

---

---

**Universidade Federal de São Carlos**

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

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

**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**EMILSON DONIZETE PEREIRA JUNIOR**

**EFEITO DO ESTRÓGENO NA PALATABILIDADE AO SÓDIO DE  
RATAS COM APETITE AO SÓDIO**

**ARARAQUARA**

**2018**

---

---

---

---

**Universidade Federal de São Carlos**

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

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

**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**EMILSON DONIZETE PEREIRA JUNIOR**

**EFEITO DO ESTRÓGENO NA PALATABILIDADE AO SÓDIO DE  
RATAS COM APETITE AO SÓDIO**

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas PIPGCF UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Carina A. Fabricio de Andrade

**ARARAQUARA**

**2018**

---

---



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

**Folha de Aprovação**

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Emilson Donizete Pereira Junior, realizada em 30/05/2018:

Prof. Dra. Carina Aparecida Fabrício de Andrade  
UNESP

Prof. Dr. João Carlos Callera  
UNESP

Prof. Dr. Laurival Antonio de Luza Junior  
UNESP

---

---

***DEDICATÓRIA***

*À Deus, aos meus pais, Emilson e Alessandra e irmã  
Mirele, à todos meus familiares e amigos por todo apoio e  
incentivo em todos os momentos.*

---

---

---

---

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, primeiramente pelo dom da vida o qual permite nossa existência, nossa consciência, a todo tempo dando forças, proteção, saúde e razão para o existir, sem Ele, nada sou.*

*Aos meus pais Emilson e Alessandra que sempre apoiaram incondicionalmente minhas escolhas, dando suporte à minha procura pela felicidade, além de toda base e educação familiar.*

*A minha irmã Mirele e demais familiares que sempre me apoiaram nessa caminhada, pelas orações, conselhos e amizade.*

*A professora Dra. Carina A. Fabricio de Andrade, pessoa incrível, por toda orientação, confiança, paciência, acolhimento, dedicação e incansável disposição em transmitir seu conhecimento.*

*Aos professores do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara e do programa interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas pelos ensinamentos.*

*Camilla, Karine e Gabriel por estarem sempre juntos nessa caminhada, toda amizade, parceria, apoio e companheirismo, desde o começo.*

*Glaucia, Rayssa e Diulie pelo apoio direto em todo esse trabalho, pelos longos experimentos e análises, conselhos, amizade, dedicação e companheirismo.*

*À Silas Pereira Barbosa pela paciência, dedicação e todo suporte em todos os momentos.*

*Aos funcionários do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara Silvana A. D. Malavolta, Carla Molina, Mikail D. dos Santos e Ana V. de Oliveira por todo o suporte.*

*Aos colegas e amigos do laboratório e do Programa de Pós-graduação em especial Mariana Lauar, Jéssica, Aline, Celina, Lucas, Marlusa, Marcos, Rafaela, pelas boas conversas, conselhos, auxílios e por tornarem estes anos de muito trabalho mais fáceis.*

*À todos aqueles que cruzaram meu caminho e atuaram direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho.*

*Aos sujeitos utilizados nesta pesquisa, sem os quais não seria possível sua realização, meu profundo respeito, agradecimento.*

---

---

---

---

*À agência de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro e suporte na realização deste trabalho.*

---

---

---

---

*Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.*

*Isaiás 41:10*

---

---

## RESUMO

O consumo excessivo de sal tem relação com doenças crônicas, incluindo hipertensão. Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) apresentam preferência exagerada ao sódio, mas o conhecimento do papel do estrógeno nesta preferência é ainda incipiente. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi estudar a importância do estrógeno na modulação do apetite e palatabilidade ao NaCl em fêmeas SHR. A ovariectomia bilateral (OVX) aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por privação hídrica com reidratação parcial (PH-RP) no teste do apetite ao sódio em ratas normotensas (Holtzman – HTZ) e SHR adultas, em comparação aos respectivos controles (cirurgia fictícia). No teste de reatividade ao sabor, houve também aumento da frequência de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M (IO-NaCl) tanto em normotensas castradas como hipertensas castradas. A frequência de respostas aversivas não foi alterada pela ovariectomia. A suplementação com alta dose de estrógeno ( $\approx 50 \mu\text{g/rata}$ ) em SHR intactas (8-9 meses) diminuiu a frequência de respostas hedônicas à IO-NaCl e aumentou frequência de respostas aversivas, após a reidratação parcial antes do acesso ao sódio. A suplementação de estrógeno também diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M sem alteração na frequência de respostas hedônicas ou aversivas à IO-NaCl após a ingestão de sódio. A reposição diária de estrógeno ( $10 \mu\text{g/rata}$ ) em SHR OVX diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP, sem alterações dos parâmetros cardiovasculares basais. Esse tratamento com estrógeno reduziu a resposta pressora a ANG II quando comparado com o mesmo estímulo em ratas ovariectomizadas tratadas com veículo. Essa reposição diária ( $10 \mu\text{g/dia}$ ) de estrógeno também diminuiu o número de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M, em ratas hipertensas com apetite ao sódio (induzidas por PH-RP), sem alterações do número de respostas aversivas. O bloqueio de receptores AT1 presencéfálicos levou a uma diminuição na ingestão e palatabilidade ao NaCl 0,3 M induzidas por PH-RP em ratas SHR. Em suma, a ausência dos hormônios ovarianos aumentou as propriedades hedônicas do sabor produzido pela infusão intra-oral de NaCl 0,3 M em ratas, hipertensas e normotensas, enquanto que a reposição e suplementação de estrógeno teve efeito inibitório sobre o apetite e a palatabilidade ao sódio, respectivamente em fêmeas SHR. Os resultados sugerem que o estrógeno tem um efeito inibitório sobre a palatabilidade do sódio em ratas SHR, influenciando assim a ingestão desse íon nestes animais.

**Palavras-chave:** estrógeno, sódio, palatabilidade, hipertensão, desidratação.

---

---

## ABSTRACT

Excessive salt intake has been associated with the development or worsening of chronic diseases such as hypertension. Spontaneously hypertensive rats (SHR) have a typical increased sodium preference. Estrogen influences arterial pressure and sodium appetite, but we do not know how much ovarian hormones influence sodium palatability, particularly in SHR. Here we evaluated the influence of ovarian hormones on sodium palatability of female SHR. Bilateral ovariectomy (OVX) increased 0.3 M NaCl intake induced by water deprivation - partial dehydration (WD-PR) in the sodium appetite test in normotensive (Holtzman-HTZ) and adult SHR rats, compared to the respective controls (sham surgery). In the taste reactivity test, there was also an increase in the frequency of hedonic responses to intra-oral infusion of 0.3 M NaCl (IO-NaCl) in both ovariectomized normotensive and hypertensive rats. The frequency of aversive responses was not altered by ovariectomy. High-dose estrogen ( $\approx 50 \mu\text{g}$  / rat) supplementation in intact SHR (8-9 months) decreased the frequency of hedonic responses to IO-NaCl and increased frequency of aversive responses after partial rehydration before access to sodium. Estrogen supplementation also decreased 0.3 M NaCl intake without changes in frequency of hedonic or aversive responses to IO-NaCl after sodium intake. Daily replacement of estrogen ( $10 \mu\text{g}$  / rat) in SHR OVX decreased WD-PR-induced 0.3 M NaCl intake without changes in baseline cardiovascular parameters. This estrogen treatment reduced ANG II pressor response when compared to the same stimulus in ovariectomized rats treated with vehicle. Daily estrogen replacement ( $10 \mu\text{g/day}$ ) also decreased the number of hedonic responses to IO-0.3 M NaCl in hypertensive rats with WD-PR- induced sodium appetite, without changes in number of aversive responses. Blockade of ANG II AT1 receptors decreased WD-PR- induced 0.3 M NaCl intake and palatability in SHR rats. In summary, the absence of ovarian hormones increased hedonic properties of the taste produced by the IO-0.3 M NaCl in rats, hypertensive and normotensive, whereas estrogen replacement and supplementation had an inhibitory effect on appetite and palatability to sodium, respectively in females SHR. The results suggest that estrogen has an inhibitory effect on sodium palatability in SHR rats, thus influencing the ingestion of this ion in these animals.

**Key words:** estrogen, sodium, palatability, hypertension, dehydration.

---

---

---

---

**LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas (OVX) ou ovariectomia fictícia (fictícia). ..... 40

**Tabela 2.** Índice uterino, em mg/100g p. c., ratas hipertensas (SHR), com 8 e 9 meses de idade, intactas, com suplementação de estrógeno (E2) ou veículo (VEI). ..... 45

**Tabela 3.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI). ..... 50

**Tabela 4:** Índice uterino, em mg/100g p. c., ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI). ..... 56

**Tabela 5.** Níveis plasmáticos de estradiol (pg/ml) e valores de índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI). ..... 57

**Tabela 6.** Comparação do número de reações hedônicas e aversivas em resposta à infusão intra-oral de NaCl 0,3 M em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), em condições basais (normoidratadas), após período de reidratação parcial (RP), e 30 e 60 min durante a fase de apetite ao sódio. ..... 62

**Tabela 7.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), grupo saciado..... 65

**Tabela 8.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), grupo submetido à PH-RP..... 67

---

---

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotomicrografias de cortes transversais de encéfalos de animais representativos dos grupos testados mostrando o sítio de injeção no VL (indicado pela seta) em A) animais Holtzman e B) animais espontaneamente hipertensos (SHR). ..... 37
- Figura 2.** Ingestão diária de A) NaCl 0,3 M (ml/24h) e B) de água (ml/24h) em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 41
- Figura 3.** Ingestão de A) NaCl 0,3 M e B) água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 42
- Figura 4.** A) Respostas hedônicas e B) Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 43
- Figura 5.** A) Ingestão diária de NaCl 0,3 M (ml/24 h) e B) ingestão diária de água (ml/24 h) em ratas hipertensas com 12 meses de idade (SHR) submetidas à suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 46
- Figura 6.** A) Ingestão de NaCl 0,3 M e B) Ingestão de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas com 12 meses de idade (SHR), submetidas a suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 47
- Figura 7.** A) Respostas hedônicas e B) Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial ratas hipertensas com 8 e 9 meses de idade (SHR) submetidas à suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 48
- Figura 8.** Ingestão diária de A) NaCl 0,3 M (ml/24h) e B) de água (ml/24h) em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 51

- Figura 9.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 52
- Figura 10.** Ingestão diária de A) NaCl 0,3 M (ml/24 h) e B) água (ml/24 h) em ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 58
- Figura 11.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 59
- Figura 12.** Ingestão cumulativa de A) NaCl 0,3 M e B) de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 60
- Figura 13.** A) Respostas hedônicas e B) Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 61
- Figura 14.** Variação de A) PAM e B) FC em ratas saciadas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM N = número de animais por grupo. .... 64
- Figura 15.** A) PAM e B) FC em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), antes e após PH-RP. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo. .... 66

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANG I – angiotensina I;  
ANG II – angiotensina II;  
ANOVA – análise de variância;  
ANP – peptídeo natriurético atrial;  
AP – área postrema;  
AT1 – receptor de angiotensina do subtipo AT1  
AV3V – região anteroventral do terceiro ventrículo;  
BPM – batimentos por minuto  
E.C.P. – cipionato de estradiol  
E2 – estradiol  
ECA – enzima conversora de angiotensina  
EPM – erro padrão da média;  
FC – frequência cardíaca  
g – grama(s);  
h – hora(s);  
HTZ – holtzman  
i.c.v. – intracerebroventricular;  
IO – intraoral  
kg – quilograma(s);  
M – molar (número de mols/litro)  
mg – miligrama(s);  
min – minutos  
ml – mililitro(s);  
mmHg – milímetros de mercúrio  
MnPO – núcleo pré-óptico mediano;  
mOsm – miliosmol(es);  
NaCl – cloreto de sódio  
Ng – nanograma (s)  
NPBL – núcleo parabraquial lateral;  
NPV – núcleo paraventricular;  
NSO – núcleo supra-óptico;

---

---

---

---

NTS – núcleo do trato solitário;  
OCVs – órgãos circumventriculares;  
OSF – órgão subfornical;  
OT – ocitocina;  
OVLT – órgão vascular da lâmina terminal;  
OVX – ovariectomia  
P.C. – peso corporal  
PAM – pressão arterial média  
Pg – picograma(s)  
PH – privação hídrica  
PVN – núcleo paraventricular  
RP – reidratação parcial  
s.c. – subcutâneo/subcutaneamente  
SHR – espontaneamente hipertensos  
SNC – sistema nervoso central  
SON – núcleo supraóptico  
TRS – teste de reatividade ao sabor  
VEI – veículo  
VL – ventrículo lateral.  
 $\mu\text{g}$  – micrograma(s);  
 $\mu\text{l}$  – microlitro(s);  
 $\mu\text{m}$  – micrometro (s)

---

---

---

---

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. OBJETIVO .....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
3.1. Animais .....	26
3.2. Ovariectomia e terapia de reposição de estrógeno.....	26
3.3. Fármacos utilizados .....	27
3.4. Teste de Reação ao Sabor (TRS) e análise dos comportamentos .....	27
3.5. Teste do apetite ao sódio.....	28
3.6. Registro da pressão arterial e da frequência cardíaca .....	29
3.7. Cirurgia para o implante de cânulas em direção ao VL.....	29
3.8. Injeções de fármacos no encéfalo .....	30
3.9. Histologia.....	30
3.10. Análise estatística.....	30
3.11. Protocolos experimentais .....	31
3.11.1. Influência dos hormônios ovarianos sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas normotensas (HTZ) e espontaneamente hipertensas (SHR).....	31
3.11.2. Influência da suplementação com estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas SHR intactas. ....	32
3.11.3. Influência da reposição de cipionato de estradiol sobre o apetite ao sódio em ratas SHR ovariectomizadas.....	32
3.11.4. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ovariectomizadas hipertensas (SHR) e normotensa (HTZ). ....	33
3.11.5. Influência da reposição de estrógeno sobre os parâmetros cardiovasculares em ratas SHR OVX saciadas e após PH-RP.....	34
4. RESULTADOS.....	36
4.1. Análise histológica.....	36
4.2. Influência dos hormônios ovarianos sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas normotensas (HTZ) e espontaneamente hipertensas (SHR). ....	38
4.3. Influência da suplementação com estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas SHR intactas (8 e 9 meses de idade).....	44
4.4. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite ao sódio em ratas espontaneamente hipertensas (4 – 5 meses de idade).....	49
4.5. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas espontaneamente hipertensas e normotensas. ....	53
4.6. Influência da reposição de estrógeno sobre os parâmetros cardiovasculares em ratas espontaneamente hipertensas (SHR) saciadas e após PH-RP. ....	63
5. DISCUSSÃO .....	68
6. CONCLUSÃO .....	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
8. APÊNDICE.....	84
8.1 A) Esquema da localização do local de implante da cânula intra-oral e B) esquema do aparato experimental para o estudo da palatabilidade (reatividade ao sabor) a soluções infundidas diretamente na cavidade oral (Grill e Berridge, 1985). ....	84
8.2 Descrição de análises estatísticas realizadas.....	85

---

---

## 1. INTRODUÇÃO

A ingestão de água e de alimentos que contêm sódio é uma resposta comportamental fundamental para um indivíduo repor suas necessidades de água e NaCl. A água compõe cerca de 60% do corpo de um indivíduo adulto. Um terço desta água corpórea se localiza no líquido extracelular (LEC) e os outros dois terços restantes no líquido intracelular (LIC). Uma das causas desta diferença na quantidade de água entre os meios intra e extracelular está relacionada com a concentração do íon sódio no LEC onde sua concentração é mantida em uma estreita faixa de variação (138 a 146 mmol/l), contribuindo amplamente para a determinação da osmolaridade do líquido extracelular (GUYTON; HALL, 2000; VERBALIS, 2003). As concentrações de sódio e de outros eletrólitos nos líquidos corporais são determinadas pela diferença entre os ganhos e as perdas destes solutos, bem como pelos ganhos e perdas de água, constituindo o equilíbrio hidroeletrolítico (MCKINLEY; JOHNSON, 2004).

Constantemente este equilíbrio é perturbado seja pela falta de reposição ou excesso de consumo de líquidos e eletrólitos ou por perdas, as quais podem ser naturais ou decorrentes de diarreias, hemorragias ou sudorese excessiva. Frente a estas perturbações, diferentes mecanismos são ativados para promover ajustes de ingestão e excreção de água e sódio, o que normalmente permite restabelecer o balanço hidroeletrolítico do organismo (JOHNSON; EDWARDS, 1990; MCKINLEY; JOHNSON, 2004; MENANI; DE LUCA; JOHNSON, 2014).

O comportamento ingestivo de água e sódio associado à atuação renal em reabsorver água e sódio permite uma regulação precisa do volume e da osmolaridade dos líquidos corporais, fundamentais para a sobrevivência das células (DE LUCA JR; VIVAS; MENANI, 2005; JOHNSON, 2007). O sistema renal possui um importante mecanismo que contribui para o reestabelecimento do balanço hidroeletrolítico, através da regulação da reabsorção de água e sódio. Entretanto, somente esta resposta, muitas vezes não é suficiente, tornando necessária a promoção de estados motivados, por exemplo, sede e apetite ao sódio, que impulsionarão os animais à busca, aquisição e ingestão de água e sódio, respectivamente. Esses comportamentos são essenciais para o restabelecimento do equilíbrio hidroeletrolítico (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2012).

A ingestão de água e sódio que ocorrem em resposta à desidratação constituem dois exemplos de comportamentos motivados. Comportamentos motivados dependem do estado interno do animal, são dirigidos por um objetivo específico e podem ser acompanhados de respostas autonômicas. As motivações para ingestão de água e sódio são conhecidas como sede e

---

---

apetite ao sódio (EPSTEIN, 1982; BERRIDGE, 2004). A sede e o apetite ao sódio são fundamentais para a sobrevivência dos animais no ambiente terrestre.

O apetite ao sódio tem papel essencial na busca, aquisição e ingestão do íon sódio e na manutenção do equilíbrio em função de perdas do íon sódio e no volume do LEC. Ele pode ser definido como um estado motivado comportamental e inato (EPSTEIN; STELLAR, 1955), isto é, não necessita de aprendizado para ocorrer, mas pode ser adaptativo, pela influência do aprendizado, do meio em que está inserido, como também do estado emocional (DENTON et al., 1982; SCHULKIN, 1991). Outro estado motivacional importante para nossa sobrevivência é a sede, podendo ocorrer em resposta a casos de hipovolemia e desidratação extracelular (SAKAI et al., 1987), como também em casos de desidratação intracelular por estimulação de osmorreceptores devido a hipertonicidade do LEC.

A redução do volume do líquido celular é característica da desidratação celular. 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”. Por outro lado, quando há perda de água e solutos apenas do compartimento extracelular, como nos casos de hemorragia, diarreia e vômito, a desidratação é dita extracelular. No caso da privação hídrica, por exemplo, além de perda de água do compartimento intracelular, também há perda de água do compartimento extracelular e, nesse caso, a desidratação é dita absoluta (DE LUCA JR; VIVAS; MENANI, 2005; JOHNSON, 2007).

O comportamento de busca e ingestão de água e sódio (geralmente na forma de NaCl) é controlado por alterações na volemia ou osmolaridade plasmática (DE LUCA JR; VIVAS; MENANI, 2005; JOHNSON, 2007) Diferentes receptores localizados em diversas partes do corpo (por exemplo, barorreceptores e osmorreceptores) ou hormônios (angiotensina II e aldosterona) sinalizam algumas regiões cerebrais específicas, desencadeando respostas renais e/ou comportais de ingestão de água e sódio (JOHNSON; EDWARDS, 1990; THUNHORST; JOHNSON, 1994).

Barorreceptores, que inervam a parede vascular, e osmorreceptores presentes no trato gastrointestinal e encéfalo, monitoram respectivamente volume e osmolaridade. Receptores de hormônios tais como angiotensina II e aldosterona sinalizam o encéfalo sobre redução na volemia a partir da ativação de algumas regiões encefálicas específicas. Sabe-se que aumentos da pressão arterial (detectadas por barorreceptores) constituem um importante estímulo inibitório para a ingestão de sódio. Por outro lado, a ativação de osmorreceptores, por alterações de

---

---

---

---

osmolaridade estimulam a ingestão de água e secreção de vasopressina (DE LUCA JR; BARBOSA; MENANI, 2003). Além disso, receptores gustatórios também influenciam o controle da ingestão de sódio (ANDRADE et al., 2011; GASPARINI; MENANI; DANIELS, 2015).

O sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) é um importante sistema hormonal ativado em situações de hipovolemia. A molécula precursora da angiotensina é o angiotensinogênio, uma globulina produzida pelo fígado. O angiotensinogênio é clivado pela renina, uma enzima proteolítica sintetizada e armazenada pelas células justaglomerulares dos rins, produzindo a angiotensina I (ANG I). A ANG I sob a ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) localizada especialmente nos pulmões, sendo também encontrada nos rins e nas células endoteliais do sistema vascular sistêmico produz um octapeptídeo ativo, denominado angiotensina II (ANG II). Sabe-se que a fonte de renina para o sangue é o aparelho justaglomerular renal, e que as células da mácula densa, localizadas nos rins 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 1 adrenérgicos, catecolaminas ou prostaglandinas circulantes, ativam a secreção de renina (FITZSIMONS, 1998). Por outro lado, ANG II e vasopressina inibem a secreção de renina.

