

1. INTRODUÇÃO

O apetite por sódio envolve vários circuitos neurais, sendo o sistema límbico um deles. A ingestão de sal por animais depletados de sódio, desencadeia uma sensação prazerosa, portanto esse prazer ativa núcleos da amígdala. A amígdala é um dos núcleos que compõe o sistema límbico, esta área está envolvida no aprendizado, memória associativa e emocional e comportamento ingestivo (NEUGEBAUER et al., 2004) O estudo da compreensão do prazer que envolve motivação e recompensa tem sido amplamente discutido, pois é a base para o entendimento da dependência do uso de drogas de abuso e comportamentos naturais como comportamento ingestivo e sexo. (MANUSCRIPT, 2012; PIERCE & KUMARESAN, 2006) O núcleo accumbens (NAc) e suas vias dopaminérgicas é apontado como núcleo de convergência de estruturas que compõe o sistema límbico que são responsáveis pelas emoções. O complexo amigdalóide através de sua conexão glutamatérgicas com o núcleo accumbens interagem para sensação recompensadora e motivação comportamental. (SMITH & BERRIDGE, 2007; BERRIDGE et al., 2009). Receptores kappa opioides localizados nas fibras glutamatérgicas quando ativados atuam para que haja ativação das fibras dopaminérgicas do núcleo accumbens (FONTANINI et al, 2009; MCDONALD, 1998). A amígdala basolateral (BLA) devido as suas conexões recíprocas com áreas de informações somatossensoriais, principalmente envolvidas com a palatabilidade, tem sido utilizadas para teste de recompensa. Dados do nosso laboratório mostram que em animais submetidos a condições adversas, causado pela depleção de sódio, quando administrado intracerebroventricularmente (ICV) o antagonista dos receptores opiodes do tipo kappa, há bloqueio do apetite por sódio, supostamente pela baixa motivação em buscar da recompensa que seria a solução salina hipertônica. Isso sugere que a motivação pode ter sido inibida por alteração do impacto hedônico causado pela ingestão da solução salina em animais depletados de sódio através do bloqueio da via opiatérgica (NA et al., 2012), assim a investigação do papel da dos receptores kappa opioides sobre a regulação da homeostasia dos compartimentos líquidos corporais, bem como os mecanismos da recompensa e palatabilidade fazem-se importantes para compreensão de um comportamento natural como o apetite por sódio e o prazer associado a ingestão de substâncias hedônicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO

Alterações na homeostasia dos líquidos corporais são informadas momento a momento ao sistema nervoso central. A regulação primária dos compartimentos líquidos corporais dá-se pela ingestão e excreção de água e eletrólitos pelos rins, assim, ajustes são necessários quando há desequilíbrio entre estas variáveis (MCKINLEY & JOHNSON, 2004; MCKINLEY et al., 2004; JOHNSON, 2007; BOURQUE, 2008). O cérebro integra os sinais sensoriais e hormonais da periferia e dirige correções através de mudanças autonômicas, endócrinas e comportamentais. A sede e o apetite por sódio são comportamentos essenciais para correção da homeostasia hidrossalina (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004; MCKINLEY & JOHNSON, 2004). Na tentativa de equilibrar as perdas fisiológicas de água a ingestão de líquidos faz-se necessária, tal comportamento é apresentado como sede. Este mecanismo é indispensável para a sobrevivência animal, pois é forma que organismo tem para manter as variáveis hidroeletrolíticas (MCKINLEY & JOHNSON, 2004). A sensação de sede origina-se no centro da sede, localizado nas porções anterior e ventromedial do hipotálamo. Homeostasia dos líquidos exige um mecanismo que mantém os eletrólitos, em especial o sódio, em total em equilíbrio com a água, bem como uma apropriada distribuição destes nos espaços intracelular e extracelular. Quando ocorre a perda de água, geralmente esta água é perdida tanto do compartimento intracelular quanto do extracelular. (MCKINLEY & JOHNSON, 2004, MCKINLEY et al., 2004).

O apetite por sódio, ocorre devido a perda deste íon, que pode ocorrer por diversos meios, tal como observa-se na figura abaixo (figura 1.)

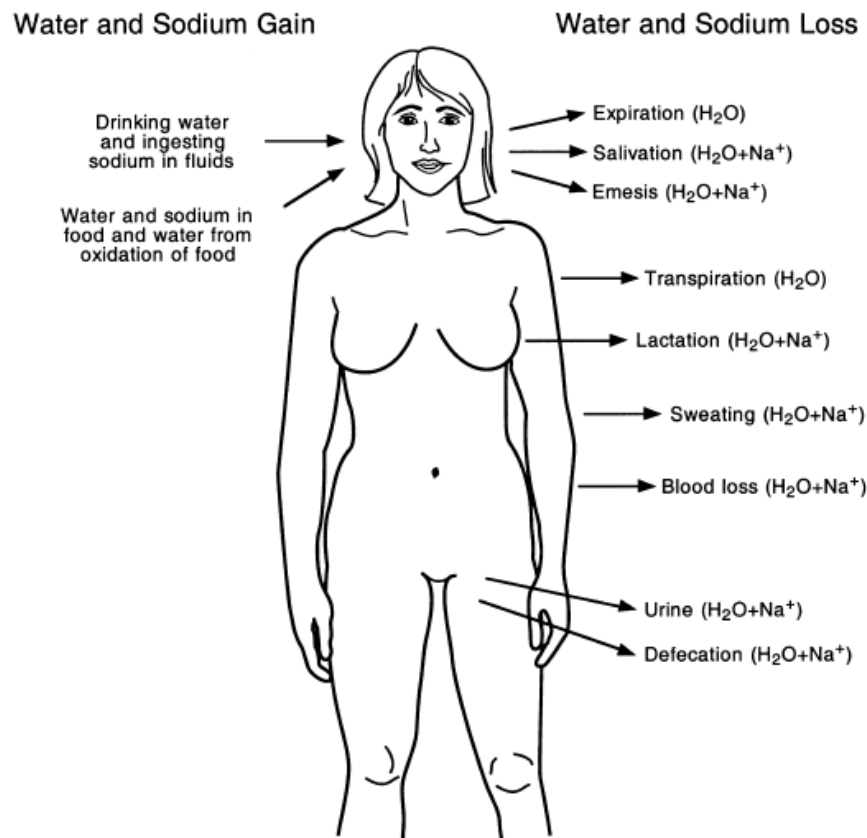


Figura 1: Ganho e perda de água e sódio. (JHONSON, 2007)

O sódio é importante para determinar o gradiente osmótico dos espaços intracelulares e extracelulares, movendo a água para dentro ou para fora da célula, já que ele é soluto em maior concentração no espaço extracelular (BOUQUER, 2008). A sede é desencadeada devido o aumento da pressão osmótica plasmática causada pela hipertonicidade nos compartimentos ou diminuição do volume extracelular, geralmente causadas por hemorragias, vômitos e diarreias(JHONSON,2007). Os receptores de distensão estão localizados nos atrios, vasos pulmonares e nos rins, sinalizam alterações na pressão sanguínea ou seja o aumento da concentração de soluto no plasma, como Na^+ . Os receptores centrais, osmoreceptores, localizados especialmente áreas que compõe a lâmina terminal (FITZSIMONS, 1998; MCKINLEY et al., 2003).

A lâmina terminal apresenta estruturas sensoriais que detectam alterações químicas líquido cefalorraquidiano próximo aos ventrículos. Os órgãos circumventriculares (CVOs) são caracterizados por apresentarem barreira hematoencefálica diferenciada, isto se deve aos

capilares fenestrados que permitem a passagem de substâncias de elevado peso molecular do plasma para o parênquima cerebral (ENGELHARDT, 2003) e apresentarem receptores para angiotensina. Os CVOs incluem: área postrema (AP), o órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT) e o órgão subfornical (SFO). O núcleo pré-óptico mediano (MnPO) é uma estrutura importante na regulação central do apetite por sódio e da pressão arterial, não integra os CVOs mas está localizado entre o OVLT e SFO compondo a lâmina terminal (FITZSIMONS, 1998; MCKINLEY et al., 2003).

Periféricamente, estes receptores estão localizados na mucosa oral, próximos a veia porta hepática, trato gastrointestinal e rins. A estimulação da sede pelo espaço extracelular acontece pela diminuição do volume extracelular ou pressão sanguíneas, geralmente causadas por hemorragias, vômitos e diarreias. Os receptores de distensão estão localizados nos átrios, vasos pulmonares e nos rins, sinalizam alterações na pressão. (MCKINLEY & JOHNSON, 2004; MCKINLEY et al., 2004; JOHNSON, 2007). Informações de desequilíbrios na osmolaridade vindos da periferia levados pelos nervos vago e glossofaríngeo ate o núcleo do trato solitário (NTS), que por sua vez, projeta para outros núcleos do cérebro, SFO e OVLT que retransmite sinais osmóticos e hormonais para o núcleo preóptico mediano (MNPO), este núcleo apresenta grande densidade de receptores de angiotensina do tipo I. Todos estímulos chegam ao hipotálamo. A resposta osmótica dá-se pela estimulação da hipófise posterior de onde há liberação do hormônio anti-diurético (ADH). O ADH atua no receptores v1 e v2 que atuam expondo os canais de aquaporinas do tipo 2, localizados nos ductos coletores renais, promovendo a reabsorção de água nos rins, na tentativa de reestabelecer as variáveis em desequilíbrio (MCKINLEY & JOHNSON, 2004; MCKINLEY et al., 2004).

A liberação de aldosterona pelas glândulas supra-renais, que tem como função a manutenção do volume de fluídos extracelular, por conservação do Na⁺ corporal, atuando no ductos coletores dos rins, reabsorvendo Na⁺. O peptídeo natriurético atrial (ANP) é sintetizado no coração, tendo uma ação inibitória da sede quando há um aumento do volume extracelular, além disso, possui um efeito de inibição sobre a estimulação causada pelo angiotensina. Com o passar dos anos, os níveis de ANP circulante aumentam, fazendo com que a percepção da sede diminua, por esse motivo, um individuo idoso bebe menos água que um indivíduo jovem. (MCKINLEY & JOHNSON, 2004; JOHNSON, 2004; BOURQUE, 2008).

