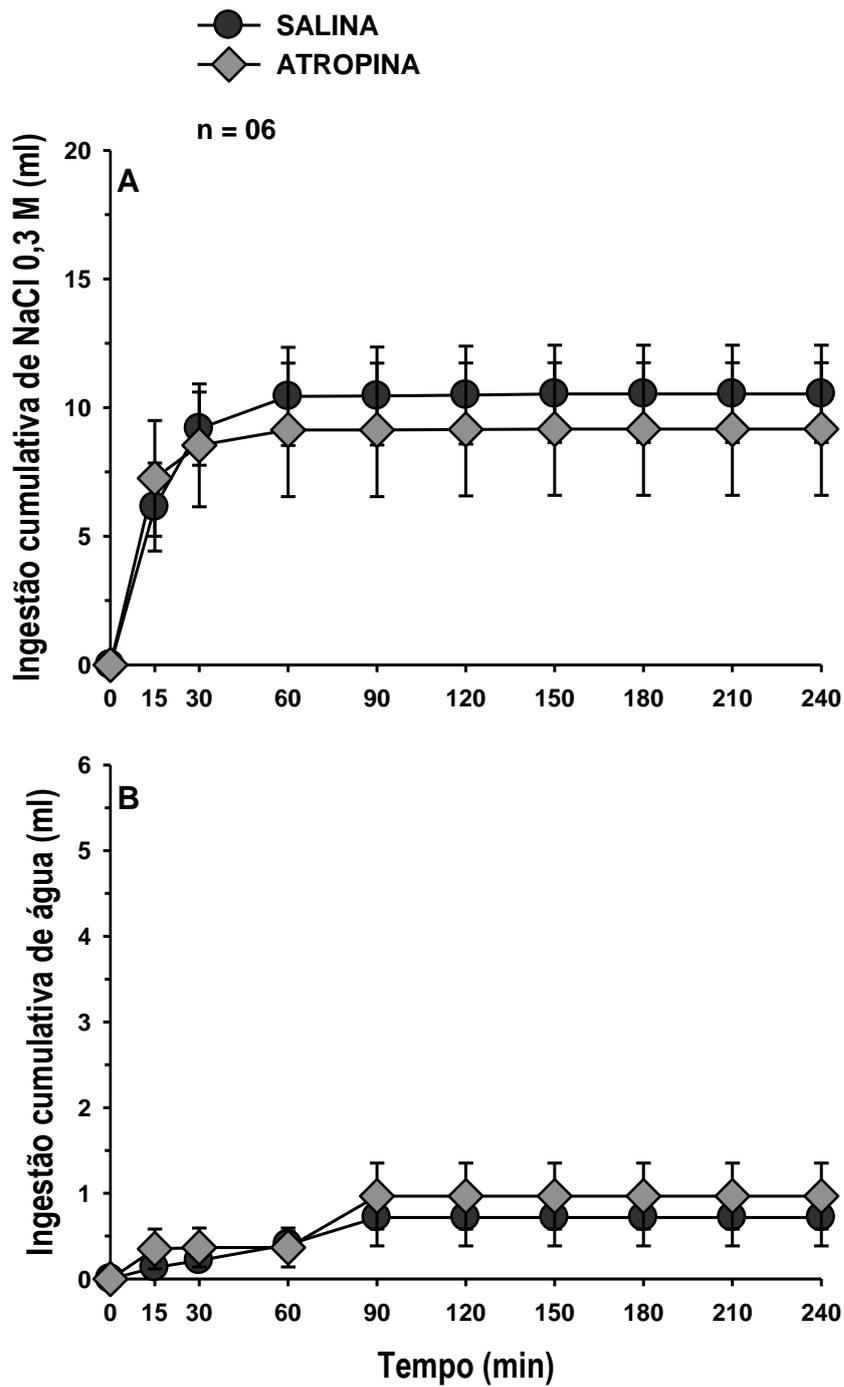
---

---

#### **4.6. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores muscarínicos na CeA.**

Injeções bilaterais de atropina (2 nmol/0,2  $\mu$ l) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $9,16 \pm 2,5$  ml/240 min, vs. salina  $10,5 \pm 1,9$  ml/240 min), [F(1,5) = 0,192;  $p > 0,05$ ] (Figura 5A), e a ingestão de água ( $0,9 \pm 0,3$  ml/240 min, vs. salina  $0,71 \pm 0,3$  ml/240 min) induzidas por 24 horas de depleção de sódio, [F(1,5) = 0,431;  $p > 0,05$ ], (Figura 5B).

Injeções de atropina (2 nmol/0,2  $\mu$ l) localizadas fora do CeA não produziram qualquer efeito na ingestão de NaCl 0,3 M ( $13,9 \pm 4,4$  ml/4 h, vs. salina:  $12,8 \pm 1,0$  ml/4 h), [F(1,5) = 0,0816;  $p > 0,05$ ], nem na ingestão de água ( $0,13 \pm 0,1$  ml/4 h, vs. salina:  $0,65 \pm 0,3$  ml/4 h), [F(1,5) = 3,385;  $p > 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Tabela 6).



**Figura 5.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de atropina (2 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 6.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de atropina (2 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	8,1 $\pm$ 0,8	11,5 $\pm$ 1,7	11,8 $\pm$ 1,8	12,8 $\pm$ 1,0					
atropina	9,9 $\pm$ 2,8	12,8 $\pm$ 3,9	12,8 $\pm$ 3,9	12,8 $\pm$ 3,9	13,2 $\pm$ 4,1	13,2 $\pm$ 4,1	13,8 $\pm$ 4,4	13,9 $\pm$ 4,4	13,9 $\pm$ 4,4

Tratamento	Ingestão de água (ml)								
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min
salina	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3
atropina	0,03 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,04	0,11 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,1	0,13 $\pm$ 0,1	0,13 $\pm$ 0,1	0,13 $\pm$ 0,1

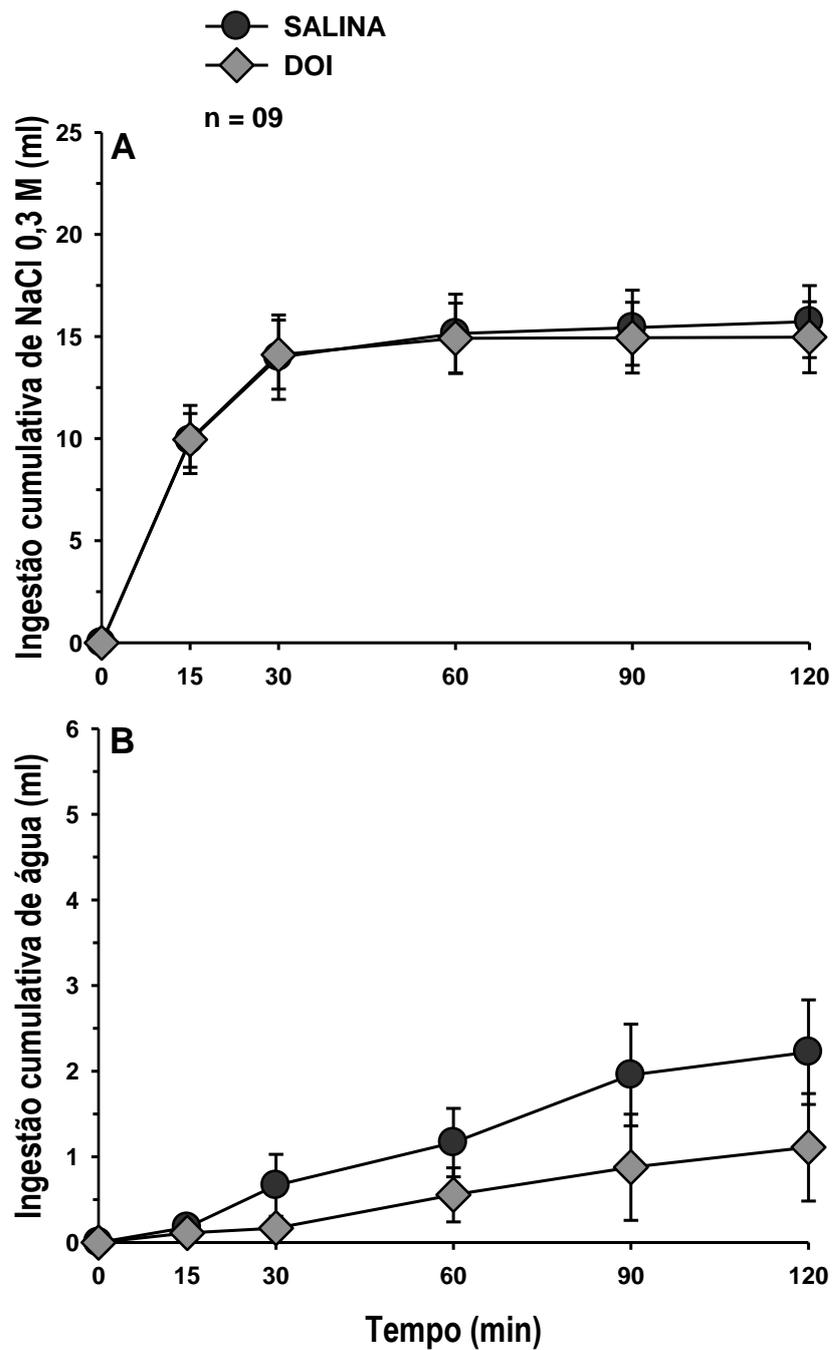
Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = 06.

---

---

#### **4.7. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção submetidos a ativação de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2A/2C</sub> no CeA.**

Injeções bilaterais de DOI (5 µg/0,2 µl) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M (14,9 ± 1,7, vs. salina 15,7 ± 1,7 ml/240 min), [F(1,8) = 0,0113; p>0,05] (Figura 6A) ou a ingestão de água (1,11 ± 0,6, vs. salina 2,22 ± 0,6 ml/240 min) em ratos com 24 horas de depleção de sódio, [F(1,8) = 3,085; p>0,05] (Figura 6B).



**Figura 6.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de DOI (5  $\mu$ g /0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

---

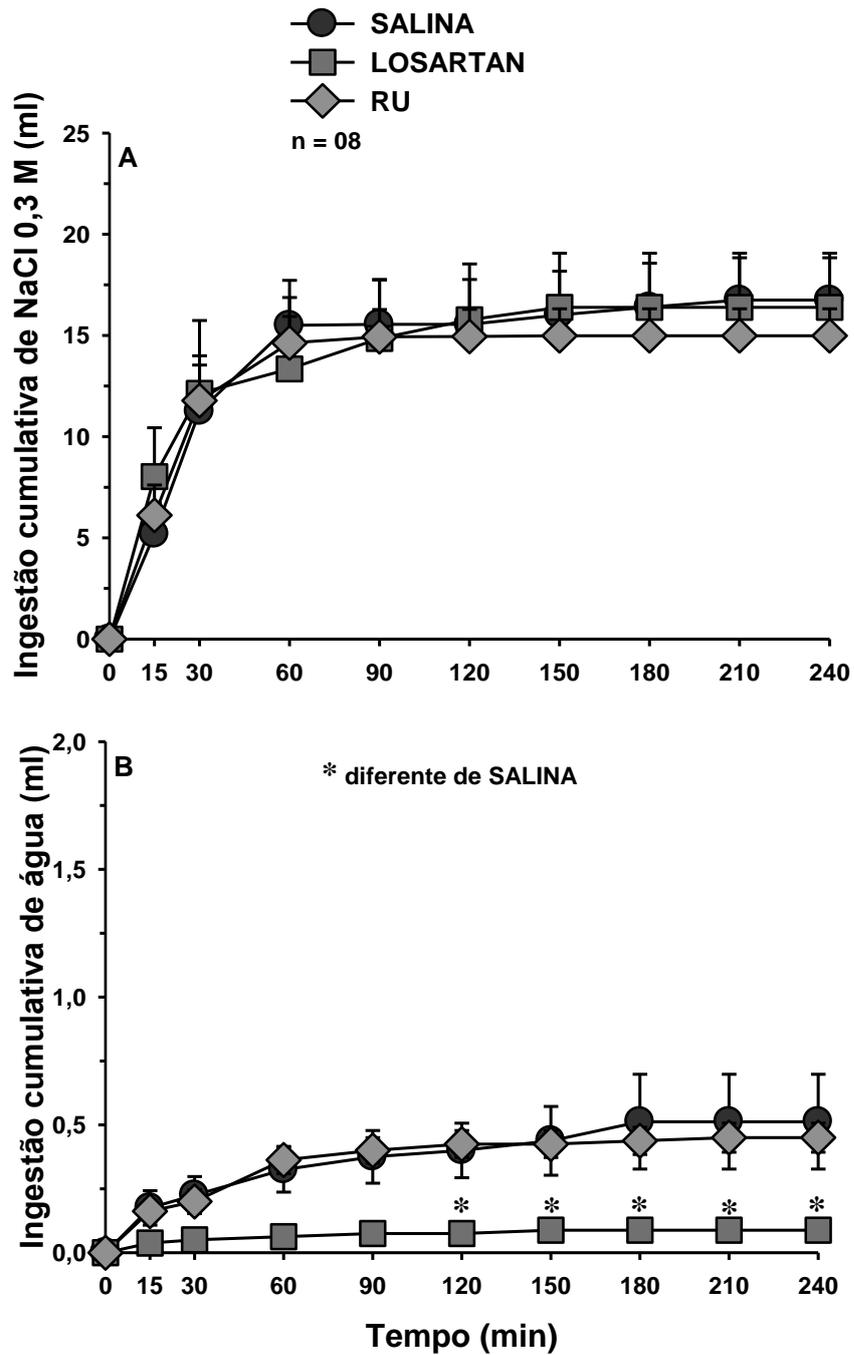
---

#### **4.8. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos e dos receptores de aldosterona no CeA.**

Injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2 µl) ou losartan (20 µg/0,2 µl) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $16,3 \pm 1,4$  e  $16,3 \pm 2,6$ , respectivamente, vs. salina  $17,3 \pm 1,7$  ml/240 min), [F(2,14) = 0,05;  $p > 0,05$ ] induzida por depleção de sódio (Figura 7A).

Injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2 µl) no CeA também não modificaram a ingestão água ( $0,5 \pm 0,1$  ml/4 h, vs. salina  $0,5 \pm 0,2$  ml/4 h) induzida por depleção de sódio. Entretanto, injeções bilaterais de losartan (20 µg/0,2 µl) no CeA reduziram significativamente a ingestão de água ( $0,08 \pm 0,02$ , vs. salina  $0,5 \pm 0,2$  ml/240 min), [F(2,14) = 4,762;  $p < 0,05$ ], induzida por depleção de sódio (Figura 7B).

Injeções localizadas fora do CeA, tanto de RU 28318 (50 ng/0,2 µl) como a de losartan (20 µg/0,2 µl), não produziram qualquer efeito na ingestão de NaCl 0,3 M ( $14,1 \pm 3,0$  ml/4 h;  $15,8 \pm 2,7$  ml/4 h, vs. salina:  $14,0 \pm 2,6$  ml/4 h, respectivamente), [F(2,12) = 0,488;  $p > 0,05$ ], nem na ingestão de água ( $0,7 \pm 0,3$  ml/4 h;  $0,8 \pm 0,5$  ml/4 h, vs. salina:  $2,2 \pm 0,8$  ml/4 h, respectivamente), [F(2,12) = 3,861;  $p > 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Tabela 7).



**Figura 7.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2  $\mu$ l), losartan (20  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 7.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de RU 28318 (50 ng/0,2 µl), losartan (20 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)									
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min	
salina	6,3 ± 1,9	11,8 ± 2,7	13,2 ± 2,6	13,8 ± 2,6	14,0 ± 2,6	14,0 ± 2,6	14,0 ± 2,6	14,0 ± 2,6	14,0 ± 2,6	14,0 ± 2,6
losartan	10,6 ± 2,1	14,7 ± 2,6	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7	15,8 ± 2,7
RU	9,3 ± 2,1	11,2 ± 2,3	11,8 ± 2,2	12,5 ± 2,2	13,4 ± 2,5	13,4 ± 2,5	13,4 ± 2,5	13,5 ± 2,6	14,1 ± 3,0	
Tratamento	Ingestão de água (ml)									
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	210 min	240 min	
salina	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,9 ± 0,7	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8
losartan	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,5
RU	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3

Resultados são expressos como média ± EPM, n = 07.