Estudos clássicos de Fitzsimons et. al. [para revisão vide (FITZSIMONS, 1998)] foram os primeiros a demonstrar que a ANG II era efetiva como estímulo dipsogênico. 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, (FITZSIMONS, 1998).

Receptores centrais para ações da ANG II já foram demonstrados em diversas áreas encefálicas como órgão subfornical (SFO), órgão vasculoso 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; MCKINLEY; MENDELSON, 1988). Dos receptores de ANG II, os mais importantes para seu efeito dipsogênico são os receptores AT1 presentes em órgãos cincunventriculares prosencefálicos, tais como SFO e OVLT, podendo haver também alguma participação de receptores AT2 (FITZSIMONS, 1998).

A aldosterona, um mineralocorticoide, também tem papel fundamental na conservação do 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; JOHNSON; STOCKAND, 2002).

Os hormônios peptídeo natriurético atrial (ANP) e a ocitocina (OT) são secretados na circulação sanguínea durante expansão de volume e/ou aumento de osmolaridade plasmática, e ambos têm ação natriurética. Isto é, eles atuam reduzindo a volemia e a concentração de sódio, ações contrárias às da ANG II e aldosterona. O ANP, um peptídeo sintetizado pelos miócitos atriais, participa da manutenção do volume por produzir diurese e natriurese. Além de agir centralmente inibindo a sede e o apetite ao sódio. A OT é sintetizada no corpo celular de neurônios magnocelulares do NPV e do núcleo supra-óptico (NSO) e liberada para a corrente sanguínea em situações de hiperosmolaridade e possui ações semelhantes ao ANP (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2014).

A sede e o apetite ao sódio podem ser induzidos experimentalmente por diferentes protocolos. O modelo de privação hídrica com reidratação parcial com água por 2 horas (PH-RP) fornece subsídios para o estudo da sede e apetite ao sódio, separadamente. Ao final do período de 24 h de privação hídrica observa-se aumento da osmolaridade e sódio plasmáticos, hipovolemia e aumento da atividade de renina plasmática. O período de reidratação parcial (2 horas de acesso apenas à água) corrige totalmente o aumento da osmolaridade plasmática e parcialmente a hipovolemia, enquanto que o aumento da atividade de renina plasmática permanece elevado até o início do teste do apetite ao sódio (DE LUCA et al., 2002; DE LUCA et al., 2010). Após o período de reidratação parcial o animal passa a ter também livre acesso ao NaCl 0,3 M por mais 2 horas (teste do apetite ao sódio). No momento em que o animal tem acesso a solução de sódio, estão presentes a hipovolemia e aumento de angiotensina II como sinais facilitadores para o apetite ao sódio, enquanto que o sinal inibitório da hipertonicidade para a ingestão de sódio já foi removido. A subsequente ingestão de sódio corrige totalmente o volume do líquido extracelular e a perda de sódio que ocorreu pela natriurese durante o período de privação hídrica (DE LUCA et al., 2002).

Por outro lado, várias evidências correlacionam o consumo excessivo de sal ao desenvolvimento ou agravamento de doenças crônicas, incluindo a hipertensão, (HE; MACGREGOR, 2012; WHO, 2012) sendo as doenças cardiovasculares, segundo a OMS, a maior causa de mortes no mundo (WHO, 2017). Estima-se que a quantidade média diária de sódio consumida pela população brasileira adulta é de 4,5 g por pessoa, independente da região

---

---

---

---

ou classe de renda, excedendo assim em mais de duas vezes o limite recomendado pela OMS para ingestão desse nutriente (SARNO et al., 2013).

Apesar de evidências substanciais que indicam que a ingestão diária de sal excede em grande parte a necessidade fisiológica, a causa desse comportamento excessivo permanece mal compreendida. Um fator que pode contribuir para o uso excessivo de sal na dieta é a sua capacidade de melhorar a palatabilidade dos alimentos (KEAST; BRESLIN, 2003; LIEM; MIREMADI; KEAST, 2011). A adesão a uma dieta com baixo teor de sódio mostrou-se extremamente difícil de manter, com muitos pacientes relatando falta de palatabilidade para alimentos com baixo teor de sódio como uma das razões importantes para a não continuidade (HORVATHOVA et al., 2003; HOLLENBERG, 2006).

Em meados da década de 60, a linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (*spontaneously hypertensive rats* - SHR) foi introduzida (OKAMOTO; AOKI, 1963) como um modelo animal de hipertensão essencial em humanos. Além dos elevados níveis de pressão arterial, os animais SHR apresentam uma ingestão diária de NaCl maior do que as outras linhagens de ratos normotensos [vide Refs. (ELY; TURNER; MILSTED, 2000; DI NICOLANTONIO et al., 2004) para revisão].

O intenso apetite ao sódio observado nos animais SHR baseia-se mais em uma hiperatividade do sistema renina-angiotensina central do que uma alteração do equilíbrio hidroeletrólítico (DINICOLANTONIO; HUTCHINSON; MENDELSON, 1982; DI NICOLANTONIO et al., 2004), e o bloqueio da produção encefálica de angiotensina, com captopril, um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), reduz a ingestão de sódio em SHR, (DINICOLANTONIO; HUTCHINSON; MENDELSON, 1982). Os SHR também apresentam maior imunorreatividade à proteína Fos na lâmina terminal em resposta tanto a infusão central ou sistêmica de ANG II (ROWLAND et al., 1995; BLUME et al., 1997). Recentes resultados de Pereira-Derderian e cols. (2010) mostram que em resposta ao teste do apetite ao sódio induzido pelo protocolo de privação hídrica com reidratação parcial (PH-RP), os SHR ingeriram cerca de 10 vezes mais do que os ratos normotensos Wistar Kyoto (WKY) ou Holtzman (HTZ). Além disso, após a PH-RP todos os animais apresentaram um aumento no número de células com imunorreatividade da proteína Fos em áreas encefálicas que controlam o apetite ao sódio (SFO, OVLT, MnPO, NTSc), quando comparado em situação normovolêmica. Todavia, os animais SHR apresentaram um maior aumento na imunorreatividade da proteína Fos em áreas como órgão subfornical (SFO), região comissural núcleo do trato solitário (NTSc) e pré

---

---

---

---

*locus coeruleus* (pré-LC) em comparação as linhagens de ratos normotensos (PEREIRA-DERDERIAN et al., 2010).

A ingestão de sódio também pode ser influenciada pelas propriedades sensoriais orais do sabor. Por meio do uso da técnica de análise da frequência de lambidas, estudo de Flynn e cols. (2003) mostrou que em ratos submetidos à privação de água por período de 12 h (*overnight*), a frequência inicial de lambidas para a ingestão de NaCl 0,5 M foi semelhante entre os animais normotensos WKY a hipertensos SHR, mas a taxa de lambidas da ingestão de sódio dos WKY declinou mais rapidamente do que a dos SHR. Esses resultados sugeriram que os animais SHR são menos responsivos à retroalimentação negativa das informações pós ingestivas, sem alterações nas propriedades oro-sensoriais ao sódio, (FLYNN; CULVER; NEWTON, 2003). Estudos de Formaker e Hill (1991, 1992) verificaram a partir de registros de respostas eletrofisiológicas (atividade neuronal) do nervo glossofaríngeo e da corda do tímpano da língua posterior e anterior respectivamente, durante a estimulação com NaCl em diferentes concentrações (0,3 M e 2,0 M), que a responsividade periférica ao sabor salgado é semelhante nos animais normotensos Wistar-Kyoto e SHR (FORMAKER; HILL, 1990; 1991).

Humanos e ratos exibem expressões faciais estereotipadas em resposta a diferentes sabores aplicados diretamente na cavidade oral, e essas expressões têm sido extensivamente usadas como uma medida comportamental do valor hedônico do sabor (GRILL; NORNGREN, 1978). Em humanos, essas expressões podem ser produzidas logo após o nascimento antes mesmo de qualquer experiência de estímulo de sabores na cavidade oral tenha ocorrido (em outras palavras, antes do recém-nascido ter recebido qualquer líquido para ingestão) (STEINER, 1973; 1974; 1979). Essas expressões faciais estereotipadas em resposta a diferentes sabores aplicados diretamente na cavidade oral são, portanto, consideradas inatas, implicando que os circuitos para a detecção do sabor são determinados durante o desenvolvimento (STEINER, 1973; 1974; 1979; BERRIDGE, 2000). O teste de reatividade ao sabor, que determina a frequência de reações comportamentais hedônicas e aversivas em resposta a um estímulo de sabor diretamente infundido na cavidade oral do rato, foi desenvolvido originalmente por Grill e Norgren (1978) (GRILL; NORNGREN, 1978). Essa metodologia avalia a ocorrência de reações comportamentais afetivas espécie específicas (tal como protrusão da língua relacionada com a ingestão ou abertura aversiva da boca) em resposta a estimulação oral (GRILL; NORNGREN, 1978; GRILL, H.; BERRIDGE, K., 1985).

Sob condições controles, as linhagens mais comuns de rato de laboratório (TORDOFF; ALARCON; LAWLER, 2008) preferem ingerir soluções de concentrações

---

---

próximos a isotônica e evitam soluções de sódio hipertônico. Animais saciados e normovolêmicos exibem uma mistura de comportamentos hedônicos e aversivos em resposta a infusão intra-oral de NaCl 0,5 M, enquanto que após 24 h de depleção de sódio (induzida pelo tratamento com furosemida associado a dieta deficiente de sódio por 24 h) ocorre uma mudança desse perfil, aumentando o número de respostas hedônicas e reduzindo as respostas aversivas ao sódio hipertônico infundido oralmente (BERRIDGE et al., 1984; GRILL; BERNSTEIN, 1988). Os resultados dos testes de reatividade ao sabor realizados em machos normotensos são consistentes com os estudos de ingestão de soluções salinas, com ratos repletos de sódio exibindo respostas orofaciais altamente aversivas a soluções salinas hipertônicas (BERRIDGE et al., 1984; BERRIDGE; SCHULKIN, 1989). Contudo, todos esses estudos citados que avaliaram a reatividade ao sabor salgado foram realizados em machos.

#### EFEITOS DA MODULAÇÃO ESTROGÊNICA SOBRE O EQUILIBRIO HIDROMINERAL

Os primeiros estudos relacionando a influência dos hormônios gonadais sobre o controle do equilíbrio hidroeletrólítico mostraram que fêmeas ingeriam menos água que os machos sob as mesmas condições (RICHTER; BRAILEY, 1929). Em estudo de Antunes-Rodrigues & Covian da década de 1960 foi descrito que durante o período estral, que é a fase do ciclo reprodutivo onde há maior concentração plasmática de estrógeno, os animais apresentavam diminuição da ingestão de sódio, por outro lado, durante o diestro, quando há baixos níveis de estrógeno plasmático, os animais aumentavam a ingestão de sódio [Antunes-Rodrigues & Covian, 1960 apud (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2014). Danielsen e Buggy (1980) também observaram resultados similares em ratas intactas durante a fase do estro (DANIELSEN; BUGGY, 1980). Estudos de reposição hormonal nas décadas seguintes mostraram que o estradiol diminui a ingestão de líquidos em roedores ovariectomizados. Estes resultados mostraram que o intenso consumo de sódio pode ser produzido em ratos por prolongada privação de sódio e que o estrógeno pode diminuir esse comportamento (STRICKER; THIELS; VERBALIS, 1991).

A terapia com estrógeno diminui não apenas a ingestão de água, mas também abole a ingestão de sal induzida por injeções intracerebroventriculares de ANG II em ratas ovariectomizadas (DO-VALE et al., 1995; MECAWI et al., 2007). A terapia com estrógeno reduziu a ingestão de água induzida por privação hídrica, depleção de sódio por 24 h, e também

reduziu a ingestão de NaCl 0,3 M e de água induzida pelo protocolo FURO+CAP s.c. Além disso, foi verificado que o bloqueio central de receptores AT1 da angiotensina II inibiu a resposta dipsogênica induzida pela privação hídrica, estimulação osmótica e inibiu a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio observada em ratas normotensas ovariectomizadas (MECAWI et al., 2008).

O estrógeno exerce efeitos sobre o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). O estrógeno interage diretamente com o SRAA diminuindo a atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA), renina e a expressão de RNAm de receptores angiotensinérgicos do tipo 1 (AT1R), enquanto aumenta a expressão de receptores angiotensinérgicos do tipo 2 (AT2R) e os níveis de ANG-(1-7) nos rins (SHENOY et al., 2009; BROWN et al., 2012; BHATIA; ZIMMERMAN; SULLIVAN, 2013). O estrógeno também inibe a expressão de receptores AT1 e a enzima conversora de angiotensina no órgão subfornical (SFO) em ratas normotensas (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; DEAN et al., 2006; KRAUSE et al., 2006).

Apesar desses estudos realizados em ratas de linhagens normotensas, ainda é desconhecida a influência do estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em fêmeas espontaneamente hipertensas.

## MENOPAUSA E HIPERTENSÃO

O envelhecimento natural faz com que os ovários percam a responsividade às gonadotrofinas, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH), reduzindo sua função, levando ao fim dos ciclos menstruais (menopausa). Esse fenômeno está associado com o declínio do número dos folículos primordiais nos ovários. Dessa forma, os ovários não produzem mais progesterona e estrogênios em quantidades significantes. Esse fenômeno da menopausa ocorre nas mulheres entre as idades de 45 e 55 anos de idade (GANONG, 2003).

O risco de doenças cardiovasculares é menor durante o ciclo reprodutivo de mulheres do que em homens. Estudos mostram que na pré-menopausa as mulheres apresentam menor pressão arterial quando comparado aos homens da mesma idade (CUTLER et al., 2008). Porém, a incidência de doenças cardiovasculares aumenta em mulheres na menopausa com variáveis implicações clínicas (CROFTON; SHARE, 1997; GOLDMAN et al., 2009; LIMA; WOFFORD; RECKELHOFF, 2012).

A menopausa causada por ovariectomia em mulheres normotensas férteis de meia idade causou aumento nos valores médios de pressão arterial sistólica e diastólica (MERCURO

---

---

et al., 2004). A ovariectomia também aumenta a pressão arterial em ratas Wistar normotensas (MENDONÇA LDE; FERNANDES-SANTOS; MANDARIM-DE-LACERDA, 2007) e em camundongo fêmeas (XUE; PAMIDIMUKKALA; HAY, 2005). Além disso, a menopausa causada por ovariectomia ou envelhecimento em ratas espontaneamente hipertensas (SHR) agravou a hipertensão (FORTEPIANI et al., 2003; RECKELHOFF; FORTEPIANI, 2004). Outros trabalhos mostram que a pressão sistólica de fêmeas durante a fase estral foi menor do que a observada em machos, e a elevação da pressão sistólica observada após a ovariectomia foi reduzida após o tratamento subcutâneo com estrógeno, (SILVA-ANTONIALLI et al., 2004). Dessa forma, várias evidências mostram a influência dos hormônios esteroides femininos sobre o controle pressórico.

Portanto, considerando a importância do estrógeno sobre o balanço hidromineral e parâmetros cardiovasculares, o objetivo do trabalho foi estudar a importância do estrógeno na modulação do apetite e palatabilidade do NaCl em fêmeas espontaneamente hipertensas.

---

---

## 2. OBJETIVO

Considerando a importância do estrógeno sobre o balanço hidromineral e os parâmetros cardiovasculares, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do estrógeno no apetite e na palatabilidade ao sódio em ratas espontaneamente hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ). Para tanto investigamos: a) a influência dos hormônios ovarianos na palatabilidade ao sódio em ratas HTZ e SHR com apetite ao sódio; b) a influência da suplementação com estrógeno na palatabilidade ao sódio em ratas SHR intactas com apetite ao sódio; c) a influência da reposição de estrógeno em ratas SHR e HTZ ovariectomizadas (OVX) sobre o apetite ao sódio; d) a influência da reposição de estrógeno na palatabilidade ao sódio em ratas SHR e HTZ ovariectomizadas (OVX) com apetite ao sódio; e d) a influência da reposição de estrógeno sobre os parâmetros cardiovasculares e os efeitos pressores da angiotensina II em ratas SHR.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Animais

Foram utilizadas ratas normotensas (Holtzman) (260 – 280 g, 3-5 meses) e espontaneamente hipertensas (*Spontaneously Hypertensive Rats*, SHR) (180 – 200 g, 3-5 meses; ou 8 e 9 meses), provenientes dos Biotérios Central e da Fisiologia da FOAr, respectivamente. Elas foram mantidas em gaiolas individuais, com livre acesso a ração, água e solução de NaCl 0,3 M. As ratas foram mantidas em salas climatizadas (temperatura de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$  e umidade  $50 \pm 10\%$ ) com ciclo claro-escuro 12-12 h (luz 7:00 – 19:00 h). A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi registrada diariamente. Os protocolos experimentais e demais procedimentos citados neste projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FOAr, protocolo n: 51/2014.

#### 3.2. Ovariectomia e terapia de reposição de estrógeno

As ratas foram submetidas à ovariectomia bilateral (OVX) ou ovariectomia fictícia (OVX – Fictícia), na qual foram submetidas às mesmas etapas iniciais do procedimento cirúrgico, mas com a preservação de ambos os ovários intactos. Em alguns experimentos, ratas submetidas à ovariectomia bilateral receberam a reposição hormonal substitutiva com estrógeno (OVX + E2, 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) enquanto o grupo controle (OVX + VEI) recebeu administração de veículo (óleo de girassol, 0,1 ml por animal) durante oito dias, iniciando-se 10 dias após a cirurgia de retirada dos ovários.

Um grupo de ratas SHR intactas (8 e 9 meses de idade) recebeu suplementação de estrógeno (cipionato de estradiol, Zoetis; 2 mg/ml, 0,1 ml i.m.) a cada 4 dias por 12 dias ou seu respectivo veículo (óleo de girassol, 0,1 ml por animal).

Para verificar a eficiência da ovariectomia e da reposição hormonal com estrógeno em relação aos grupos controles foi avaliado o índice uterino (peso do útero/peso corporal expresso como mg/100 g de peso corporal) e/ou os níveis plasmáticos de estrógeno. Para tanto, ao final dos experimentos, todas as ratas foram profundamente anestesiadas com tiopental sódico (80 mg/kg; Cristália) para eutanásia e remoção do útero. Para alguns animais, foi feita a determinação da concentração plasmática de estradiol (E2) por quimioluminescência (laboratório Álvaro - <http://www.alvaro.com.br/laboratorio/menu-exames/ESTRA>).

### 3.3. Fármacos utilizados

**Benzoato de beta-estradiol** (Sigma-Aldrich), na dose 10 µg/rata ( $\approx$  40 µg/kg) subcutâneo, volume 0,1 ml/rata, durante pelo menos oito dias (ALMEIDA-PEREIRA et al., 2016).

**Cipionato de estradiol** (E.C.P. 2 mg/ml, Zoetis, Ourofino Saúde Animal Ltda, Cravinhos – SP), s.c., 0,1 ml/rata a cada 4 dias, por 12 dias.

**Óleo de girassol** (veículo do estrógeno, 0,1 ml/rata, s.c.).

**Angiotensina II** (ANG II), (Sigma), (50 ng/1 µl, administração no VL).

**Losartana potássica**, o antagonista do receptor AT1 (Sigma-Aldrich), dissolvido em solução salina e administrado no ventrículo lateral (VL) na dose de 100 µg/µl (RONCARI et al., 2017).

### 3.4. Teste de Reação ao Sabor (TRS) e análise dos comportamentos

Para esse teste as ratas receberam o implante de uma cânula intra-oral. Elas foram anestesiadas com quetamina (80 mg/ kg de peso corporal) combinada com xilazina (7 mg/kg de peso corporal). A cânula intra-oral (tubo de polietileno PE 50 com uma de suas extremidades alargada e um “stop” de silicone endodôntico fixado a ela) foi introduzida na região do primeiro molar em direção a margem da musculatura mastigatória que faceia o osso temporal sob o arco zigomático, seguindo para o topo do crânio, onde foi externalizada e ancorada com resina acrílica e parafusos, (Figura 1). Ao final da cirurgia, elas receberam uma injeção intramuscular de antibiótico (benzilpenicilina – 80.000 UI + estreptomicina – 33 mg; Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, Brasil) e uma injeção subcutânea de um analgésico/antiinflamatório (cetoprofeno 1% - 0,03 ml/rato; Ketoflex, Mundo Animal, São Paulo, Brasil).

Previamente aos experimentos, as ratas foram submetidas a um período de habituação por 3 dias, no qual elas foram expostas por 20 minutos à gaiola onde se realizou o teste da reação ao sabor e, a seguir, foi feita a infusão de 1 ml de água pela cânula intra-oral. No momento do experimento, a cânula intra-oral foi conectada a um tubo de polietileno (PE 50) para a infusão da solução diretamente na cavidade oral do animal. O animal foi então colocado na gaiola teste e em seguida foi feita a infusão da solução de NaCl 1,8% (0,3 M) em sua

---

---

cavidade oral (1 ml/min.). O comportamento do animal foi gravado por meio de uma filmadora, com o auxílio de um espelho montado abaixo do fundo transparente da gaiola, que permitiu a câmera aproximar a imagem de tal forma que a face do rato ocupasse a tela inteira (vide apêndice 1). O teste de reação ao sabor e a subsequente análise dos comportamentos (hedônicos, neutros e aversivos) foi realizado conforme descrito em estudos anteriores (GRILL, H. J.; BERRIDGE, K. C., 1985; BERRIDGE, 2000; ANDRADE et al., 2011).