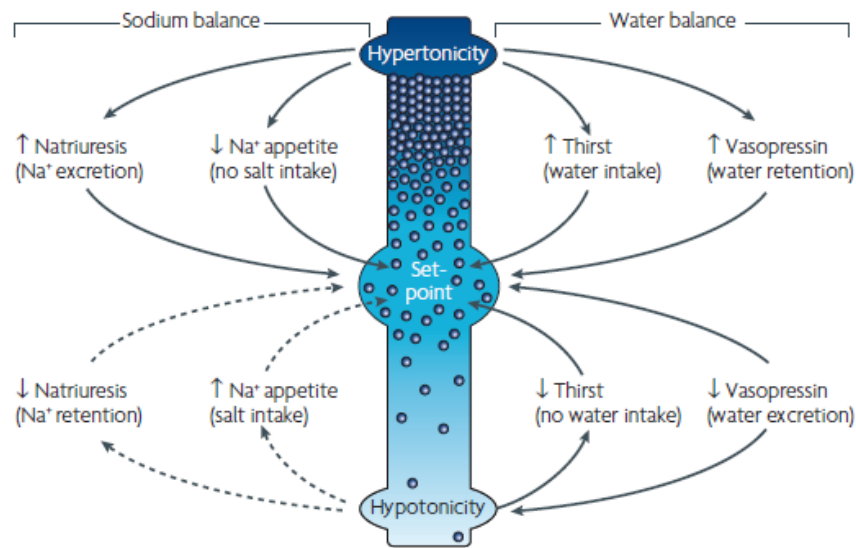


Figura 2 - O mecanismo de osmoregulação. Mudanças na osmolaridade dos fluidos extracelular modula respostas homeostáticas que afeta o balanço de Na⁺ (esquerda) e o balanço de água (direita). (BOURQUE, 2008)

Animais submetidos protocolos distintos que estimulam a sede, privação hídrica, hipovolemia induzida por injeção subcutânea de polietilenoglicol e hipertonicidade induzida por sobrecarga intragástrica de sal, ao receberem injeções ICV de naloxone ou nor-BNI, antagonistas dos receptores μ e kappa, respectivamente, não alterou a ingestão de água. (GOSNELL et al., 1990; LUZ et al., 2009). Gosnell e Marjchszak (1990) sugerem que preferência por sal seja mediada por opioides centrais.

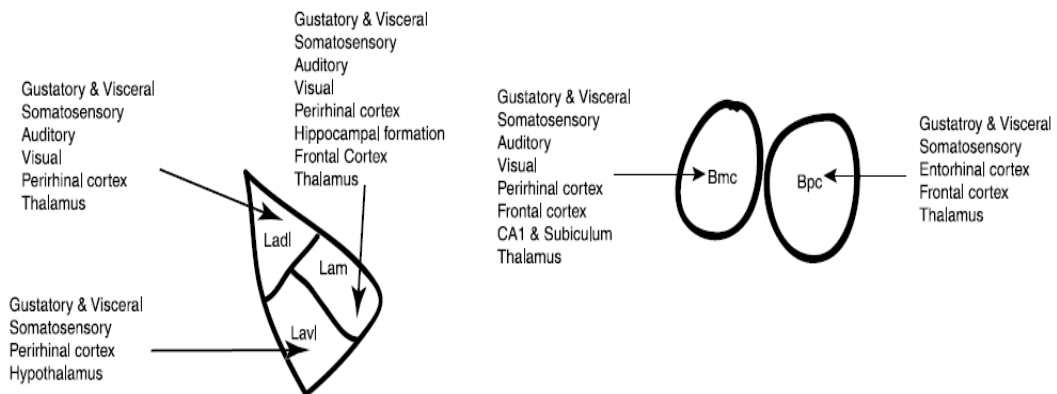
O apetite por sódio e a sede são comportamentos necessários para reestabelecimento do LIC e LEC frente a desequilíbrios na homeostasia hidrossalina, são modulados por alguns neurotransmissores e/ou neuromoduladores no SNC através de receptores localizados nas áreas envolvidas na regulação destes comportamentos. Diversos estudos mostram o envolvimento das vias de neurotransmissão central angiotensinérgica, serotoninérgica, GABAérgica, histaminérgica, colinérgica e adrenérgica no controle da homeostasia hidrossalina (SAAD et al., 1994; LUZ et al., 2006; LUZ et al., 2007; HENRY et al., 2009; MAGRINI et al., 2006;), entretanto os estudos envolvendo os opioides, especialmente em áreas específicas, são escassos e pouco elucidativos.

O complexo amigdalóide é uma área localiza-se no lobo tempormedial e caracteriza-se por apresentar aparente forma de amêndoa. Anatomicamente está dividida em três subnúcleos: amígdala basolateral (BLA) que inclui a amígdala lateral (LA), a amígdala basal (BA) e

amígdala basal acessória. A amígdala cortical, composta pela amígdala cortical e lateral do trato alfatório e amígdala centromedial composta por amígdala central (CeA) e amígdala medial (MeA) (SAH et al., 2003; CARDINAL et al., 2002), sendo, um dos núcleos que compõe o sistema límbico, desempenhando um papel chave na evolução emocional a estímulos sensoriais, aprendizado emocional, memória emocional, e também em efeitos de transtornos como ansiedade e depressão. (NEUGEBAUER et al., 2004). O aprendizado associativo pode contar para o desenvolvimento da resposta emocional, ex: o desenvolvimento do medo pode ser visto simplesmente como consequência da associação de um evento de uma experiência desagradável. Lesões na amígdala promove dificuldade no aprendizado emocional, déficits na percepção de emoções na expressão facial e dificulta a memória emocional (CARDINAL et al., 2002)

A amígdala possui neurônios do tipo glutamatérgicos, GABAérgicos e dopaminérgicos. Possui projeções recíprocas com estruturas corticais, talâmicas, hipotalâmicas e tronco encefálico, sendo que o córtex e tálamo recebem informações de áreas sensoriais e estruturas relacionadas ao sistema de memória, tais como núcleo accumbens e hipocampo. O hipotálamo e troco encefálico recebem informações de regiões envolvidas no comportamento ingestivo e sistema autônomo, porém a maioria das informações que chegam à amígdala chegam do córtex cerebral, são informações olfatórias, somatosensoriais, gustatórias, viscerais, auditivas e visuais (MC DONALD, 1998; FONTANINI et al., 2009; SAH et al., 2003). Estímulos gustatórios que avaliam a palatabilidade e recompensa, são recomendados para estudo da amígdala (FONTANINI et al., 2009).

Painel A



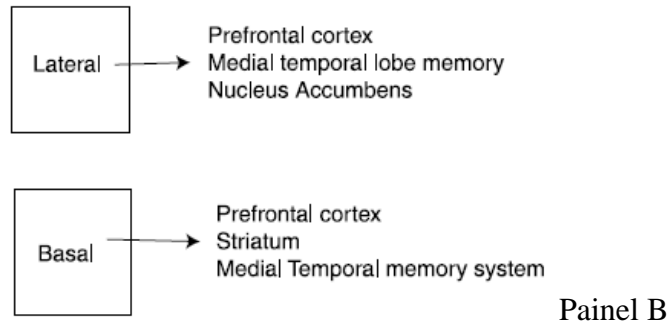


Figura 3 - panel A -mostra as aferencias da BLA; painel- B mostra as eferencias da BLA (SAH et al., 2003).

Diversos estudos mostraram a participação dos núcleos da amígdala no apetite por sódio (LUZ et al., 2006, 2007). Estudos do laboratório de Neurociências (ICS-UFBA) mostraram a participação dos receptores serotoninérgicos nos núcleos central e medial da amígdala (CeA e MeA, respectivamente). Animais hiponatêmicos que receberam microinjeções na CeA de m-CPBG, agonista dos receptores serotoninérgicos do tipo 3, (5-HT₃), apresentam forte inibição da ingestão de salina hipertônica, enquanto o pré-tratamento com ondasetrona, antagonista do receptor 5-HT₃, reverte o efeito antinatriorexigênico do m-CPG. Em outro estudo, a ativação por m-CPBG, dos receptores 5-HT₃ presentes na MeA promove significativa ingestão de sal e o pré-tratamento com ondasetrona reverte a inibição (LUZ et al., 2006, 2007). Dado da literatura mostra que microinjeções de agonista dos receptores μ , Damgo, na BLA aumenta a ingestão de sódio e de água em animais depletados deste íon e desidratados, respectivamente (YAN et al., 2014). Este conjunto de dados corrobora a participação de estruturas relacionadas a fatores emocionais com a regulação do apetite por sódio.

2.2 SISTEMA DE RECOMPENSA

A recompensa do sabor é definida como o prazer que o indivíduo sente ao ingerir algo palatável (PECIÑA, 2008). Sendo o prazer a união de componentes fisiológicos: o querer, o gostar e o aprendizado. O “querer” é o incentivo ou processo motivacional da recompensa, o “gostar” se traduz como componente do prazer ou impacto hedônico da recompensa e o “aprendizado” inclui associação de recompensas futuras baseada em experiências passadas (MANUSCRIPT, 2012) o estímulo da recompensa esta condicionada a experiências sensoriais ao sabor, tato, proprioceptivo e visceral, que resulta em mudanças biológicas que propicia o objetivo pelo comportamento motivacional. Substâncias ao serem ingeridas causam impactos comportamentais, sendo eles, hedônico (positivo) e/ou aversivo (negativo) (PECIÑA, 2008). A necessidade de suprir o organismo de água, vitaminas, carboidrato e gordura dirige o comportamento ingestivo, de modo que ao longo do processo evolutivo, a busca e aquisição de alimentos fazem-se necessário à manutenção dos processos fisiológicos. A preferência por sabores, textura e composição dos alimentos de modo geral, atende a preferências individuais. Contudo é notória a preferência dos animais por alimentos mais energéticos, isto é que contenham predominantemente gordura e carboidrato. Os comportamentos hedônicos e aversivos em animais mimetizam comportamentos que uma criança recém nascida esboça ao gostar ou não de um alimento (PECIÑA, 2004; BERRIDGE, 2009). O paladar é um dos sentidos utilizados pelos animais para identificação de alimentos, sendo estes classificados em palatáveis e não palatáveis. Alimentos palatáveis causam o impacto hedônico e os não palatáveis, impacto aversivo. Existem cinco sabores perceptíveis: doce, salgado, amargo, azedo e umami. A classificação dos sabores é necessária para o sistema de recompensa no âmbito da ingestão de alimento e líquido (GILBERTSON & DAMAK, 2000; BERMÚDEZ- RATTONI, 2004).

A percepção do sabor inicia nos botões gustatórios encontrados nas extremidades da superfície da língua, palato e epiglote, em pequenos mamíferos, o ducto nasoincisivo é adicionado como localização de botões fora da língua. Esses botões são morfologicamente divididos em fungiforme, foliado e papila circunvalada. Cada botão possuem entre 50 a 100 células gustatórias e possui um poro gustativo para a passagem de substâncias para transdução dos diferentes sabores (MILLER, 1995). As células gustatórias possuem, em sua extremidade mais superficial, microvilosidades que utilizam mecanismos ionotrópicos, bem como metabotrópicos, para gerar potencial de ação. O mecanismo do sabor salgado ocorre com o aumento da concentração de Na^+ dentro da célula pelos de canais abertos Na^+ (ativa canais de

Na⁺ sensíveis a amilorida), que são canais iônicos sensíveis a eletricidade e permanecem aberto o tempo todo. O sabor azedo utiliza canais de cátions sensíveis ao pH ácido, que ocorre com uma alta concentração de H⁺ (acidez) dentro da célula gustatória, havendo também o bloqueio dos canais de potássio. Já os sabores doce, umami e amargo, utilizam receptores acoplados a proteína G que promove a abertura dos canais de cátions. O sabor doce ocorre devido a sacarose possui capacidade de ativar uma proteína G ligada a adenilato ciclase, e também, bloqueio dos canais de potássio. O mecanismo para sabor amargo são detectores de venenos que fazem bloqueio dos canais de potássio e ativação de uma proteína G acoplada à fosfolipase C. Na extremidade profunda das células gustatórias ocorre as sinapses com terminações nervosas periféricas. Os impulsos gerados pelas células localizados nos 2/3 anteriores da língua fazem sinapse com o nervo lingual e corda timpânica até chegar ao nervo facial (par VII), os impulsos do terço posterior da língua é inervado pelo glossofaríngeo (par IX) e os impulsos gerados na epiglote são conduzidos pelo nervo vago (par X). Aferências primárias chegam a lateral da porção rostral, que é responsável pela transdução gustatória no núcleo do trato solitário (NTS), de onde partem projeções para a porção dorsolateral do núcleo parabraqueal (PBN), que se por sua vez, faz conexões com hipotálamo lateral, a divisão lateral do leito da estria terminal, a amígdala central (CeA) e basolateral (BLA), e núcleo posteromedial ventral do tálamo (VPM). Do VPM fibras nervosas são projetadas para o córtex insular gustatório (MILLER, 1995; BERMÚDEZ-RATTONI, 2004; GILBERTSON & DAMAK, 2000; HERNESS & GILBERTSON, 1999). Animais com deficiência nutricional podem sentir a necessidade de ingestão de um alimento que é naturalmente aversivo tornando um alimento palatável por “querer”, gerando um comportamento motivacional. A administração de agonistas ou antagonistas opioides tem sido utilizados em testes de reatividade ao sabor, devido ao fato dos opioides estarem envolvidos nos mecanismos da palatabilidade e recompensa (PARKER et al., 1992; PARKER & RENNIE, 1992; DOYLE et al., 1993).