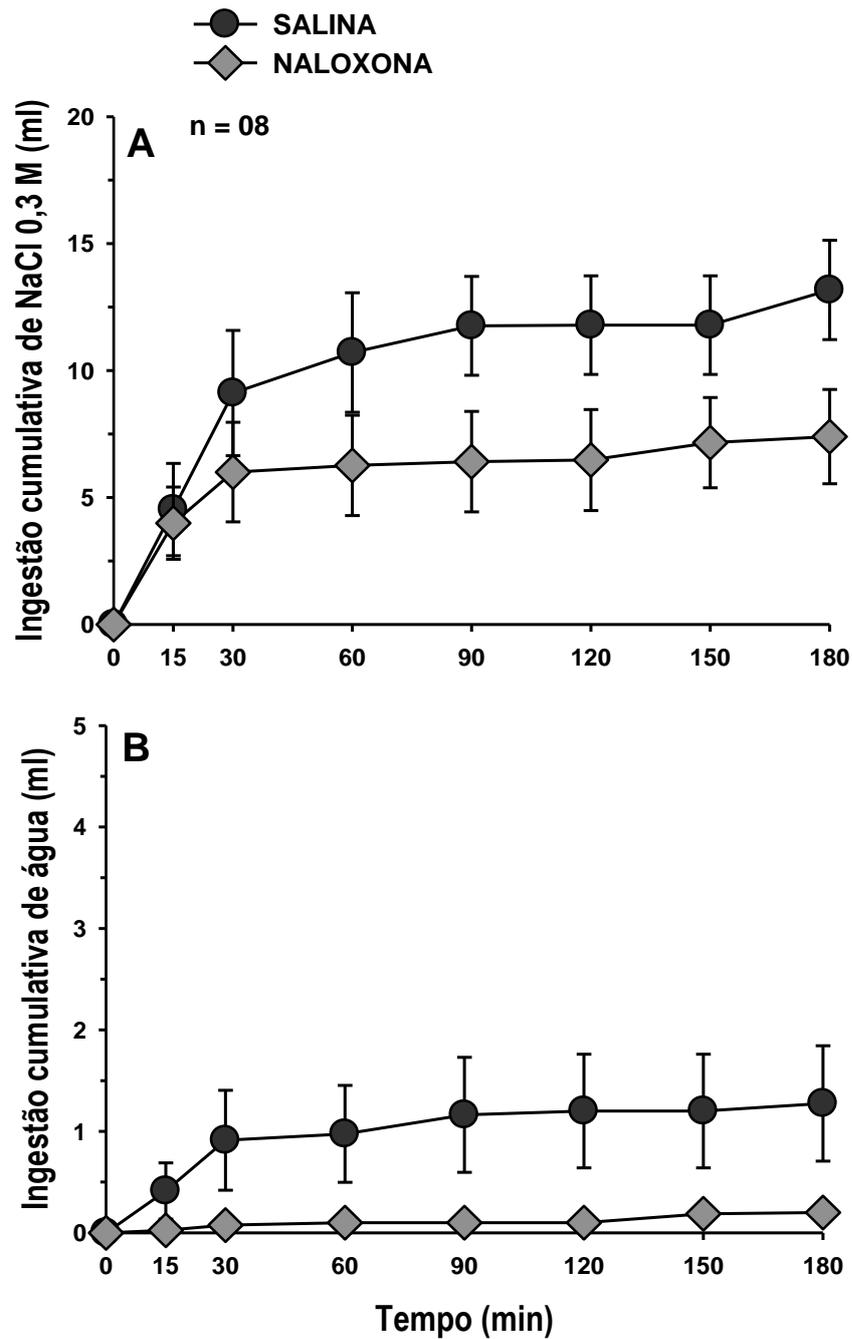
---

---

#### **4.9. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais com 24 horas de depleção de sódio submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.**

Injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA não foram capazes de modificar de forma significativa a ingestão de NaCl 0,3 M ( $7,4 \pm 1,8$ , vs. salina  $13,17 \pm 1,9$  ml/180 min), [F(1,7) = 2,141;  $p > 0,05$ ] (Figura 8A), e a ingestão de água ( $0,2 \pm 0,1$ , vs. salina  $1,27 \pm 0,5$  ml/180 min), [F(1,7) = 3,583;  $p > 0,05$ ] em animais depletados de sódio (Figura 8B).

Injeções de naloxona (40 µg/0,2 µl) localizadas fora do CeA não produziram qualquer efeito na ingestão de NaCl 0,3 M ( $13,8 \pm 2,1$  ml/180 min, vs. salina:  $16,5 \pm 2,0$  ml/180 min), [F(1,5) = 0,172;  $p > 0,05$ ], induzida por depleção de sódio. Entretanto, reduziu a ingestão de água ( $0,5 \pm 0,3$  ml/180 min, vs. salina:  $2,8 \pm 1,0$  ml/180 min), [F(6,30) = 4,143;  $p < 0,05$ ], em animais depletados de sódio (Tabela 8).



**Figura 8.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos submetidos a 24 horas de depleção de sódio e que receberam injeções bilaterais de naloxona (40  $\mu\text{g}/0,2 \mu\text{l}$ ) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 8.** Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)						
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
salina	8,0 ± 2,0	11,7 ± 2,6	12,3 ± 3,0	13,0 ± 3,2	13,6 ± 3,3	16,1 ± 2,0	16,5 ± 2,0
naloxona	1,7 ± 1,7	9,5 ± 2,2	11,4 ± 1,4	12,3 ± 1,5	13,0 ± 1,9	13,8 ± 2,1	13,8 ± 2,1

Tratamento	Ingestão de água (ml)						
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
salina	0,06 ± 0,03	1,1 ± 0,6	2,1 ± 1,0	2,5 ± 1,1	2,6 ± 1,1	2,8 ± 1,0	2,8 ± 1,0
naloxona	0,08 ± 0,05	0,08 ± 0,05	0,1 ± 0,06	0,1 ± 0,1*	0,1 ± 0,1*	0,2 ± 0,1*	0,5 ± 0,3*

**Resultados são expressos como média ± EPM, n = 06.**

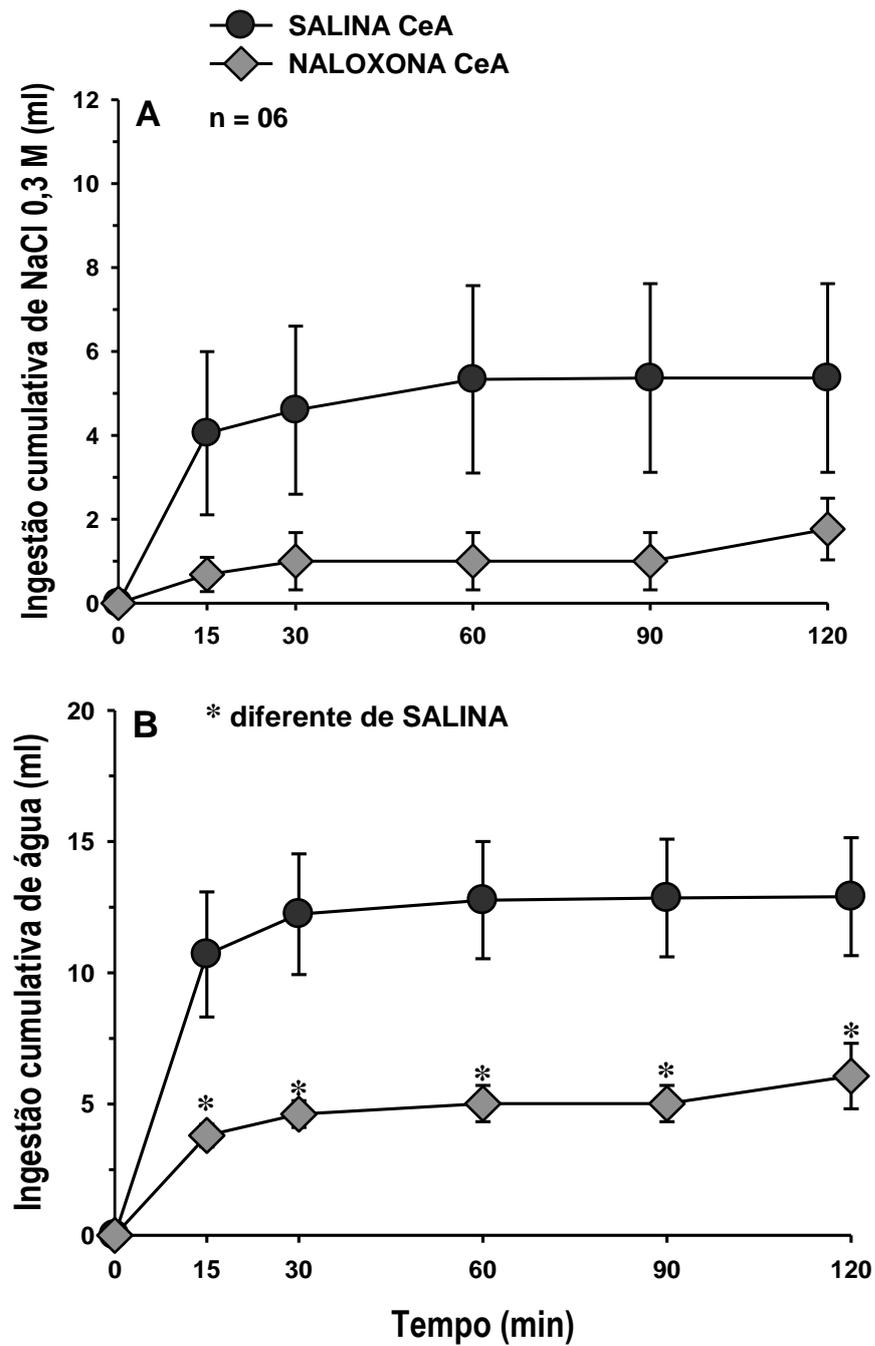
**\* diferente de salina (p = 0,004)**

---

---

#### **4.10. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP sc em ratos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.**

Injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $1,76 \pm 0,7$ , vs. salina  $5,3 \pm 2,2$  ml/120 min), [F(1,5) = 6,161;  $p > 0,05$ ] (Figura 9A), mas reduziram a ingestão de água induzida por FURO + CAP sc ( $6,0 \pm 1,2$ , vs. salina  $12,9 \pm 2,2$  ml/120 min), [F(1,5) = 11,42;  $p < 0,05$ ], (Figura 9B).



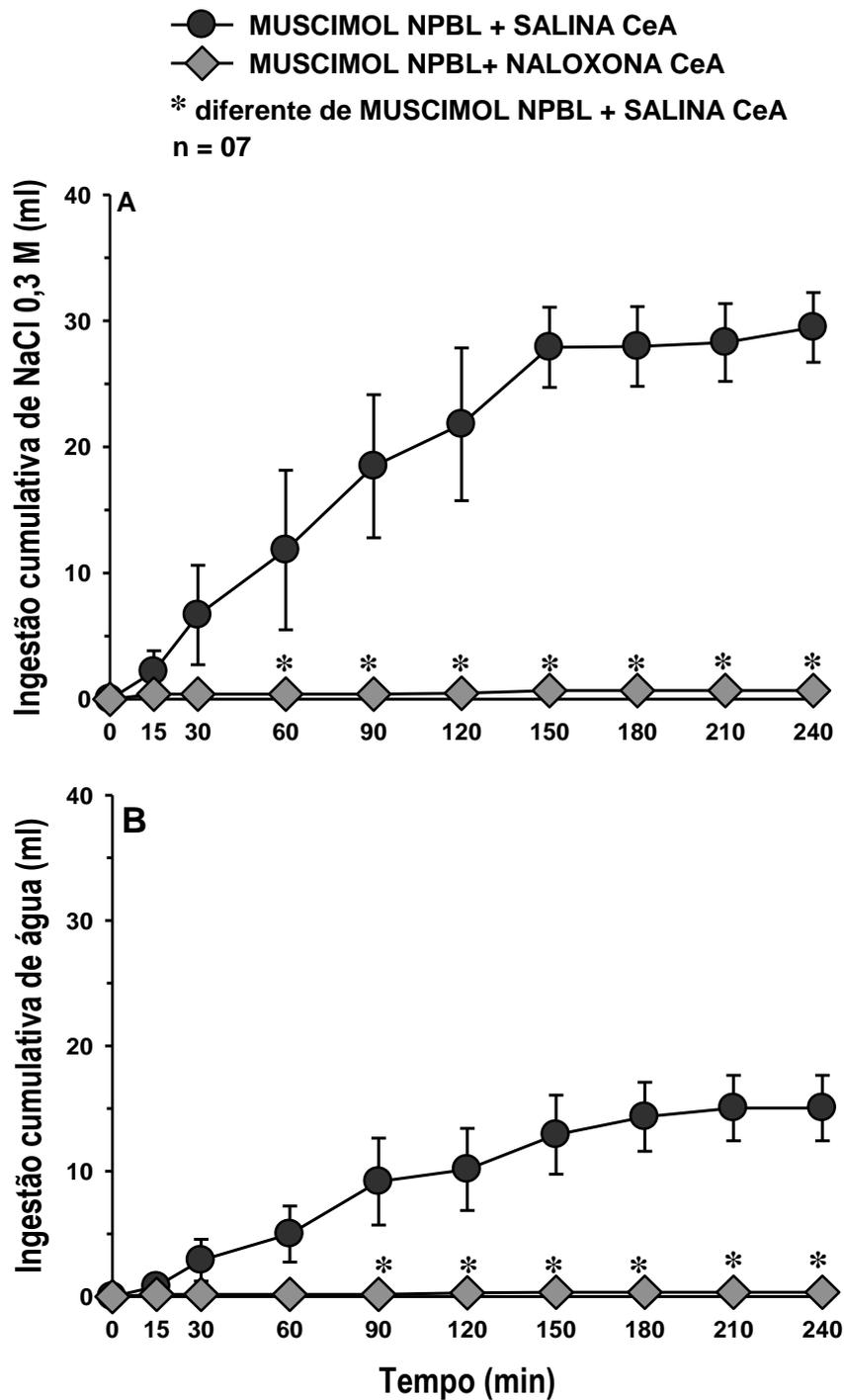
**Figura 9.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água induzida por FURO + CAP sc em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

---

---

**4.11. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores opióides no CeA.**

Injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA bloquearam a ingestão de NaCl 0,3 M ( $29,4 \pm 2,7$  ml/4 h, vs. salina:  $0,7 \pm 0,3$  ml/4 h), [F(1,6) = 26,88; p<0,05] (Figura 10A), e a ingestão de água ( $15,0 \pm 2,6$  ml/4 h, vs. salina:  $0,3 \pm 0,1$  ml/4 h), [F(1,6) = 19,813; p<0,05] (Figura 10B), induzidas por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL em animais saciados.



**Figura 10.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos saciados tratados com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL combinadas com injeções bilaterais de naloxona (40  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

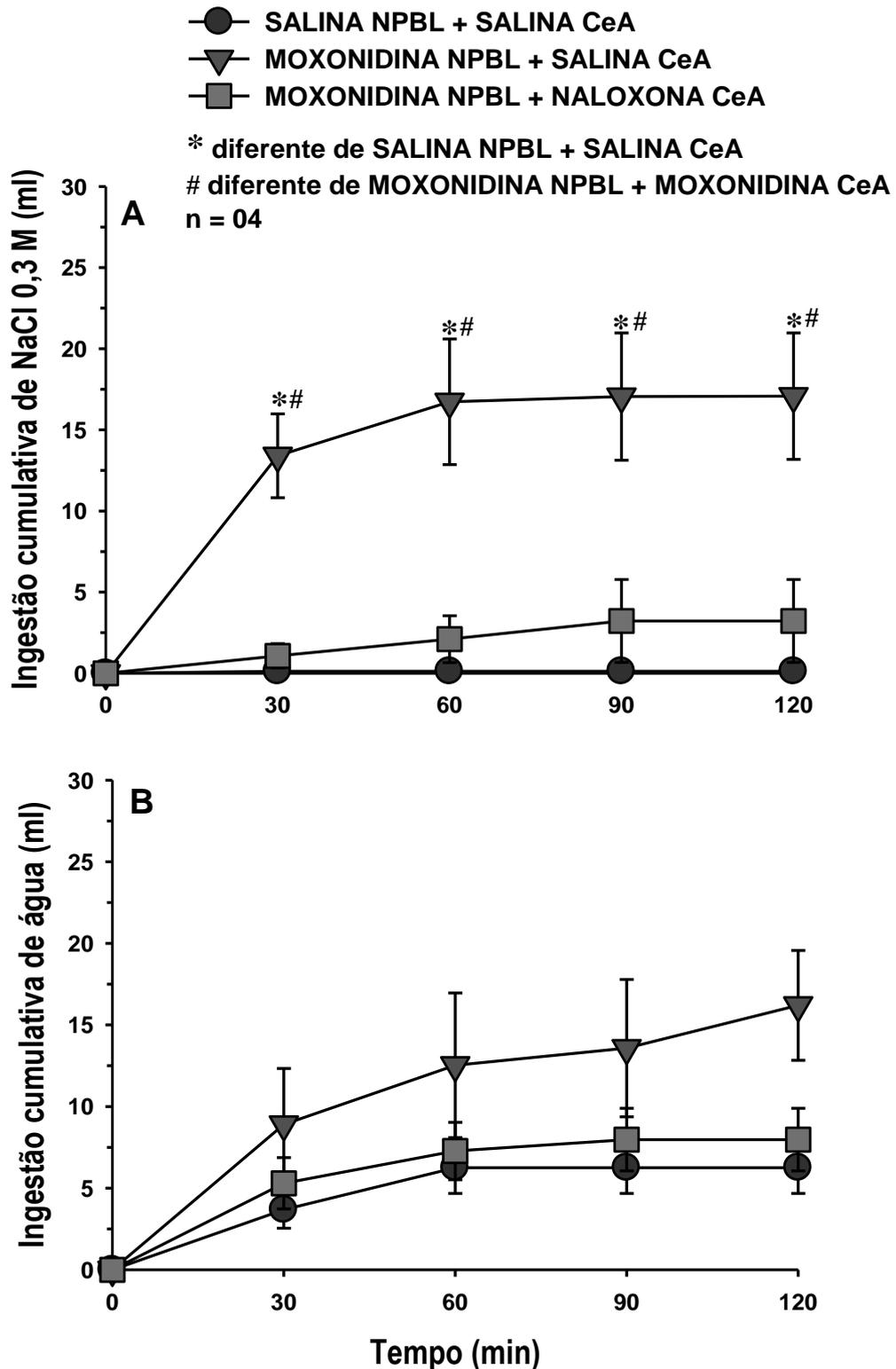
---

---

**4.12. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos com desidratação intracelular que receberam injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinadas com o bloqueio de receptores opióides no CeA.**

Moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl) injetada bilateralmente no NPBL combinada com injeções de salina no CeA aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M em ratos tratados com gavagem ig de NaCl 2 M ( $17,0 \pm 3,8$  ml/2 h, vs. salina NPBL + salina CeA:  $0,12 \pm 0,5$  ml/2 h), [F(2,6) = 10,075;  $p < 0,05$ ] (Figura 11A). Injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA bloquearam a ingestão de NaCl 0,3 M em ratos tratados com gavagem ig de NaCl 2 M que receberam injeções bilaterais de moxonidina no NPBL ( $3,2 \pm 2,5$  ml/2 h) (Figura 11A).