O comportamento de cada rato foi avaliado pela ocorrência de comportamentos de reação ao sabor considerados hedônicos, aversivos ou neutros (vide GRILL; BERRIDGE, 1985 para uma discussão da análise dos comportamentos de reação ao sabor e classificação). São considerado comportamentos hedônicos: lambidas das patas, protrusões laterais da língua, protrusões rítmicas da língua ao longo da linha mediana. Comportamentos neutros: movimentos rítmicos da boca e escoamento passivo, ou seja, a saída passiva de líquidos da boca. E por fim, são considerados comportamentos aversivos: “*gapes*” (grande abertura da mandíbula e retração dos lábios inferiores); limpeza da face (ato de passar as patas uma ou várias vezes sobre a face); “*forelimb flail*” (movimentos com os membros anteriores e movimentos da cabeça), e finalmente rápida locomoção no interior da gaiola. As gravações foram analisadas em câmera lenta em 1/30 a 1/10 da velocidade normal.

### 3.5. Teste do apetite ao sódio

Protocolo de privação hídrica e reidratação parcial – PH-RP foi feito de acordo com estudos prévios (DE LUCA et al., 2002; PEREIRA-DERDERIAN et al., 2010). O modelo de privação hídrica com reidratação parcial com água por 2 horas (PH-RP) fornece subsídios para o estudo da sede e apetite ao sódio, separadamente. O animal foi privado de água por 24 horas, e ao final desse período observa-se aumento da osmolaridade e sódio plasmáticos, hipovolemia e aumento da atividade de renina plasmática. O período de reidratação parcial (2 horas de acesso apenas à água) corrige totalmente o aumento da osmolaridade plasmática e parcialmente a hipovolemia, enquanto que o aumento da atividade de renina plasmática permanece elevado até o início do teste do apetite ao sódio (DE LUCA et al., 2002; DE LUCA et al., 2010). Após o período de reidratação parcial o animal passa a ter também livre acesso ao NaCl 0,3 M por mais 2 horas (teste do apetite ao sódio). No momento em que o animal tem acesso a solução de sódio, estão presentes a hipovolemia e aumento de angiotensina II como sinais facilitadores para o apetite ao sódio, enquanto que o sinal inibitório da hipertonicidade para a ingestão de sódio já foi

---

---

removido. A subsequente ingestão de sódio corrige totalmente o volume do líquido extracelular e a perda de sódio que ocorreu pela natriurese durante o período de privação hídrica (DE LUCA et al., 2002). Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Foram utilizados bebedouros graduados com divisão de 0,1 ml para o registro da ingestão de água e NaCl 0,3 M.

### **3.6. Registro da pressão arterial e da frequência cardíaca**

A pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram registradas em ratas não anestesiadas. Sob anestesia de quetamina (80 mg/kg de peso corporal) combinado com xilazina (7 mg/kg de peso corporal), um tubo de polietileno (PE-10 conectado a uma PE-50) foi inserido na aorta abdominal através da artéria femoral no dia anterior aos experimentos. O tubo foi transpassado subcutaneamente e exposto no dorso da rata. Para o registro da pressão arterial pulsátil, PAM e FC, o cateter arterial foi conectado a um transdutor de pressão acoplado a um pré-amplificador (modelo ETH-200 Bridge Bio Amplifier, CB Sciences, Dover, NH, EUA) conectado a um sistema de aquisição de dados (modelo Powerlab 16SP; ADInstruments, Castle Hill, Austrália).

### **3.7. Cirurgia para o implante de cânulas em direção ao VL**

As ratas foram anestesiadas com uma injeção intraperitoneal de cetamina (80 mg/kg de peso corporal) e xilazina (7 mg/kg de peso corporal) e posicionadas em um aparelho estereotáxico (Kopf, Tujunga, EUA) com o crânio nivelado entre o bregma e o lambda. Uma cânula-guia de aço inoxidável foi implantada logo acima do VL, de acordo com as seguintes coordenadas: 0,3 mm caudal ao bregma, 3,4 mm abaixo do crânio e 1,4 mm lateral à sutura central para fêmeas SHR e 0,3 mm caudal ao bregma, 3,5 mm abaixo do crânio e 1,4 mm lateral à sutura central para as fêmeas Holtzman. A ponta da cânula-guia foi posicionada 2 mm acima do VL. Em seguida ela foi fixada ao crânio com resina acrílica dental e parafusos. Um mandril de metal foi utilizado para o preenchimento e fechamento da extremidade externa da cânula-guia, exceto durante as injeções. Ao final da cirurgia, as ratas receberam uma injeção intramuscular de antibiótico (benzilpenicilina – 80,000 UI + estreptomicina – 33 mg; Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte, Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, Brasil) e uma injeção subcutânea de um analgésico/antiinflamatório (cetoprofeno 1% - 0,03 ml/rato; Ketoflex, Mundo Animal, São Paulo, Brasil). Diariamente as ratas foram manipuladas e

---

---

treinadas com manobras utilizadas durante os procedimentos experimentais. Os experimentos foram realizados 5-7 dias após o implante da cânula no VL.

### **3.8. Injeções de fármacos no encéfalo**

A administração de drogas no VL foi feita utilizando-se seringa Hamilton de 10 µl (Hamilton, Reno, EUA) conectada por um tubo de polietileno (PE – 10; Clay Adams, Parsippany, EUA) a uma agulha injetora. No momento dos testes, os animais foram retirados de suas gaiolas, o mandril de metal foi removido e a agulha injetora (2 mm mais longa que a cânula-guia) foi introduzida no encéfalo através da cânula-guia. O volume injetado foi de 1 µl no VL. Após as injeções o mandril de metal foi recolocado e os ratos realocados em suas gaiolas.

### **3.9. Histologia**

Ao final dos experimentos, as ratas receberam injeções de solução a 2% de Azul de Evans na região do VL, no mesmo volume das injeções de fármacos. Elas foram então profundamente anestesiadas com tiopental sódico (80 mg/kg; Cristália) e perfundidas transcardicamente com salina seguida por formalina 10%. Os encéfalos foram removidos, fixados em formalina 10%, congelados, cortados em seções de 60 µm, corados com corante de Giemsa, e analisados por microscopia de luz para confirmar os locais de injeções no VL.

### **3.10. Análise estatística**

Os resultados foram tabelados. A média e o erro padrão da média estão representados em gráficos (resultados). Teste t, análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias seguidas do pós-teste de Newman Keuls foram utilizados para as comparações dos dados, de acordo com o Apêndice 2. Diferenças foram consideradas para  $p < 0,05$ .

---

---

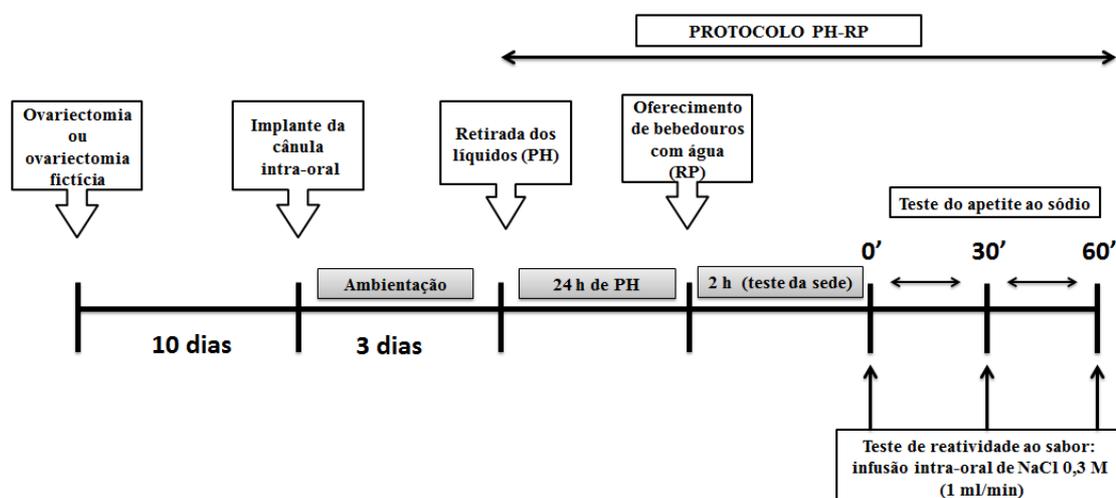
### 3.11. Protocolos experimentais

#### 3.11.1. Influência dos hormônios ovarianos sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas normotensas (HTZ) e espontaneamente hipertensas (SHR).

Após as ratas (com 4 – 5 meses) chegarem do biotério central, elas passaram por um período de adaptação e foram aleatoriamente distribuídas nos seguintes grupos:

- 1) Ratas normotensas ovariectomizadas (HTZ – OVX)
- 2) Ratas normotensas com ovariectomia fictícia (HTZ – Fictícia)
- 3) Ratas hipertensas ovariectomizadas (SHR – OVX)
- 4) Ratas hipertensas com ovariectomia fictícia (SHR – Fictícia)

Após dez dias da cirurgia de ovariectomia, as ratas receberam o implante da cânula intra-oral e então passaram pelo período de habituação e demais procedimentos experimentais conforme descrito detalhadamente nos materiais e métodos. Em seguida, elas foram submetidas ao protocolo de privação hídrica e reidratação parcial (PH-RP). O teste de reatividade ao sabor foi realizado imediatamente após o período de reidratação parcial (RP). Ao término os animais retornaram para suas gaiolas para então realizar o teste de apetite ao sódio, onde tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água por 30 min. Após esse período, foi avaliada novamente a reação ao sabor ao NaCl 0,3 M conforme descrito anteriormente. O mesmo procedimento foi repetido após 60 min de livre acesso aos bebedouros graduados contendo ambas as soluções. Os volumes de água e de NaCl 0,3 M ingeridos durante os períodos de livre acesso a essas soluções também foram avaliados. Durante o experimento as ratas não tiveram acesso à ração.



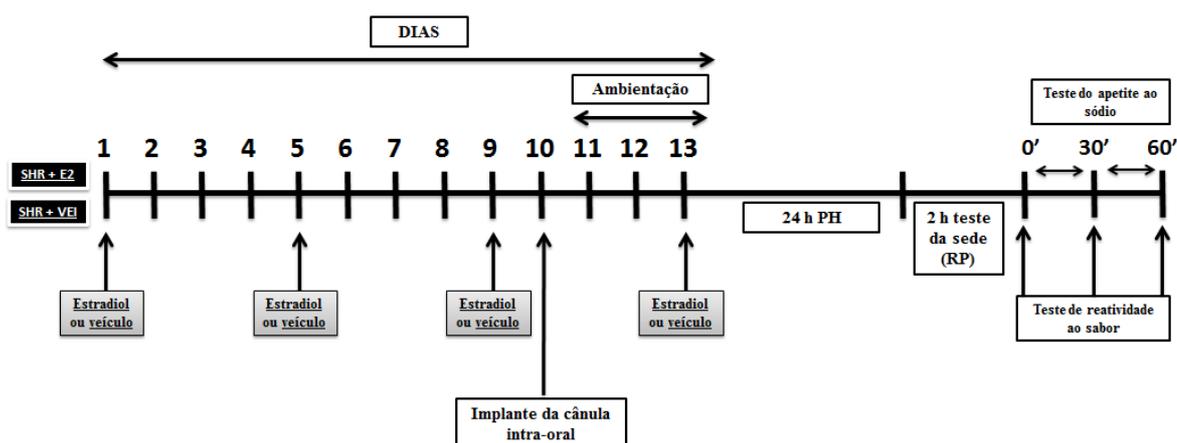
### 3.11.2. Influência da suplementação com estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas SHR intactas.

Foram utilizadas ratas SHR (8 e 9 meses de idade) aleatoriamente distribuídas em dois grupos:

- 1) Ratas SHR com suplementação de estrógeno (SHR + E2)
- 2) Ratas SHR veículo (SHR + VEI) – grupo controle

Para esse teste as ratas receberam o implante de uma cânula intra-oral. Elas passaram pelo período de habituação e demais procedimentos experimentais conforme descrito detalhadamente nos materiais e métodos.

O teste de reatividade ao sabor foi realizado imediatamente após o período de reidratação parcial (RP). Ao término os animais retornaram para suas gaiolas para então realizar o teste de apetite ao sódio, onde tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água por 30 min. Após esse período, foi avaliada novamente a reação ao sabor ao NaCl 0,3 M conforme descrito anteriormente. O mesmo procedimento foi repetido após 60 min de livre acesso bebedouros graduados contendo ambas as soluções. Os volumes de água e de NaCl 0,3 M ingeridos durante os períodos de livre acesso a essas soluções também foram avaliados. Durante o experimento as ratas não tiveram acesso à ração.



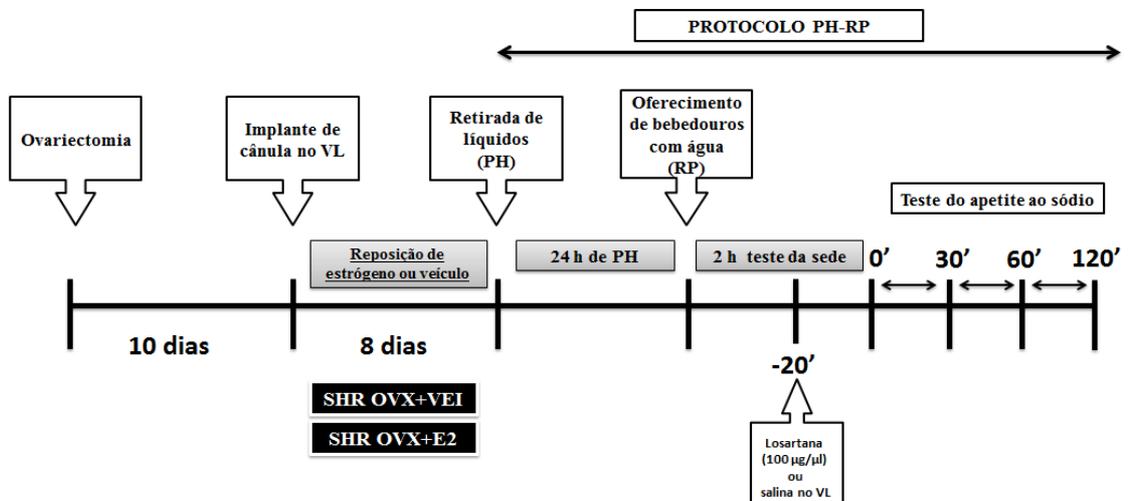
### 3.11.3. Influência da reposição de cipionato de estradiol sobre o apetite ao sódio em ratas SHR ovariectomizadas.

Para esse protocolo as ratas (com 8 e 9 meses) foram aleatoriamente distribuídas em 2 grupos:

- 1) Ratas SHR castradas com reposição de estrógeno (E2) (SHR OVX + E2)

2) Ratas SHR castradas + veículo (SHR OVX + VEI).

Após um período de 10 dias da cirurgia de ovariectomia bilateral as ratas receberam o implante de cânulas em direção ao VL e também implante de cânulas intra-oral no mesmo ato cirúrgico. A partir de então iniciou-se o tratamento com estrógeno [10 ug/rata ( $\approx$  40 ug/kg) subcutâneo] (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; KRAUSE et al., 2003; VILHENA-FRANCO et al., 2011; ALMEIDA-PEREIRA et al., 2016) ou veículo pelo período mínimo de oito dias. As ratas foram submetidas ao protocolo de PH-RP. Vinte minutos antes do início do teste do apetite ao sódio, as ratas receberam injeções i.c.v. de losartana (100  $\mu$ g/ $\mu$ l) ou salina e tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água por 60 min. A ingestão de água e de NaCl 0,3 M foram avaliadas por todo esse período.



### 3.11.4. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ovariectomizadas hipertensas (SHR) e normotensa (HTZ).

Para esse protocolo as ratas (com 4 – 5 meses) foram aleatoriamente distribuídas em 4 grupos:

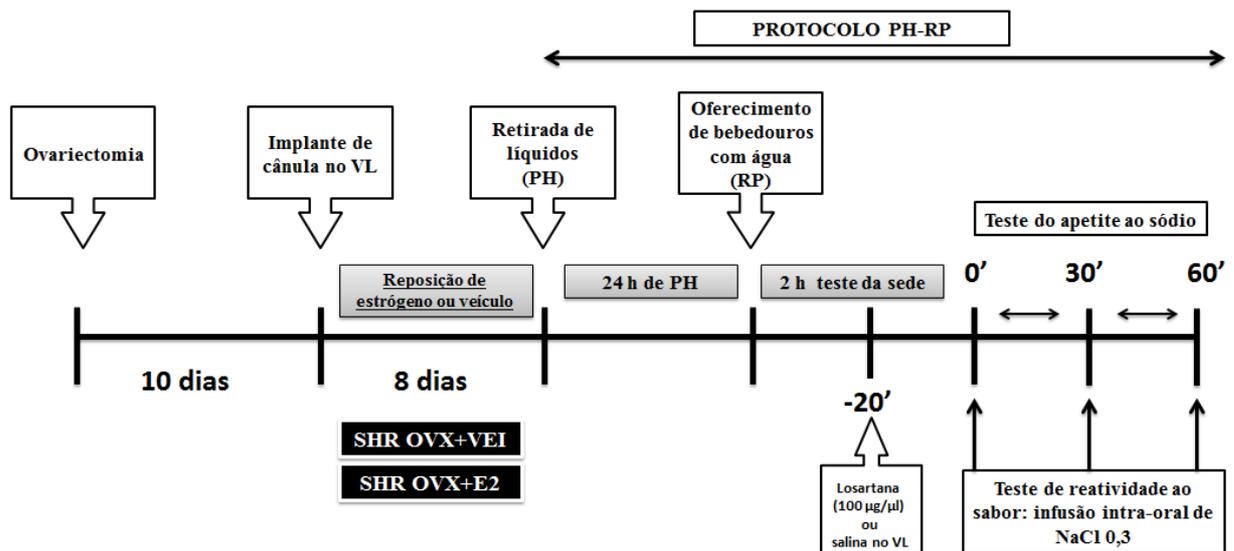
- 1) Ratas SHR castradas com reposição de estrógeno (E2) (SHR OVX + E2)
- 2) Ratas SHR castradas + veículo (SHR OVX + VEI).
- 3) Ratas HTZ castradas com reposição de estrógeno (E2) (HTZ OVX + E2)
- 4) Ratas HTZ castradas + veículo (HTZ OVX + VEI).

Após um período de 10 dias da cirurgia de ovariectomia bilateral as ratas receberam o implante de cânulas em direção ao VL e também implante de cânulas intra-oral no mesmo ato

cirúrgico. A partir de então iniciou-se o tratamento com estrógeno [10 ug/rata ( $\approx$  40 ug/kg) subcutâneo] (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; KRAUSE et al., 2003; VILHENA-FRANCO et al., 2011; ALMEIDA-PEREIRA et al., 2016) ou veículo pelo período mínimo de oito dias.

As ratas foram submetidas ao protocolo de PH-RP. Vinte minutos antes do início do teste do apetite ao sódio, as ratas receberam injeções i.c.v. de losartana (100  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) ou salina e tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água por 60 min. A ingestão de água e de NaCl 0,3 M foram avaliadas por todo esse período.

O teste de reatividade ao sabor foi realizado imediatamente após o período de reidratação parcial (RP). Ao término os animais retornaram para suas gaiolas para então realizar o teste de apetite ao sódio, onde tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água por 30 min. Após esse período, foi avaliada novamente a reação ao sabor ao NaCl 0,3 M conforme descrito anteriormente. O mesmo procedimento foi repetido após 60 min de livre acesso bebedouros graduados contendo ambas as soluções. Os volumes de água e de NaCl 0,3 M ingeridos durante os períodos de livre acesso a essas soluções também foram avaliados. Durante o experimento as ratas não tiveram acesso à ração.



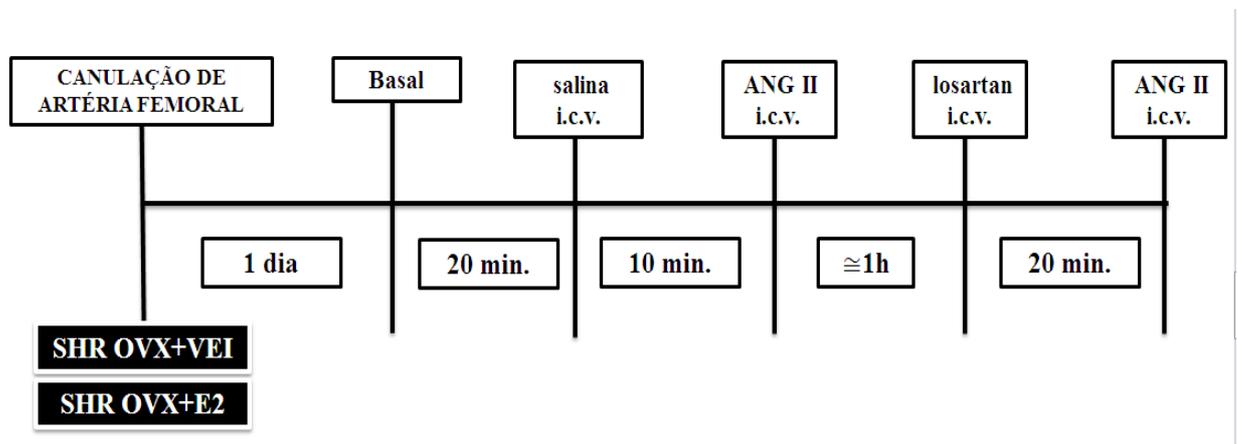
### 3.11.5. Influência da reposição de estrógeno sobre os parâmetros cardiovasculares em ratas SHR OVX saciadas e após PH-RP.