Diversas áreas do sistema límbico participam do sistema de recompensa, tais como o núcleo accumbens (Nacc), ventral pálido (VP), área tegumentar ventral (VTA), complexo amigdalóide, hipocampo e córtex prefrontal medial (mPFC) e através das suas conexões, recíprocas, glutamatérgicas, gabaérgicas e, principalmente a dopaminérgicas coordenam os mecanismos de motivação e recompensa (figura 4), neste intrincado mecanismo, estudos mostram que a dopamina atuará tanto na parte límbica, quanto motora do núcleo accumbens, exibindo respostas emocionais, motivacionais e comportamentais (LA LUMIERE, 2014). Estudos tem mostrado que a depleção de dopamina ou bloqueio dos seus receptores interferem

na motivação de recompensa para alimento, água, sexo e cuidado parental.(LA LUMIERE, 2014 ; EVERITT & ROBBINS, 1996; PIERCE & KUMARESAN, 2006) . A administração de morfina no Nac aumentou o hedonismo por substâncias doces; neste estudo, esta resposta parece depender da ativação dos receptores de dopamina presentes nesta área (SMITH& BERRIDGE, 2007).

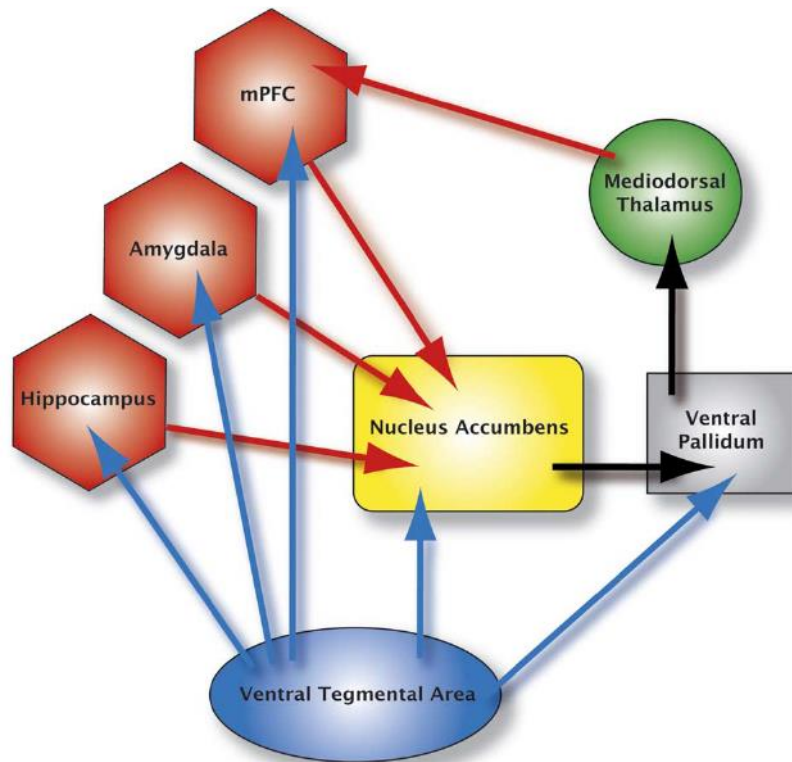


Figura 4 - Circuito límbico. Setas vermelhas transmissões glutamatérgicas, azul transmissão GABAérgica e preto transmissão dopaminérgica. (PIERCE & KUMARESAN, 2006)

2.3 OPIOIDES

2.3.1 A PAPOULA E O ÓPIO

Desde os tempos antigos, o homem utiliza compostos naturais em rituais sociais e cerimônias religiosas, compondo a cultura de diversos povos nas mais variadas regiões do mundo. A *Papaver somniferum L*, conhecida como papoula dormideira, pertence à família da *Papaveraceae* é originária da Ásia Menor utilizada na alimentação, rituais religiosos e fins medicinais no antigo Egito, Mesopotâmia, Pérsia, Assíria, Babilônia, Grécia e Roma, seu cultivo, se estende da China à Turquia e sudoeste asiático (Revidado em DUARTE, 2005). A papoula é uma planta perene de hábito herbáceo apresenta caule alto e ramificado, folhas sésseis e ovaladas, suas flores são grandes, de cores variadas, e o fruto capsulado (BODNAR, 2012).



Figura 5 - Flor e fruto da papoula. Fonte:<http://www.brasilecola.com/quimica/constituicao-quimica-efeitos-morfina.htm>

O ópio, utilizado desde antiguidade por ser um poderoso sedativo, analgésico e hipnótico, é um composto de alcaloides extraído do látex dos frutos da papoula ainda verdes. Toda a planta é considerada venenosa, exceto as sementes quando maduras (McDONALD & LAMBERT, 2005). São encontrados 25 tipos de alcaloides no ópio, dentre eles a codeína, a papaverina, a tebaína, a noscapina e a morfina, sendo este o alcalóide predominante, constituindo 10% do peso do ópio (BODNAR, 2012). São chamados opiáceos, substâncias derivadas do ópio e de opioides, substâncias naturais, sintéticas ou endógenas que possuem afinidade com os receptores opioide e possuam propriedades similares ao dos opioides endógenos. Assim, componentes alcaloides do ópio são opioides exógenos classificados de acordo com o número de anéis aromáticos em fenantrênicos: morfina, codeína e tebaína com três anéis, e os benzilquinoleicos: papaverina e noscapina, com cinco anéis (GOODMAN & GILMAN, 2007).

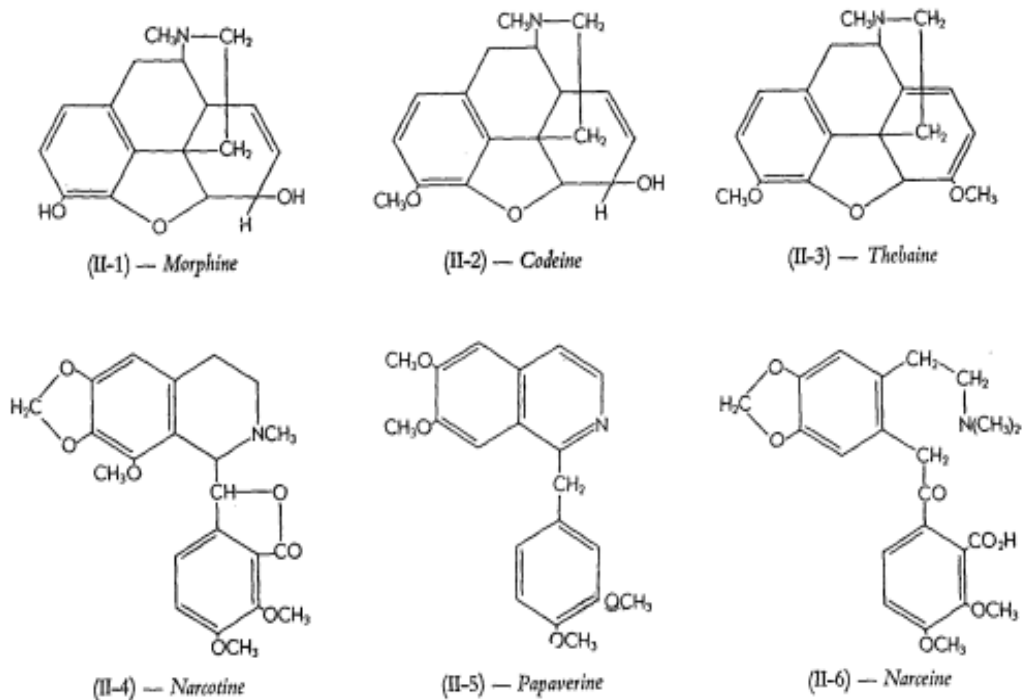


Figura 6 - Principais alcaloides presentes no ópio. Fonte: http://www.psicofarmacos.info/drogas&farmacos_papaver-soerum-adormmnifidera.htm

2.3.2 RECEPTORES OPIOIDES

Em 1803, o alemão Friedrich Serturmer descobriu e isolou o componente ativo do ópio, a morfina, e em 1827 tem-se início sua produção comercial. Desde então o interesse pelos opioides cresceu e antes mesmo da identificação dos opioides endógenos, surgia evidências da presença de estruturas celulares com capacidade de reconhecer diferentes substâncias com certo grau de especificidade (MARTINS et al., 2012). Nos anos 40, surgiram os antagonistas opioides naloxa e naltrexona. Em 1973, dois pesquisadores norte-americanos, Pert e Snyder, demonstraram a existência de receptores específicos da naloxona no cérebro e no intestino de cobaias. Em 1976 foram isolados e purificados os primeiros polipeptídeos endógenos, encefalinas e β -endorfinas (PASTERNAK, 1998)

Endorfinas, dinorfinas, encefalinas e orfaninas são opioides endógenos sintetizados pelo sistema nervoso central (SNC), a partir dos precursores, pró-opiomelanocortina, pró-dinorfina, pro-encefalina, pró-orfanina FQ, respectivamente. Estes neuropeptídeos diferem quanto à distribuição, seletividade do receptor e seu papel neuroquímico (KANDEL et al., 2013). As endorfinas são encontradas principalmente na glândula hipófise e hipotálamo; as encefalinas são amplamente encontradas no globo pálido, substância cinzenta periaquedutal, gânglios da base e complexo amigdalóide e hipotálamo; as dinorfinas na hipófise e medula (GOODMAN & GILMAN, 2007). Os peptídeos opioides podem agir como neurotransmissores ou neuromoduladores e são distribuídos por todo o SNC, contudo os estudos envolvendo a participação neuropeptídeos opioides e mecanismos de controle central ainda são contraditórios, o que fomenta o interesse pela investigação. São conhecidos cinco tipos de receptores opioides: mu (μ), kappa (κ), delta (δ), Épsilon (ϵ) e sigma (σ), todos pertencentes à família de receptores acoplados a proteína G. De acordo com o subtipo de receptor e sua localização no SNC, algumas ações são notórias. A maioria dos trabalhos descritos na literatura evidenciam a participação dos receptores μ , δ e κ os quais segue breve descrição.