Não houve alterações significativas da ingestão de água em ratos tratados com gavagem ig de NaCl 2 M que receberam moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl) injetada bilateralmente no NPBL combinada com injeções de salina no CeA ( $16,2 \pm 3,3$  ml/2 h, vs. salina NPBL + salina CeA:  $6,2 \pm 1,5$  ml/2 h) ou combinada com injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) no CeA ( $7,9 \pm 1,9$  ml/2 h), [F(2,6) = 1,798;  $p > 0,05$ ] (Figura 11B).



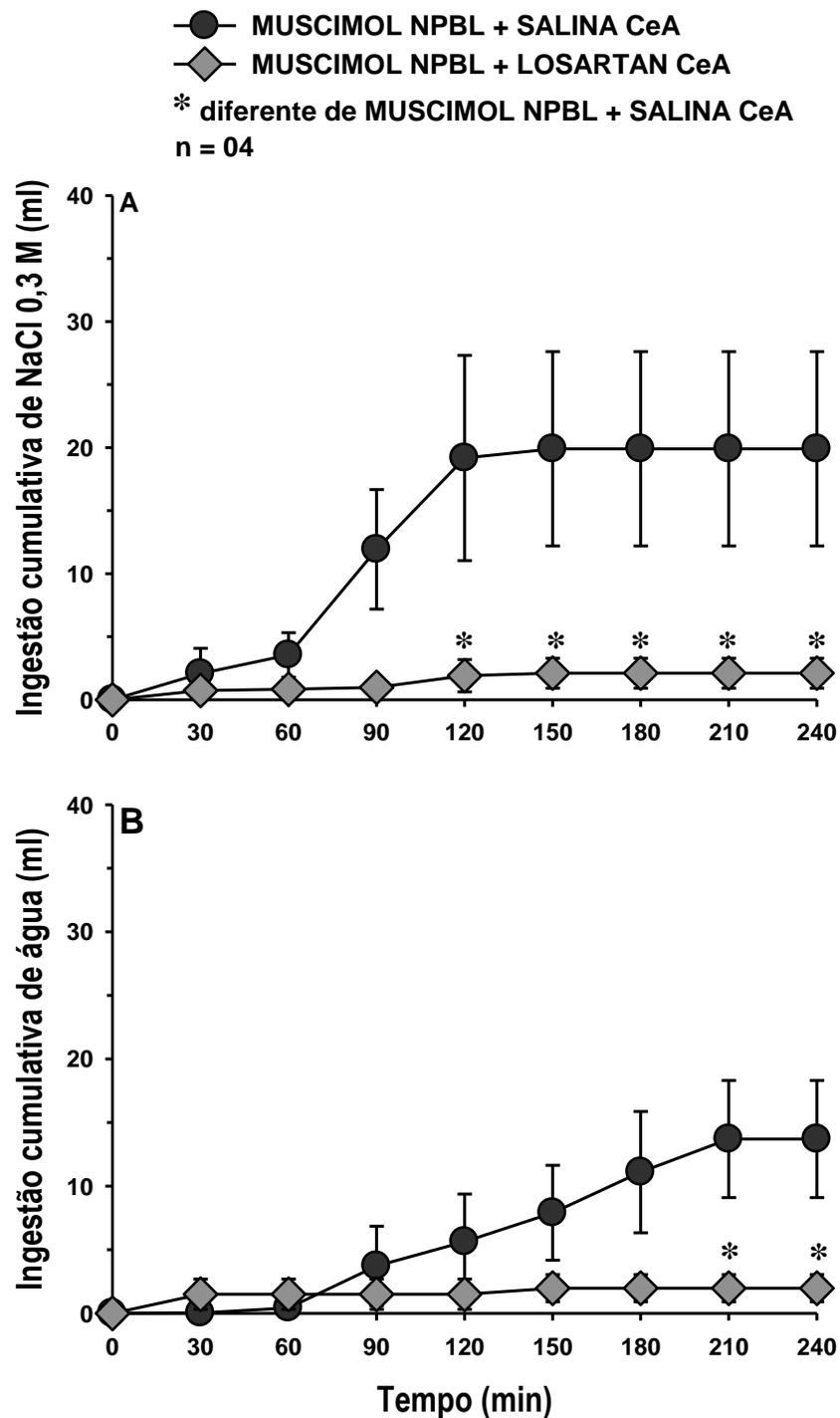
**Figura 11.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos em ratos tratados com gavagem ig de NaCl 2 M que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou salina no NPBL combinadas com injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média ± EPM, n = número de animais.

---

---

**4.13. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados e normovolêmicos submetidos ao bloqueio de receptores angiotensinérgicos no CeA.**

Injeções bilaterais de losartan (20 µg/0,2 µl) no CeA aboliram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $19,9 \pm 7,7$  ml/4 h, vs. salina:  $2,1 \pm 1,2$  ml/4 h), [F(7,21) = 3,887; p<0,05] (Figura 12A), e a ingestão de água ( $13,7 \pm 4,6$  ml/4 h, vs. salina:  $1,9 \pm 1,1$  ml/4 h), [F(7,21) = 4,427; p<0,05] (Figura 12B), induzidas por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 µl) no NPBL em animais saciados.



**Figura 12.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) água em ratos saciados e tratados com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL combinadas com injeções bilaterais de losartan (20  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

---

---

**4.14. Ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos saciados submetidos ao bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL com injeções bilaterais de moxonidina combinado com a ativação de mecanismos facilitatórios do CeA com injeções de ANG II.**

Injeções bilaterais de ANG II (20 ng/0,2 µl) no CeA não induziram qualquer modificação na ingestão de NaCl 0,3 M ( $0,2 \pm 0,1$  ml/120 min, vs. salina:  $0,2 \pm 0,1$  ml/120 min), [F(1,6) = 0,0038;  $p > 0,05$ ], e na ingestão de água ( $0,8 \pm 0,5$  ml/120 min, vs. salina:  $0,9 \pm 0,5$  ml/120 min), [F(1,6) = 0,0032;  $p > 0,05$ ], em animais saciados e que não receberam tratamento no NPBL (Tabela 9).

O bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL com injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl) combinado com injeções bilaterais de ANG II (20 ng/0,2 µl) no CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ( $0,3 \pm 0,2$  ml/120 min, vs. salina  $0,0 \pm 0,0$  ml/120 min), [F(1,2) = 3,469;  $p > 0,05$ ], e a ingestão de água ( $0,6 \pm 0,3$  ml/120 min, vs. salina  $0,4 \pm 0,4$  ml/120 min) [F(1,2) = 0,0526;  $p > 0,05$ ] (Tabela 09).

**Tabela 9.** Ingestão de NaCl 0,3 M e água após a redução dos mecanismos inibitórios do NPBL combinado com a ativação de receptores angiotensinérgicos no CeA.

Tratamento	<i>Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)</i>				
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min
salina NPBL + salina CeA	7	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
salina NPBL + ANG II CeA	7	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min
MOXO NPBL + salina CeA	3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
MOXO NPBL + ANG II CeA	3	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,5
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min
salina NPBL + salina CeA	7	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5
salina NPBL + ANG II CeA	7	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4
	<i>n</i>	30 min	60 min	90 min	120 min
MOXO NPBL + salina CeA	3	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,5
MOXO NPBL + ANG II CeA	3	0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3

**Resultados são expressos como média ± EPM.**

moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl) – agonista adrenérgico  $\alpha_2$

ANG II (20 ng/0,2 µl)

---

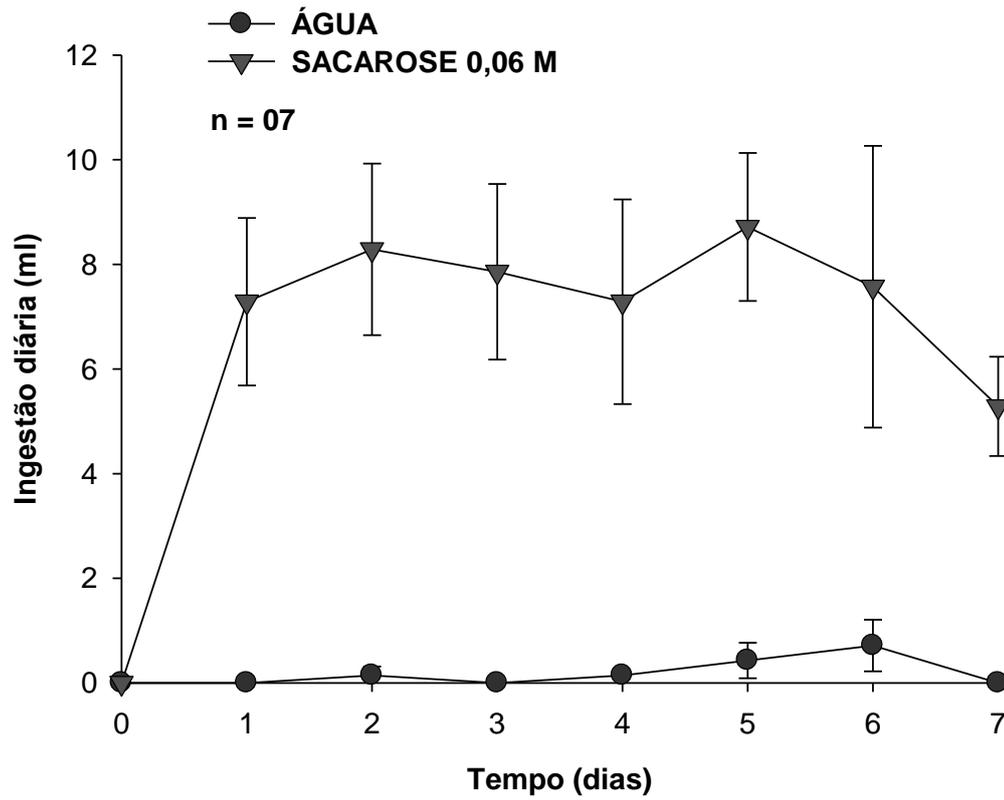
---

#### 4.15. Efeitos da ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.

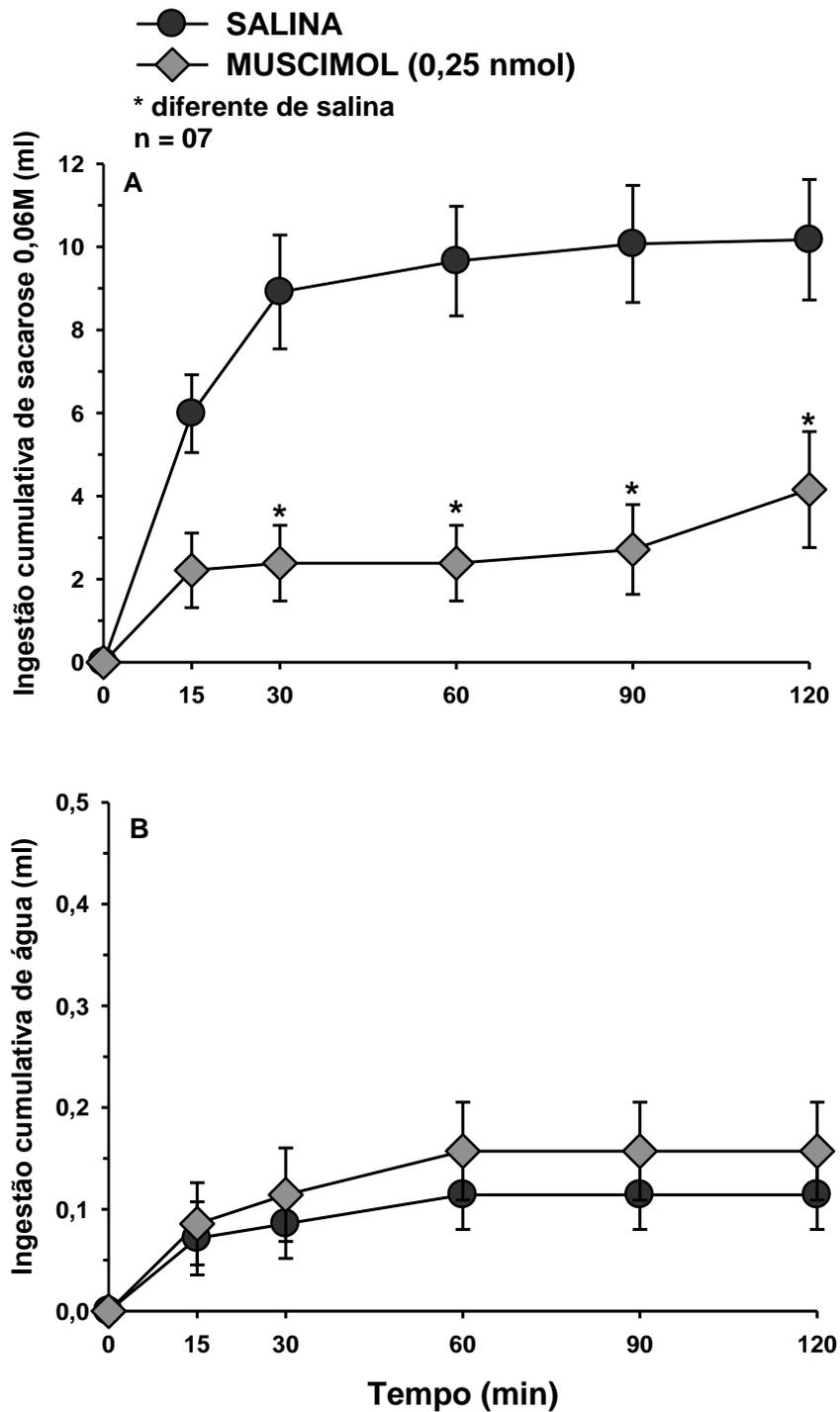
A figura 13 mostra a ingestão diária de sacarose 0,06 M e água em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso a sacarose 0,06 M durante duas horas por dia, ao longo de 7 dias.

Injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) no CeA reduziram a ingestão de sacarose 0,06 M ( $4,15 \pm 1,4$ , vs. salina  $10,17 \pm 1,4$  ml/2 h), [F(1,6) = 13,60;  $p < 0,05$ ] (Figura 14A), mas não alteraram a ingestão de água ( $0,15 \pm 0,04$ , vs. salina  $0,11 \pm 0,03$  ml/2 h), [F(1,6) = 0,359;  $p > 0,05$ ] (Figura 14B).

Injeções de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) localizadas fora do CeA não produziram qualquer efeito na ingestão de sacarose 0,06 M ( $8,4 \pm 2,6$  ml/2 h, vs. salina:  $7,6 \pm 2,2$  ml/2 h), [F(1,4) = 0,0005;  $p > 0,05$ ], nem na ingestão de água ( $0,2 \pm 0,1$  ml/2 h, vs. salina:  $0,4 \pm 0,3$  ml/2 h), [F(1,4) = 0,487;  $p > 0,05$ ] (Tabela 10).



**Figura 133.** Ingestão diária de sacarose 0,06 M e água em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso a sacarose 0,06 M durante duas horas por dia. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.