Para esse protocolo as ratas (4 e 5 meses de idade) foram distribuídas em 2 grupos:

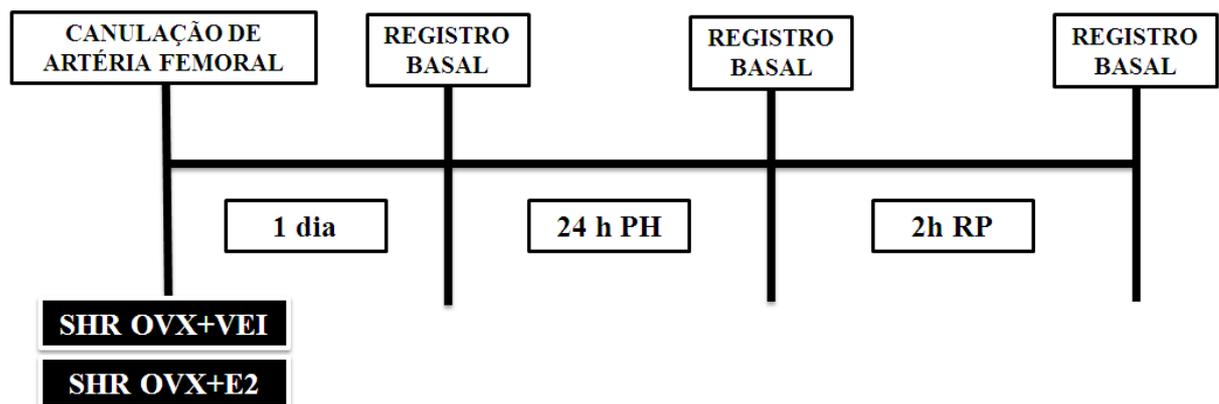
- 1) Ratas SHR castradas com reposição de estrógeno (E2) (SHR OVX + E2).
- 2) Ratas SHR castradas + veículo (SHR OVX + VEI)

Após um período de 10 dias da cirurgia de ovariectomia bilateral, as ratas receberam o implante de cânulas em direção ao VL. A partir de então se iniciou reposição com estrógeno [10 ug/rata ( $\approx$  40 ug/kg) subcutâneo] (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; KRAUSE et al., 2003; VILHENA-FRANCO et al., 2011; ALMEIDA-PEREIRA et al., 2016) ou veículo até o dia do experimento. Após período de recuperação da cirurgia estereotáxica por oito dias, as ratas foram submetidas à outra cirurgia para a canulação da artéria femoral. A PAM e a FC foram registradas em ratas não anestesiadas.

Os parâmetros cardiovasculares foram registrados nas ratas por um período basal de 30 min, e após administração de salina, ANG II ou losartana no VL. Após o término do registro, os animais tiveram acesso à água e NaCl 0,3 M por período de 60 minutos.



Alguns desses animais foram então submetidos ao protocolo de PH-RP, elas foram então submetidas ao protocolo de PH-RP, para verificação da PAM e FC nas fases de reidratação parcial e apetite ao sódio.



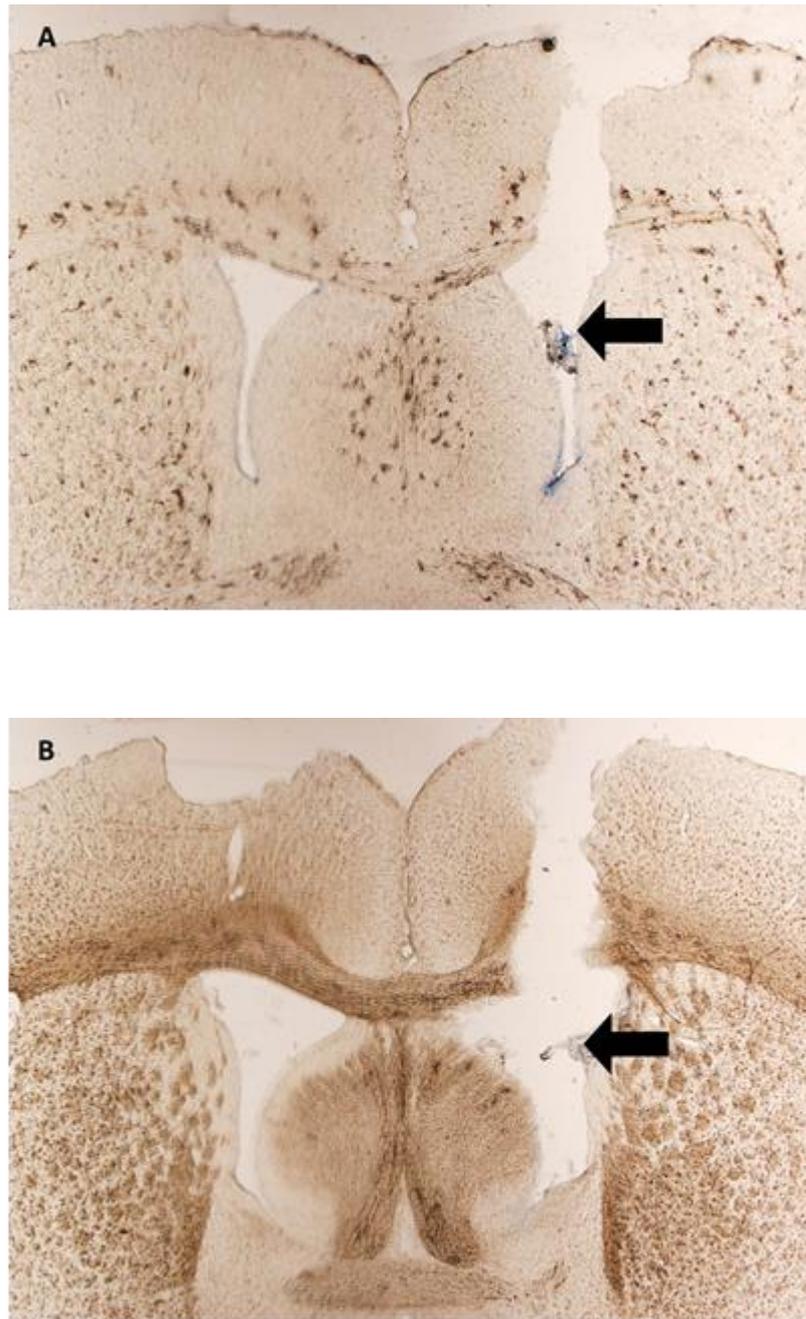
---

---

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Análise histológica**

As injeções i.c.v. foram confirmadas em cortes histológicos do encéfalo mostrando o trajeto da cânula em direção ao espaço ventricular (VL), bem como pelo espalhamento de corante neste espaço, (Figura 1).



**Figura 1.** Fotomicrografias de cortes transversais de encéfalos de animais representativos dos grupos testados mostrando o sítio de injeção no VL (indicado pela seta) em **A)** animais Holtzman e **B)** animais espontaneamente hipertensos (SHR).

#### 4.2. Influência dos hormônios ovarianos sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas normotensas (HTZ) e espontaneamente hipertensas (SHR).

As fêmeas ovariectomizadas (OVX) apresentaram um valor menor de índice uterino em relação às fêmeas com ovariectomia fictícia, confirmando assim a eficiência da ovariectomia [ $F(1,37) = 26,11$ ;  $p < 0,001$ ] (Tabela 1).

Em relação à ingestão diária de NaCl 0,3 M, as ratas SHR fictícia apresentaram uma maior ingestão de NaCl 0,3 M em comparação ao grupo HTZ fictícia. Os resultados mostram também que as ratas HTZ OVX apresentaram maior ingestão de NaCl 0,3 M do que as ratas HTZ fictícia. Ratas SHR OVX apresentaram maior ingestão diária de NaCl 0,3 M apenas em alguns dias do período analisado (4, 5, 6, 10 e 15) quando comparadas com SHR fictícia, [ $F(3,450) = 112,124$ ;  $p < 0,001$ ], (Figura 2A). Com relação à ingestão diária de água, foram observadas diferenças entre os tratamentos, conforme indicado na Figura 1B. As ratas SHR OVX e HTZ OVX apresentaram maior ingestão diária de água quando comparado com seus respectivos grupos de ovariectomia fictícia, [ $F(3,450) = 38,787$ ;  $p < 0,001$ ] (Figura 2B).

No período de reidratação parcial após protocolo de PH-RP a ingestão de água foi semelhante entre os grupos (SHR – OVX:  $3,3 \pm 0,3$ , vs. SHR - fictícia:  $2,6 \pm 0,5$ ; HTZ - OVX:  $3,5 \pm 0,4$ , vs. HTZ - fictícia:  $3,4 \pm 0,7$  ml/100 g/h), [ $F(3,37) = 0,512$ ;  $p > 0,05$ ].

Já no teste do apetite ao sódio, a ovariectomia aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP tanto em ratas normotensas (HTZ – OVX:  $2,3 \pm 0,3$ , vs. HTZ – fictícia:  $1,0 \pm 0,2$  ml/100 g/h) como hipertensas (SHR – OVX:  $4,4 \pm 0,6$ , vs. SHR – fictícia:  $2,3 \pm 0,4$  ml/100 g/h). [ $F(1,37) = 16,82$ ;  $p < 0,001$ ]. Em relação à ingestão de água, não foram observadas diferenças entre os tratamentos, [ $F(1,37) = 0,902$ ;  $p > 0,05$ ] (Figura 3).

No teste de reatividade ao sabor (TRS), a ovariectomia aumentou a frequência de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M tanto SHR OVX como HTZ OVX, [ $F(3,110) = 34,6$ ;  $p < 0,001$ ]. A frequência de respostas aversivas não foi alterada pela ovariectomia, [ $F(3,110) = 23,86$ ;  $p < 0,001$ ] (Figura 4). No TRS, realizado imediatamente antes do acesso ao NaCl 0,3 M (0 min), verificou-se que houve um aumento significativo no número de respostas hedônicas para os grupos de ratas castradas quando comparados aos grupos com ovariectomia fictícia. Esse mesmo padrão de respostas hedônicas repetiu-se nos tempos 30 e 60 min. Com relação ao número de reações aversivas, a ovariectomia não promoveu alterações significativas entre os grupos, nos três períodos de tempo avaliados (0, 30 e 60 min.). Além

---

---

disso, esses resultados mostram que as ratas hipertensas apresentaram um menor número de reações aversivas quando comparado com ratas normotensas.

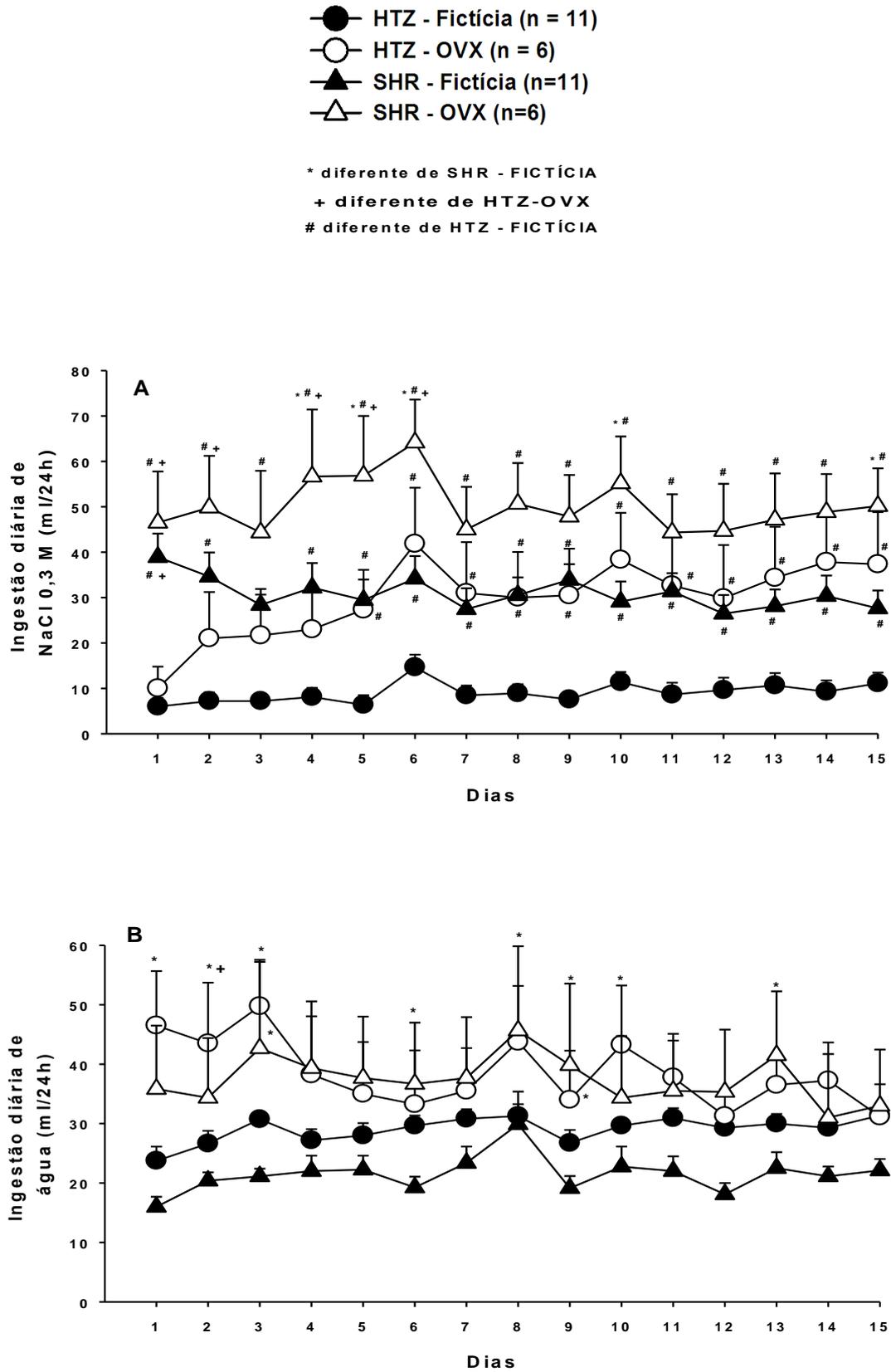
---

---

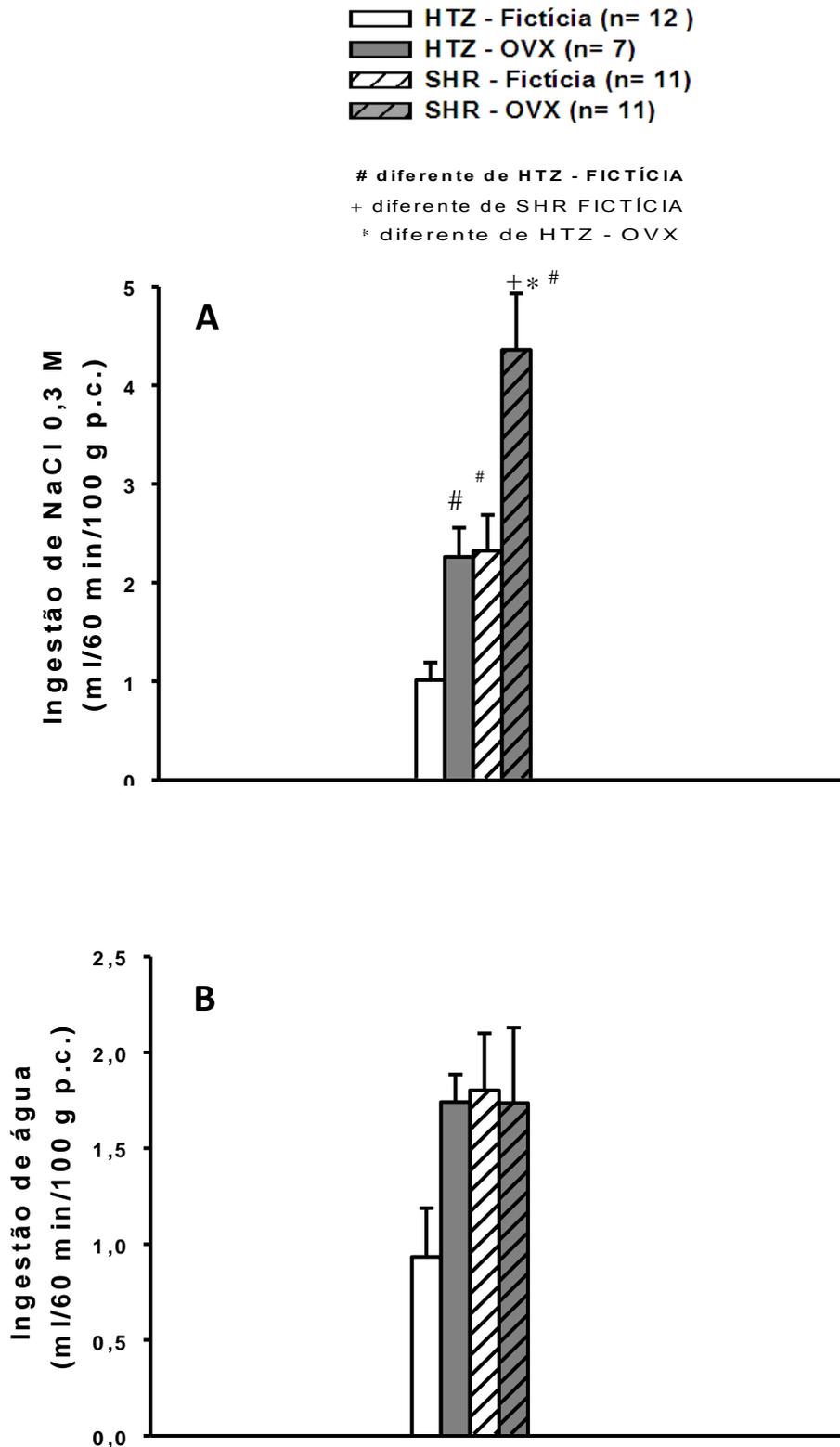
**Tabela 1.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas (OVX) ou ovariectomia fictícia (fictícia).

<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR – OVX (n=11)</b>	183,7 ± 4,5	289,8 ± 29,7	158,7 ± 16,3*
<b>SHR – Fictícia (n=11)</b>	172,1 ± 4,5	409,3 ± 26,7	236,8 ± 12
<b>HTZ – OVX (n=7)</b>	279,8 ± 11,1	501,8 ± 115,6	182,6 ± 42,9 <sup>#</sup>
<b>HTZ – Fictícia (n=12)</b>	263,2 ± 21,1	850,5 ± 40,8	325,2 ± 18,6

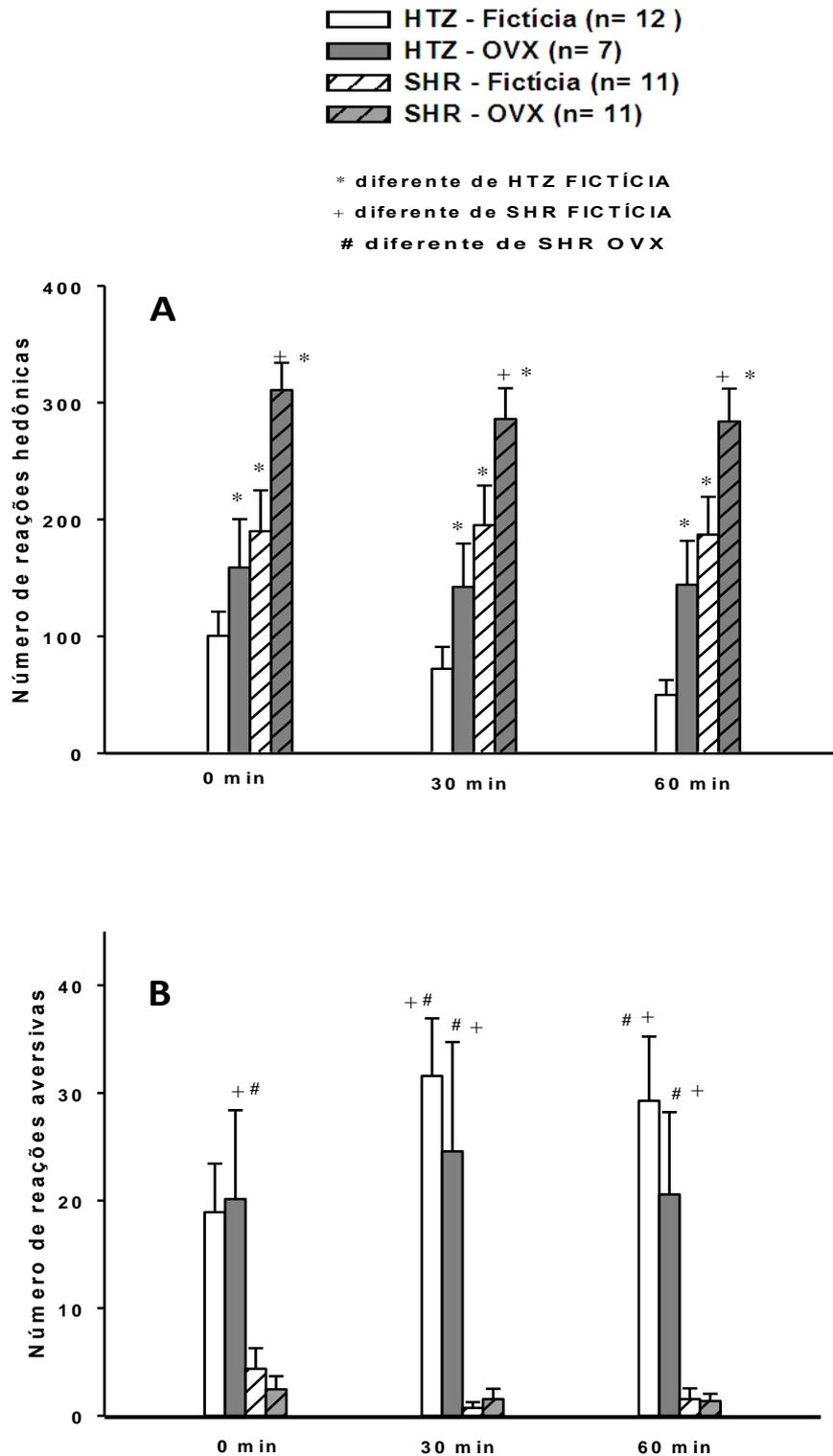
Resultados são expressos como média ± EPM; \* diferente de SHR – Fictícia; n = número de animais por grupo # diferente de HTZ – Fictícia.