O receptor opioide do tipo μ está distribuído por todo o SNC, especialmente em áreas envolvidas na função motora e sensorial, como o córtex, caudado putâmen, núcleo acumbens, complexo amigdalóide e substância cinzenta periaquidutal (McDONALD & LAMBERT, 2005). A morfina é o agonista mais conhecido do μ ; os agonistas destes receptores produzem analgesia tanto por mecanismos pré-sinápticos quanto pós-sinápticos (McDONALD & LAMBERT, 2005; FIELDS, 2004). Os receptores μ estão presentes em todo o circuito central

da dor, incluindo a ínsula, hipotálamo e região ventromedial do bulbo (RLVM) (FIELDS, 2004), são atribuídos aos agonistas μ de depressão respiratória, inibição de secreções do trato gastrointestinal e peristaltismo (McDONALD & LAMBERT, 2005). Estudos realizados no laboratório de Neurociências (ICS-UFBA) mostram a participação dos μ na regulação central do controle cardiovascular e apetite por sódio. Injeções intracerebroventricular de m-CPBG em diferentes doses, agonista dos receptores de serotonina do tipo 3, promove diminuição na pressão arterial média, e o pré-tratamento com naloxona, antagonista dos receptores μ , bloqueia o efeito hipotensivo da ondasetrona, mostrando esta resposta depende da ativação dos receptores μ (FREGONEZE et al., 2011). Outros estudos do laboratório mostram que injeções ICV da citocina pró-inflamatória, interleucina-1 β (IL-1 β), bloqueia a sede em animais desidratados e bloqueia o apetite por sódio em animais depletados deste íon, e o pré-tratamento com naloxona reverte o efeito antidipsogênico e antinatriorexigênico da IL-1 β , o que sugere a modulação dos receptores MOP em tais respostas (LUZ et al., 2006; DE CASTRO & SILVA, 2006).

Diversos estudos apontam o envolvimento dos receptores opioides do tipo delta na analgesia, funções cognitivas e ansiedade. Tais receptores são encontrados de maneira ampla no SNC, em regiões como o córtex, núcleos da ponte, complexo amigdalóide (GOZZANI, 1994; KIEFFER & EVANS, 2009), na periferia, encontra-se no trato gastrointestinal e coração (MARTINS et al., 2012). Dados da literatura mostram a participação dos delta centrais na regulação do comportamento ingestivo, controle cardiovascular e palatabilidade. Microinjeções no núcleo accumbens do antagonista naltrindole inibe a ingestão de sacarose e injeções ICV do agonista deltorfina aumenta a ingestão de sacarose (RUEGG et al., 1997).

Os receptores kappa opioides são encontrados no caudado putâmen, complexo amigdalóide, núcleo accumbens, hipotálamo, tálamo, neurohipófise, eminência média e núcleo do trato solitário (NTS) (GOZZANI, 1994; McDONALD & LAMBERT, 2005; BODNAR, 2011). Estudos do laboratório de neurociências (ICS-UFBA) mostram que injeções ICV do antagonista Nor-Binaltorfinina (NOR-BNI) promove efeito antinatriorexigênico em ratos depletados de sódio, em outro estudo, o efeito antidipsogênico da IL-1 β dos parece depender dos recetores kappa opioides central (NASCIMENTO et al., 2012; LUZ et al., 2009).

Contudo, a participação dos receptores opioides no controle central homeostasia hidrossalina ainda são pouco esclarecedores, especialmente envolvendo os receptores kappa, assim sendo, discutimos neste estudo a participação destes receptores, localizados na amígdala

basolateral, no controle deste comportamento. Devido tratar-se de uma área límbica, e que possuiu uma grande quantidade de conexões sensorias, principalmente gustatórias, nos levou a estudar o envolvimento dos receptores opioides presentes na BLA no impacto aversivo ou hedônico causado na percepção dos sabores.

3. OBJETIVOS

Geral: Estudar a papel dos receptores kappa opioide na amigdala basolateral no apetite por sódio e na palatabilidade dos sabores.

Específico 1: Avaliar o bloqueio dos receptores kappa opioide na amigdala basolateral sobre a ingestão de água e apetite por sal em animais depletados de sódio;

Específico 2: Avaliar o envolvimento dos receptores kappa opioide na amigdala basolateral sobre a alteração da palatabilidade no teste de reatividade ao sabor.

4. MATÉRIAS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados neste estudo, ratos machos Wistar , com peso entre 250 a 270 gramas, provenientes do Biotério Setorial do Laboratório de Neurociências, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia. Os animais foram mantidos em sala com temperatura de 22 ± 2 °C e luz controlada com período de claro/escuro de 12 horas (luz das 07h às 19h) com ração (Nuvital Nutrientes Ltda., Curitiba, Brasil), água filtrada *ad libitum*. O número de animais utilizados nos experimentos foi previamente calculado e os protocolos experimentais estão de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/ICS-UFBA) (Nº DO PROTOCOLO- 2012/024).

4.2 CIRURGIAS

Para realização da cirurgia estereotáxica e na cirurgia para canulação intraoral os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal (i.p.), com cetamina - xilazina (80-7mg/kg). Quando anestesiados, os animais foram tricotomizados e colocados no aparelho estereotáxico para implante bilateralmente de cânula guia na BLA. Para canulação da BLA utilizou-se cânula de 14 mm, seguindo as coordenadas estereotáxicas: anteroposterior – 2,2 mm posterior ao bregma, lateral 5,5 mm e vertical -7,6 mm a partir da calota craniana. (WATSON & PAXINOS, 1998).

Na realização da cirurgia de canulação intraoral, após os animais serem anestesiados, foram tricotomizados na região cervical, para a colocação da canula (polietileno de 100 µm) intraoral, onde foi inserida na linha dorsal da coluna cervical, passando pelo tecido subcutâneo ate atingir lateralmente a bochecha, ultrapassando a musculatura, sendo posicionada anterior aos dentes molares para ser fixada dentro da cavidade oral com cianocrilato (Treebond).

As cânulas utilizadas na cirurgia central foram confeccionadas com agulhas hipodérmicas de aço inoxidável, com diâmetro de 0,7 mm, fixadas no crânio com acrílico dentário auto-polimerizante. Após este procedimento, a cânula foi ocluída com mandril removível confeccionado com fio de aço inoxidável, a fim de prevenir a obstrução da mesma. As cânulas intraorais foram confeccionadas com 10 cm polietileno de 100 µm, sendo obstruído, na sua extremidade que ficou exteriorizada, por uma cânula de aço inoxidável. Ao final de ambas

as cirurgias os animais receberam doses profiláticas de pentabiótico veterinário Fort-Dogde (Benzilpenicilina benzatina; Benzilpenicilina procaína; Benzilpenicilina potássica; Diidroestreptomicina base; Estreptomicina base), na dose de 0,2 ml/Kg, e anti-inflamatório e analgésico flunixinina meglumina e na dose de 0,1 ml/100g, ambos por via intramuscular (i.m.). Ao acordarem da cirurgia, os animais foram alojados em caixas plásticas individuais, onde foram manipulados diariamente durante o período de recuperação cirúrgica, em uma simulação das condições experimentais aos quais serão submetidos, a fim de reduzir o estresse. As caixas, os mandris, os bebedouros de água filtrada foram trocados diariamente. No terceiro dia após as cirurgias foram realizadas as sessões experimentais.

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

No experimento de animais depletados de sódio foram divididos em dois grupos: grupo controle – os animais receberam microinjeções de salina (0,9%) na BLA e grupo teste – os animais receberam microinjeções na BLA de nor-BNI no volume 0,2µl nas doses de 0,5, 1 e 4 nmol. Os animais do teste de reatividade ao sabor foram divididos em 4 grupos: grupo 1- animais normonatremicos com injeção oral de solução salina 1,5%, grupo 2- animais depletados de sódio com injeção oral de solução salina 1,5%, grupo 3- animais normonatremicos com injeção oral de solução de sacarina a 1% e grupo 4- animais normonatremicos com injeção oral de solução de sulfato de quinino a 0,0097%.

4.4 DROGAS E MICROINJEÇÕES

Foram utilizadas as seguintes drogas: antagonista dos receptores kappa opioide nor-binaltorfimina (nor-BNI) a 0,5, 1, e 4 nmol/0,2µl, agonista dos receptores kappa opioide ICI 199, 441 4 nmol/0,2 µl, furosemida (Lasix), na dose de 20mg/rato e solução fisiológica isotônica (NaCl 0,9%) como veículo. As microinjeções centrais foram efetuadas através de uma seringa de 10 µl (Hamilton, Co. Inc. Whittier, C.A.) conectada a uma agulha odontológica nº 30G com 15mm na BLA, através de um tubo de polietileno (PE10). O volume total injetado foi de 0,2 µl durante aproximadamente sessenta segundos.

4.5 HISTOLOGIA

Após as sessões experimentais os animais foram anestesiados e submetidos a eutanásia por perfusão transcardíaca com solução salina 0,9% seguida por formol 10%, após o procedimento, os cérebros foram removidos e mergulhados em solução salina 0,9% e refrigerados, 24 horas depois, transferidos para solução de formol glicosado a 30%, onde ficaram estocados e refrigerados por 48 horas. Após este período os cérebros foram cortados por técnica de congelamento no criostato, organizados em lâminas com gel e então conduzidos para secagem na estufa. Após secagem, as lâminas foram coradas com cresil violeta para verificação do posicionamento das cânulas. Apenas os dados referentes aos ratos cuja cânula estava na BLA foram utilizados.