**Figura 14.** Ingestão cumulativa de A) sacarose 0,06 M e B) água em ratos treinados a ingerir sacarose que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 10.** Ingestão cumulativa de sacarose 0,06 M e água em ratos que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de sacarose 0,06 M (ml)				
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	5,9 $\pm$ 1,8	6,9 $\pm$ 2,0	7,3 $\pm$ 2,1	7,3 $\pm$ 2,1	7,6 $\pm$ 2,2
muscimol	5,6 $\pm$ 1,5	6,8 $\pm$ 2,1	7,1 $\pm$ 2,2	7,4 $\pm$ 2,3	8,4 $\pm$ 2,6

	Ingestão de água (ml)				
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,3
muscimol	0,1 $\pm$ 0,04	0,1 $\pm$ 0,05	0,1 $\pm$ 0,06	0,1 $\pm$ 0,06	0,2 $\pm$ 0,1

**Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = 05.**

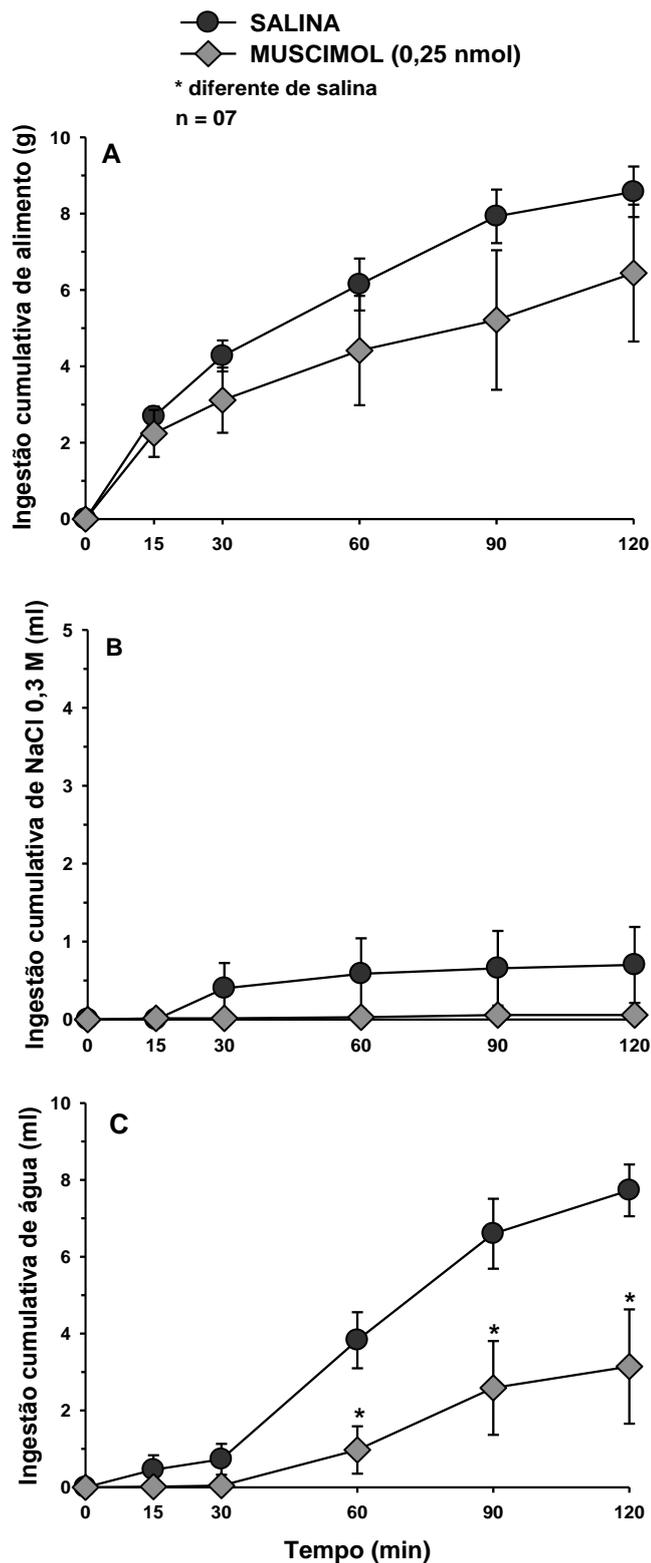
---

---

#### **4.16. Efeitos da ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no CeA sobre a ingestão de alimento induzida por privação de alimento.**

Em ratos privados de ração por 24 horas, injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 ml) no CeA não modificaram a ingestão de alimento ( $6,4 \pm 1,8$ , vs. salina  $8,5 \pm 0,6$  g/2 h), [F(1,6) = 3,118;  $p > 0,05$ ] (Figura 15A), mas reduziram a ingestão de água associada a ingestão de alimento ( $3,1 \pm 1,5$ , vs. salina  $7,7 \pm 0,6$  ml/2 h), [F(1,6) = 7,8;  $p < 0,05$ ], (Figura 15C). A ingestão de NaCl 0,3 M que ocorreu no mesmo período não foi modificada pelas injeções de muscimol no CeA ( $0,05 \pm 0,02$ , vs. salina  $0,7 \pm 0,5$  g/2 h), [F(1,6) = 1,58,  $p > 0,05$ ] (Figura 15B).

Em contrapartida, também em ratos privados de ração por 24 horas, injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 ml) fora do CeA (mais especificamente na porção superior ao CeA) reduziram a ingestão de alimento ( $4,5 \pm 1,7$  g/2 h, vs. salina  $9,6 \pm 1,2$  g/2 h), [F(1,4) = 10,09;  $p < 0,05$ ], e a ingestão de água associada a ingestão de alimento ( $2,4 \pm 1,3$  ml/2 h, vs. salina  $10,9 \pm 1,3$  ml/2 h), [F(1,4) = 28,75;  $p < 0,05$ ], sem alterar a ingestão de NaCl 0,3 M associada a ingestão de alimento ( $0,5 \pm 0,4$  ml/2 h, vs. salina  $0,7 \pm 0,6$  ml/2 h), [F(1,4) = 0,003,  $p > 0,05$ ], (Tabela 11).



**Figura 15.** Ingestão cumulativa de A) alimento, B) NaCl 0,3 M e C) água em ratos submetidos a 24 horas de privação de alimento que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 11.** Ingestão cumulativa de alimento (g), NaCl 0,3 M (ml) e água (ml) associada a ingestão de alimento em ratos submetidos a 24 horas de privação de alimento que receberam injeções bilaterais de muscimol (0,25 nmol/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de alimento (g)				
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	2,8 ± 0,2	4,3 ± 0,2	6,6 ± 0,3	8,2 ± 0,5	9,6 ± 1,1
muscimol	1,9 ± 0,6	2,7 ± 1,0	3,1 ± 1,1*	3,8 ± 1,3*	4,5 ± 1,7*
	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml)				
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	0,06 ± 0,04	0,1 ± 0,05	0,4 ± 0,3	0,7 ± 0,6	0,7 ± 0,6
muscimol	0,42 ± 0,42	0,42 ± 0,42	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,4	0,5 ± 0,4
	Ingestão de água (ml)				
	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	0 ± 0	1,8 ± 0,7	6,1 ± 1,2	9,7 ± 1,1	10,9 ± 1,3
muscimol	0,02 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,3 ± 0,1*	2,0 ± 1,0*	2,4 ± 1,3*

**Resultados são expressos como média ± EPM, n = 05.**

**\* diferente de salina, p < 0,05.**

---

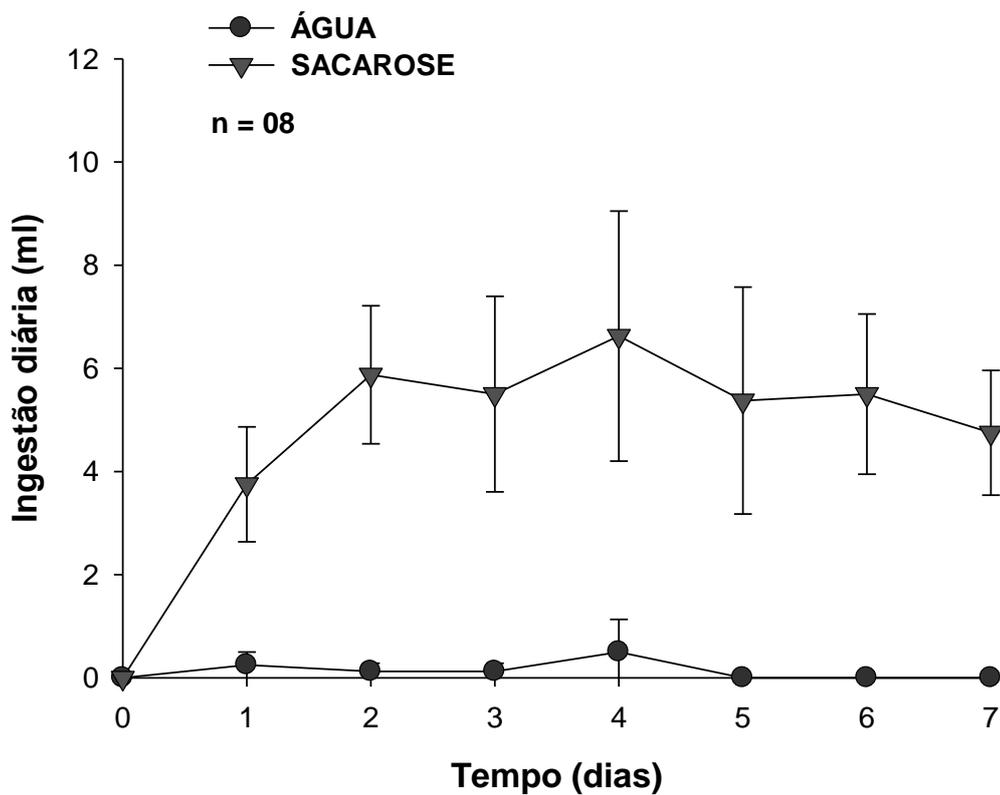
---

#### 4.17. Efeitos do bloqueio de receptores opióides no CeA sobre a ingestão de sacarose 0,06 M.

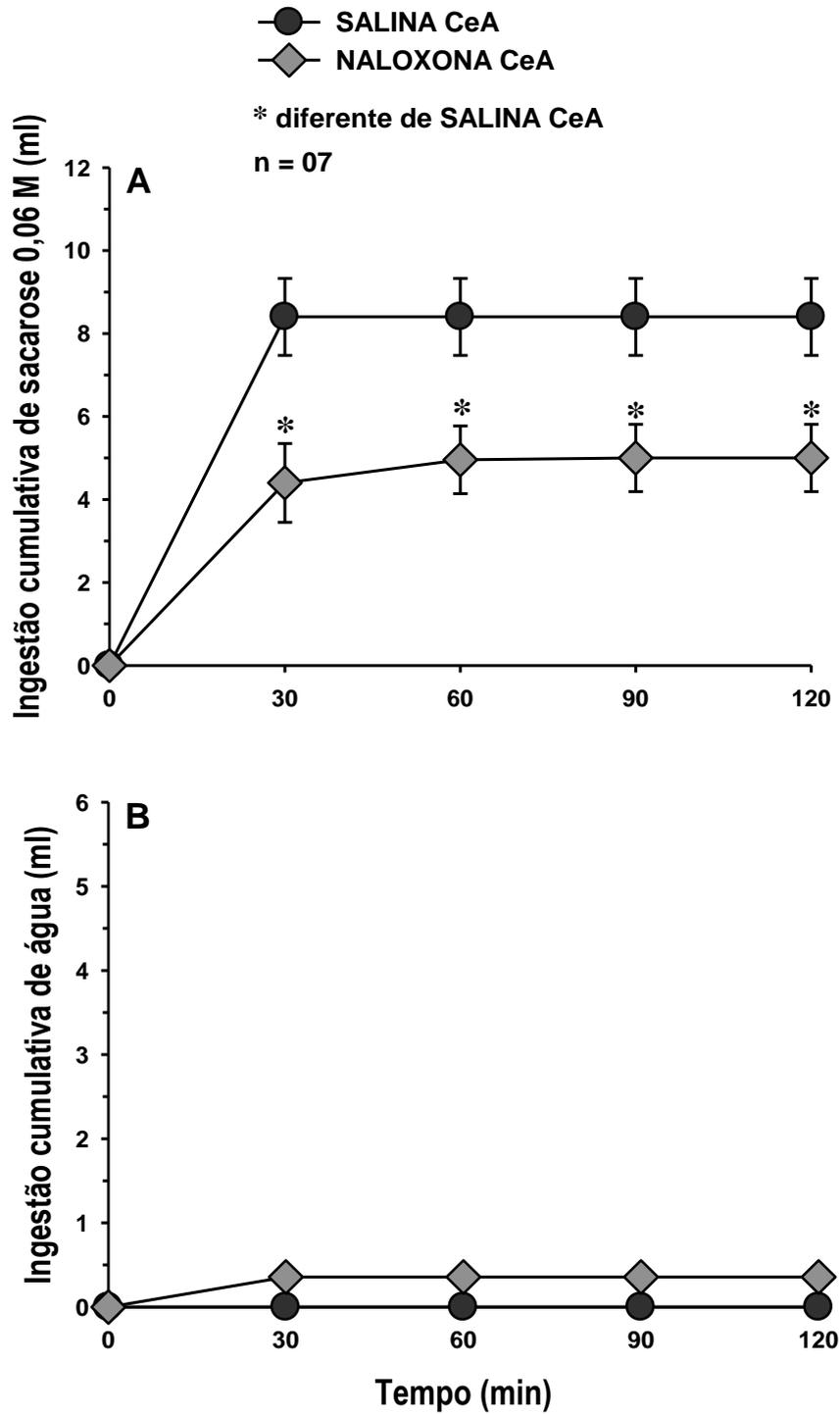
A figura 16 mostra a ingestão diária de sacarose 0,06 M e água em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso a sacarose 0,06 M durante duas horas por dia, ao longo de 7 dias.

A administração bilateral de naloxona (40  $\mu\text{g}/0,2 \mu\text{l}$ ) no CeA reduziu a ingestão de sacarose 0,06 M ( $5,0 \pm 0,8$ , vs. salina  $8,4 \pm 0,9 \text{ ml}/2 \text{ h}$ ), [ $F(1,6) = 16,016$ ;  $p < 0,05$ ] (Figura 17A), mas não alterou a ingestão de água ( $0,3 \pm 0,1$ , vs. salina  $0,0 \pm 0,0 \text{ ml}/2 \text{ h}$ ), [ $F(1,6) = 0,359$ ;  $p > 0,05$ ] (Figura 17B).

A administração bilateral de naloxona (40  $\mu\text{g}/0,2 \mu\text{l}$ ) fora do CeA não modificou a ingestão de sacarose 0,06 M ( $3,3 \pm 1,4 \text{ ml}/2 \text{ h}$ , vs. salina  $6,7 \pm 2,6 \text{ ml}/2 \text{ h}$ ), [ $F(1,5) = 2,159$ ;  $p > 0,05$ ], e a ingestão de água ( $0,5 \pm 0,3 \text{ ml}/2 \text{ h}$ , vs. salina  $0,2 \pm 0,1 \text{ ml}/2 \text{ h}$ ), [ $F(1,7) = 1,522$ ;  $p > 0,05$ ] (Tabela 12).



**Figura 16.** Ingestão diária de sacarose 0,06 M (ml) e água (ml) em ratos saciados e normovolêmicos que tiveram livre acesso às soluções durante duas horas por dia. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.



**Figura 17.** Ingestão cumulativa de A) sacarose 0,06 M (ml) e B) água (ml) em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) ou salina no CeA. Resultados são expressos como média  $\pm$  EPM, n = número de animais.

**Tabela 12.** Ingestão cumulativa de sacarose 0,06 M e água em ratos que receberam injeções bilaterais de naloxona (40 µg/0,2 µl) ou salina em regiões adjacentes ao CeA (injeções negativas).

Tratamento	Ingestão de sacarose 0,06 M (ml)			
	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	5,1 ± 1,5	5,9 ± 2,2	6,2 ± 2,6	6,7 ± 2,6
naloxona	3,2 ± 1,4	3,2 ± 1,4	3,3 ± 1,4	3,3 ± 1,4

	Ingestão de água (ml)			
	30 min	60 min	90 min	120 min
salina	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
naloxona	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,3

**Resultados são expressos como média ± EPM, n = 06.**

---

## 5. DISCUSSÃO

### **5.1. Envolvimento de diferentes receptores no CeA no controle da ingestão de água e sódio**

No presente estudo investigamos a participação de diferentes neurotransmissores no CeA no controle da ingestão de sódio e água em condições de plena atividade dos mecanismos inibitórios do NPBL ou quando a atividade destes mecanismos do NPBL estivesse bloqueada ou reduzida.

Os presentes resultados mostram que GABA e os receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no CeA estão envolvidos no controle da ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio. Por outro lado, os mecanismos opióides e angiotensinérgicos no CeA parecem não participarem da ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio. A participação de outros mecanismos como ocitocinérgicos, colinérgicos muscarínicos, serotoninérgicos 5-HT<sub>2A</sub> e aldosterona no CeA também foram testados apenas na ingestão de sódio induzida por depleção de sódio e não se mostraram envolvidos neste comportamento.

O CeA contém receptores GABAérgicos (MAROWSKY et al., 2004) e grande populações de terminais e neurônios GABAérgicos (NITECKA e BEN-ARI, 1987; ARAKI et al., 1992, McDONALD e AUGUSTINE, 1993; SUN e CASSELL, 1993). Os resultados do presente trabalho demonstraram que injeções bilaterais de muscimol (agonista de receptores GABA<sub>A</sub>) no CeA reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M em animais depletados de sódio. Por outro lado, injeções bilaterais no CeA de bicuculina (antagonista de receptores GABA<sub>A</sub>) e CGP (antagonista GABA<sub>B</sub>) não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio. Esses resultados estão de acordo com estudos recentemente publicados, os quais mostraram que injeções bilaterais de muscimol no CeA diminuíram de maneira dose-dependente a ingestão de NaCl 0,3 M e água em animais depletados de sódio (WANG et al.,

---

2012). Esse mesmo estudo mostrou que bicuculina (0,4 nmol) injetada bilateralmente no CeA 15 minutos antes das injeções de muscimol bloqueou completamente os efeitos do muscimol na ingestão de NaCl 0,3 M e água. Entretanto, apenas injeções de bicuculina (0,4 nmol) no CeA não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M ou água (WANG et al., 2012). No presente estudo, a dose de bicuculina injetada foi quatro vezes maior (1,6 nmol), e mesmo assim não houve alteração na ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio, confirmando que os receptores GABA<sub>A</sub> no CeA não exercem efeito tônico sobre a ingestão de sódio. Da mesma forma, apenas injeções bilaterais de CGP (antagonista GABA<sub>B</sub>), na dose de 15 nmol, no CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio. Portanto, a ativação do mecanismo gabaérgico no CeA leva a uma redução da ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio, porém, este mecanismo não atua tonicamente para controlar a ingestão de sódio em animais depletados de sódio.