**Figura 2.** Ingestão diária de **A)** NaCl 0,3 M (ml/24h) e **B)** de água (ml/24h) em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 3.** Ingestão de **A)** NaCl 0,3 M e **B)** água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 4.** **A)** Respostas hedônicas e **B)** Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ) e hipertensas (SHR), submetidas a ovariectomia (OVX) ou ovariectomia fictícia. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.

### 4.3. Influência da suplementação com estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas SHR intactas (8 e 9 meses de idade).

Os animais que receberam suplementação de estradiol (cipionato de estradiol) apresentaram um aumento significativo no valor do índice uterino quando comparado com animais que receberam veículo, ( $t = 3,3$ ,  $GL = 17$ ;  $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

Foi observado diferença entre os tratamentos na ingestão diária de NaCl 0,3 M [ $F(1,100) = 4,964$ ;  $p < 0,05$ ], contudo o pós teste não apontou o tempo dessa diferença. Com relação à ingestão diária de água foi apresentado diferença apenas no oitavo dia de análise [ $F(1,100) = 21,762$ ;  $p < 0,001$ ] (Figura 5).

O tratamento com estradiol não promoveu uma alteração significativa entre os grupos com relação à ingestão de água no período de reidratação parcial, após protocolo de PH-RP (SHR + E2:  $3,2 \pm 0,3$ , vs. SHR + VEI:  $3,6 \pm 0,5$  ml/100 g/h) ( $t = 0,657$ ,  $gl = 17$ ;  $P = 0,520$ ).

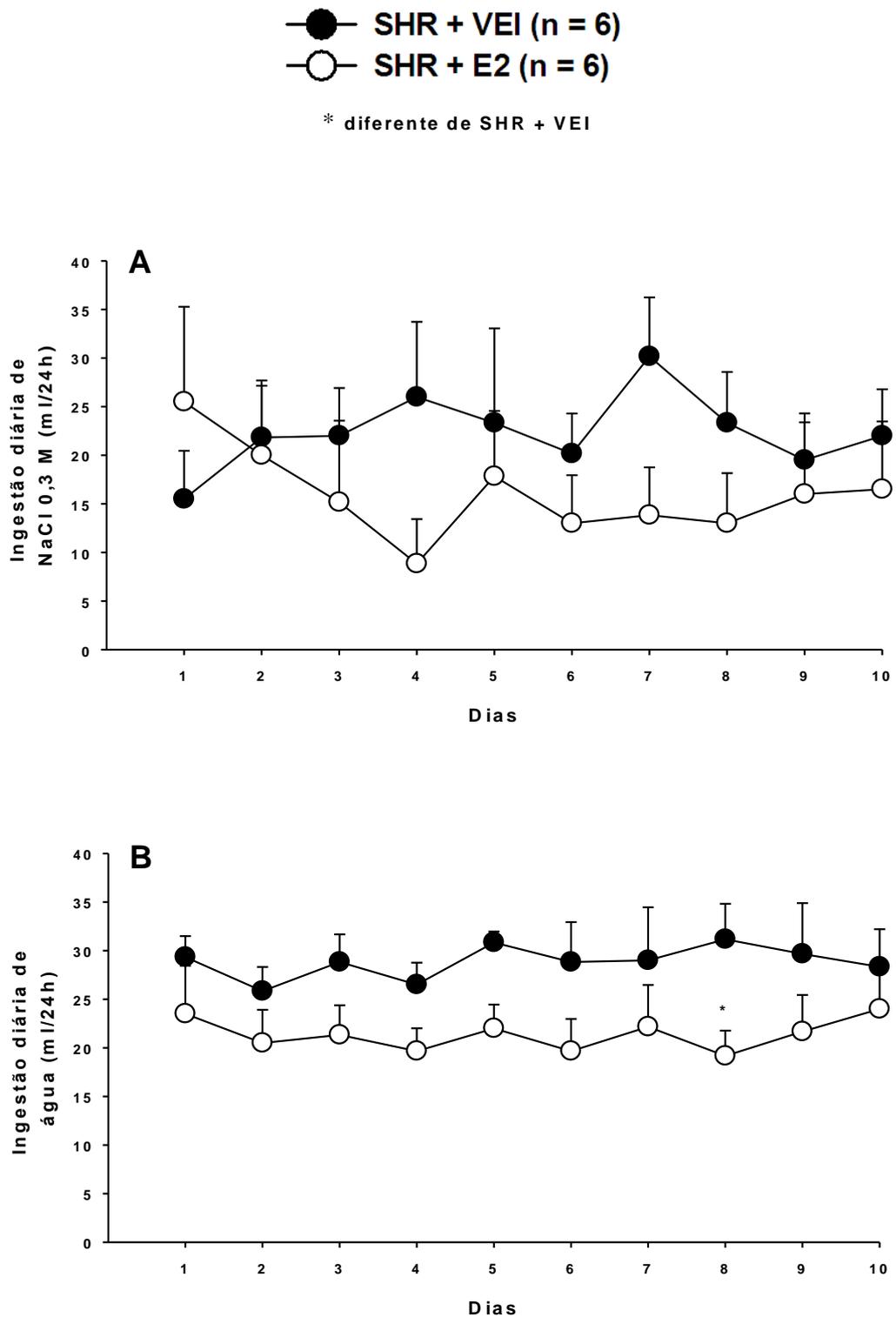
O estrógeno diminuiu a ingestão NaCl 0,3 M induzida por PH-RP no teste do apetite ao sódio ( $1,9 \pm 0,4$  vs. veículo:  $3,3 \pm 0,4$  ml / 60 min / 100 g). ANOVA apontou diferença apenas entre os tempos [ $F(1,34) = 7,413$ ;  $p < 0,05$ ], sem diferença entre os tratamentos [ $F(1,34) = 1,457$ ;  $p > 0,05$ ] ou interação entre tempos e tratamento [ $F(1,34) = 3,809$ ;  $p > 0,05$ ]. Em relação à ingestão de água, induzida pelo protocolo de PH-RP, não foram observadas diferenças entre os tratamentos ( $1,4 \pm 0,3$  vs. veículo:  $0,8 \pm 0,3$  ml / 60 min / 100 g), tratamento: [ $F(1,34) = 2,459$ ;  $p > 0,05$ ] (Figura 6).

Antes do acesso ao sódio, no tempo 0 min, o estrógeno diminuiu o número de respostas hedônicas frente ao NaCl 0,3 M intra-oral ( $162 \pm 22$ , vs. veículo:  $243 \pm 15$  / min) [ $F(1,45) = 7,076$ ;  $p < 0,05$ ] e aumentou as respostas aversivas ( $17 \pm 3$ , vs. veículo:  $4 \pm 2$  / min) [ $F(1,45) = 8,931$ ;  $p < 0,05$ ]. Contudo, para os tempos 30 e 60 min, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, tanto para as respostas hedônicas ( $148 \pm 34$ , vs. veículo:  $195 \pm 32$  /60 min), quanto aversivas ( $7 \pm 3$ , vs. veículo:  $3 \pm 2$  /60 min), (Figura 7).

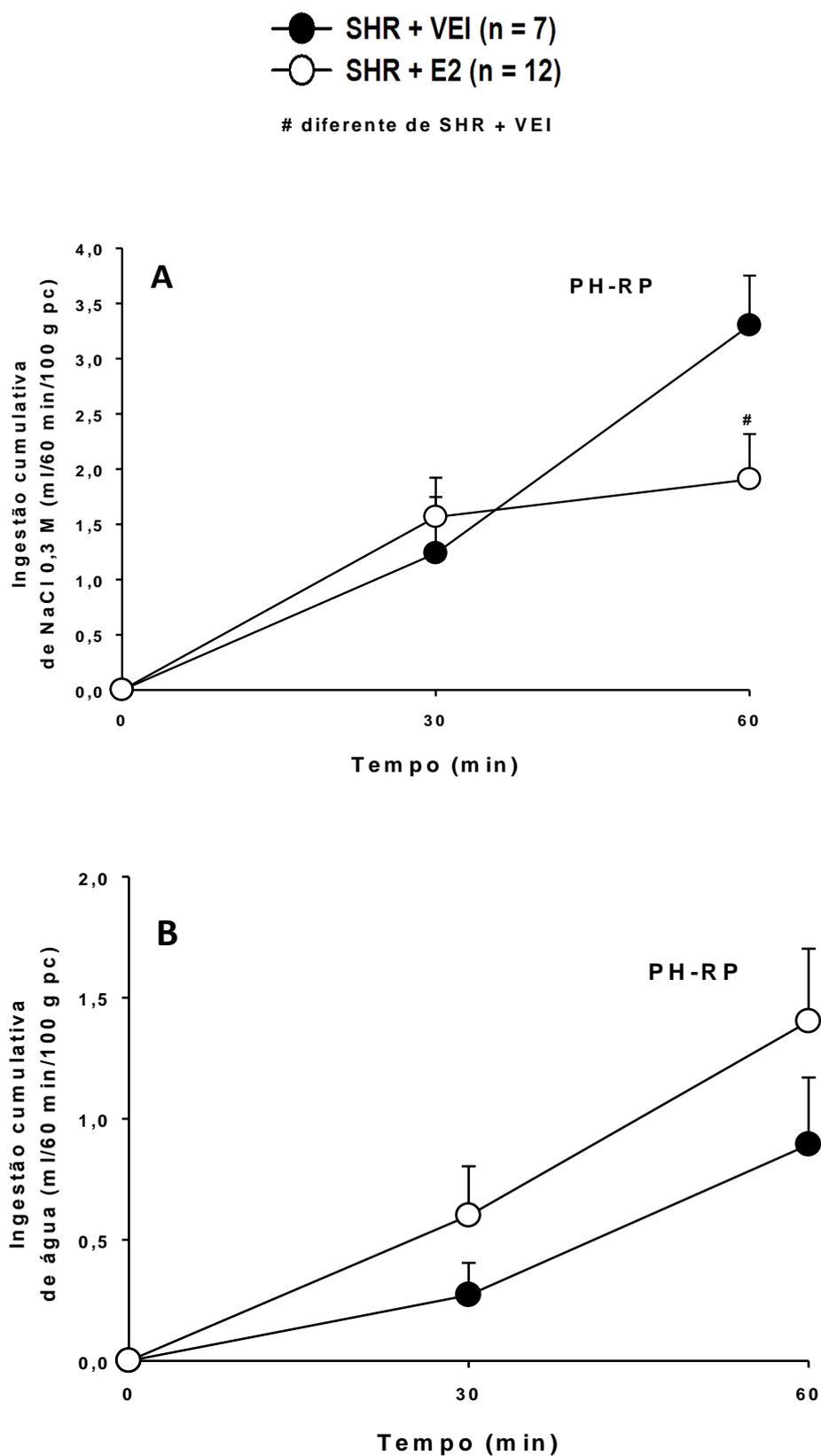
**Tabela 2.** Índice uterino, em mg/100g p. c., ratas hipertensas (SHR), com 8 e 9 meses de idade, intactas, com suplementação de estrógeno (E2) ou veículo (VEI).

<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR + E2 (n=12)</b>	164,5 ± 2,7	984,7 ± 98,2	599,3 ± 60,2*
<b>SHR + VEI (n=7)</b>	163 ± 3,8	507,7 ± 65,1	315,8 ± 45,9

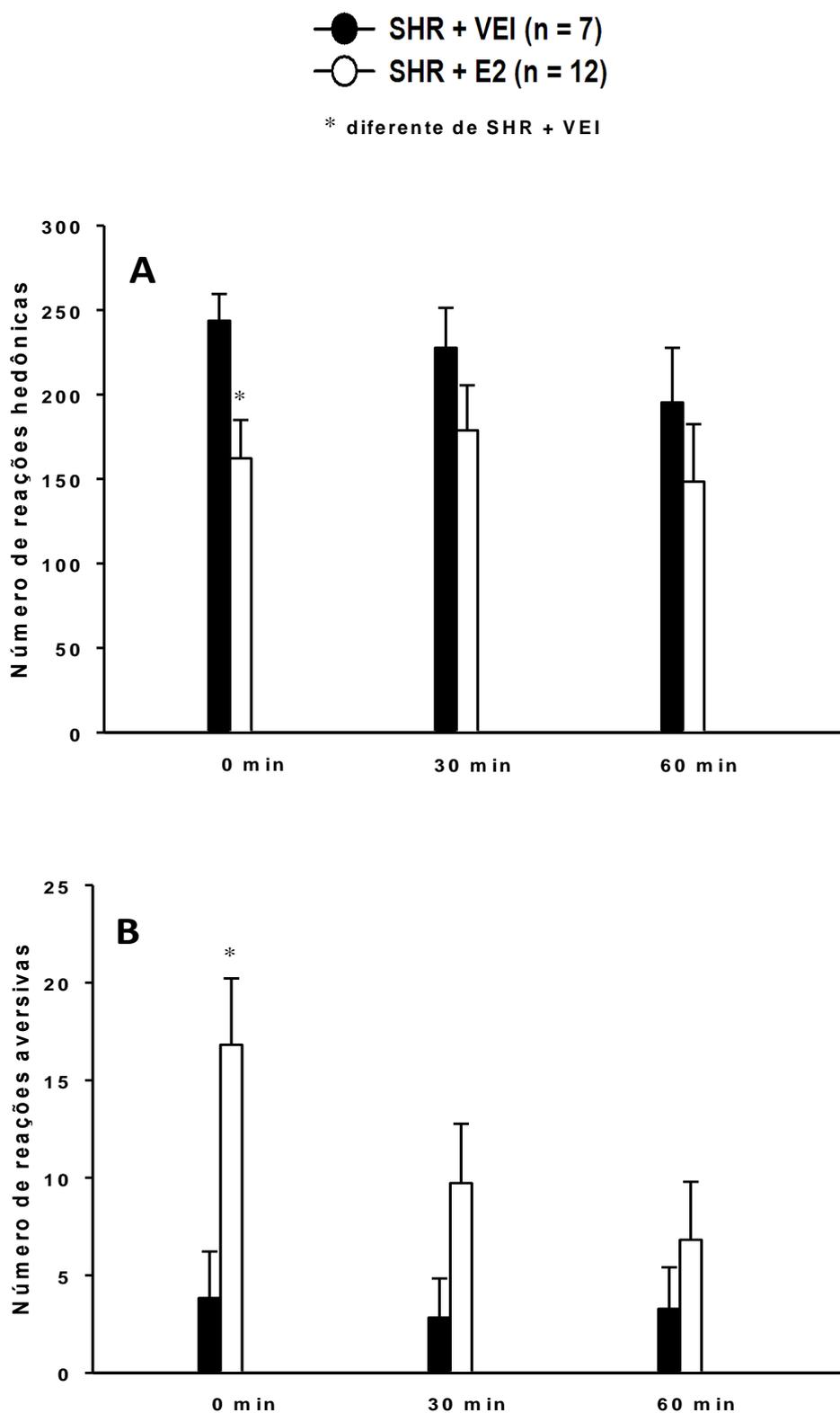
Resultados são expressos como média ± EPM; n = número de animais por grupo \* diferente de SHR + VEI.



**Figura 5.** **A)** Ingestão diária de NaCl 0,3 M (ml/24 h) e **B)** ingestão diária de água (ml/24 h) em ratas hipertensas com 12 meses de idade (SHR) submetidas à suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 6.** A) Ingestão de NaCl 0,3 M e B) Ingestão de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas com 12 meses de idade (SHR), submetidas a suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 7.** **A)** Respostas hedônicas e **B)** Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial ratas hipertensas com 8 e 9 meses de idade (SHR) submetidas à suplementação de estradiol (E2) ou veículo (VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.

#### **4.4. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite ao sódio em ratas espontaneamente hipertensas (4 – 5 meses de idade).**

As fêmeas SHR ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) apresentaram um valor maior de índice uterino em relação às fêmeas ovariectomizadas tratadas com veículo (OVX + VEI), confirmando assim a eficiência do tratamento com estrógeno,  $t = -4,249$ , GL 8, ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3).

Foi observada diferença significativa na ingestão diária de água, contudo o pós teste não apontou o tempo dessa diferença [ $F(1,63) = 6,003$ ;  $p < 0,05$ ]. Com relação à ingestão diária de NaCl 0,3 M foi observada diferença apenas no quarto e sexto dia de análise [ $F(1,63) = 10,916$ ;  $p < 0,05$ ] (Figura 8).

O grupo de ratas que recebeu a reposição de estrógeno apresentou uma menor ingestão de água no período de reidratação parcial após protocolo privação hídrica por 24 h em relação ao grupo de ratas ovariectomizadas (OVX + VEI), (SHR OVX + VEI:  $5,5 \pm 0,2$ , vs. SHR OVX + E2:  $4,4 \pm 0,7$  ml/100 g/h), ( $t = 2,645$ , GL 7,  $P < 0,05$ ).

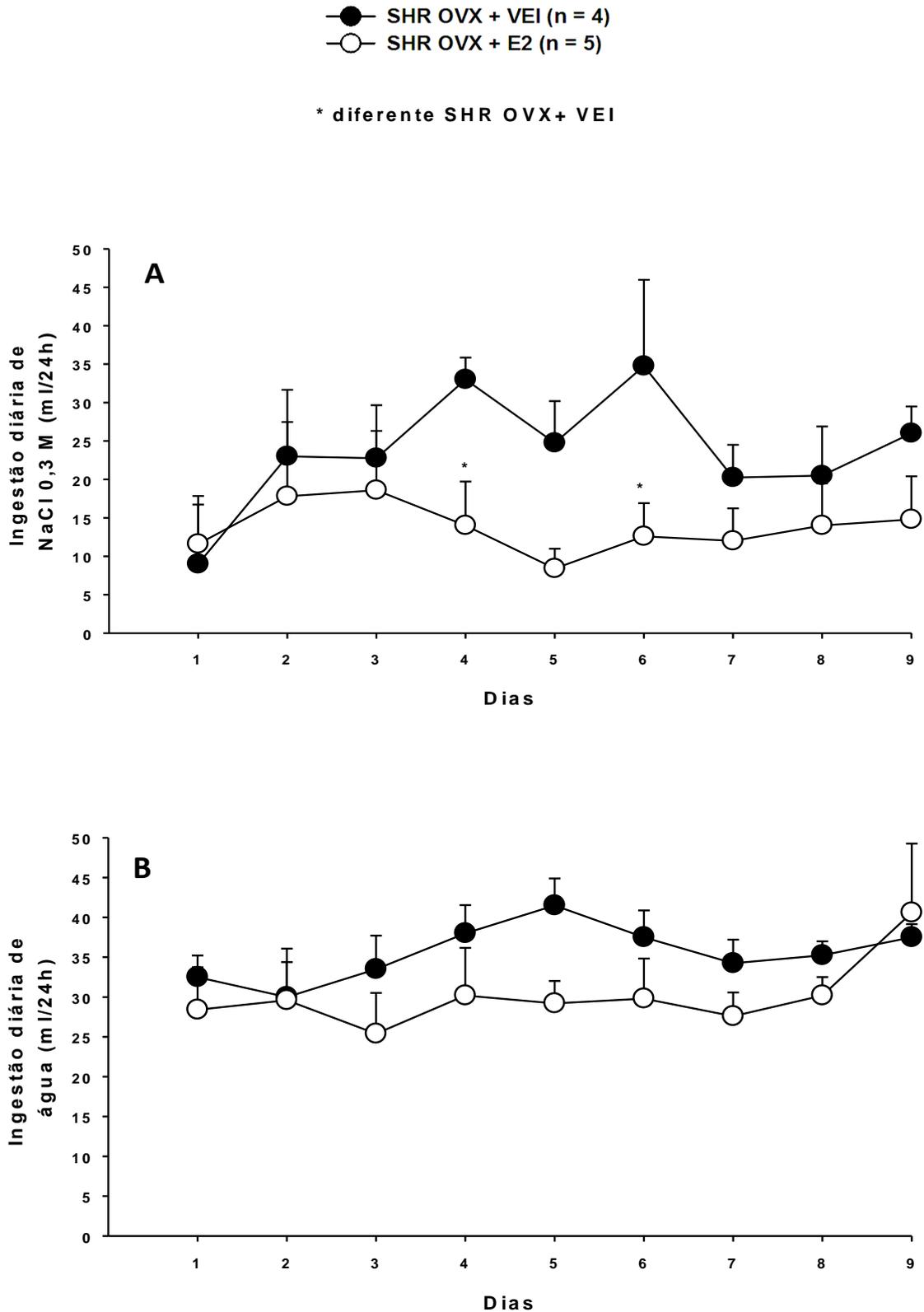
No teste do apetite ao sódio, a reposição de estrógeno diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP em ratas hipertensas (SHR OVX + VEI:  $4,2 \pm 1,0$ , vs. SHR OVX + E2:  $2,6 \pm 0,4$  ml/100 g/h). A administração i.c.v. do antagonista de receptores AT1, losartana, diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M no teste de apetite ao sódio induzido por PH-RP tanto em ratas ovariectomizadas quanto em ratas com reposição de estrógeno (SHR OVX + VEI salina:  $4,2 \pm 1,5$ , vs. SHR OVX + VEI losartana:  $0,5 \pm 0,1$ ; SHR OVX + E2 salina:  $2,7 \pm 0,4$ , vs. SHR OVX + E2 losartana:  $0,9 \pm 0,5$  ml/100 g/h), [ $F(3,42) = 14,810$ ;  $p < 0,001$ ].