4.6 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

4.6.1 DEPLEÇÃO DE SÓDIO

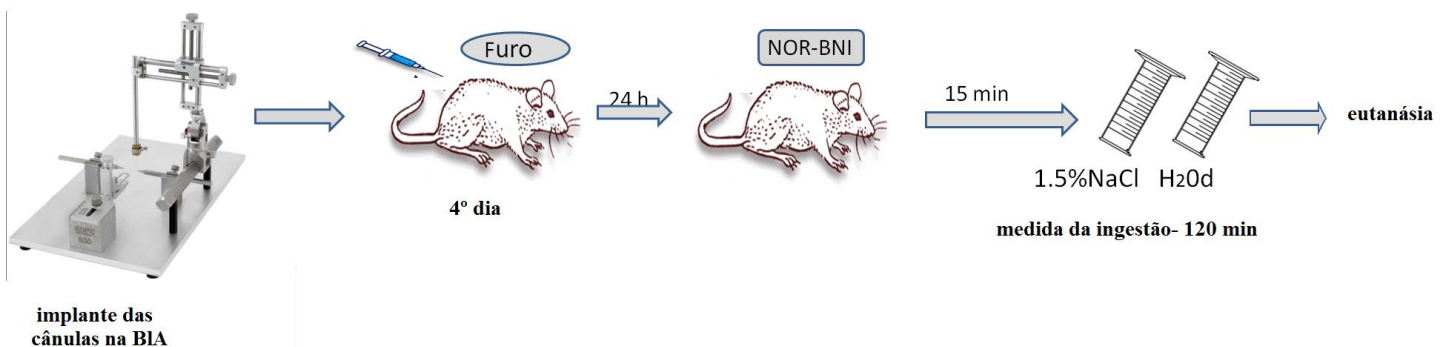
Quatro dias após a cirurgia os animais foram submetidos à depleção de sódio, para isto, receberam injeção subcutânea (s.c) de furosemida (20 mg/Kg) ou salina 0,9 % (grupo normonatremico). A diurese foi monitorada por observação e as caixas trocadas constantemente. Ao final da diurese promovida pela furosemida, os animais foram transferidos para uma caixa com maravalha e mantidos com alimento hipossódico (0,001% Na⁺ e 0,33%K⁺) e água destilada por 24 horas. No dia seguinte foi realizada a sessão experimental, onde os animais receberam microinjeções de nor-BNI na BLA no volume 0,2µl nas concentrações de 0,5, 1 e 4 nmol e salina isotônica estéril (0,9%) para os grupos controles depletados e normonatremicos. Após 15 minutos da injeção os bebedouros graduados com água destilada e com solução salina hipertônica (1,5%) foram oferecidos aos animais. O monitoramento da ingestão de água destilada e de solução salina teve início 5 minutos após a oferta dos bebedouros e continuou por duas horas, até o final das sessões experimentais. O monitoramento da ingestão de água destilada e salina hipertônica ocorreu nos tempos determinados no protocolo experimental. Todos os experimentos foram realizados entre 7h e 11h e os animais não tiveram acesso a ração durante este período. Após a realização destas sessões experimentais, foram realizados testes para comprovar a viabilidade da droga e a especificidade dos resultados obtidos

4.6.2 TESTE DA REATIVIDADE AO SABOR

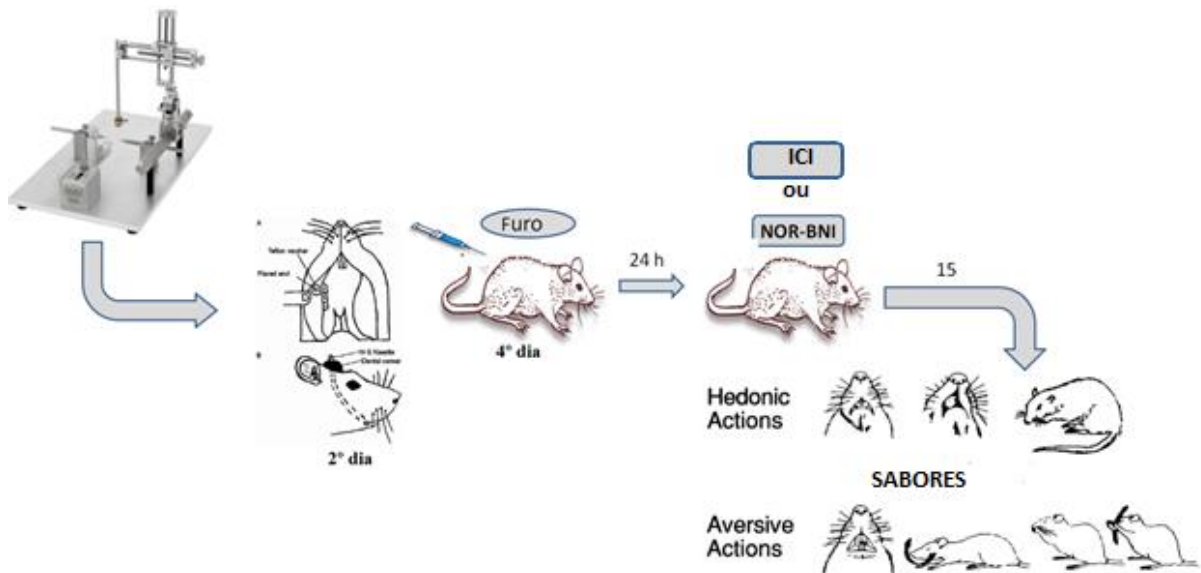
No dia 0, os animais foram submetidos a cirurgia esterotáxica. Dia 1 os animais foram submetidos a cirurgia de colocação da cânula intraoral. Nos dias 2, 3 e 4 os animais foram submetidos ao treinamento para habituação ao protocolo experimental, os animais foram colocados em vasilhame cilíndrico de vidro durante 5 min, posteriormente, sendo injetado na cavidade oral pela cânula oral 1ml/min de água destilada. Ao quinto dia os animais foram submetidos aos teste experimentais, sendo os animais controle submetidos a microinjeções, bilateralmente na BLA, de salina a 0,9%. Os animais testes dos grupos 1 e 4 receberam microinjeções de 0,2 µl do ICI de 4nmol bilateralmente na BLA e os animais do grupo 2 e 3 receberam microinjeções de 0,2 µl nor-BNI de 4 nmol bilateralmente na BLA. Após 30 min da microinjeção os animais são colocados em um vasilhame cilíndrico de vidro, onde o animal recebeu 1ml/min intraoral de salina a 1,5% no grupo 1 e 2, solução de sacarina a 0,1% no grupo 3 e solução de sulfato de quinino a 0,0097% o grupo 4, o experimento foi gravado para posterior análises das reações comportamentais.

4.7 DESENHO EXPERIMENTAL

Protocolo Experimental 01 – Efeito de microinjeções de NOR-BNI (0,5, 1,0 e 4,0 nmol/rato) na BLA sobre a ingestão de solução salina hipertônica (1,5%) e de água destilada em ratos depletados de sódio.



Protocolo Experimental 02 – Efeito de microinjeções de NOR-BNI (4nmol/rato) na BLA sobre a palatabilidade a hipertônica (1,5%) em ratos depletados, sacarina (0,1%) e quinino (0,0097% M) sem serem depletados - TESTE DE REATIVIDADE AO SABOR.



4.8 ANÁLISE DOS VÍDEOS

A análise dos vídeos foi baseada em Grill e Norgren (1978), sobre as reações comportamentais que são classificadas em hedônicas, aversivas e neutras. Os comportamentos hedônicos são: movimentos de boca que mimetizam a ingestão, protrusões de língua laterais e mediais mimetizando o lamber os lábios e lamber as patas anteriores. Os comportamentos aversivos são: bocejo- onde a uma abertura exagerada da boca, esfregar o queixo com as patas ou esfregar o queixo na parede ou no assoalho do vasilhame para retirada da substância, agitação dos membros anteriores mimetizando uma criança batendo os braços dentro d'água, agitação de cabeça- movimentos rápidos laterais de cabeça. O comportamento neutro se apresenta como gotejamento passivo da substância com o animal calmo.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de todos os dados obtidos foi realizada através do programa Graph Pad versão 6.0. Na análise do apetite por sódio e ingestão de água utilizou-se ANOVA *two way*, seguida do pós-teste de Student-Newman-Keuls. Para analisar o efeito de microinjeções de nor – BNI e ICI na BLA sobre a reação aos estímulos de diferentes sabores, utilizou-se ANOVA *two way*, seguida do pós-teste de Bonferroni. As diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$; os dados foram apresentados como média e erro-padrão (média \pm SEM).

5. RESULTADOS

5.1 EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES KAPPA-OPIOIDE SOBRE O APETITE POR SÓDIO EM RATOS DEPLETADOS DESTE ÍON

A administração de nor-BNI em diferentes doses reduziu de forma dose dependente a ingestão de salina hipertônica e este efeito antinatriorexigênico perdurou até o final do experimento.

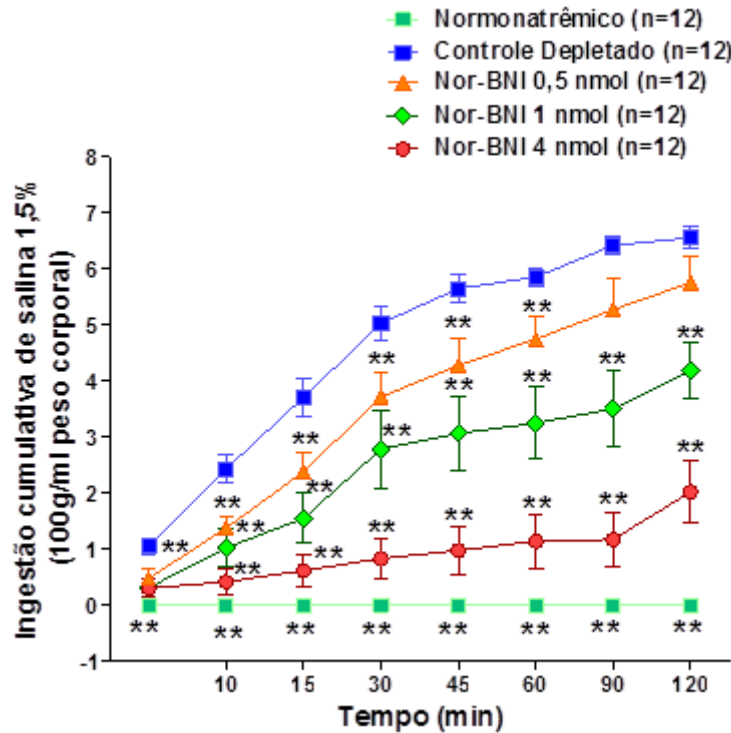


FIGURA 1. Efeito de microinjeções de NOR-BNI na BLA sobre a ingestão de salina 1,5% de ratos depletados de sódio. (**) indica diferença em relação ao grupo controle depletado sódio. Os dados foram tratados com ANOVA *one way* seguida do pós-teste de Student- Newman-Keuls; $p < 0,05$.

5.2 EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES KAPPA-OPIOIDE SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA EM RATOS DEPLETADOS DE SÓDIO

Não houve resposta significativa na ingestão de água entre os grupos.

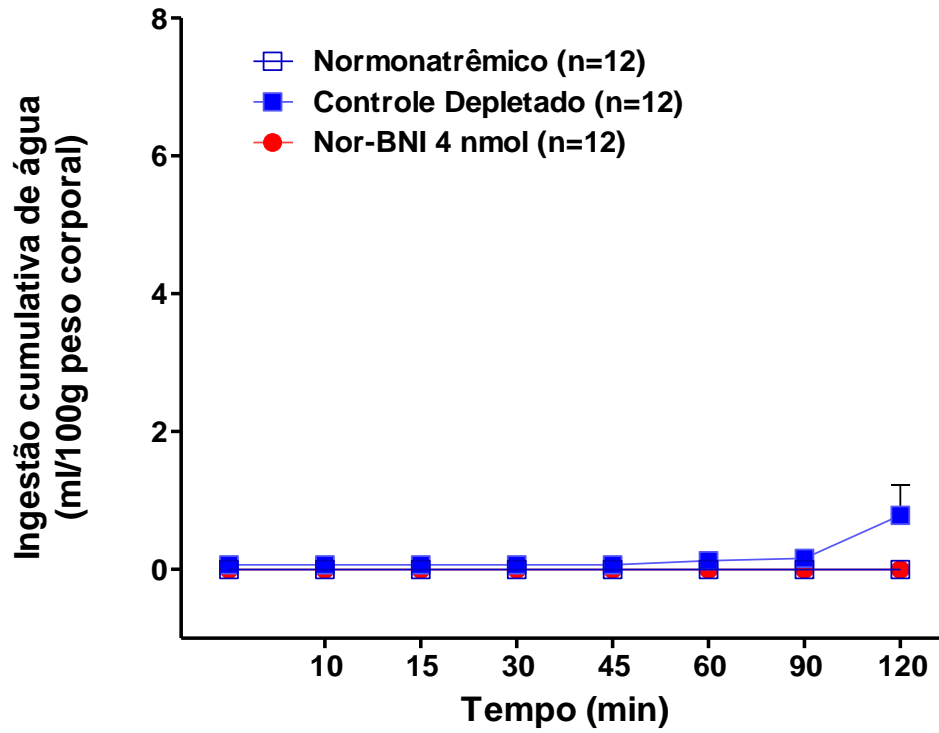


FIGURA 2: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com NOR-BNI.