É também bem conhecido o efeito inibitório na ingestão de água e sódio produzido pela injeção de agonistas de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ /imidazólicos como a clonidina e a moxonidina em áreas prosencefálicas (para revisão vide MENANI et al., 2006). Tanto o efeito antidipsogênico como a inibição da ingestão de sódio pela moxonidina injetada icv foi abolido pelo tratamento prévio com RX 821002 ou ioimbina (antagonistas de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ ), (MENANI et al., 1999; DE OLIVEIRA et al., 2003a) sugerindo o envolvimento de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  centrais no mecanismo inibitório da ingestão de água e de sódio. Estudos anteriores demonstraram a presença de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  e imidazólicos no complexo amigdalóide (MALLARD et al., 1992; FRENCH, 1995; KING et al., 1995; RUGGIERO et al., 1998; NEWMAN-TANCREDI et al., 2000). Além disso, a porção lateral do CeA recebe significativa inervação noradrenérgica do núcleo do trato solitário (NTS) e locus coeruleus (LC) (FALLON et al., 1978). DE OLIVEIRA e colaboradores (2003b) mostraram que injeções bilaterais de moxonidina no complexo

---

amigdalóide (10 e 20 nmol/1 µl) e no núcleo basal da amígdala (20 nmol/0,4 µl) reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio, enquanto que injeções bilaterais de moxonidina (5 e 10 nmol/0,2 µl e 20 nmol/0,4 µl) no CeA não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M também induzida por depleção de sódio. Entretanto, os resultados do presente trabalho mostraram que injeções bilaterais de moxonidina (10 nmol/0,2 µl) no CeA reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio, sugerindo o envolvimento dos receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no CeA no controle da ingestão de sódio em animais depletados, mostrando um papel inibitório desse receptor no CeA. O presente trabalho também mostra a especificidade desse núcleo, visto que injeções de moxonidina em áreas adjacentes ao CeA não produziram efeito na ingestão de sódio induzida por depleção.

Outros receptores, além dos receptores gabaérgicos e adrenérgicos, também estão presentes no CeA, o qual contém uma alta densidade de receptores ocitocinérgicos (BARBERIS e TRIBOLLET, 1996) e tem sido descrita como uma estrutura alvo de ação da ocitocina no cérebro (NEUMANN et al., 2000). Considerando que a ocitocina OT ativa mecanismos inibitórios centrais para a ingestão de sódio (BLACKBURN et al., 1992, BLACKBURN et al., 1995), também investigamos o possível papel inibitório da OT no CeA. Injeções bilaterais de OT ou de seu antagonista vasotocina (OVT) no CeA não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por depleção de sódio, o que sugere que OT no CeA pode não estar envolvida no controle de apetite sódio induzida por depleção de sódio.

Diversos trabalhos mostraram que ANG II injetada centralmente não somente induz uma resposta pressora e liberação de vasopressina, mas também aumenta a ingestão de água e de sódio (FITZSIMONS, 1998; MCKINLEY et al., 2001). Em adição, injeções icv de ANG II aumentaram significativamente a imunorreatividade para c-Fos no CeA (ASAMI, et al., 2011). Receptores de aldosterona e terminais angiotensinérgicos também estão presentes no CeA (LIND et al., 1985; von BOHLEN und HALBACH e ALBRECHT, 1998). Vários

---

estudos sugerem que a ANG II e aldosterona podem estar envolvidos nos mecanismos facilitadores no CeA para controlar a ingestão de sódio (LIND et al., 1985; SAKAI et al., 1986; SCHULKIN et al., 1989; NITABACH et al., 1989; GALAVERNA et al., 1992; ZHANG et al., 1993; ZARDETTO-SMITH et al., 1994; SAKAI et al., 1996; SAKAI et al., 2000; SULLIVAN et al., 2004). Entretanto, injeções bilaterais de ANG II no CeA não induziram qualquer modificação na ingestão de NaCl 0,3 M e água em animais saciados. Da mesma forma, os resultados do presente trabalho mostraram que injeções bilaterais no CeA de RU 28318 (antagonista seletivo de receptor mineralocorticoide) ou losartan (antagonista receptor AT<sub>1</sub>) não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio. Estes resultados sugerem que receptores de aldosterona e angiotensina II no CeA podem não estar envolvidos no controle do apetite de sódio em ratos com depleção de sódio.

Diferentes estudos têm demonstrado a importância dos mecanismos opioidérgicos no controle do comportamento ingestivo, especificamente, sobre a ingestão de sódio e água (COOPER e GILBERT, 1984; HUBBELL e McCUTCHEON, 1993; LUCAS et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2014). Os três subtipos de receptores opióides (mu, delta, kappa) são expressos no CeA, tanto pré como pós-sinápticamente, bem como os seus ligantes endógenos (CHIENG et al., 2006; MARCHANT et al., 2007; POULIN et al., 2008; JAFERI e PICKEL, 2009).

Recentemente, trabalho de Yan e colaboradores (2013) demonstraram uma importante participação dos mecanismos opioidérgicos do CeA no controle da ingestão de sódio. Injeções bilaterais de DAMGO (agonista opióide  $\mu$ ) no CeA aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e água no modelo de privação hídrica e rehidratação parcial (PH-RP), e a administração prévia de CTAP (antagonista opióide  $\mu$ ) reverteu os efeitos do DAMGO em animais PH-RP (YAN et al., 2013). Da mesma forma, injeções bilaterais de DAMGO também aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por FURO+CAP sc, e o prévio

---

tratamento com CTAP também reverteu os efeitos do DAMGO na ingestão de sódio e água induzida por FURO+CAP sc (YAN et al., 2013). O presente estudo demonstrou que injeções bilaterais de naloxona (antagonista inespecífico de receptor opióide) no CeA também não modificaram a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por depleção de sódio, sugerindo que esses receptores no CeA não estariam envolvidos no controle do apetite de sódio durante a depleção de sódio. Por outro lado, injeções bilaterais de naloxona no CeA apenas reduziram a ingestão de água, e não a ingestão de NaCl 0,3 M, induzida por FURO+CAP sc. Resultado este semelhante ao encontrado por Yan e colaboradores (2013), pois apenas a administração bilateral de CTAP no CeA também reduziu apenas a ingestão de água induzida por FURO+CAP sc.

Por fim, também testamos a participação de outros receptores como os muscarínicos e serotoninérgicos no controle da ingestão de água e de sódio em animais depletados de sódio. Estudo recente de Asnar e colaboradores (2013) demonstrou que o bloqueio de receptores colinérgicos centrais com atropina (20 nmol/1 µl, i.c.v.) reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL. Por outro lado, o mesmo tratamento i.c.v. não produziu qualquer alteração da ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO+CAP sc em ratos tratados com moxonidina no NPBL (ASNAR et al., 2013). Diversos trabalhos demonstraram a presença de receptores muscarínicos no complexo amigdalóide, incluindo o CeA (ANDRÉ et al., 1984; MASH et al., 1986; BUCKLEY et al., 1988), especificamente na porção lateral do CeA (van der ZEE et al., 1997). Assim, foi importante verificar se receptores muscarínicos do CeA teriam alguma participação nessa redução da ingestão de sódio, especificamente na ingestão de sódio induzida por 24 hs de depleção de sódio. O presente trabalho mostrou que injeções bilaterais de atropina (antagonista de receptor muscarínico) no CeA, na dose de 2 nmol, não modificou a ingestão de sódio e água induzidas por 24 horas de depleção de sódio, sugerindo que os

---

mecanismos colinérgicos do CeA não estão envolvidos na ingestão de sódio ou água nesta condição.

Luz e cols., 2007 demonstraram a participação dos receptores 5HT<sub>3</sub> do CeA na ingestão de sódio induzida por 24 horas de depleção de sódio, uma vez que a ativação desses receptores no CeA reduz a ingestão de sódio. Porém, os mesmos autores demonstraram que os receptores 5HT<sub>2C</sub> no CeA parecem não estar associados com a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio (LUZ et al., 2007). O presente trabalho mostrou que injeções bilaterais de DOI (agonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) no CeA também não modificaram a ingestão de sódio e água induzidas por 24 horas de depleção de sódio, sugerindo que os receptores 5HT<sub>2A</sub> no CeA parecem não estar envolvidos com a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio.

## **5.2. CeA e outros comportamentos ingestivos.**

Recentemente tem sido sugerido que o CeA também exerce um importante papel na ingestão de sacarose (LEVINE et al., 2003). O CeA é uma região prosencefálica que processa e transmite sinais de sabor doce e está envolvido com respostas comportamentais e hedônicas (HUANG et al., 2003). c-Fos é um fator de transcrição imediata de genes, e o aumento na concentração de c-Fos é conhecido por refletir uma ativação neuronal. A ingestão de sacarose induziu um aumento no número de células imunorreativas para c-Fos no CeA em ratos com alimentação normal (LI et al., 2012). Estudos prévios mostraram que em animais com lesões bilaterais do CeA não houve uma alteração da ingestão de soluções palatáveis de sacarose, alimento ou água, sugerindo um efeito específico para a ingestão de sódio (GALAVERNA et al., 1992). Contudo, os presentes resultados mostram que muscimol (0,25 nmol/0,2µl) injetado no CeA reduziu a ingestão espontânea de sacarose 0,06 M. Portanto, a diminuição da ingestão de sacarose após a desativação dos neurônios do CeA com muscimol

---

sugere que o CeA também possa estar envolvido na modulação de comportamento ingestivo a sacarose.

Pomonis e colaboradores (2000) verificaram que as concentrações de c-Fos no CeA após a injeção sc de naloxona foram mais elevadas em ratos que ingeriram sacarose 10% do que nos animais que ingeriram água. Tal fato sugere que esta área é ativada quando a sacarose é ingerida. Assim sendo, o CeA pode também participar da integração de sinais gustatórios, hedônicos e autonômicos relacionados com o consumo de sacarose (LEVINE et al., 2003). Estudo recente de SUN e colaboradores (2012) mostrou um aumento na ingestão de sacarose 0,3 M após a administração de DAMGO (agonista de receptor opióide  $\mu$ ) no CeA em ratos privados de água, sugerindo o envolvimento dos mecanismos opioidérgicos presentes no CeA também no controle da ingestão de sacarose. No presente trabalho, a administração bilateral do antagonista opióide inespecífico naloxona (40  $\mu$ g/0,2  $\mu$ l) no CeA reduziu a ingestão de sacarose 0,06 M, mas não alterou a ingestão de água, demonstrando o envolvimento dos mecanismos opioidérgicos presentes no CeA no controle da ingestão de sacarose.

Em relação à ingestão de alimento, estudos prévios mostraram que injeções de diferentes doses de muscimol (0,05, 0,25 ou 1,0 nmol) no CeA reduzem significativamente a ingestão de alimento em ratos submetidos a 18 h de privação alimentar (MIÑANO et al., 1992). Contudo, os presentes resultados mostram que a administração de muscimol (0,5 nmol) em ratos submetidos a 24 h de privação alimentar não foi capaz de alterar a ingestão de alimento, mas em nosso estudo muscimol reduziu a ingestão de água associada a ingestão de alimento. A ingestão de alimento seco aumenta em minutos a osmolaridade plasmática no rato cerca de 2 a 3% (STARBUCK e FITTS, 2001), e um aumento dessa magnitude promove a ingestão de água. Assim, a desativação dos neurônios do CeA com muscimol diminui a

---

ingestão de sacarose e a ingestão de água associada a ingestão de alimento, sugerindo que o CeA pode estar envolvido com a modulação desses comportamentos ingestivos.

A redução da ingestão de sacarose em ratos que receberam injeções de muscimol ou naloxona no CeA poderia sugerir efeitos inespecíficos destes tratamentos sobre comportamentos ingestivos. Porém, quando se trata do muscimol, esta possibilidade pode ser descartada uma vez que o mesmo tratamento no CeA não modificou a ingestão de alimento. Naloxona injetada no CeA foi muito eficiente em reduzir a ingestão de NaCl 0,3 M em ratos que receberam injeções de muscimol no NPBL ou combinação de moxonidina injetada no NPBL com NaCl 2 M intragastricamente, no entanto, não causou modificações significativas na ingestão de NaCl 0,3 M induzida pela depleção de sódio, o que indica que as reduções da ingestão de sódio (e também de sacarose) produzidas pelas injeções de naloxona no CeA não são resultado de uma ação inespecífica sobre comportamentos ingestivos.

### **5.3. Importância dos mecanismos opióides e angiotensinérgicos do CeA para os efeitos da desativação do mecanismo inibitório do NPBL.**

Nossos resultados anteriores mostraram que lesões eletrolíticas bilaterais do CeA aboliram a ingestão de NaCl 0,3 M e água produzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em ratos normovolêmicos e saciados (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010b). Ademais, o aumento da ingestão de água e NaCl 0,3 M produzido pelas injeções bilaterais de moxonidina ou metisergida no NPBL em animais previamente tratados com FURO + CAP sc também foi completamente abolido pelas lesões bilaterais do CeA (ANDRADE-FRANZÉ e cols., 2010a). Resultados mais recentes ainda não publicados mostraram que o bloqueio farmacológico do CeA, com injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) nessa área, também aboliu a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzidas pelas injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL. Injeções de muscimol (0,25 nmol) no CeA também aboliram o aumento da

---

ingestão de água e NaCl 0,3 M produzido pelas injeções de moxonidina no NPBL em animais tratados com FURO + CAP (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010c). Estes resultados mostraram que os mecanismos facilitadores do CeA são essenciais para a ingestão de sódio que surge depois do bloqueio dos mecanismos inibitórios no NPBL (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010b). Portanto, o CeA exerce um papel fundamental no controle da ingestão de água e de sódio que ocorre quando é reduzida a atividade dos mecanismos inibitórios do NPBL (ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a,b,c).

Os presentes resultados mostram que os mecanismos opióides e angiotensinérgicos no CeA são essenciais para a ingestão de sódio que ocorre quando os mecanismos inibitórios são desativados pela ação do muscimol no NPBL, mas parece não participarem da ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio. Os mecanismos opióides no CeA também são essenciais para a ingestão de sódio que ocorre quando os mecanismos inibitórios são atenuados pela ação da moxonidina no NPBL.

A ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por muscimol injetado no NPBL também foi reduzida por injeções de losartan (antagonista do receptor  $AT_1$ ) no VL, sugerindo que a ingestão de sódio nessa condição depende do bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL pelo muscimol combinada com a ativação de mecanismos facilitadores angiotensinérgicos provavelmente localizados no prosencéfalo (RONCARI et al., 2011). Resultados mais recentes do nosso laboratório também mostraram que a ingestão de NaCl 0,3 M e água induzida por muscimol injetado no NPBL foi reduzida por injeções de losartan (antagonista do receptor  $AT_1$ ) no OSF (RONCARI et al., 2014). Da mesma forma, no presente estudo verificamos que injeções bilaterais de losartan no CeA também aboliram a ingestão de NaCl 0,3 M e a ingestão de água induzidas por injeções bilaterais de muscimol no NPBL em animais saciados. Muscimol agindo no NPBL remove os sinais inibitórios envolvidos no controle da ingestão de sódio e, portanto, nessas condições qualquer nível basal

---

do sinal facilitatório angiotensinérgico ainda presente nos ratos saciados é o suficiente para interromper a saciedade e levar os ratos a ingerirem NaCl (CALLERA et al., 2005; RONCARI et al., 2011, ASNAR et al., 2013). Provavelmente, os níveis basais de ANG II ativa os receptores angiotensinérgicos presentes no OSF e OVLT (ASNAR et al., 2013). O OSF envia projeções diretas para o CeA, a qual também recebe projeções do NPBL (JOHNSON e GROSS, 1993; JIA et al., 2005). Portanto, parece que os sinais do OSF chegam no CeA e, nesta área, os sinais são modulados pelos sinais inibitórios do NPBL. Em conjunto, esses resultados sugerem que os mecanismos inibitórios do NPBL são essenciais para a manutenção da saciedade ao sódio e que os mecanismos angiotensinérgicos do CeA são importantes para a facilitação da ingestão de sódio quando os mecanismos inibitórios do NPBL estiverem desativados, mesmo sem ativação extra dos mecanismos facilitatórios (ASNAR et al., 2013; RONCARI et al., 2014; e presentes resultados).

Interessantemente, injeções bilaterais de naloxona no CeA também reduziram a ingestão de NaCl 0,3 M após a desativação dos sinais inibitórios do NPBL com injeções bilaterais de muscimol em animais saciados. O CeA contém neurônios intrínsecos e terminais de axônio que contém peptídeos opióides (FALLON e LESLIE, 1986; CASSELL e GRAY, 1989; POULIN et al., 2006) e os receptores opióides  $\mu$  estão presentes no CeA (MANSOUR et al., 1995; POULIN et al., 2006; GLASS et al., 2009). A maioria dos neurônios é inibida por agonistas de receptores opióides  $\mu$ , os quais induzem hiperpolarização mediada pela abertura de canais de potássio (ZHU e PAN, 2005; CHIENG et al., 2006). Dada a evidência anatômica da existência de conexões GABAérgicas entre o CeA e o NPBL (JIA et al., 2005), é possível que peptídeos opióides liberados endogenamente poderiam inibir tais projeções GABAérgicas e reduzir seus efeitos inibitórios (BAXTER e MURRAY, 2002; ZHU e PAN, 2005) e, dessa forma, contribuir para facilitar a ingestão de sódio (YAN et al., 2013). Os presentes resultados

---

sugerem que a ingestão de sódio induzida pela remoção do mecanismo inibitório do NPBL também depende de mecanismos opioidérgicos presentes no CeA.