Em relação à ingestão de água, ANOVA resultou em diferença entre o tratamento com losartana e salina no grupo SHR OVX + VEI, porém o pós-teste não indicou o tempo dessa diferença, [ $F(3,42) = 5.692$ ;  $p < 0,002$ ] (Figura 9).

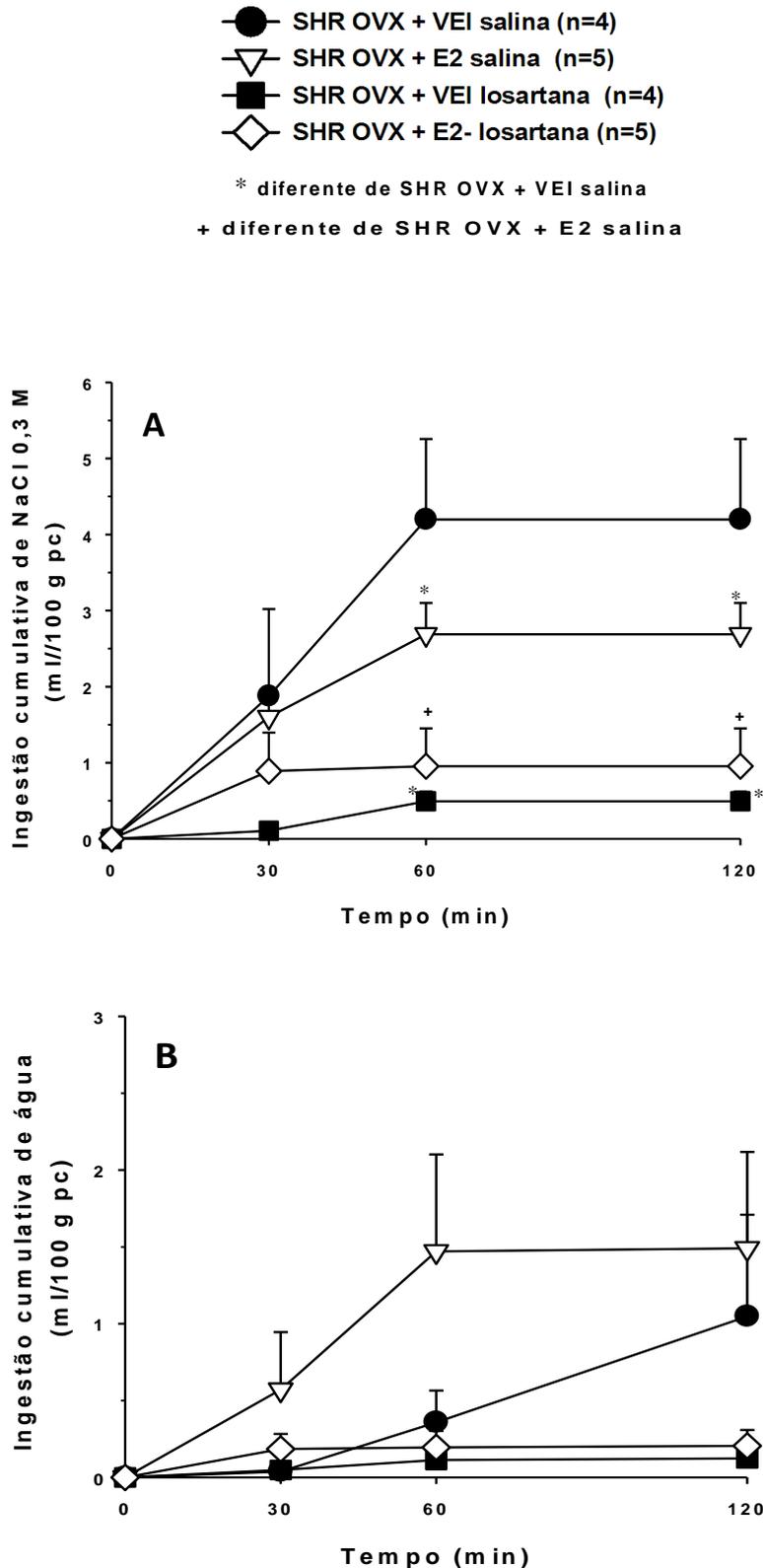
**Tabela 3.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI).

<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR OVX + E2 (n=5)</b>	176 ± 7,4	734,7 ± 96,5	451,3 ± 80,5*
<b>SHR OVX + VEI (n=4)</b>	194,8 ± 8,1	185,1 ± 32,8	97,8 ± 20,7

Resultados são expressos como média ± EPM; n = número de animais por grupo \* diferente de SHR OVX + VEI.



**Figura 8.** Ingestão diária de **A)** NaCl 0,3 M (ml/24h) e **B)** de água (ml/24h) em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 9.** Ingestão cumulativa de **A)** NaCl 0,3 M e **B)** de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.

#### 4.5. Influência da reposição de estrógeno sobre o apetite e palatabilidade ao sódio em ratas espontaneamente hipertensas e normotensas.

As fêmeas SHR e HTZ ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) apresentaram um valor maior de índice uterino em relação às fêmeas ovariectomizadas tratadas com veículo (OVX + VEI), confirmando assim a eficiência do tratamento com estrógeno, [F(1,25) = 31,863;  $p < 0,001$ ] (Tabela 4).

Na tabela 5 são apresentados os resultados dos níveis plasmáticos de estradiol (pg/ml) e os valores de índice uterino em ratas hipertensas e normotensas, ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI). As fêmeas SHR e HTZ ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) apresentaram um valor maior de índice uterino [F(1,10) = 27,913;  $p < 0,001$ ] e também nos níveis plasmáticos de beta-estradiol (pg/ml) [F(1,10) = 76,355;  $p < 0,001$ ] em relação às fêmeas ovariectomizadas tratadas com veículo (OVX + VEI).

A ingestão diária de água e NaCl 0,3 M foi avaliada por 8 dias, a partir do início do tratamento com E2 ou veículo. Na figura 10, estão representados os valores de ingestão diária de água e NaCl 0,3 M, corrigidos pelo peso corporal, do quarto ao sétimo dia do período de reposição com estradiol ou veículo em ratas hipertensas e normotensas. Não houve diferença significativa na ingestão diária de água entre as ratas de mesma linhagem, contudo, as ratas hipertensas tratadas com estradiol apresentaram uma maior ingestão de água, no sexto dia de análise, quando comparado com ratas normotensas tratadas com estradiol [F(3,100) = 5,292;  $p < 0,05$ ], (Figura 10B). Com relação à ingestão diária de NaCl 0,3 M (Figura 10A), também não foi observada diferença entre as ratas de mesma linhagem. Entretanto, as ratas SHR ovariectomizadas tratadas com veículo apresentaram uma maior ingestão diária de NaCl 0,3 M no quarto dia de análise, quando comparada com ratas normotensas tratadas com estradiol. No sexto dia de análise, as ratas SHR OVX apresentaram uma maior ingestão de NaCl 0,3 M quando comparado com ratas de linhagem HTZ OVX, sejam elas tratadas com estradiol ou veículo [F(3,100) = 7,654;  $p < 0,001$ ] (Figura 10).

As ratas SHR OVX e HTZ OVX, tratadas com estradiol ou veículo, não apresentaram diferença significativa na ingestão de água no período de reidratação parcial após o protocolo privação hídrica por 24 h (HTZ OVX+VEI:  $5,3 \pm 0,5$ , vs. HTZ OVX+E2:  $4,2 \pm 0,6$ ; SHR OVX+VEI:  $4,6 \pm 0,4$ , vs. SHR OVX+E2:  $3,5 \pm 0,3$  ml/100 g/h) [F(3,25) = 2,219;  $p > 0,05$ ].

A reposição de estrógeno diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M em ratas SHR, no teste de apetite ao sódio, induzido por PH-RP (SHR OVX+VEI salina:  $3,5 \pm 0,7$ ; vs. SHR OVX+E2 salina:  $1,1 \pm 0,3$  ml/100 g/h). A administração i.c.v. do antagonista de receptores AT1, losartana, diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M no teste de apetite ao sódio induzido por PH-RP em ratas ovariectomizadas tratadas com veículo (SHR OVX+VEI salina:  $3,5 \pm 0,7$ ; vs. SHR OVX+VEI losartana:  $0,3 \pm 0,2$ , ml/100 g/h), não apresentando diferença significativa nos animais tratados com estradiol (SHR OVX+E2 salina:  $1,1 \pm 0,3$ , vs. SHR OVX+E2 losartana:  $0,1 \pm 0,01$  ml/100 g/h), [F(3,48) = 18,879;  $p < 0,001$ ] (Figura 11A). Em relação à ingestão de água, houve redução após o tratamento com losartana i.c.v. nos grupo tratados com estradiol (SHR OVX+E2 losartana:  $0,1 \pm 0,02$  ml/100 g/h) e com veículo (SHR OVX+VEI + losartana:  $0,2 \pm 0,09$  ml/100 g/h), quando comparados aos animais que receberam salina i.c.v. (SHR OVX+E2 salina:  $1,1 \pm 0,4$  e SHR OVX+VEI salina:  $0,9 \pm 0,4$  ml/100 g/h), [F(3,48) = 4,374;  $p < 0,05$ ] (Figura 11B).

Já em fêmeas HTZ OVX, não foi observada diferença significativa na ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP em ratas normotensas tratadas com estradiol ou veículo (HTZ OVX+VEI salina:  $1,2 \pm 0,4$ , vs. HTZ OVX+E2 salina:  $0,7 \pm 0,3$  ml/100 g/h). Entretanto, após administração i.c.v. de losartana, ocorreu uma diminuição na ingestão de NaCl 0,3 M em ratas ovariectomizadas tratadas com veículo (HTZ OVX+VEI losartana:  $0,1 \pm 0,04$  vs. HTZ OVX+VEI salina:  $1,2 \pm 0,4$  ml/100 g/h), não apresentando diferença entre os animais tratados com estradiol (HTZ OVX + E2 losartana:  $0,1 \pm 0,04$  vs. HTZ OVX + E2 salina:  $0,7 \pm 0,3$  ml/100 g/h), [F(3,52) = 6,166;  $p < 0,001$ ] (Figura 12A). Em relação à ingestão de água, os resultados mostram que não houve diferença significativa entre os grupos de ratas normotensas, sejam elas tratadas com estradiol ou veículo (HTZ OVX+VEI salina:  $1,4 \pm 0,4$ , vs. HTZ OVX+E2 salina:  $0,8 \pm 0,3$  ml/100 g/h). Contudo, após injeções i.c.v. de losartana foi observada uma inibição da ingestão de água, quando comparado com injeções i.c.v. de salina em ambos os grupos de ratas normotensas (HTZ OVX+VEI salina:  $1,4 \pm 0,4$ , vs. HTZ OVX+VEI losartana:  $0,04 \pm 0,01$ ; HTZ OVX+E2 salina:  $0,8 \pm 0,3$ , vs. HTZ OVX + E2 losartana:  $0,07 \pm 0,04$  ml/100 g/h) [F(3,52) = 9,348;  $p < 0,001$ ] (Figura 12B).

Em relação ao teste de reatividade ao sabor em animais SHR, antes do acesso ao sódio (0 min) foi observado que a reposição de estrógeno diminuiu a frequência de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M em ratas hipertensas castradas (SHR OVX+E2 salina:  $60 \pm 16$ /min), quando comparado com ratas controle (SHR OVX+VEI salina:  $177 \pm 48$ /min), sem alteração no número de respostas aversivas (SHR OVX+E2 salina:  $43 \pm 5$ ; vs. SHR OVX+VEI salina:  $20 \pm 5$ /min). Ainda no período prévio ao acesso ao NaCl 0,3 M (tempo 0

min), a administração i.c.v. de losartana promoveu uma diminuição no número de respostas hedônicas quando comparado com injeções i.c.v. de salina em ratas SHR OVX+VEI (SHR OVX+VEI salina:  $177 \pm 48$ ; vs. SHR OVX+VEI losartana:  $63 \pm 10/\text{min}$ ), [F(3,66) = 11,541;  $p < 0,001$ ]. Nesse período a administração de losartan não alterou a frequência de respostas aversivas (SHR OVX+VEI salina:  $20 \pm 5$ ; vs. SHR OVX+VEI losartana:  $50 \pm 9/\text{min}$ ), (Figura 13).

Na figura 13 também se observa que aos 30 e 60 minutos a losartana não alterou a frequência de respostas hedônicas, contudo aumentou o número de respostas aversivas aos 30 min, [F(3,66) = 6,782;  $p < 0,001$ ]. Ao final dos 60 minutos, novamente foi visto que a reposição com estradiol diminuiu o número de respostas hedônicas em ratas hipertensas ovariectomizadas, quando comparadas com ratas tratadas com veículo, (Figura 13).

Na tabela 6 foi apresentado a comparação do número de reações hedônicas e aversivas de ratas SHR em resposta à infusão intra-oral de NaCl 0,3 M durante condições basais (normoidratação) e após protocolo de PH-RP. O tratamento com estrógeno não alterou a frequência de respostas hedônicas durante a condição basal, e sim apenas após a PH-RP. ANOVA mostrou diferença significativa entre tratamentos para as respostas hedônicas [F(1,45) = 8,809;  $p < 0,05$ ]. Em relação ao número de respostas aversivas, ANOVA mostrou diferença entre tratamentos [F(1,45) = 4,650;  $p < 0,05$ ], contudo o pós-teste não apontou em qual condição.

**Tabela 4:** Índice uterino, em mg/100g p. c., ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI).

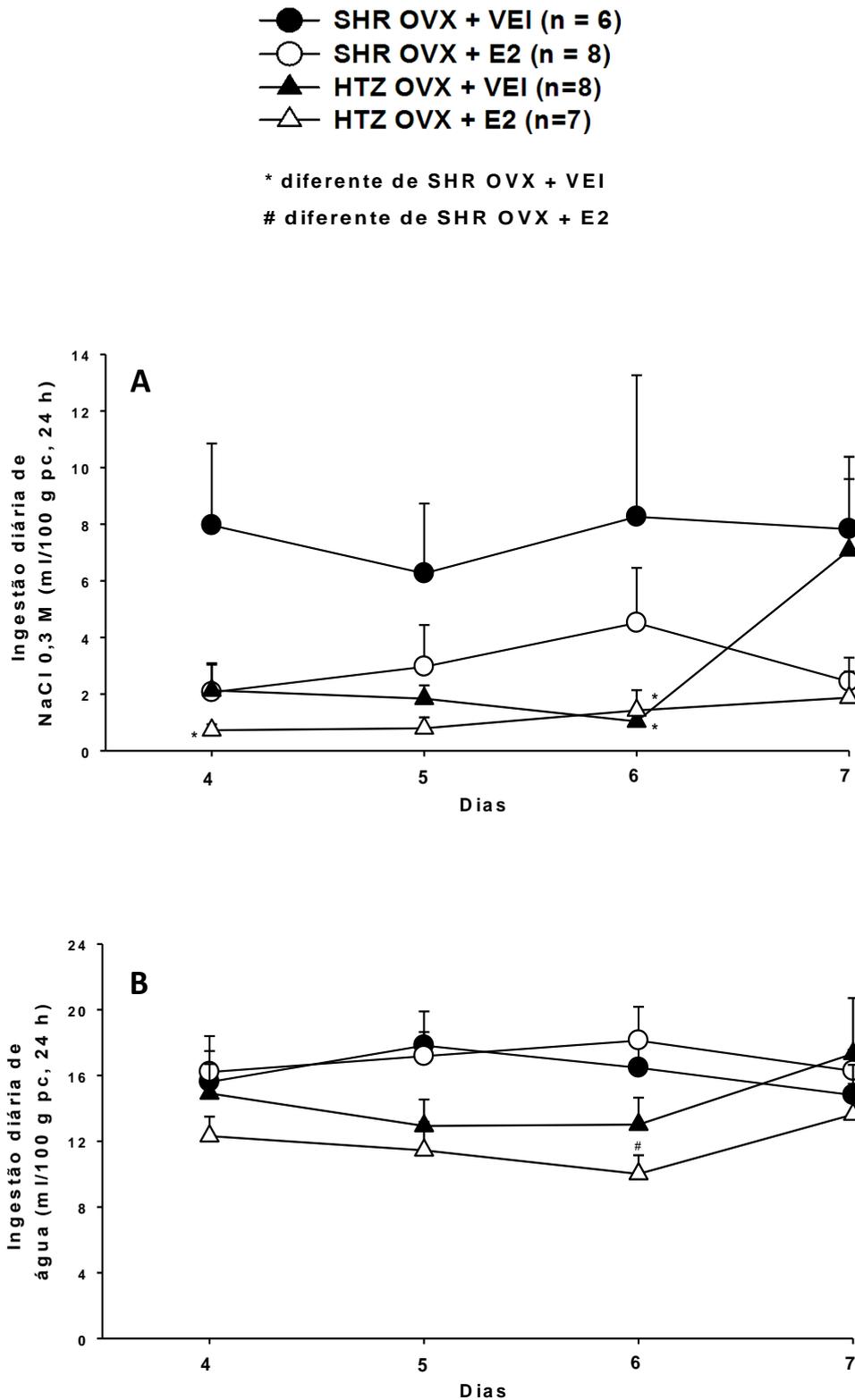
<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>Índice Uterino (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR OVX + VEI (n=6)</b>	187,5 ± 5,1	195,4 ± 19	105,9 ± 13,2
<b>SHR OVX+E2 (n=8)</b>	166,3 ± 6	950,4 ± 159,9	567,6 ± 91*
<b>HTZ OVX + VEI (n=8)</b>	272,5 ± 6,8	200,6 ± 22,1	71,1 ± 7,2
<b>HTZ OVX+E2 (n=7)</b>	265,1 ± 12,2	1545,7 ± 442,2	560,1 ± 137,1 <sup>#</sup>

Resultados são expressos como média ± EPM; n = número de animais por grupo \* diferente de SHR OVX + VEI.