5.3 EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES KAPPA-OPIOIDE SOBRE A PALATABILIDADE A SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA.

Os resultados mostram que em animais depletados de sódio o bloqueio dos receptores Kappa opioides na BLA diminuiu as respostas hedônicas à salina hipertônica quando comparado ao grupo depletado de sódio que recebeu microinjeções de salina 0,9%. Não houve diferença entre o grupo de animais tratados com Nor-BNI e o grupo normonatremico.

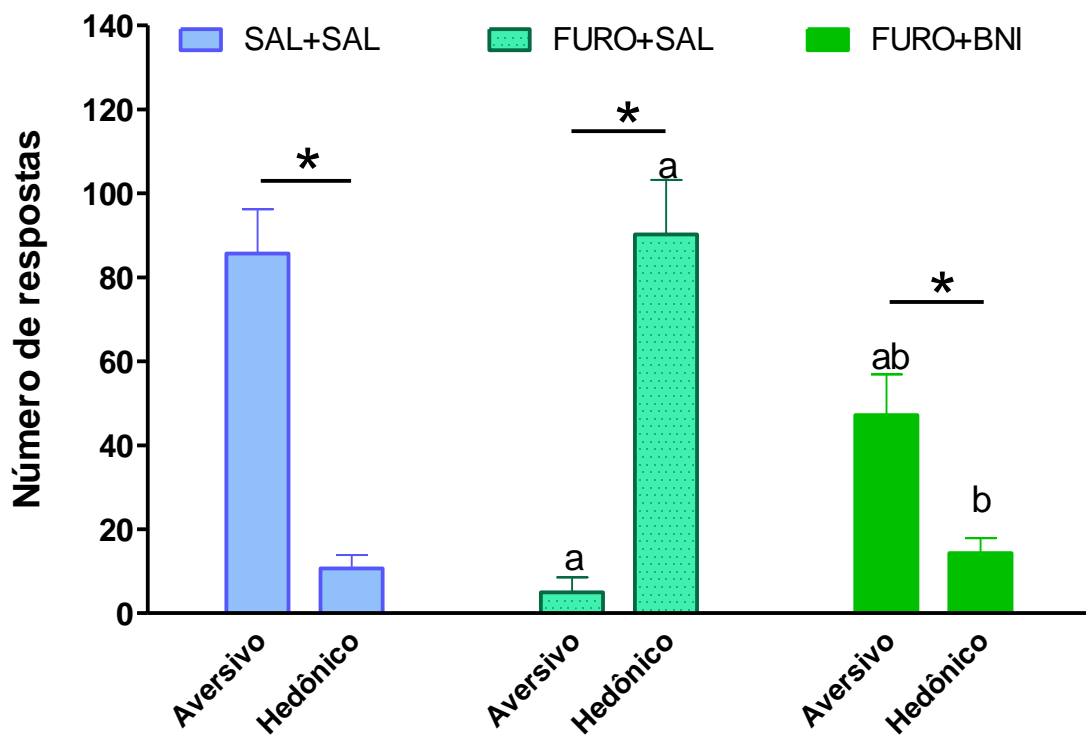


FIGURA 3: a indica diferença entre animais SAL+SAL e b indica diferença de FURO+ SAL. Os dados foram tratados com ANOVA *two way* seguida do pós-teste de Bonferroni; $p < 0,05$.

5.4 EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES KAPPA-OPIOIDE SOBRE A PALATABILIDADE A SOLUÇÃO SACARINA.

Os resultados mostram que o bloqueio dos receptores kappa opioides na BLA diminuiu o hedonismo à sacarina 0,1% quando comparados aos animais que receberam microinjeções de salina 0,9%.

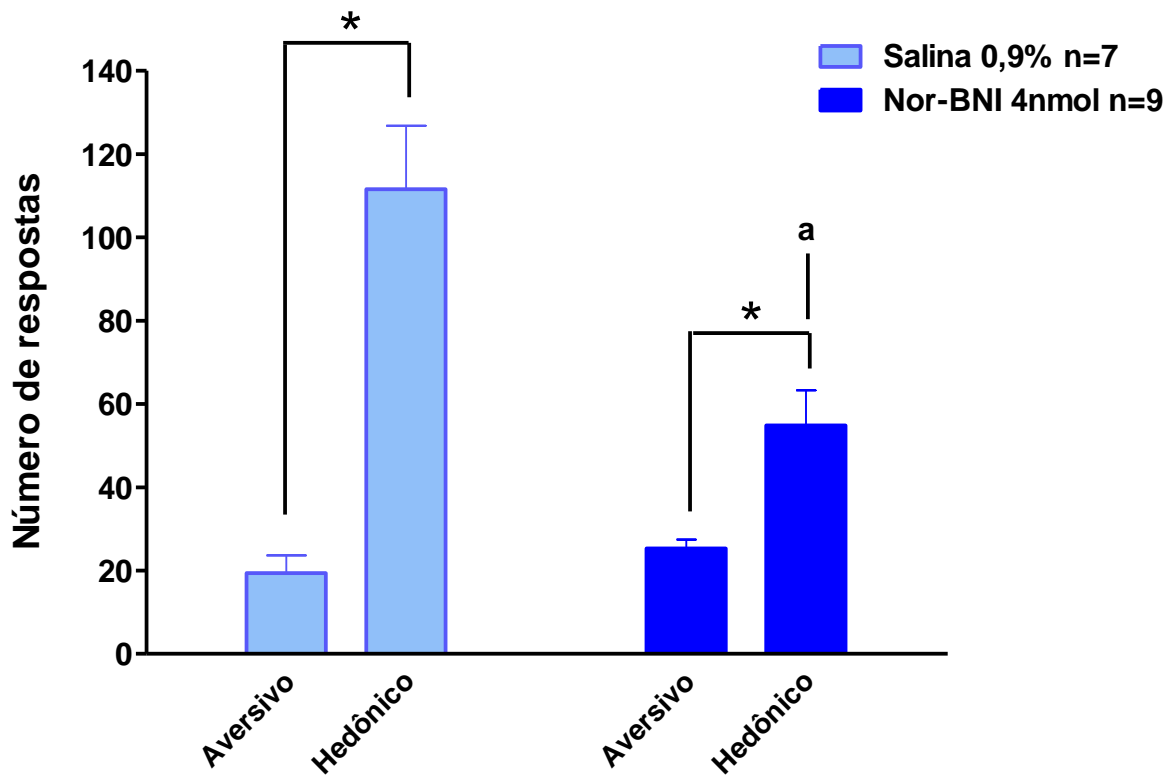


FIGURA 4: * indica diferença entre os comportamentos no mesmo grupo e a indica diferença entre os grupos. Os dados foram tratados com ANOVA *two way* seguida do pós-teste de Bonferroni; $p < 0,05$.

5.5 EFEITO DO BLOQUEIO DOS RECEPTORES KAPPA-OPIOIDE SOBRE A PALATABILIDADE A SOLUÇÃO QUININO

O resultado mostra que a microinjeção do agonista ICI reduziu a aversividade ao sulfato de quinino em relação grupo que recebeu microinjeções de slina 0,9%.

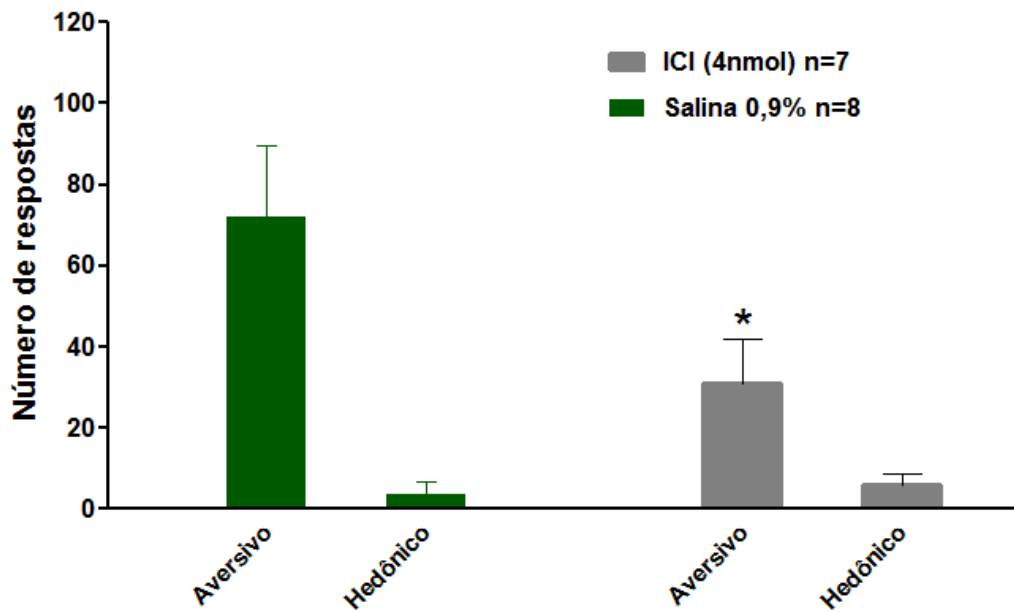


FIGURA 5; * indica diferença entre os grupos. Os dados foram tratados com ANOVA *two way* seguida do pós-teste de Bonferroni; $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo demonstramos que a ativação dos receptores Kappa opioides presentes na BLA promove significativa inibição do apetite por sódio em ratos depletados deste íon, evidenciando o papel modulatório dos opioides endógenos sobre a homeostasia hidrossalina nesta área. O efeito antinatrioréxico mostrado neste estudo se deu de forma dose dependente, sendo que na maior dose de NOR-BNI o apetite por sódio foi praticamente abolido.