É importante observar que quando os animais ingerem simultaneamente água e NaCl hipertônico, uma parte significativa do aumento da ingestão de água pode ser devido ao efeito de aumento de osmolaridade plasmática causada pela excessiva ingestão de NaCl hipertônico, ou seja, seria ingestão de água que ocorre pela ativação de osmorreceptores como nos testes com injeção de muscimol no NPBL. Assim, reduções na ingestão de água também podem ser devido a redução na ingestão de NaCl 0,3 M sem que o mecanismo em teste esteja necessariamente modulando também a ingestão de água. Conclusões seguras sobre os mecanismos envolvidos na ingestão de água são possíveis apenas em testes onde apenas água esteja disponível para os animais. E neste tipo de teste, injeções de muscimol no NPBL induzem apenas uma pequena ingestão de água (CALLERA et al, 2005).

Além de receptores gabaérgicos, estudos demonstraram a participação de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no controle do mecanismo inibitório do NPBL (ANDRADE et al., 2004, ANDRADE et al., 2006; GASPARINI et al., 2009). Sabe-se que apenas a ativação de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  não é suficiente para induzir o apetite ao sódio, sendo necessária a presença de um estímulo excitatório como o tratamento com FURO+CAP sc, ou mesmo a administração de gavagem de NaCl 2 M (ANDRADE et al, 2004; ANDRADE et al., 2006). Contrariando os conceitos tradicionais, estudos de nosso laboratório mostraram que ratos com osmolaridade plasmática aumentada por sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M, além de ingerir água, também apresentam intensa ingestão de NaCl 0,3 M quando os mecanismos inibitórios do NPBL são bloqueados por injeções bilaterais de metisergida ou moxonidina (DE LUCA et al, 2003; ANDRADE et al, 2006). Segundo modelo proposto por De Luca Jr. e colaboradores, a hiperosmolaridade ativa mecanismos que induzem a sede e o apetite ao sódio; porém, paralelamente também ativaria os mecanismos inibitórios do NPBL que

---

neutralizariam os efeitos facilitatórios da ingestão de NaCl. No presente trabalho investigamos se os receptores opioidérgicos do CeA estão envolvidos na ingestão de sódio induzida por gavagem com NaCl 2 M associada a ativação de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos no NPBL. Os resultados mostraram que o bloqueio dos receptores opioidérgicos no CeA é capaz de reduzir a ingestão de sódio induzida por injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinada com gavagem com NaCl 2 M. Portanto, os presentes resultados sugerem que quando se faz a desativação do mecanismo inibitório do NPBL com muscimol ou moxonidina associada a um mecanismo excitatório, como a gavagem com NaCl 2 M, a ingestão de sódio depende de mecanismos opioidérgicos facilitatórios existentes no CeA.

Resultados recentes de nosso laboratório também demonstraram que o bloqueio de receptores angiotensinérgicos centrais com injeção de losartan no VL é capaz de bloquear a ingestão de sódio induzida pelas injeções bilaterais de moxonidina no NPBL em animais tratados com sobrecarga de NaCl 2 M (RONCARI et al., 2013), sugerindo que os mecanismos angiotensinérgicos prosencefálicos estão envolvidos na ingestão de sódio induzida por injeções bilaterais de moxonidina no NPBL combinada com sobrecarga de NaCl 2 M. Sabe-se que a ANG II injetada centralmente aumenta significativamente a imunorreatividade para c-Fos no CeA (ASAMI et al., 2011). Portanto, no presente trabalho também testamos se a desativação do mecanismo inibitório com injeções bilaterais de moxonidina no NPBL era capaz de induzir ingestão de sódio quando combinada com ANG II injetada bilateralmente no CeA. Entretanto, no presente trabalho as injeções bilaterais de ANG II diretamente no CeA não promoveram qualquer alteração na ingestão de água e de NaCl 0,3 M em animais saciados que receberam ou não injeções bilaterais de moxonidina no NPBL. Assim, diferentemente da ingestão de sódio induzida pelas injeções de muscimol no NPBL, não ficou demonstrado a possível ação facilitatória dos mecanismos angiotensinérgicos do CeA na ingestão de sódio quando os mecanismos inibitórios são desativados pela ação da moxonidina

---

no NPBL. Embora aparentemente contraditórios os resultados que sugerem envolvimento dos mecanismos facilitatórios angiotensinérgicos do CeA na ingestão de sódio induzida pelas injeções de muscimol no NPBL, mas não no caso das injeções de moxonidina no NPBL, podem ser explicados considerando-se que existem importantes diferenças na ingestão de sódio nos dois casos. A principal diferença é que injeções de muscimol parecem bloquear completamente o mecanismo inibitório do NPBL, o que interrompe a saciedade e libera intensa ingestão de sódio em ratos saciados e normovolêmicos. A moxonidina reduz parcialmente a atividade do mecanismo inibitório do NPBL, o que é suficiente para aumentar a ingestão de sódio se um estímulo facilitatório for simultaneamente aplicado, mas por si só não causa ingestão de sódio em ratos saciados e normovolêmicos. Assim, há diferenças nos mecanismos ativados em cada caso. Embora mecanismos facilitatórios do CeA sejam importantes para a ingestão de sódio nos dois casos, é possível que os mecanismos angiotensinérgicos do CeA sejam importantes apenas para um deles, ou seja, a ingestão de sódio induzida por muscimol. Mas futuros testes com injeções de losartan no CeA combinados com moxonidina no NPBL são importantes para se descartar com segurança um eventual envolvimento de mecanismos angiotensinérgicos do CeA no aumento da ingestão de sódio resultante da ativação de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no NPBL.

Parece contraditório também que losartan e naloxona injetados no CeA tenham reduzido intensamente a ingestão de sódio quando muscimol ou moxonidina foram injetados no NPBL, mas não alteraram significativamente a ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio. Neste caso, é preciso levar em conta a inibição exercida pelo NPBL sobre o CeA e talvez outras áreas centrais. Injeções de muscimol ou moxonidina no NPBL reduzem ou eliminam a ação dos mecanismos inibitórios sobre o CeA, o que libera a ação de mecanismos facilitatórios que estariam inativos quando os mecanismos inibitórios do NPBL estão plenamente ativos. Assim, mecanismos angiotensinérgicos e opióides do CeA estariam pouco

---

ativos no caso da depleção de sódio e pouco participariam desta ingestão de sódio, se é que teriam alguma participação, pois os mecanismos inibitórios do NPBL estariam limitando suas ações. Ao se bloquear os mecanismos inibitórios do NPBL, mecanismos angiotensinérgicos e opióides do CeA passariam a atuar e estimulariam a ingestão de sódio, guardadas as especificidades de cada caso.

---

## 6. CONCLUSÃO

Os presentes resultados sugerem que os receptores ocitocinérgicos, colinérgicos muscarínicos, serotoninérgicos 5-HT<sub>2A</sub> e receptores de aldosterona no CeA não participam do controle da ingestão de sódio induzida por depleção de sódio. Por outro lado, os presentes resultados sugerem que receptores GABAérgicos e os receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  no CeA apresentam um papel inibitório para o apetite ao sódio nessa situação. Embora os mecanismos opióides e angiotensinérgicos no CeA aparentemente não contribuam para a ingestão de sódio induzida pela depleção de sódio, os mesmos são essenciais para a ingestão de sódio observada quando os mecanismos inibitórios do NPBL são desativados pela ação do muscimol nessa área. Além disso, os mecanismos opióides no CeA também são essenciais para a ingestão paradoxal de sódio em animais hiperosmóticos quando os mecanismos inibitórios são atenuados pela ação da moxonidina no NPBL. Portanto, a ativação de receptores opióides e de receptores angiotensinérgicos no CeA é necessária para a ingestão de sódio observada após a remoção ou atenuação dos mecanismos inibitórios NPBL.

A figura 18 apresenta um diagrama esquemático mostrando as possíveis conexões entre os mecanismos inibitórios do NPBL e os mecanismos facilitatórios do CeA para o controle da ingestão de sódio, apresentando um modelo de como ocorreria a integração desses sinais no CeA. Os sinais inibitórios para a ingestão de NaCl e água, tais como informações aferentes do ativação de receptores cardiopulmonares, barorreceptores, receptores gustativos e sinais humorais, via NTS/AP chegariam ao NPBL, ativando-o. O NPBL por sua vez emite projeção inibitória para o CeA. Estudos anteriores já demonstraram a existência de uma via monossináptica GABAérgica do NPBL para o CeA (JIA et al., 2005), mas não podemos excluir a possibilidade da existência de uma via opioidérgica. As fibras encefalinérgicas do CeA se originam do núcleo ventromedial do hipotálamo, núcleo parabraquial, núcleo do leito da estria terminal e principalmente de fontes intra-amigdalóides,

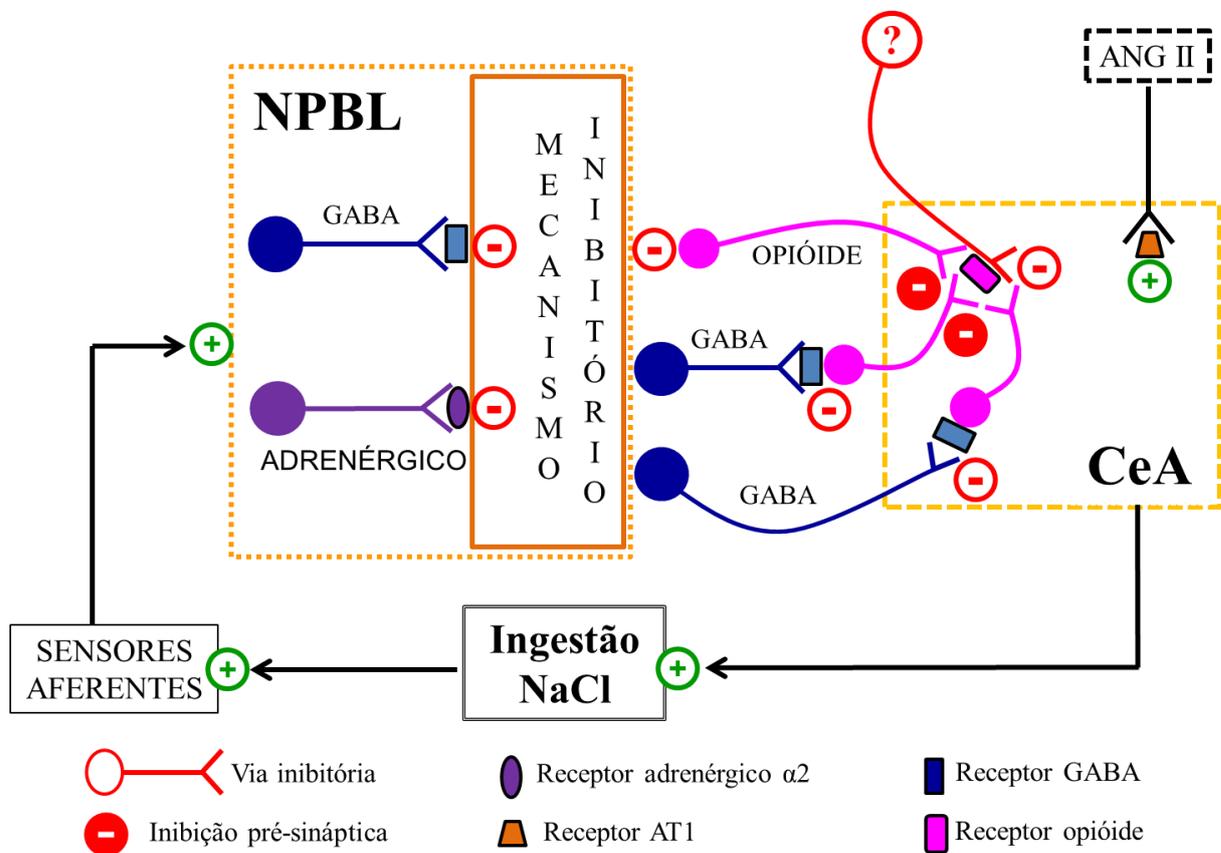
---

como os núcleos medial, basomedial, cortical e intercalados da amígdala (POULIN et al., 2006). Além disso, é possível também que essa via GABAérgica oriunda do NPBL possa levar a liberação de opióides no CeA. Há uma população de neurônios no CeA capaz de co-sintetizar GABA e peptídeos opióides endógenos (VEINANTE et al., 1997). Além disso, temos que considerar a existência de outras vias inibitórias, por exemplo, uma via noradrenérgica originada do NTS ou LC. Trabalhos relacionados ao estudo de outros comportamentos também mostram a existência de interneurônios inibitórios no CeA, integrando os sinais que chegam no CeA (VEINANTE et al, 2013).

Em oposição aos sinais inibitórios provenientes do NPBL que chegam ao CeA, sinais facilitatórios que também chegam nesse núcleo seriam responsáveis pela ativação dessa área, contribuindo para a expressão do apetite ao sódio. Os sinais facilitatórios poderiam ser sinais ativados pela ação da ANG II nos receptores  $AT_1$  do OSF, o qual envia projeções diretas para o CeA (JOHNSON e GROSS, 1993), ou pelo aumento da atividade dos osmorreceptores decorrente do aumento na osmolaridade plasmática.

A ativação de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  promove atenuação, enquanto que a ativação dos receptores GABérgicos do NPBL promove inativação do mecanismo inibitório do NPBL em direção ao CeA. Embora outras possibilidades não possam ser totalmente descartadas, é possível que a liberação de opióides no CeA produza uma ativação de receptores opióides localizados pre-sinápticamente em uma via inibitória tónica, tendo como o resultado final a estimulação do CeA. Assim a atividade endógena opióide no CeA seria importante para a ingestão espontânea de sacarose, mas não para a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio ou por FURO + CAP. Nesse caso, mesmo na presença dos fatores facilitatórios decorrentes da desidratação extracelular, a via inibitória do NPBL para o CeA estaria ativa, impedindo a liberação de opióides nessa situação. Quando os mecanismos inibitórios do NPBL são atenuados ou bloqueados, essa via inibitória que se projeta para o

CeA é reduzida, permitindo a liberação de opióides no CeA. Os opióides por sua vez ativariam receptores pré-sinápticos da via inibitória tônica, tendo então um efeito final de remover a inibição o que facilitaria a ativação do CeA, liberando a ingestão de sódio. A administração de naloxona no CeA impediria a ação e os efeitos da liberação de opióides no CeA que é produzida pelo bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL, restabelecendo-se a inibição da ingestão de sódio.



**Figura 18.** Diagrama esquemático mostrando as possíveis conexões entre o mecanismo inibitório do NPBL e o mecanismo facilitatório do CeA para o controle da ingestão de sódio. 5-HT, serotonina; ANG II, angiotensina II; CeA, núcleo central da amígdala.

---

---

## **7. REFERÊNCIAS**

- MARCHANT, N.J.; DENSMORE, V.S.; OSBORNE, P.B. Coexpression of prodynorphin and corticotrophin-releasing hormone in the rat central amygdala: evidence of two distinct endogenous opioid systems in the lateral division. **J. Comp. Neurol.**, v. 504, p. 702-715, 2007.
- MARGATHO, L.O.; ELIAS, C.F.; ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Oxytocin in the central amygdaloid nucleus modulates the neuroendocrine responses induced by hypertonic volume expansion in the rat. **J. Neuroendocrinol.**, v. 25, p. 466-477, 2013.
- MARGATHO, L.O.; ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. GABA in the central amygdaloid nucleus modulates the electrolyte excretion and hormonal responses to blood volume expansion in rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 42, p. 114-21, 2009.
- NITABACH, M.N.; SCHULKIN, J.; EPSTEIN, A.N. The medial amygdala is part of a mineralocorticoid-sensitive circuit controlling NaCl intake in the rat. **Behav. Brain Res.**, v. 35, p. 127-134, 1989.
- NITECKA, L.; BEN-ARI, Y. Distribution of GABA-like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. **J. Comp. Neurol.**, v. 266, n. 1, p. 45-55, 1987.
- NORGREN, R. The central organization of the gustatory and visceral afferent systems in the nucleus of the solitary tract. In: KATSUKI, Y. et al. **Brain Mechanisms of Sensation**. New York: Wiley, 1981. p. 143-160.
- NORGREN, R. Gustatory system. In: Paxinos, G. **The rat nervous system**. Australia: Academic Press, 1995. p. 751-771.
- OHMAN, L.E.; JOHNSON, A.K. Lesions in lateral parabrachial nucleus enhance drinking to angiotensin II and isoproterenol. **Am. J. Physiol.**, v. 251, p. 504-509, 1986.
- ALLEN, A.M.; MCKINLEYMcKINLEY, M.J.; MENDELSON, F.A.O. Comparative neuroanatomy of angiotensin receptor localization in the mammalian hypothalamus. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 15, n. 2, p. 137-145, 1988.