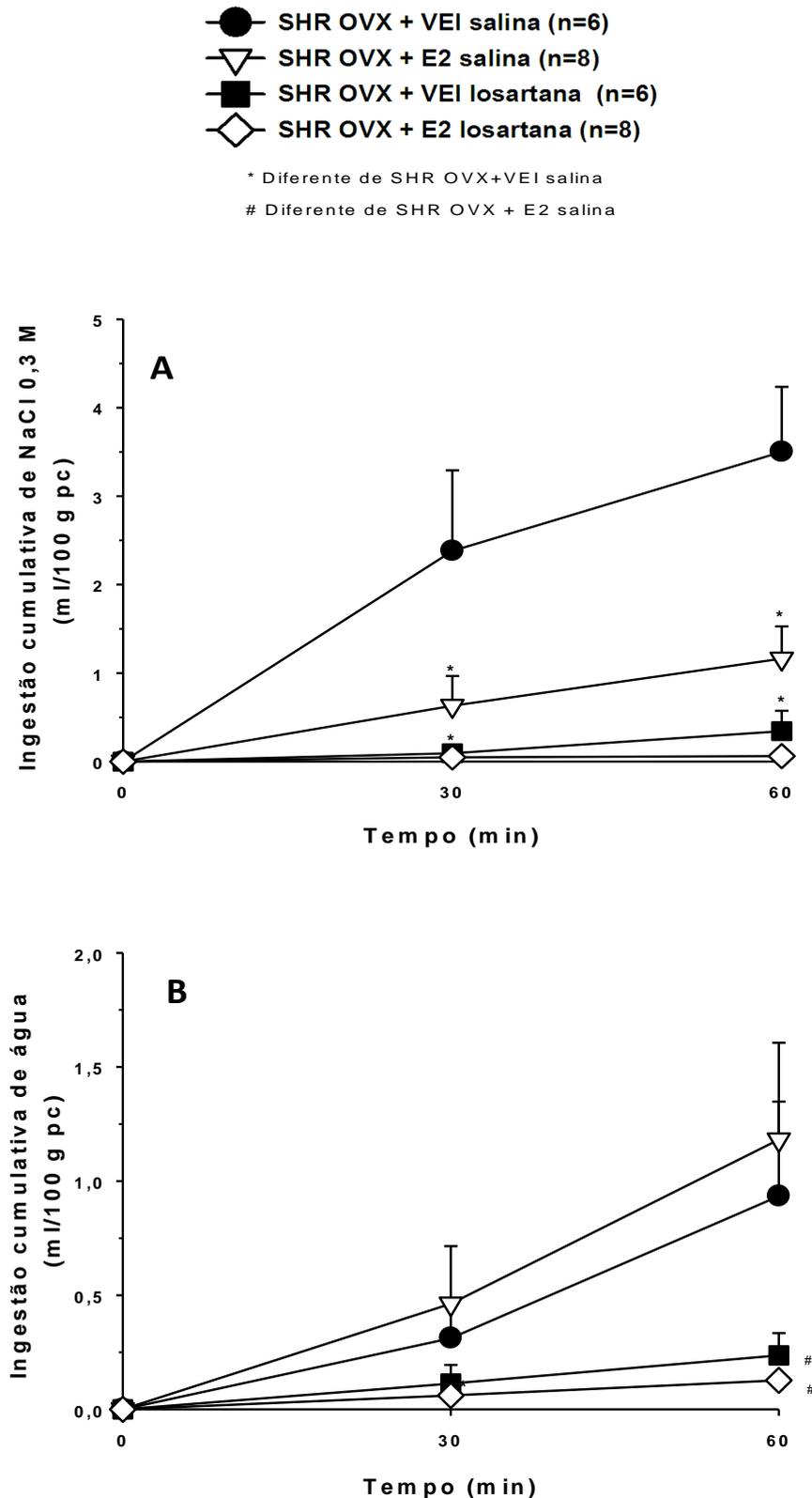
**Tabela 5.** Níveis plasmáticos de estradiol (pg/ml) e valores de índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI).

RATAS	PESO (g)	PESO ÚTERO (mg)	ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)	ESTRADIOL PLASMÁTICO (pg/ml)
<b>SHR</b>				
<b>OVX+VEI (n=3)</b>	181,3 ± 6,6	176 ± 4,8	97,5 ± 6,3	<11,8
<b>SHR OVX+E2 (n=4)</b>	166,2 ± 10,5	918 ± 209	545 ± 116,1*	171,2 ± 24,1*
<b>HTZ</b>				
<b>OVX+VEI (n=4)</b>	285,7 ± 9	267,5 ± 54,6	94,2 ± 20,4	<11,8
<b>HTZ OVX+E2 (n=3)</b>	265 ± 12,6	1179,2 ± 232,9	439,3 ± 65,5#	128,3 ± 16,1#

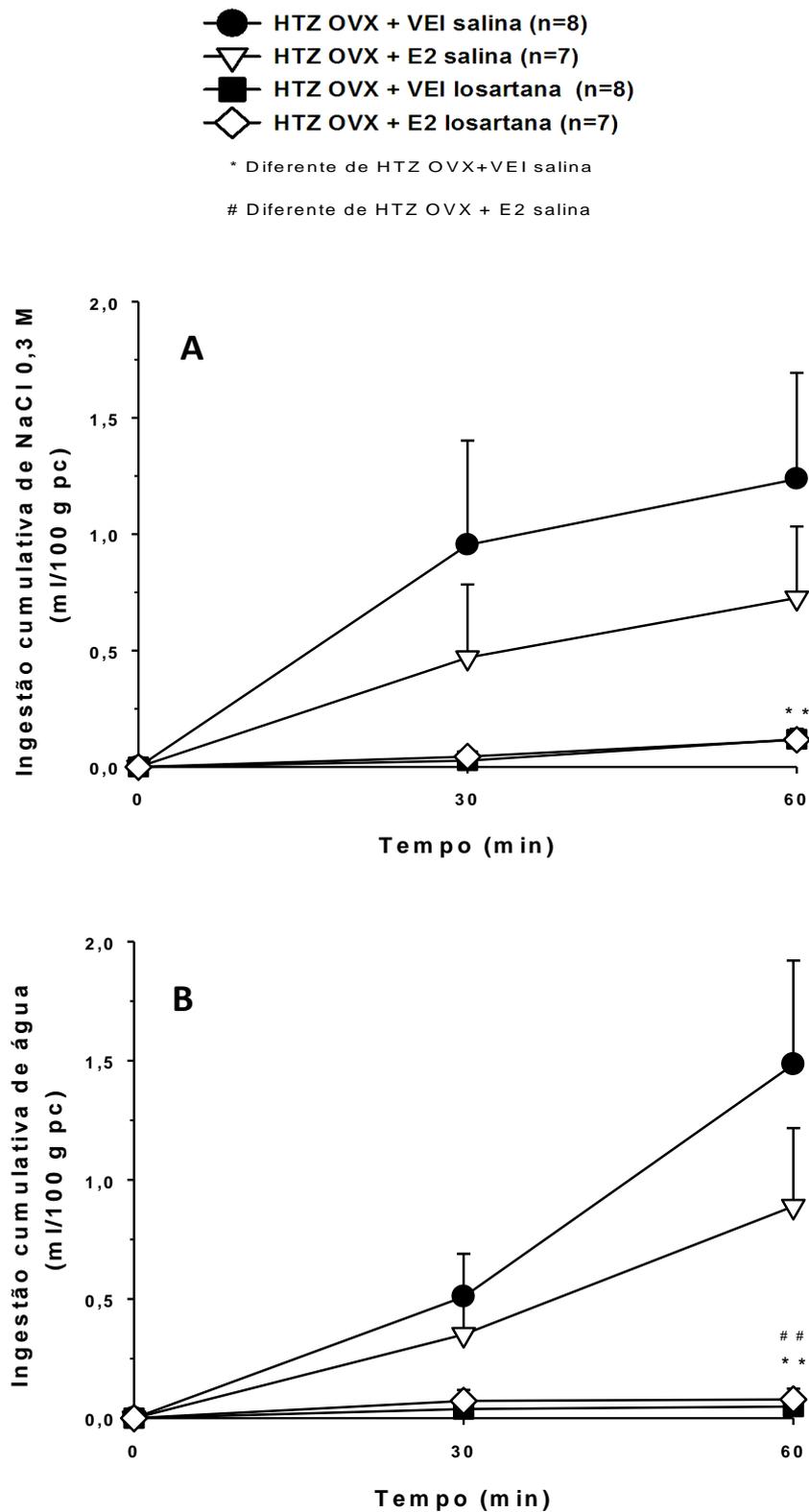
Resultados são expressos como média ± EPM; \* diferente de SHR OVX+VEI, # diferente de HTZ OVX+VEI; n = número de animais por grupo.



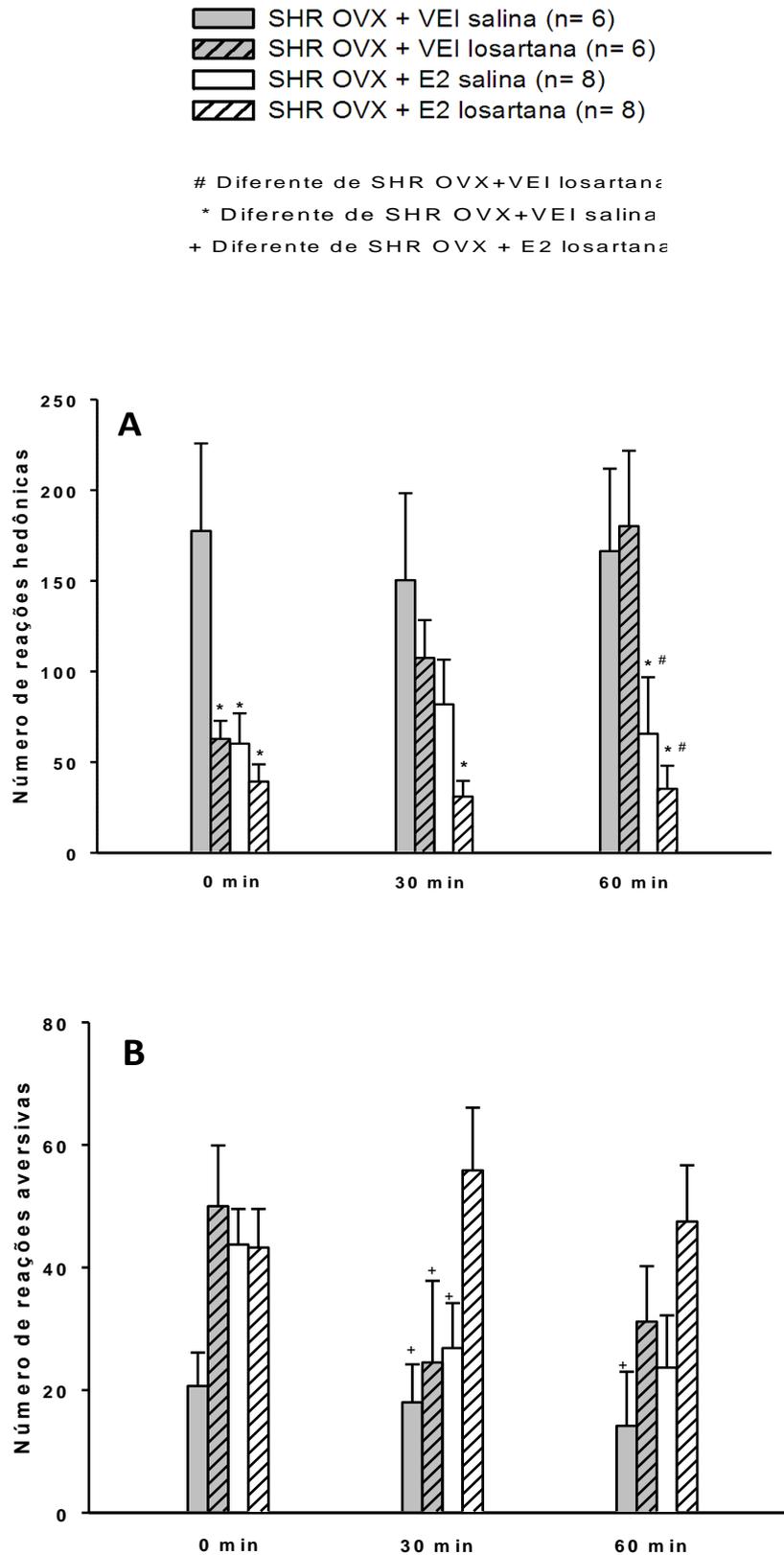
**Figura 10.** Ingestão diária de **A)** NaCl 0,3 M (ml/24 h) e **B)** água (ml/24 h) em ratas hipertensas (SHR) e normotensas (HTZ) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 11.** Ingestão cumulativa de **A**) NaCl 0,3 M e **B**) de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 12.** Ingestão cumulativa de **A)** NaCl 0,3 M e **B)** de água durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas normotensas (HTZ), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.



**Figura 13.** A) Respostas hedônicas e B) Respostas aversivas ao teste de reatividade ao sabor ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por privação hídrica e reidratação parcial, em ratas hipertensas (SHR), ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), com injeções i.c.v. de losartana ou salina. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.

**Tabela 6.** Comparação do número de reações hedônicas e aversivas em resposta à infusão intra-oral de NaCl 0,3 M em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), em condições basais (normoidratadas), após período de reidratação parcial (RP), e 30 e 60 min durante a fase de apetite ao sódio.

<b>NÚMERO DE RESPOSTAS HEDÔNICAS</b>				
<b>Tratamentos</b>	<b>Basal</b>	<b>RP</b>	<b>Apetite ao sódio 30'</b>	<b>Apetite ao sódio 60'</b>
<b>SHR OVX+VEI</b>	112 ± 38,2 (n=7)	177,5 ± 48,2 (n=6)	150,3 ± 47,9 (n=6)	166,3 ± 45,5 (n=6)
<b>SHR OVX+E2</b>	92,4 ± 37,4 (n=7)	60,2 ± 16,6* (n=8)	81,8 ± 24,6 (n=8)	65,6 ± 31,1* (n=8)

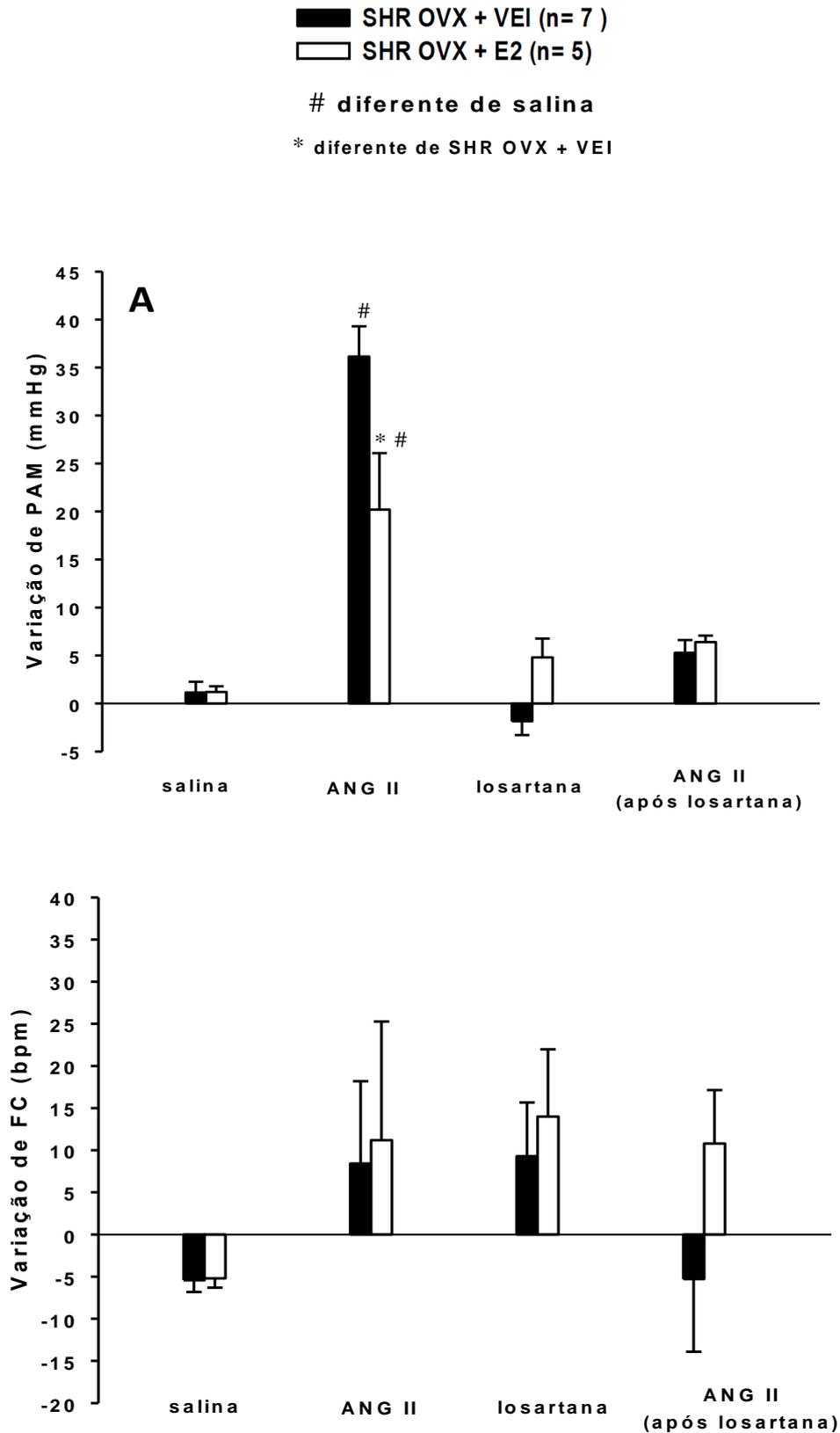
<b>NÚMERO DE RESPOSTAS AVERSIVAS</b>				
<b>Tratamentos</b>	<b>Basal</b>	<b>RP</b>	<b>Apetite ao sódio 30'</b>	<b>Apetite ao sódio 60'</b>
<b>SHR OVX</b>	30,8 ± 9,2	20,6 ± 5,4	18 ± 6,1	14,1 ± 8,8
<b>SHR OVX E2</b>	40,4 ± 12,2	43,7 ± 5,7	26,8 ± 7,3	23,6 ± 8,5

Resultados são expressos como média ± EPM; n = número de animais por grupo; \* diferente de SHR OVX+VEI.

#### 4.6. Influência da reposição de estrógeno sobre os parâmetros cardiovasculares em ratas espontaneamente hipertensas (SHR) saciadas e após PH-RP.

A figura 14 mostra a variação de PAM e FC em ratas SHR OVX saciadas com reposição de estrógeno ou veículo, após administração i.c.v de salina, ANG II e losartana. O efeito pressor da angiotensina II foi menor em ratas com reposição de estrógeno ( $\Delta$ PAM: SHR OVX + E2:  $20 \pm 6$  vs. SHR OVX + VEI:  $36 \pm 3$  mmHg). Administração de losartana no VL em ratas saciadas não promoveu alteração significativa na PAM e FC basais em ambos grupos de ratas, mas reverteu o efeito pressor da ANG II (Figura 14A). ANOVA mostrou interação entre o tratamento sistêmico e central [ $F(3,40) = 6,4$ ;  $p < 0,001$ ]. Em relação à variação de FC, não foram observadas diferenças significativas [ $F(3,40) = 0,32$ ;  $p > 0,05$ ] (Figura 14B). As fêmeas ovariectomizadas (OVX + VEI) apresentaram um valor menor de índice uterino em relação às fêmeas com reposição de estrógeno (OVX + E2), confirmando assim a eficiência da ovariectomia ( $t = -4,543$ , GL 10 ( $P < 0,05$ )) (Tabela 7).

Após período de 24 h de privação hídrica e reidratação parcial não foram observadas diferenças significativas na PAM [ $F(1,30) = 0,0702$ ;  $p > 0,05$ ] e FC ([ $F(1,30) = 0,0178$ ;  $p > 0,05$ ] de ambos os grupos em relação à condição controle (Figura 15). A eficiência do tratamento com estrógeno nessas ratas foi confirmado a partir do índice uterino, no qual as ratas apresentaram um valor maior quando comparado com fêmeas ovariectomizadas (OVX + VEI) ( $t = -4,112$ , GL 10;  $P < 0,05$ ) (Tabela 8).

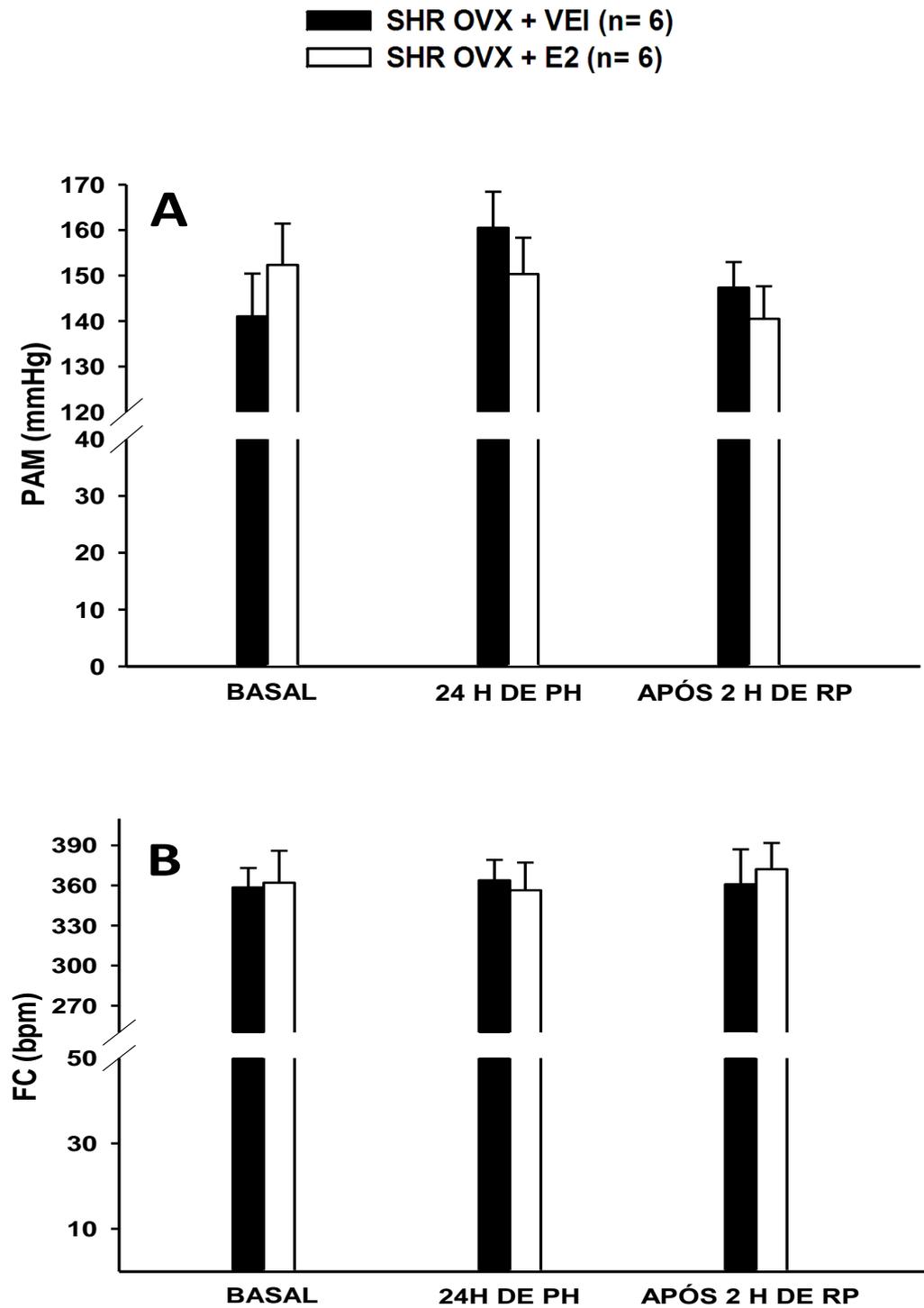


**Figura 14.** Variação de A) PAM e B) FC em ratas saciadas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI). Valores são representados como média  $\pm$  EPM N = número de animais por grupo.