A sede e o apetite por sódio são regulados por mecanismos centrais excitatórios e inibitórios regulam a busca e a aquisição de água e sódio quando há a necessidade de reestabelecer as variáveis hidroeletrólíticas. Os mecanismos excitatórios para ingestão de sódio são ativados principalmente pela AII e mineralocorticóides e para a ingestão de água pela AII e hiperosmolaridade (DANIELS & FLUHARTY, 2004). Diversos protocolos experimentais são utilizados para induzir o apetite por sódio, tais protocolos estão embasados no balanço de água e sódio entre os compartimentos intra e extracelular. Estes protocolos resultam em alterações na tonicidade (hiponatremia/hipernatremia) e volume (hipovolêmica/hipervolemia) dos líquidos. Os estudos para induzir o apetite por sódio utilizam salina hipertônica que em condições normais é aversiva, além disso, utilizam a deficiência orgânica de sódio ou uma ou mais condições hormonais associadas à deficiência de sódio, como elevadas concentrações de Angiotensina II (ROWLAND, 2007). O uso de diuréticos é corriqueiramente utilizado para induzir experimentalmente o apetite por sódio, uma vez que promove a depleção deste íon. Associado a utilização de diuréticos tem-se a dieta hipossódica, assim sendo, a diurese expressiva e a hiponatremia promove depleção de água e sódio dos compartimentos intra e extracelular, estimulando o apetite por sódio (ROWLAND, 2007). No presente estudo, o apetite por sódio foi induzido pela depleção com furosemida, um diurético de alça que atua sobre o co-transportador de $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ localizados na membrana luminal das células epiteliais, do ramo ascendente espesso da alça de Henle. O bloqueio deste co-transporte produz excreção pela urina de água, Na^+ , Cl^- , K^+ , em mais de vinte vezes acima do normal. O tratamento com injeções subcutâneas de furosemida promove aumento na expressão de c-Fos em várias áreas centrais envolvidas na regulação do apetite por sódio (ROWLAND et al., 1996).

Várias áreas cerebrais e neurotransmissores estão envolvidos nos mecanismos de controle do apetite por sódio, dentre elas a amígdala. Estudos do laboratório de Neurociências

(ICS-UFBA) mostram a participação dos receptores serotoninérgicos nos núcleos central e medial da amígdala (CeA e MeA, respectivamente). Animais hiponatrêmicos que receberam microinjeções na CeA de m-CPBG, agonista dos receptores serotoninérgicos do tipo 3, (5-HT₃), apresentam forte inibição da ingestão de salina hipertônica, enquanto o pré-tratamento com ondasetrona, antagonista do receptor 5-HT₃, reverte o efeito antinatriorexigênico do m-CPG. Em outro estudo, a ativação por, m-CPBG, dos receptores 5-HT₃ presentes na MeA promove significativa ingestão de sal e o pré-tratamento com ondasetrona reverte a inibição (LUZ et al., 2006, 2007). No presente estudo, o bloqueio dos receptores opioides do tipo kappa na BLA promoveu potente efeito antidipsogênico, assim sendo, este conjunto de resultados do nosso laboratório evidencia a participação de todo o complexo amigdalóide no controle deste comportamento.

Poucos estudos mostram a participação dos opioides na regulação central da homeostasia hidrossalina e os que mostram, os resultados são pouco elucidativos. A maioria dos estudos envolvendo a participação dos opioides sobre a homeostasia hidrossalina estão relacionados a ativação dos receptores opioides do tipo μ . Diante da escassez de estudos envolvendo os receptores κ , surgiu proposta deste estudo. Os receptores opioides apresentam ampla distribuição no SNC, incluindo áreas que compõe a rede de controle da homeostasia hidrossalina como como o hipotálamo, a lâmina terminal, o núcleo accumbens, o complexo amigdalóide e o trato solitário (KITCHEN et al., 1997). Dados da literatura mostram que agonistas exógenos e antagonistas dos receptores opioides parecem modular o a sede e o apetite por sódio em resposta a ANGIO. (FITZSIMONS, 1998). Dados do laboratório do nosso laboratório mostram efeito antidipsogênico após injeções de cloreto de cádmio e acetato de chumbo em animais desidratados e pré-tratados com naloxona (DE CASTRO e SILVA et al., 1998; FREGONEZE et al., 1999). Outros estudos do laboratório é evidenciado que a comunicação entre os sistemas nervoso e imune é possivelmente modulado por opioides endógenos, o primeiro deles mostra que injeções ICV de naloxona inibe o efeito antidipsogênico e antinatriorexigênico da interleucina 1- β (IL-1 β), em diversos protocolos experimentais para indução da sede; o segundo, mostra a inibição do efeito antinatriorexigênico da IL-1 β , por injeções ICV de NOR-BNI (DE CASTRO e SILVA et al., 2006; LUZ et al., 2009). Mais recentemente, a ativação dos receptores delta opioides, com injeções ICV de naltrindole, promoveu potente bloqueio do apetite por sódio em animais depletados deste íon, no mesmo estudo, o pré-tratamento com o agonista deltorfina, reverte o efeito antinatriorexigênico (NASCIMENTO et al., 2014). Contudo, estes trabalhos não elucidam em

quais áreas há ativação dos receptores opioides, pois as injeções ocorreram no ventrículo cerebral e várias áreas circunventriculares são ativadas. Assim sendo, o presente estudo contribui para o entendimento da modulação opioide em área específica.

No presente estudo observamos que a palatabilidade à salina hipertônica em animais depletados de sódio foi prazerosa aos animais. A salina hipertônica é naturalmente aversiva em condições fisiológicas normais, assim, nossos resultados mostram que o NOR-BNI alterou a palatabilidade a salina em animais com déficit de sódio. Diversas estruturas límbicas participam do controle da homeostasia hidrossalina, dentre elas o leito da estria terminal (BST) e NAc. Dados da literatura mostram elevada expressão de c-Fos no BST, em resposta a administração periférica de ANGII, após ingestão de salina hipertônica no NAc.(FITZSIMONS, 1998; GEERLING & LOEWY, 2008). Em outro estudo, tem-se aumento da expressão de c-Fos no NAc após repetidas depleções de sódio (NA et al., 2007).

Os circuitos neurais que detectam desvios nos níveis de sódio e dirige a busca e a aquisição apetite por este íon apresentam componentes comuns com circuitos associados com a recompensa e motivação (JONHSON & GROSS, 1993; DANIELS & FLUHARTY, 2004). Estudos mostram que a hiponatremia crônica pode induzir comportamentos associados a depressão e induzir a plasticidade neuronal em áreas cerebrais envolvidas com a motivação, recompensa e sensibilização às drogas como o Nacc (GEERLING & LOEWY, 2008). A avidez por sódio é um comportamento inato, altamente preservado entre os animais. Dados da literatura mostram que animais com déficit deste íon desenvolvem apeite por sódio (FITZSIMONS, 1998; NA et a.l, 2007).

No presente estudo mostramos que o NOR-BNI diminui a resposta hedônica à sacarina 0,1%, solução notoriamente palatável. Estudos mostram que peptídeos opioides endógenos presentes no NAcc participam do mecanismo de recompensa sobre o comportamento ingestivo, modulando o impacto hedônico (PECIÑA & BERRIDGE, 2000; KELLEY et al., 2003). Microinjeções de morfina no NaC aumenta as expressões orofaciais relacionadas com o “querer” pela sacarose (PECIÑA & BERRIDGE, 2000), alterando a ingestão de alimentos palatáveis (ZHANG & KELLEY, 2000), estes resultados mostram a participação das vias dopaminérgicas sobre mecanismo da recompensa. Substratos neurais responsáveis pelos componentes da recompensa se distribuem da seguinte forma: o “gostar” parece estar relacionado ao sistema aos opioides endógenos e GABA, enquanto o “querer” está associado com o sistema dopaminérgico. Esses componentes da recompensa podem estar dissociados, como observado em ratos depletados de dopamina que desenvolveram afagia sem afetar a

reação ao sabor (BERRIDGE & ROBINSON, 1998). Microinjeções do agonista exógeno ICI na BLA diminuiu o impacto do sabor amargo do quinino, substância altamente aversiva, mas não modificou a sensibilidade ao impacto hedônico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Contudo, os dados obtidos com este estudo sugerem que opioides endógenos estimulam o apetite por sódio, uma vez que o bloqueio dos receptores kappa presentes na BLA inibe o apetite por sódio em animais depletados deste íon. Além disso as reações hedônicas e aversivas aos sabores salgado, doce e amargo sugerem que os receptores kappa-opioides na BLA estão envolvidos no mecanismo de recompensa aumentando aspectos hedônicos de substâncias prazerosas ou que o indivíduo necessite e diminuindo aspectos aversivos de outras substâncias como o quinino. Assim, nossos dados sugerem que a ativação dos receptores kappa presentes na amígdala basolateral podem modular a palatabilidade à solução salina hipertônica modificando o apetite por sódio.

8. REFERÊNCIAS

- 1- ANTUNES-RODRIGUES, J.; DE CASTRO, M.; ELIAS, L. L.; VALENÇA, M. M.; MCCANN, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev.** v. 84, n. 1, p. 169-208, 2004.
- 2- BERRIDGE, K. C.; ROBINSON, T. E.; ALDRIDGE, J. W. Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. **Curr Opin Pharmacol**, v. 9, p. 65–73, 2009.
- 3- BERRIDGE, K.C. and ROBINSON, T.E. . What is the role of dopamine in reward: Hedonic impact, reward learning, or incentive salience? **Brain Research Reviews.** v. 28, p. 309-369, 1998.
- 4- BERMÚDEZ-RATTONI, F. Molecular mechanisms of taste-recognition memory, **Nature**, V.5, p. 209-217, 2004.
- 5- BODNAR, R.J. Endogenous opiates and behavior: 2011. **Peptides.** v. 38 n. 2 p. 463-522, 2012
- 6- BOURQUE, C. W. Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. **Nature reviews**, v. 19, p. 519-530, 2008.
- 7- CARDINAL, R. N. et al. Emotion & motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, & prefrontal cortex. **Neuroscience & biobehavioral reviews**, v. 26, n. 3, p. 321–352, 2002.
- 8- DANIELS, D. and FLUHARTY, S.J. Salt appetite: a neurohormonal viewpoint. **Physiology & Behavior.** v. 81. p. 319-337. 2004.
- 9- DE CASTRO E SILVA, E.; LUZ, C. P.; SARMENTO, C.; NASCIMENTO, T.; GONZALEZ, V.; MARINHO, C. A.; OLIVEIRA, P.; SANTANA JUNIOR, P.; DE OLIVEIRA, I. R.; DE PAULA, S.; LIMA, A. K.; FREGONEZE, J. B. Opiatergic participation in the thirst-inhibition effect of acute third ventricle injections of cadmium (Cd²⁺) and lead (Pb²⁺). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, n. 6, p. 805-810, 1998
- 10- DE CASTRO E SILVA, E.; LUZ, P. A.; MAGRANI, J.; ANDRADE, L.; MIRANDA, N.; PEREIRA, V.; FREGONEZE, J. B. Role of the central opioid system in the inhibition of water and salt intake induced by central administration of IL-1 β in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 83, p. 285–295, 2006.
- 11- DOYLE, T. G.; BERRIDGE, K. C.; GOSNELL, B. A. Morphine enhances hedonic taste palatability in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 46, p. 745- 749, 1993.
- 12- DUARTE, D. F. Uma Breve História do Ópio e dos Opióides. **Rev Bras Anestesiol.** v. 55, n. 1, p. 135–146, 2005.