- 
- ANDRADE, C.A.F.; BARBOSA, S.P.; DE LUCA JR, L.A. JR.; MENANI, J.V. Activation of alpha2-adrenergic receptors into the lateral parabrachial nucleus enhances NaCl intake in rats. **Neuroscience**, v. 129, n. 1, p. 25-34, 2004.
- ANDRADE, C.A.F.; DE LUCA JR, L.A.; DE LUCA, L.A. JR., COLOMBARI, D.S.; MENANI, J.V. Alpha2-adrenergic activation in the lateral parabrachial nucleus induces NaCl intake under conditions of systemic hyperosmolarity. **Neuroscience**, v. 142, n. 1, p. 21-28, 2006.
- ANDRADE-FRANZÉ, G.M.F.; ANDRADE, C.A.F.; DE LUCA JR, L.A.; DE LUCA, L.A. JR.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A.; MENANI, J.V. Lesions in the central amygdala impair sodium intake induced by the blockade of the lateral parabrachial nucleus. **Brain. Res.**, v. 1332, p. 57-64, 2010b.
- ANDRADE-FRANZE, G.M.F.; ANDRADE, C.A.F.; DE LUCA JR, L.A.; DE LUCA, L.A. JR.; DE PAULA, P.M.; MENANI, J.V. Pharmacological blockade of the central nucleus of the amygdala abolishes water and sodium intake after the blockade of the inhibitory mechanisms of the lateral parabrachial nucleus. In: XXV Reunião Anual da FeSBE, 25., 2010, Águas de Lindóia. **Resumos da XXV Reunião Anual da FeSBE, 2010c.** p. 57.
- ANDRADE-FRANZÉ, G.M.F.; ANDRADE, C.F.A.; DE LUCA JR, L.A.; DE LUCA, L.A. JR.; DE PAULA, P.M.; MENANI, J.V. Lateral parabrachial nucleus and central amygdala in the control of sodium intake. **Neuroscience**, v. 165, p. 633-641, 2010a.
- ANDRÉ, C.; GUILLET, J.G.; DE BACKER, J.P.; VANDERHEYDEN, P.; HOEBEKE, J.; STROSBERG, A.D. Monoclonal antibodies against the native or denatured forms of muscarinic acetylcholine receptors. **EMBO J.**, v. 3, n. 1, p. 17-21, 1984.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; DE CASTRO, M.; ELIAS, L.L.; VALENCA, M.M.; MCCANNMCCANN, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol. Rev.**, v. 84, n. 1, p. 169-208, 2004.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANNMCCANN, S.M.; ROGERS, L.C.; SAMSON, W.K. Atrial natriuretic factor inhibits water intake in conscious rats. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 82, p. 8720-8724, 1985.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S.M.; SAMSON, W.K. Central administration of atrial natriuretic factor inhibits salt intake in the rat. **Endocrinology**, v. 118, n. 4, p. 1726-1729, 1986.

- 
- ARAKI, T.; SATO, M.; KIYAMA, H.; MANABE, Y.; TOHYAMA, M. Localization of GABAA-receptor gamma 2-subunit mRNA-containing neurons in the rat central nervous system. **Neuroscience**, v. 47, n. 1, p. 45-61, 1992.
- ASAMI, R.; ONO, K.; NAKANISHI, O.; INENAGA, K. Distinct mechanisms underlie the regulation of body fluid balance by neurokinin B and angiotensin II in the rat brain. **Brain. Res.**, v. 1383, p. 179-186, 2011.
- ASNAR, D.S.; RONCARI, C.F.; DE LUCA JR, L.A. JR.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A.; MENANI, J.V. Involvement of central cholinergic mechanisms on sodium intake induced by gabaergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neurosci. Lett.**, v. 534, p. 188-192, 2013.
- BARBERIS, C.; TRIBOLLET, E. Vasopressin and oxytocin receptors in the central nervous system. *Crit Rev Neurobiol.*, v. 10, n. 1, p. 119-154, 1996.
- BAXTER, J.D.; LEWICKI, J.A.; GARDNER, D.G. Atrial Natriuretic peptide. **Nature Biotechnology**, v. 6, p. 529-546, 1988.
- BAXTER, M.G.; MURRAY, E.A. The amygdala and reward. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 3, n. 7, p. 563-573, 2002.
- BEAUCHAMP, G.K.; BERTINO, M.; BURKE, D.; ENGELMAN, K. Experimental sodium depletion and salt taste in normal human volunteers. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 51, p. 881-889, 1990.
- BLACKBURN, R.E.; SAMSON, W.K.; FULTON, R.J.; STRICKER, E.M.; VERBALIS, J.G. (1995). Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **Am. J. Physiol.**, v. 269, p. 245-251, 1995.
- BLACKBURN, R.E.; STRICKER, E.M.; VERBALIS, J.G. Central oxytocin mediates inhibition of sodium appetite by naloxone in hypovolemic rats. **Neuroendocrinology**, v. 56, p. 255-263, 1992.
- BOOTH, R.E.; JOHNSON, J.P.; STOCKAND, J.D. Aldosterone. **Adv. Physiol. Educ.**, v. 26, p. 8-20, 2002.
- BUCKLEY, N.J.; BONNER, T.I.; BRANN, M.R. Localization of a family of muscarinic receptor mRNAs in rat brain. **J. Neurosci.**, v. 8, p. 4646-4652, 1988.
- CALLERA, J.C.; OLIVEIRA, L.B.; BARBOSA, S.P.; COLOMBARI, D.S.; DE LUCA JR, L.A. JR.; MENANI, J.V. GABA(A) receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. **Neuroscience**, v. 134, p. 725-735, 2005.

- 
- CASSELL, M.D.; GRAY, T.S. Morphology of peptide-immunoreactive neurons in the rat central nucleus of the amygdala. **J. Comp. Neurol.**, v. 281, p. 320-333, 1989.
- CHIENG, B.C.; CHRISTIE, M.J.; OSBORNE, P.B. Characterization of neurons in the rat central nucleus of the amygdala: cellular physiology, morphology, and opioid sensitivity. **J. Comp. Neurol.**, v. 497, p. 910-927, 2006.
- CIRIELLO, J.; LAWRENCE, D.; PITTMAN, Q.J. Electrophysiological identification of neurons in the parabrachial nucleus projecting directly to the hypothalamus in the rat. **Brain. Res.**, v. 322, p. 388-392, 1984.
- COLOMBARI, D.S.A.; MENANI, J.V.; JOHNSON, A.K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. **Am. J. Physiol.**, v. 271, p. 1470-1476, 1996.
- COOPER, S.J.; GILBERT, D.B. Naloxone suppresses fluid consumption in tests of choice between sodium chloride solutions and water in male and female water-deprived rats. **Psychopharmacology** (Berl), v. 84, p. 362-367, 1984.
- COVIAN, M.R.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; GENTIL, C.G.; SAAD, W.A.; CAMARGO, L.A.A.; SILVA NETO, C.R. Central control of salt balance. In: MOGENSON, G.J.; Calaresu, F.R. **Neural Integration of Physiological Mechanisms and Behaviour**. Toronto: University of Toronto Press, 1975. p. 267-282.
- DE BOLD, A.J.; BOVEINSTEIN, H.B.; VERESS, A.T.; SONERBERG, H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Sciences**, v. 28, p. 98-94, 1981.
- DE CASTRO E SILVA, E.; FREGONEZE, J.B.; JOHNSON, A.K. Corticotropin-releasing hormone in the lateral parabrachial nucleus inhibits sodium appetite in rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 290, p. 1136-1141, 2006.
- DE GOBBI, J.I.F.; BELTZ, T.G.; JOHNSON, R.F.; MENANI, J.V.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Non-NMDA receptors in the lateral parabrachial nucleus modulate sodium appetite. **Brain Res.**, v. 1301, p. 44-51, 2009.
- DE GOBBI, J.I.F.; DE LUCA JR, L.A. JR.; JOHNSON, A.K.; MENANI, J.V. Interaction of serotonin and cholecystokinin in the lateral parabrachial nucleus to control sodium intake. **Am. J. Physiol.**, v. 280, p. 1301-1307, 2001.
- DE GOBBI, J.I.F.; DE LUCA JR, L.A. JR.; MENANI, J.V. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. **Brain Res.**, v. 880, p. 131-138, 2000.

- 
- DE LUCA JR, L.A. JR.; BARBOSA, S.P.; MENANI, J.V. Brain serotonin blockade and paradoxical salt intake in rats. **Neuroscience**, v. 121, p. 1055-1061, 2003.
- DE LUCA JR, L.A. JR.; VIVAS, L.; MENANI, J.V. Controle neuroendócrino da ingestão de água e sal. In: Antunes-Rodrigues, J. et al. **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Pp. 116-131..
- DE OLIVEIRA, L.B. Efeitos da injeção central de moxonidina no controle da ingestão de sódio e regulação cardiovascular. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003b.
- DE OLIVEIRA, L.B.; CALLERA, J.C.; DE LUCA JR, L.A. JR.; COLOMBARI, D.S.A.; MENANI, J.V. GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite. **Brain Res. Bull.**, v. 73, p. 238-247, 2007.
- DE OLIVEIRA, L.B.; DE LUCA JR, L.A. JR.; MENANI, J.V. Moxonidine and central  $\alpha_2$  adrenergic receptors in sodium intake. **Brain Res.**, v. 993, p. 177-182, 2003a.
- DE OLIVEIRA, L.B.; DE LUCA JR, L.A. JR.; MENANI, J.V. Opioid activation in the lateral parabrachial nucleus induces hypertonic sodium intake. **Neuroscience**, v. 155, p. 350-358, 2008.
- DUFFY, V.B.; BARTOSHUK, L.M.; STRIEGEL-MOORE, R.; RODIN, J. Taste changes across pregnancy. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 855, p. 805-809, 1998.
- EDWARDS, G.L.; JOHNSON, A.K. Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. **Am. J. Physiol.**, v. 261, p. 1039-1044, 1991 .
- FALLON, J.H.; KOZIELL, D.A.; MOORE, R.Y. Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. **J. Comp. Neurol.**, v. 180, n. 3, p. 509-532, 1978.
- FALLON, J.H.; LESLIE, F.M. Distribution of dynorphin and enkephalin peptides in the rat brain. **J. Comp. Neurol.**, v. 249, p. 293-336, 1986.
- FITTS, D.A.; MASSON, D.B. Forebrain sites of action for drinking and salt appetite to angiotensin or captopril. **Behav. Neurosci.**, v. 103, p. 865-872, 1989.
- FITZSIMONS, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol. Rev.**, v. 78, p. 583-686, 1998.
- FITZSIMONS, J.T. Physiology and pathology of thirst and sodium appetite. In: SELDIN, D.W.; GIEBISCH, G.H. **The kidney: physiology and pathophysiology**. New York: Raven Press, 1985. p. 885-901.

- 
- FLUHARTY, S.J.; EPSTEIN, A.N. Sodium appetite elicited by intracerebroventricular infusion of angiotensin II in the rat: II. Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids. **Behav. Neurosci.**, v. 97, p. 746-758, 1983.
- FORMENTI, S.; BASSI, M.; NAKAMURA, N.B.; SCHOORLEMMER, G.H.; MENANI, J.V.; COLOMBARI, E. Hindbrain mineralocorticoid mechanisms on sodium appetite. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 304, n. 3, p. 252-259, 2013.
- FRANCHINI, L.F.; VIVAS, L. Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. **Am. J. Physiol.**, v. 276, p. 1180-1187, 1999.
- FRANCIS, J.; WEISS, R.M.; WEI, S-G; JOHNSON, A.K.; BELTZ, T.G.; ZIMMERMAN, K.; FELDER, R.B. Central mineralocorticoid receptor blockade improves volume regulation and reduces sympathetic drive in heart failure. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 281, p. 2241-2251, 2001.
- FRENCH, N.  $\alpha$ 2-adrenoceptors and I<sub>2</sub> sites in the mammalian central nervous system. **Pharmacol. Ther.**, v. 68, n. 2, p. 175-208, 1995.
- FULWILER, C.E.; SAPER, C.B. Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. **Brain Res.**, v. 319, p. 229-259, 1984.
- GALAVARNA, O.; DE LUCA JR, L.A. JR.; SCHULKIN, J.; YAO, S.Z.; EPSTEIN, A.N. Deficits in NaCl ingestion after damage to the central nucleus of the amygdala in the rat. **Brain Res. Bull.**, v. 28, p. 89-98, 1992.
- GASPARINI, S.; DE LUCA JR, L.A. JR.; COLOMBARI, D.S.A.; DE PAULA, P.M.; BARBOSA, S.P.; MENANI, J.V. Adrenergic mechanisms of the Kölliker-Fuse/A7 area on the control of water and sodium intake. **Neuroscience**, v. 164, p. 370-379, 2009.
- GEERLING, J.C.; KAWATA, M.; LOEWY, A.D. Aldosterone-sensitive neurons in the rat central nervous system. **J. Comp. Neurol.**, v. 494, p. 515-27, 2006.
- GEERLING, J.C.; LOEWY, A.D. Aldosterone-sensitive neurons in the nucleus of the solitary tract: bidirectional connections with the central nucleus of the amygdala. **J. Comp. Neurol.**, v. 497, p. 646-657, 2006a.
- GEERLING, J.C.; LOEWY, A.D. Aldosterone in the brain. **Am. J. Physiol. Renal. Physiol.**, v. 297, p. 559-576, 2009.

- 
- GEERLING, J.C.; LOEWY, A.D. Aldosterone-sensitive NTS neurons are inhibited by saline ingestion during chronic mineralocorticoid treatment. **Brain Res.**, v. 1115, p. 54-64, 2006b.
- GEERLING, J.C.; LOEWY, A.D. Central regulation of sodium appetite. **Exp. Physiol.**, v. 93, p. 177-209, 2008.
- GEERLING, J.C.; LOEWY, A.D. Sodium depletion activates the aldosterone-sensitive neurons in the NTS independently of thirst. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 292, n. 3, p. 1338-1348, 2007.
- GLASS, M.J.; VANYO, L.; QUIMSON, L.; PICKEL, V.M. Ultrastructural relationship between N-methyl-D-aspartate-NR1 receptor subunit and mu-opioid receptor in the mouse central nucleus of the amygdala. **Neuroscience**, v. 163, p. 857-67, 2009.
- HE, F.J.; MACGREGOR, G.A. Salt intake, plasma sodium, and worldwide salt reduction. **An. Med.**, v. 44, n. 1, p. 127-137, 2012.
- HERBERT, H.; MOGA, M.M.; SAPER, C.B. Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 293, p. 540-580, 1990.
- HUANG, T.; YAN, J.; KANG, Y. Role of the central amygdaloid nucleus in shaping the discharge of gustatory neurons in the rat parabrachial nucleus. **Brain Res. Bull.**, v. 61, n. 4, p. 443-52, 2003.
- HUBBELL, C.L.; MCCUTCHEON, N.B. Opioidergic manipulations affect intake of 3% NaCl in sodium-deficient rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 46, p. 473-476, 1993.
- JAFERI, A.; PICKEL, V.M. Mu-opioid and corticotropin-releasing-factor receptors show largely postsynaptic co-expression, and separate presynaptic distributions, in the mouse central amygdala and bed nucleus of the stria terminalis. **Neuroscience**, v. 159, p. 526-539, 2009.
- JHAMANDAS, J.H.; HARRIS, K.H.; PETROV, T.; KRUKOFF, T.L. Characterization of the parabrachial nucleus input to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. **J Neuroendocrinol.**, v. 4, n. 4, p. 461-471, 1992.
- JHAMANDAS, J.H.; PETROV, T.; HARRIS, K.H.; VU, T.; KRUKOFF, T.L. Parabrachial nucleus projection to the amygdala in the rat. Electrophysiological and anatomical observations. **Brain Res. Bull.**, v. 39, p. 115-126, 1996.

- 
- JIA, H.G.; ZHANG, G.Y.; WAN, Q. A GABAergic projection from the central nucleus of the amygdala to the parabrachial nucleus: an ultrastructural study of anterograde tracing in combination with post-embedding immunocytochemistry in the rat. **Neurosci. Lett.**, v. 382, p. 153-157, 2005.
- JOHNSON, A.K.; EDWARDS, G.L. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. In: GANTEN, D. e PFAFF, D. **Current Topics in Neuroendocrinology, Behavioral Aspects of Neuroendocrinology**. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 149-190
- JOHNSON, A.K.; GROSS, P.M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. **FASEB J.**, v. 7, p. 678-86, 1993.
- JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front Neuroendocrinol.**, v. 18, p. 292-353, 1997.
- JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology, neurochemistry and molecular biology of thirst and salt appetite. In: LAJTHA, A. e LAUSTEIN, J. **Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Behavioral Neurochemistry, Neuroendocrinology and Molecular Neurobiology**. New York: Springer, 2007. p. 641-687.
- KEAST, R.S.J.; BRESLIN, P.A. An overview of binary taste–taste interactions. **Food Quality and Preference**, v. 2, p. 111–124, 2003.
- KOBASHI, M.; ICHIKAWA, H.; SUGIMOTO, T.; ADACHI, A. Response of neurons in the solitary tract nucleus, area postrema and lateral parabrachial nucleus to gastric load of hypertonic saline. **Neurosci. Lett.**, v. 158, p. 47-50, 1993.
- KRUKOFF, T.L.; HARRIS, K.H.; JHAMANDAS, J.H. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. **Brain Res. Bull.**, v. 30, p. 163-172, 1993.
- LANÇA, A.J.; van der KOOY, D. A serotonin-containing pathway from the area postrema to the parabrachial nucleus in the rat. **Neuroscience**, v. 14, p. 1117-1126, 1985.
- LESHEM, M.; RUDOY, J. Hemodialysis increases the preference for salt in soup. **Physiol. Behav.** v. 61, p. 65-69, 1997.
- LEVINE, A.S.; KOTZ, C.M.; GOSNELL, B.A. Sugars: hedonic aspects, neuroregulation, and energy balance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 78, p. 834-842, 2003.
- LEWIS, S.J.; ALLEN, A.M.; VERBERNE, A.J.M.; FIGDOR, R.; JARROT, B.; MENDELSON, F.A.O. Angiotensin II receptor binding in the rat nucleus

- 
- solitarius is reduced after unilateral nodose ganglionectomy or vagotomy. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 125, p. 305-307, 1986.
- LI, J.; CHEN, K.; YAN, J.; WANG, Q.; ZHAO, X.; YANG, X.; YANG, D.; ZHAO, S.; ZHU, G.; SUN, B. Increased sucrose intake and corresponding c-Fos in amygdala and parabrachial nucleus of dietary obese rats. **Neurosci. Lett.**, v. 525, p. 111-116, 2012.
- LIEM, D.G.; MIREMADI, F.; KEAST, R.S. Reducing sodium in foods: the effect on flavor. **Nutrients**, v. 3, p. 694-711, 2011.
- LIND, R.W.; SWANSON, L.W.; GANTEN, D. Organization of angiotensin II immunoreactive cells and fibres in the rat central nervous system. **Neuroendocrinol.**, v. 40, p. 2-24, 1985.
- LUCAS, L.R.; GRILLO, C.A.; McEWEN, B.S. Salt appetite in sodium-depleted or sodium-replete conditions: possible role of opioid receptors. **Neuroendocrinology**, v. 85, p. 139-147, 2007.
- LUZ, C.P.; SOUZA, A.; REIS, R.; MINEIRO, P.; FERREIRA, H.S.; FREGONEZE, J.B.; DE CASTRO E SILVA, E. The central amygdala regulates sodium intake in sodium-depleted rats: role of 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Brain. Res.**, v. 1139, p.178-194, 2007.
- MALLARD, N.J.; HUDSON, A.L.; NUTT, D.J. Characterization and autoradiographical localization of nonadrenoceptor idazoxan binding sites in the rat brain. **Br. J. Pharmacol.**, v. 106, p. 1019-1027, 1992.
- MANSOUR, A.; FOX, C.A.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. **Trends Neurosci.**, v. 18, p. 22-29, 1995.
- MARCHANT, N.J.; DENSMORE, V.S.; OSBORNE, P.B. Coexpression of prodynorphin and corticotrophin-releasing hormone in the rat central amygdala: evidence of two distinct endogenous opioid systems in the lateral division. **J. Comp. Neurol.**, v. 504, p. 702-715, 2007.
- MARGATHO, L.O.; ELIAS, C.F.; ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Oxytocin in the central amygdaloid nucleus modulates the neuroendocrine responses induced by hypertonic volume expansion in the rat. **J. Neuroendocrinol.**, v. 25, p. 466-477, 2013.
- MARGATHO, L.O.; ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. GABA in the central amygdaloid nucleus modulates the electrolyte excretion and hormonal responses

- 
- to blood volume expansion in rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 42, p. 114-21, 2009.
- MAROWSKY, A.; FRITSCHY, J.M.; VOGT, K.E. Functional mapping of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in the amygdala. **Eur. J. Neurosci.**, v. 20, n. 5, p. 1281-1289, 2004.
- MASH, D.C.; POTTER, L.T. Autoradiographic localization of M1 and M2 muscarine receptors in the rat brain. **Neuroscience**, v. 19, p. 551-564, 1986.
- McCANN, S.M.; FRANCI, C.; GUTKOWSKA, J.; FAVARETTO, A.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Neural control of atrial natriuretic peptide actions on fluid intake and excretion. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 213, p. 117-127, 1996.
- McCANN, S.M.; GUTKOWSKA, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36, p. 165-181, 2003.
- McDONALD, A.J.; AUGUSTINE, J.R. Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala. **Neuroscience**, v. 52, n. 2, p. 281-294, 1993.
- MCKINLEYMcKINLEY, M.J.; ALLEN, A.M.; CLEVERS, J.; PAXINOS, G.; MENDELSON, F.A.O. Angiotensin receptor binding in the human hypothalamus: autoradiographic localization. **Brain Res.**, v. 420, p. 375-379, 1987.
- MENANI, J.V.; COLOMBARI, D.S.; BELTZ, T.G.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Salt appetite: interaction of forebrain angiotensinergic and hindbrain serotonergic mechanisms. **Brain Res.**, v. 801, p. 29-35, 1998a.
- MENANI, J.V.; DE LUCA, L.A. JR.; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. **Am. J. Physiol.**, v. 274, p. 555-560, 1998b.
- MENANI, J.V.; DE LUCA, L.A. JR.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Hindbrain serotonin and the rapid induction of sodium appetite. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 279, p. 126-131, 2000.
- MENANI, J.V.; DE OLIVEIRA, L.B.; ANDRADE, C.A.F.; SUGAWARA, A.M.; DE LUCA JR, L.A. JR. Role of central  $\alpha$ 2-adrenergic/imidazoline receptors in the control of thirst, sodium appetite and renal excretion. In: CHEN, F. J. **New trends in brain research**. NY: Nova Science Publishers, 2006. p. 95-126.
- MENANI, J.V.; JOHNSON, A.K. Cholecystokinin actions in the parabrachial nucleus: effects on thirst and salt appetite. **Am. J. Physiol.**, v. 275, p. 1431-1437, 1998.

- 
- MENANI, J.V.; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. **Am. J. Physiol.**, v. 269, p. 1044-1049, 1995.
- MENANI, J.V.; THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. **Am. J. Physiol.**, v. 270, p. 162-168, 1996.
- MIÑANO, F.J.; MENERES SANCHO, M.S.; SANCIBRIÁN, M.; SALINAS, P.; MYERS, R.D. GABAA receptors in the amygdala: role in feeding in fasted and satiated rats. **Brain Res.**, v. 586, p. 104-110, 1992.
- NASCIMENTO, A.I.; FERREIRA, H.S.; CERQUEIRA, D.R.; FREGONEZE, J.B. Blockade of central delta-opioid receptors inhibits salt appetite in sodium-depleted rats. **Peptides**, v. 55, p. 110-119, 2014.
- NEUMANN, I.D.; KRÖMER, S.A.; TOSCHI, N.; EBNER, K. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. **Regul. Pept.**, v. 96, p. 31-38, 2000.
- NEWMAN-TANCREDI, A.; CHAPUT, C.; TOUZARD, M.; MILLAN, M.J. [(35)S]-GTPgammaS autoradiography reveals alpha(2) adrenoceptor-mediated G-protein activation in amygdala and lateral septum. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 6, p. 1111-1113, 2000.
- NITABACH, M.N.; SCHULKIN, J.; EPSTEIN, A.N. The medial amygdala is part of a mineralocorticoid-sensitive circuit controlling NaCl intake in the rat. **Behav. Brain Res.**, v. 35, p. 127-134, 1989.
- NITECKA, L.; BEN-ARI, Y. Distribution of GABA-like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. **J. Comp. Neurol.**, v. 266, n. 1, p. 45-55, 1987.
- NORGREN, R. Gustatory system. In: Paxinos, G. **The rat nervous system**. Australia: Academic Press, 1995. p. 751-771.
- NORGREN, R. The central organization of the gustatory and visceral afferent systems in the nucleus of the solitary tract. In: KATSUKI, Y. et al. **Brain Mechanisms of Sensation**. New York: Wiley, 1981. p. 143-160.
- OHMAN, L.E.; JOHNSON, A.K. Brain stem mechanisms and the inhibition of angiotensin-induced drinking. **Am. J. Physiol.**, v. 256, p. 264-269, 1989.
- OHMAN, L.E.; JOHNSON, A.K. Lesions in lateral parabrachial nucleus enhance drinking to angiotensin II and isoproterenol. **Am. J. Physiol.**, v. 251, p. 504-509, 1986.

- 
- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 5. ed. San Diego: Academic press, 2005.
- PEREIRA, D.T.; VENDRAMINI, R.C.; DAVID, R.B.; NOZAKI, P.N.; MENANI, J.V.; DE LUCA JR, L.A. Isotonic NaCl intake by cell-dehydrated rats. **Physiol. Behav.**, v. 76, p. 501-505, 2002.
- POMONIS, J.D.; JEWETT, D.C.; KOTZ, C.M.; BRIGGS, J.E.; BILLINGTON, C.J.; LEVINE, A.S. Sucrose consumption increases naloxone-induced c-Fos immunoreactivity in limbic forebrain. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 278, p. 712-719, 2000.
- POULIN, J.F.; CASTONGUAY-LEBEL, Z.; LAFOREST, S.; DROLET, G. Enkephalin co-expression with classic neurotransmitters in the amygdaloid complex of the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 506, p. 943-959, 2008.
- POULIN, J.F.; CHEVALIER, B.; LAFOREST, S.; DROLET, G. Enkephalinergic afferents of the centromedial amygdala in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 496, p. 859-876, 2006.
- RONCARI, C.F.; DAVID, R.B.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A.; DE LUCA JR, L.A.; COLOMBARI, E.; MENANI, J.V. Involvement of central angiotensinergic mechanisms on water and sodium intake by hyperosmotic rats treated with moxonidine into the lateral parabrachial nucleus. In: **NEUROSCIENCE**, 2013. San Diego. Poster#: 177.12/YY9. Disponível em: <<http://www.abstractsonline.com/Plan/ViewAbstract.aspx?sKey=660d02a8-71a4-4adc-b708-dbe6fdb78d0c&cKey=f020f8ec-791d-4ce7-96c6-ea8bab2b16dc&mKey=8d2a5bec-4825-4cd6-9439-b42bb151d1cf>>. Acesso em: 22/04/2015.
- RONCARI, C.F.; DAVID, R.B.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A.; DE LUCA JR, L.A.; MENANI, J.V. Importance of central AT<sub>1</sub> receptors for sodium intake induced by GABAergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience**, v. 196, p. 147-152, 2011.
- RONCARI, C.F.; DAVID, R.B.; JOHNSON, R.F.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A.; DE LUCA JR, L.A.; JOHNSON, A.K.; COLOMBARI, E.; MENANI, J.V. Angiotensinergic and cholinergic receptors of the subfornical organ mediate sodium intake induced by GABAergic activation of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience**, v. 262, p. 1-8, 2014.

- 
- RUGGIERO, D.A.; REGUNATHAN, S.; WANG, H.; MILNER, T.A.; REIS, D.J. Immunocytochemical localization of an imidazoline receptor protein in the central nervous system. **Brain Res.**, v. 780, p. 270-293, 1998.
- SAKAI, R.R.; FINE, W.B.; EPSTEIN, A.N.; FRANKMANN, S.P. Salt appetite is enhanced by one prior episode of sodium depletion in the rat. **Behav. Neurosci.**, v. 101, p. 724-731, 1987.
- SAKAI, R.R.; MA, L.; ZHANG, D.M.; McEWEN, B.S.; FLUHARTY, S.J. Intracerebral administration of mineralocorticoid receptor antisense oligonucleotides attenuate adrenal steroid-induced salt appetite in rats. **Neuroendoc.**, v. 64, p. 425-429, 1996.
- SAKAI, R.R.; McEWEN, B.S.; FLUHARTY, S.J.; MA, L.Y. The amygdala: Site of genomic and nongenomic arousal of aldosterone-induced sodium intake. **Kidney International**, v. 57, p. 1337-1345, 2000.
- SAKAI, R.R.; NICOLAIDIS, S.; EPSTEIN, A.N. Salt appetite is suppressed by interference with angiotensin II and aldosterone. **Am. J. Physiol.**, v. 251, p. 762-768, 1986.
- SARNO, F.; CLARO, R.M.; LEVY, R.B.; BANDONI, D.H.; MONTEIRO, C.A. Estimated sodium intake for the Brazilian population - 2008-2009. **Rev. Saúde Pública**, v. 47, p. 1-7, 2013.
- SATO, M.A.; SUGAWARA, A.M.; MENANI, J.V.; DE LUCA JR, L.A. Idazoxan and the effect of intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. **Regul. Pept.**, v. 69, p. 137-142, 1997.
- SCHULKIN, J.; MARINI, J.; EPSTEIN, A.N. A role for the medial region of the amygdala in mineralocorticoid-induced salt hunger. **Behav. Neurosci.**, v. 103, p. 179-85, 1989.
- SHAPIRO, R.E.; MISELIS, R.R. The central neural connections of the area postrema of the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 234, p. 344-364, 1985.
- STARBUCK, E.M.; FITTS, D.A. Influence of the subfornical organ on meal-associated drinking in rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 280, p. 669-677, 2001.
- SULLIVAN, M.J.; HASSER, E.M.; MOFFITTS, J.A.; BRUNO, S.B.; CUNNINGHAM, T. Rats exhibit aldosterone-dependent sodium appetite during 24 h hindlimb unloading. **J. Physiol.**, v. 557, p. 661-670, 2004.
- SUN, B.; YAN, J.; WANG, Q.; ZHAO, X.; LI, J.; YAN, W.; CHEN, K.; YANG, X.; ZHAO, S.; YAN, J.  $\mu$ -opioid receptors in the central nucleus of the amygdala modulate

- 
- sucrose solution intake in rats. **Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao**, v. 32, p. 487-491, 2012.
- SUN, N.; CASSELL, M.D. Intrinsic GABAergic neurons in the rat central extended amygdala. **J. Comp. Neurol.**, v. 330, n. 3, p. 381-404, 1993.
- TAKAMATA, A.; MACK, G.W.; GILLEN, C.M.; NADEL, E.R. Sodium appetite, thirst, and body fluid regulation in humans during rehydration without sodium replacement. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. 1493-1502, 1994.
- THUNHORST, R.L.; JOHNSON, A.K. Renin-angiotensin, arterial blood pressure, and salt appetite in rats. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. 458-465, 1994.
- van der ZEE, E.A.; ROOZENDAAL, B.; BOHUS, B.; KOOLHAAS, J.M.; LUITEN, P.G. Muscarinic acetylcholine receptor immunoreactivity in the amygdala--I. Cellular distribution correlated with fear-induced behavior. **Neuroscience**, v. 76, p. 63-73, 1997.
- VEINANTE, P.; STOECKEL, M.E.; FREUNDMERCIER, M.J. GABA- and peptide-immunoreactivities colocalize in the rat central extended amygdala. **Neuroreport.**, v. 8, p. 2985-2989, 1997.
- VEINANTE, P.; YALCIN, I.; BARROT, M. The amygdala between sensation and affect: a role in pain. **J. Mol. Psychiatry.**, v. 1, n. 9, junho. 2013. Versão eletrônica disponível em: <<http://www.jmolecularpsychiatry.com/content/1/1/9>>. Acesso em: 25 abr. 2015.
- VENDRAMINI, R.C.; PEREIRA, D.T.; BORELLA, T.L.; MENANI, J.V.; DE LUCA JR, L.A. Damage to the central amygdala produces differential encephalic c-fos expression in the water deprivation-partial rehydration protocol. **Brain Res.**, v. 1304, p. 80-89, 2009.
- VERBALIS, J.G.; BLACKBURN, R.E.; HOFFMAN, G.E.; STRICKER, E.M. Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 395, p. 209-225, 1995.
- VERNEY, E.B. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. **Proc. Royal Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, v. 135, p. 25-106, 1947.
- von BOHLEN und HALBACH O; Albrecht D. Visualization of specific angiotensin II binding sites in the rat limbic system. **Neuropeptides**, v. 32, p. 241-245, 1998.

- 
- WANG, Q.; LI, J.R.; YANG, X.J.; CHEN, K.; SUN, B.; YAN, J.Q. Inhibitory effect of activation of GABA(A) receptor in the central nucleus of amygdala on the sodium intake in the sodium-depleted rat. **Neuroscience**, v. 25, n. 223, p. 277-284, 2012.
- WEISS, M.L.; MOE, K.E.; EPSTEIN, A.N. Interference with central actions of angiotensin II suppresses sodium appetite. **Am. J. Physiol.**, v. 250, p. 250-259, 1986.
- WHO. Guideline: Sodium Intake for Adults and Children. Geneva, World Health Organization (WHO), 2012.
- XU, J.; WOODWORTH, C.H.; JOHNSON, A.K. Glutamate and the role of the lateral parabrachial nucleus in the control of water and salt intake in rats. **Soc. Neurosc. Abstr.**, v. 23, p. 1348, 1997.
- YAMAMOTO, T.; SHIMURA, T.; SAKO, N.; SAKAI, N.; TANIMIZU, T.; WAKISAKA, S. c-Fos expression in the parabrachial nucleus after ingestion of sodium chloride in the rat. **Neuroreport.**, v. 4, p. 1223-1226, 1993.
- YAN, J.; LI, J.; YAN, J.; SUN, H.; WANG, Q.; CHEN, K.; SUN, B.; WEI, X.; SONG, L.; ZHAO, X.; WEI, S.; HAN, L. Activation of  $\mu$ -opioid receptors in the central nucleus of the amygdala induces hypertonic sodium intake. **Neuroscience**, v. 233, p. 28-43, 2013.
- ZARDETTO-SMITH, A.M.; BELTZ, T.G.; JOHNSON, A.K. Role of the central nucleus of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis in experimentally-induced salt appetite. **Brain Res.**, v. 645, p. 123-134, 1994.
- ZHANG, D.M.; EPSTEIN, A.N.; SCHULKIN, J. Medial region of the amygdala: involvement in adrenal-steroid-induced salt appetite. **Brain Res.**, v. 600, p. 20-26, 1993.
- ZHU, W.; PAN, Z.Z. Mu-opioid-mediated inhibition of glutamate synaptic transmission in rat central amygdala neurons. **Neuroscience**, v. 133, p. 97-103, 2005.