- 13- ENGELHARDT, B. Development of the blood-brain barrier. **Cell Tissue Res.** v. 314, p. 119–129, 2003.
- 14- EVERITT, B. J. and ROBBINS, T. W. Neurobehavioural mechanisms of reward & motivation.. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 6, p. 228–236, 1996.
- 15- FIELDS, H. State-dependent opioid control of pain. **Nature reviews – Neuroscience.** v. 5, 2004
- 16- FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, Thirst, and sodium Appetite. **Physiological Reviews.** v.78, n.3, p. 583-686, 1998.
- 17- FONTANINI, A.; GROSSMAN, S. E.; FIGUEROA, J. A.; KATZ, D. B. Distinct Subtypes of Basolateral Amygdala Taste Neurons Reflect Palatability and Reward . **The Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 8, p. 2486 –2495, 2009.
- 18- FREGONEZE, J. B.; OLIVEIRA, E. F.; RIBEIRO, V. F.; FERREIRA, H. S.; DE CASTRO E SILVA, E. Multiple opioid receptors mediate the hypotensive response induced by central 5-HT₃ receptor stimulation. **Neuropeptides.** v. 45, p. 219–227, 2011.
- 19- GEERLING, J. C. and LOEWY, A. D. Central regulation of sodium appetite. **Exp Physiol.** v. 93, p. 178–209, 2008.
- 20- GILBERTSON, T. A.; DAMAK, S.; MARGOLSKEE, R. F. The molecular physiology of taste transduction. **Elsevier Science**, New York, v. 10, p. 519-527, 2000.
- 21- GOODMAN & GILMAN - **As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 11^a Ed., 2007.
- 22- GOSNELL, B. A; MAJCHRZAK, M. J. Effects of a selective Mu opioid receptor agonist and naloxone on the intake of the sodium chloride solutions. **Psychopharmacology**, v. 100, p. 66-71, 1990.
- 23- GOZZANI, J. L. Opióides e Antagonistas. **Rev Bras Anesthesiol.** v. 44, n. 1, p. 65 – 73, 1994.
- 24- GRILL, H. J. e NORGRE, R. The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. **Brain research.** n. 143, p. 263-279, 1978.
- 25- HERNESS, M. S. E GILBERTSON, T. A. Cellular mechanisms of taste transduction. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 61, p.873-900, 1999.

- 26- HENRY, M.; GROB, M.; MOUGINOT, D. Endogenous angiotensin II facilitates GABAergic neurotransmission afferent to the Na⁺-responsive neurons of the rat median preoptic nucleus. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 297, p.783–792, 2009.
- 27- JOHNSON, A.K. and GROSS, P. M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. **The FASEB Journal**, v. 7, p. 678-686, 1993.
- 28- JOHNSON, A. K. The Sensory Psychobiology of Thirst and Salt Appetite. **Med. Sci. Sports Exerc.**, V 39, N. 8, p. 1388–1400, 2007
- 29- KANDEL. **Principles of Neural Science**. Fifth Edition, 2013.
- 30- KELLEY, K.W.; BLUTHÉ, R. M.; DANTZER, R.; ZHOW, W. J.; JOHNSON, R. W. BROUSSARD, RS. Cytokine-induced sickness behavior. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 17, p.112-118, 2003.
- 31- KITCHEN, I.; SLOWE, S. J.; MATTHES, H. W.; KIEFFER, B. Quantitative autoradiographic mapping of mu-, delta- and kappa-opioid receptors in knockout mice lacking the mu-opioid receptor gene. **Brain Res.** v. 778, n. 1, p. 73-88, 1997.
- 32- KIEFFER, B. L. and EVANS, C. J. Opioid receptors: From binding sites to visible molecules in vivo. **Neuropharmacology**. v. 56, p. 205–212, 2009.
- 33- LA LUMIERE, R. T. Optogenetic dissection of amygdala functioning. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 8, 2014
- 34- LUZ, P.A.; ANDRADE, L.; MIRANDA, N.; PEREIRA, V.; FREGONEZE, J.; DE CASTRO E SILVA, E. Inhibition of water intake by the central administration of IL-1 β in rats: Role of the central opioid system. **Neuropeptides**. v. 40, p. 85-94, 2006.
- 35- LUZ, C.; SOUZA, A.; REIS, R.; FREGONEZE, J. B.; DE CASTRO E SILVA, E. Role of 5-HT₃ and 5-HT_{2c} receptors located within the medial amygdala in the central of salt intake in sodium depleted rats, **Brain Research** , v. 1099, p. 121-132, 2006.
- 36- 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-HT₃ and 5-HT_{2c} receptors, **Brain Research**, v. 1139, p. 178-194, 2007.
- 37- LUZ, P.A.; SARAIVA, R.; ALMEIDA, T.; FREGONEZE, J.B.; DE CASTRO E SILVA, E. Blockade of central kappa-opioid receptors inhibits the antidiuretic effect of interleukin-1 β . **Neuropeptides**, v. 93, p. 93-103, 2009.
- 38- MAGRANI, J.; DE CASTRO E SILVA, E.; ATHANAZIO, R.; IMPROTA. L.; FREGONEZE, J. B. Involvement of central H₁ and H₂ receptors in water intake

- induced by hyperosmolarity, hypovolemia and central cholinergic stimulation. **Physiol Behav.** v. 30, p. 241-249, 2006
- 39- MANUSCRIPT, A. Building a neuroscience of pleasure & well-being. v. 1, n. 1, p. 1–3, 2012.
- 40- MARTINS, R. T.; DE ALMEIDA, D. B.; MONTEIRO, F. M. R.; KOWACS, P. A.; RAMINA, R. Receptores opioides até o contexto atual. **Rev Dor.** v. 13, n. 1, p. 75-79, 2012.
- 41- McDONALD A.J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Prog Neurobiol.** v. 55, n. 3, p.257-332, 1998
- 42- McDONALD, J. and LAMBERT, D.G. Opioid receptors. Continuing Education in Anaesthesia. **Critical Care & Pain.** v. 5, n. 1, 2005
- 43- MCKINLEY, M.J.; ALBISTON, A. L.; ALLEN, A. M.; MATHAI, M. L.; MAY, C. N.; MCALLEN, R. M.; OLDFIELD, B. J.; MENDELSON, F. A.; CHAI, S. Y. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. **Int J Biochem Cell Biol.** v. 35, n. 6, p. 901-918, 2003.
- 44- MCKINLEY, M. J.; JOHNSON, A. K.; The physiological regulation of thirst and fluid intake. **Physiology.** v. 19, p. 1-6, 2004.
- 45- MCKINLEY, M. J.; CAIRNS, M. J.; DENTONS, D. A.; EGAN, G.; MATHAI, M. L.; USCHAKOV, A.; WADE, J. D.; OLDFIELD, B. J. Physiological and pathophysiological influences on thirst. **Physiology e Behavior,** v. 81, p. 2004.
- 46- MILLER Jr I.J. **Handbook of olfaction and gustation.** New York: Dekker. p. 521–547, 1995.
- 47- NASCIMENTO, A. I.; FERREIRA, H. S.; SARAIVA, R. M.; ALMEIDA, T. S.; FREGONEZE, J. B. Central kappa opioid receptors modulate salt appetite in rats. **Physiol Behav.** v. 106, n. 4, p. 506-514, 2012.
- 48- NASCIMENTO, A.I.R; 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.
- 49- NA, E.S; MORRIS, M.J.; JOHNSON, A. K. Opioid mechanisms that mediate the palatability of and appetite for salt in sodium replete and deficient states. **Physiology e behavior.** v 106, p 164-170, 2012

- 50- NEUGEBAUER, V. et al. The amygdala & persistent pain. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology & psychiatry**, v. 10, n. 3, p. 221–234, 2004.
- 51- PARKER, L. A.; MAIER, S.; RENNIE, M.; CREBALDER, J. Morphine and naltrexone induced modification of palatability: analysis by the taste reactivity test. **Behavior Neuroscience**, v. 106 , n. 6, p. 999-1010, 1992.
- 52- PARKER, L. A. e RENNIE, M. Naltrexone induced aversions: Assessment by place conditioning, taste reactivity, and taste avoidance paradigms. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 41, p. 559- 565, 1992.
- 53- PASTERNAK, G. W. Molecular Insights Into μ Opioid Pharmacology From the Clinic to the Bench. **Clin. J. Pain**. v. 26, n. 1, p. 3-9, 2010.
- 54- PAXINOS, G & WATSON, C. **The rat brain: in stereotaxic coordinates**. 4rd ed. California: Academic Press, 1998.
- 55- PECINA, S. and BERRIDGE, K. C. Research report Opioid site in nucleus accumbens shell mediates eating and hedonic ‘liking’ for food: map based on microinjection Fos plumes. **Brain Research**. v. 863, p. 71–86, 2000.
- 56- PECIÑA, S. Opioid reward ‘liking’ and ‘wanting’ in the nucleus accumbens. **Physiology & Behavior** v.94,p. 675–680, 2008.
- 57- PIERCE, R.C; KUMARESAN, V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v 30, p 215-238, 2006.
- 58- ROWLAND, N. E.; FREGLY, M. J.; HAN, L.; SMITH, G. Expression of Fos in rat brain in relation to sodium appetite: furosemide and cerebroventricular renin. **Brain Research**. v. 728, n. 1, p. 90-96, 1996.
- 59- ROWLAND, N. E. Matching salt intake to physiological need in rats using foraging protocols. **Braz J Med Biol Res**. v. 40, n. 5, p. 713-720, 2007.

- 60- RUEGG, H.; YU, W. Z.; BODNAR, R. J. Opioid-Receptor Subtype Agonist-Induced Enhancements of Sucrose Intake are Dependent Upon sucrose Concentration. **Physiology & Behavior**. v. 62, n. 1, p. 121-128, 1997.
- 61- SAAD, W. A.; BENGTON, R. M.; MENANI, J. V.; CAMARGO, L. A.; RENZI, A.; SILVEIRA, J. E.; Effect of cholinergic stimulation of the amygdaloid complex on water and salt intake. **Braz J Med Biol Res**. V. 27, n. 4, p. 915-20, 1994.
- 62- SAH, P.; FABER, E. S. L.; LOPEZ DE ARMENTIA, M.; POWER, J. The amygdaloid complex: anatomy & physiology. **Physiological reviews**, v. 83, n. 3, p. 803-834, 2003.
- 63- SMITH, S. K.; BERRIDGE, K. C. Opioid limbic circuit for reward: Interaction between Hedonic Hotspots of Nucleus Accumbens and Ventral Pallidum, **The journal of Neuroscience**, v. 27, n. 7, p.1594-1605, 2007.
- 64- YAN, J. B.; SUN, H. L.; WANG, Q.; SUN, B.; SONG, L.; YAN, W.; ZHAO, X. L.; ZHAO, S. R.; ZHANG, Y.; QJAO, H.; HU, B.; YAN, J. Q. Natriorexigenic effect of DAMGO is increased by blocking AT1 receptors in central nucleus of the amygdala. **Neuroscience**. v. 262, p. 9-20, 2014.
- 65- ZHANG, M. & KELLEY. Enhanced intake of high-fat food following striatal mu-opioid stimulation: microinjection mapping and *fos* expression. **Neuroscience**. v. 99, n. 2, p. 267-277, 2000.