**Tabela 7.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), grupo saciado.

<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR OVX + E2 (n=5)</b>	170,2 ± 6,7	682,9 ± 66,4	407,2 ± 50,8*
<b>SHR OVX + VEI (n=7)</b>	164,2 ± 5,6	226,7 ± 41,3	143,6 ± 33,2

Resultados são expressos como média ± EPM; \* diferente de SHR OVX + VEI.



**Figura 15.** A) PAM e B) FC em ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estrógeno (OVX + E2) ou veículo (OVX + VEI), antes e após PH-RP. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; N = número de animais por grupo.

**Tabela 8.** Índice uterino, em mg/100g p. c., de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas tratadas com estradiol (OVX+E2) ou veículo (OVX+VEI), grupo submetido à PH-RP.

<b>RATAS</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO ÚTERO (mg)</b>	<b>ÍNDICE UTERINO (mg/100g p. c.)</b>
<b>SHR OVX + E2 (n=6)</b>	169 ± 5,8	654,3 ± 61,4	391,9 ± 44,6*
<b>SHR OVX + VEI (n=6)</b>	164,6 ± 6,6	233,2 ± 48,6	148,3 ± 38,9

Resultados são expressos como média ± EPM; n = número de animais por grupo \* diferente de SHR OVX + VEI.

## 5. DISCUSSÃO

Os presentes resultados mostram que a ausência dos hormônios ovarianos aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por privação hídrica com reidratação parcial (PH-RP) no teste do apetite ao sódio em ratas HTZ e SHR, em comparação aos respectivos controles com cirurgia fictícia. No teste de reatividade ao sabor, houve aumento da frequência de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M tanto em normotensas como hipertensas castradas, enquanto que a frequência de respostas aversivas não foi alterada pela ovariectomia. A suplementação com alta dose de estrógeno em ratas SHR intactas diminuiu a frequência de respostas hedônicas e aumentou frequência de respostas aversivas à infusão intra-oral de NaCl 0,3 M, após o período de reidratação parcial, antes do acesso ao sódio. A suplementação de estrógeno também diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M sem alteração na frequência de respostas hedônicas ou aversivas à IO-NaCl após a ingestão de sódio em fêmeas SHR. A reposição diária de estrógeno (10 µg/rata) diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP, sem alterações dos parâmetros cardiovasculares basais em SHR. A reposição diária de estrógeno (10 µg/rata) também reduziu o número de respostas hedônicas, sem alterar significativamente a frequência de reações aversivas, à infusão intra-oral de NaCl 0,3 M após o período de reidratação parcial antes do início do teste do apetite ao sódio.

Estudos anteriores de nosso laboratório (FARIA et al., 2014) verificaram que ratos hipertensos (SHR) apresentam um aumento na palatabilidade a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M quando comparado aos animais normotensos HTZ, de forma independente às condições do balanço hidromineral nos SHR. Esses resultados obtidos em machos sugerem que o aumento das propriedades hedônicas, de uma solução de NaCl normalmente aversiva, contribui para a maior ingestão de sódio pelos SHR. Semelhantemente, os presentes resultados mostram que as ratas hipertensas (SHR) com ovariectomia fictícia também apresentam um aumento na palatabilidade ao NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio induzido por PH-RP, em comparação as ratas normotensas de mesmo tratamento. Além disso, quando se compara o número de respostas hedônicas e aversivas em ratas SHR ovariectomizadas em condições basais (saciadas) ou na fase do apetite ao sódio, não foram observadas diferenças na palatabilidade ao NaCl 0,3 M, independentemente do tratamento com estradiol ou veículo. Em conjunto esses dados sugerem que animais SHR apresentam uma elevada palatabilidade ao NaCl 0,3 M de forma independente às condições do balanço hidromineral.

Neste estudo verificamos que a ausência dos hormônios ovarianos aumentou o apetite ao sódio induzido pela privação hídrica e reidratação parcial, em ambos os grupos, normotensos e hipertensos. O tratamento de reposição de estrógeno em ratas SHR OVX diminuiu a ingestão de sódio induzida por PH-RP em comparação ao grupo SHR OVX tratado com veículo, sem alterações da ingestão de água. Esses resultados mostram um efeito inibitório do estrógeno sobre o apetite ao sódio em fêmeas SHR, corroborando os estudos anteriores sobre a importância deste hormônio sobre o equilíbrio hidroeletrolítico. Em estudo de Antunes-Rodrigues & Covian da década de 1960 foi descrito que durante o período estral, que é a fase do ciclo reprodutivo onde há maior concentração plasmática de estrógeno, os animais apresentavam diminuição da ingestão de sódio, por outro lado, durante o diestro, quando há baixos níveis de estrógeno plasmático, os animais aumentavam a ingestão de sódio [Antunes-Rodrigues & Covian, 1960 apud (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2014)]. Estudos mais recentes mostraram que a terapia com estrógeno também diminuiu a ingestão de água e aboliu a ingestão de sal induzida por injeções i.c.v. de ANG II em ratas normotensas ovariectomizadas (OVX) (DOVALE et al., 1995; MECAWI et al., 2007). Além disso, foi mostrado em ratas normotensas que o tratamento com estradiol também diminuiu a ingestão de água após período de 24 h de privação hídrica (MECAWI et al., 2007; MECAWI et al., 2008).

Vários estudos mostram que a diferença de sexo do animal afeta diretamente as preferências de sabores e comportamentos de ingestão (VALENSTEIN; KAKOLEWSKI; COX, 1967; ZUCKER, 1969; WADE; ZUCKER, 1970; FLYNN; SCHULKIN; HAVENS, 1993; CLARKE; OSSENKOPP, 1998). Mais especificamente, as fêmeas apresentam maior preferência às soluções de sacarina e açúcar do que os machos (VALENSTEIN; KAKOLEWSKI; COX, 1967). Fêmeas da linhagem Long-Evans testadas durante a fase de diestro ou proestro apresentaram maior número de respostas ingestivas à infusão intra-oral de sacarose (0,3 M) do que os machos, e menor número de respostas aversivas à infusão intra-oral de mistura de sacarose/quinina (sacarose 0,3 M e quinina 0,0003 M) do que ambos machos e fêmeas testadas durante estro ou metaestro (CLARKE; OSSENKOPP, 1998). Esta correlação entre mudanças no teste de reatividade ao sabor e diferentes fases do ciclo estral/níveis hormonais sugerem um impacto dos hormônios ovarianos na modulação da palatabilidade ao sabor. Em relação ao sabor salgado, resultados de Flynn e cols (1993) mostraram que, em condições hidratadas, fêmeas Sprague-Dawley (intactas) apresentaram um número maior de respostas hedônicas ao NaCl 0,15 M e 0,3 M quando comparado com machos de mesma linhagem, mostrando uma maior preferência. Contudo, a infusão intraoral de NaCl 1,0 M

---

---

elicitou um numero maior de respostas aversivas quando comparado aos machos, (FLYNN; SCHULKIN; HAVENS, 1993).

Em relação ao teste de reatividade ao sabor a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M durante a fase do apetite ao sódio, verificamos que a ausência dos hormônios ovarianos aumentou a frequência de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M tanto em ratas normotensas como hipertensas castradas em comparação com as respectivas ratas controles, enquanto que a frequência de respostas aversivas não foi alterada pela ovariectomia. Em ratas SHR intactas (com 8 e 9 meses de idade), a suplementação de estrógeno diminuiu o número de respostas hedônicas à IO-NaCl e aumentou o número de respostas aversivas após a reidratação parcial antes do acesso ao sódio. A suplementação de estrógeno também diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M, sem diferença significativa entre os grupos no número de respostas hedônicas ou aversivas à IO-NaCl após a ingestão de sódio. Apesar da diferença de idade, verificamos que o índice uterino das ratas SHR intactas (8 e 9 meses) que receberam veículo foi semelhante ao das ratas SHR com ovariectomia fictícia (4 – 5 meses), sugerindo que as fêmeas com 8 e 9 meses de idade ainda estariam ciclando. No entanto, no presente estudo não foi avaliada o ciclo estral das ratas intactas ou com ovariectomia fictícia, além da verificação do índice uterino.

A reposição diária de estrógeno (10 µg/dia) diminuiu o número de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M, em ratas hipertensas com apetite ao sódio (induzidas por PH-RP). Esse mesmo resultado também foi verificado ao final dos sessenta minutos de acesso e ingestão de NaCl 0,3 M. Essa reposição diária com estrógeno não produziu alteração significativa no número de reações aversivas em SHR. Em alguns animais desse grupo foi realizada a coleta de sangue para determinação das concentrações plasmáticas de estrógeno, além do índice uterino. Verificou-se que fêmeas SHR e HTZ ovariectomizadas tratadas com veículo apresentaram níveis plasmáticos de estradiol mínimos, enquanto que os grupos tratados com estradiol (OVX + E2) apresentaram um valor maior de índice uterino e níveis plasmáticos de estradiol que correspondem aos valores observados em condições fisiológicas durante a fase reprodutiva desses animais (BUTCHER; COLLINS; FUGO, 1974; SAMPSON et al., 2012; TAZUMI et al., 2016), confirmando assim a eficiência do tratamento com estrógeno.

Em conjunto, os resultados do presente estudo mostram que: a) na ausência dos hormônios ovarianos ocorreu aumento da frequência de respostas hedônicas; b) a reposição diária de estrógeno (10 µg/dia) diminuiu o número de respostas hedônicas; c) a suplementação de estrógeno diminuiu o número de respostas hedônicas e aumentou o número de respostas aversivas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M após a reidratação parcial antes do acesso ao sódio,

---

---

---

---

sugerindo que o estrógeno pode diminuir a palatabilidade do sódio. Portanto, os resultados sugerem que o estrógeno modula a palatabilidade do sódio, tendo um efeito inibitório, influenciando a ingestão deste íon.

Esse efeito inibitório do estrógeno sobre a palatabilidade ao sódio parece não ser secundário a alterações do balanço hidromineral. Em ratas normotensas OVX durante condições basais (nomoidratação), o tratamento com estrógeno não alterou a osmolaridade plasmática e hematócrito, nem o volume ou osmolaridade urinárias ou os níveis basais de AVP, OT, e ANG II (VILHENA-FRANCO et al., 2016). Em relação ao protocolo de privação hídrica e reidratação parcial, a reposição de estrógeno atenuou o aumento da osmolaridade plasmática e hematócrito, sem alterações do volume ou osmolaridade urinárias induzido pela privação hídrica (PH). Além disso, esse estudo também mostrou que o tratamento com estrógeno potencializou a secreção de AVP induzida por PH, acompanhada pelo aumento da expressão de Fos na região magnocelular lateral do PVN e SON, sem alterações no MnPO e SON. Já o aumento dos níveis plasmáticos de OT e ANG II induzido pela PH não foram alterados pelo tratamento com estrógeno. Após o período de reidratação parcial, a redução dos níveis de OT próximos a condição basal e a permanência dos elevados níveis plasmáticos de ANG II também não foram alterados pelo tratamento com estrógeno, (VILHENA-FRANCO et al., 2016). Assim sendo, pelo menos em ratas de linhagens normotensas, baseado nesse estudo anterior podemos sugerir que as condições iniciais prévias ao teste do apetite ao sódio e palatabilidade ao sódio não foram alteradas pelo tratamento com estrógeno.

Estudos anteriores sugerem que o estrógeno pode modular a percepção ao sabor tanto por alterações periféricas e centrais. Registro eletrofisiológico da atividade do nervo corda do tímpano (CT) de animais Sprague–Dawley anestesiados mostrou que, em resposta a estimulação lingual por 10 s de solução de NaCl 600 mM, houve redução das respostas desse nervo no grupo de fêmeas OVX tratadas com estrógeno em comparação aos grupos de machos e fêmeas OVX tratadas com veículo, (CURTIS; CONTRERAS, 2006). Por meio de registro de neurônios do núcleo parabraquial (PBN) de animais anestesiados foi verificada a frequência de disparos dos neurônios do PBN em resposta as soluções de sacarina sódica (0,004 M) e sacarose (0,5 M) foram maiores em fêmeas em diestro e prenhes do que quando comparados aos machos, sem alterações para os demais sabores testados, (DI LORENZO; MONROE, 1989). Quando se comparou com os machos, em fêmeas intactas e fêmeas OVX foi verificado que não houve diferenças na frequência de disparos de neurônios do PBN em resposta a estimulação lingual

---

---

---

---

com NaCl 0,1 M, apenas para as soluções de sacarina sódica (0,004 M) e sacarose (0,5 M) (DI LORENZO; MONROE, 1990).

O estrógeno exerce importantes efeitos sobre o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). O estrógeno interage diretamente com o SRAA diminuindo a atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA), renina e a expressão de RNAm de receptores angiotensinérgicos do tipo 1 (AT1R), enquanto aumenta a expressão de receptores angiotensinérgicos do tipo 2 (AT2R) e os níveis de ANG-(1-7) nos rins (SHENOY et al., 2009; BROWN et al., 2012; BHATIA; ZIMMERMAN; SULLIVAN, 2013). O estrógeno também inibe a expressão de receptores AT1 e a enzima conversora de angiotensina no órgão subfornical (SFO) em ratas normotensas (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; DEAN et al., 2006; KRAUSE et al., 2006). Os presentes resultados mostram que a reposição de estrógeno em ratas SHR diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por PH-RP em comparação com as ratas SHR tratadas com veículo. A administração i.c.v. do antagonista de receptores angiotensinérgicos AT1, losartana, diminuiu a ingestão de NaCl 0,3 M no teste de apetite ao sódio induzido por PH-RP tanto em ratas ovariectomizadas quanto em ratas com reposição de estrógeno, sejam elas SHR ou HTZ.

Como já anteriormente mencionado, os presentes resultados mostram que a reposição diária (10 µg/dia) de estrógeno diminuiu o número de respostas hedônicas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M, em ratas hipertensas com apetite ao sódio (induzidas por PH-RP). Esse mesmo resultado também foi verificado ao final dos sessenta minutos de acesso e ingestão de NaCl 0,3 M. A reposição diária com estrógeno não produziu alteração significativa no número de reações aversivas. A administração i.c.v. de losartana levou a uma diminuição no número de respostas hedônicas, sem alterações significativas no número de respostas aversivas em ratas hipertensas ovariectomizadas tratadas com veículo. Entretanto, em ratas SHR ovariectomizadas com reposição de estrógeno associado à administração i.c.v. de losartana não foi observado alteração adicional.

É provável que a redução da ingestão do NaCl 0,3 M e do número de respostas hedônicas em ratas SHR com apetite ao sódio após a reposição de estrógeno seja devido a uma diminuição do número de receptores AT1 em áreas prosencefálicas. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que após o bloqueio dos receptores de angiotensina II (AT1) houve uma diminuição no número de respostas hedônicas e uma tendência no aumento de respostas aversivas em ratas hipertensas ovariectomizadas tratadas com veículo. Além disso, não foi observada redução adicional no número de respostas hedônicas após o bloqueio desses receptores AT1 em ratas

---

---

---

---

com reposição de estrógeno, embora esse efeito tenha sido observado ao longo de todo o período do teste de apetite ao sódio. Assim, pode-se sugerir que isso os efeitos do estrógeno sejam devido a uma redução do número de receptores AT1 presentes em áreas prosencefálicas nessas ratas, conforme mostrado em estudos anteriores. Por outro lado, não podemos excluir a possibilidade do envolvimento dos sistemas serotoninérgicos no núcleo dorsal da rafe (DRN) como possível mecanismo na ação inibitória do estrogênio na ingestão de sódio (DALMASSO; AMIGONE; VIVAS, 2011). Portanto, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nessas respostas observadas em fêmeas SHR.

Em relação à influência dos hormônios esteroides sobre o controle da pressão arterial, estudos mostram que machos castrados e fêmeas ovariectomizadas, de linhagens Sprague-Dawley, apresentam aumento da pressão arterial em relação aos animais intactos (CROFTON; SHARE, 1997; HINOJOSA-LABORDE et al., 2004), sugerindo que a testosterona e estradiol são hormônios moduladores na hipertensão. A reposição hormonal com estradiol atenua esse aumento da pressão arterial em machos e fêmeas ovariectomizadas (CROFTON; SHARE, 1997; XUE et al., 2008). No modelo animal de hipertensão essencial (SHR), foi observado que em ratas SHR idosas há um aumento da pressão arterial semelhante aos machos (FORTEPIANI et al., 2003; MARANON; RECKELHOFF, 2013). Outro estudo mostrou que a pressão sistólica de fêmeas hipertensas (SHR) durante a fase estral foi menor do que a observada em machos, e a elevação da pressão sistólica observada pós a ovariectomia foi reduzida após o tratamento subcutâneo com estrógeno, (SILVA-ANTONIALLI et al., 2004).

Em nosso estudo verificamos que não houve diferença nos valores de PAM e FC em condições basais, após o período de PH ou após a RP entre as ratas SHR ovariectomizadas tratadas com estrógeno ou veículo. Contudo, verificamos que em ratas SHR ovariectomizadas tratadas com estrógeno a resposta pressora a ANG II foi menor quando comparado com ratas ovariectomizadas tratadas com veículo. Considerando que o estrógeno inibe a expressão de receptores AT1 e a enzima conversora de angiotensina no órgão subfornical (SFO) (KISLEY; SAKAI; FLUHARTY, 1999; DEAN et al., 2006; KRAUSE et al., 2006), podemos sugerir que a diminuição do efeito pressor da ANG II nas ratas SHR ovariectomizadas tratadas com estrógeno também seja devido a uma diminuição do número de receptores AT1 em áreas periventriculares.

---

---

## 6. CONCLUSÃO

Em suma, os resultados do presente estudo mostram que: a) na ausência dos hormônios ovarianos ocorreu aumento da frequência de respostas hedônicas; b) a reposição diária de estrógeno (10 µg/dia) diminuiu o número de respostas hedônicas; c) a suplementação de estrógeno diminuiu o número de respostas hedônicas e aumentou o número de respostas aversivas a infusão intra-oral de NaCl 0,3 M após a reidratação parcial antes do acesso ao sódio, sugerindo que o estrógeno pode diminuir a palatabilidade do sódio. Portanto, o estrógeno parece modular a palatabilidade do sódio, tendo um efeito inibitório, influenciando a ingestão deste íon. Esses efeitos do estrógeno na ingestão e palatabilidade ao NaCl 0,3 M induzidas por privação hídrica e reidratação parcial (PH-RP) não são devidos a alterações cardiovasculares, pois não houve diferença nos valores de PAM e FC basais, após o período de PH ou após a RP entre as ratas SHR ovariectomizadas tratadas com estrógeno ou veículo. O tratamento com estrógeno reduziu a resposta pressora a ANG II quando comparado com o mesmo estímulo em ratas ovariectomizadas tratadas com veículo. O bloqueio de receptores AT1 presencefálicos levou a uma diminuição na ingestão e palatabilidade ao NaCl 0,3 M induzidas por PH-RP em ratas SHR, sugerindo que o efeito do estrógeno seja devido a uma menor expressão de receptores AT1 em áreas presencefálicas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, A. M.; MCKINLEY, M. J.; MENDELSON, F. A. O. Comparative neuroanatomy of angiotensin receptor localization in the mammalian hypothalamus. **Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.**, v. 15, p. 137-145, 1988 1988.

ALMEIDA-PEREIRA, G. et al. Estradiol and angiotensin II crosstalk in hydromineral balance: Role of the ERK1/2 and JNK signaling pathways. **Neuroscience**, v. 322, p. 525-38, May 13 2016. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26951941> >.

ANDRADE, C. A. et al. Changes in taste reactivity to intra-oral hypertonic NaCl after lateral parabrachial injections of an alpha2-adrenergic receptor agonist. **Physiol Behav**, v. 104, n. 5, p. 702-8, Oct 24 2011. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21803064> [http://ac.els-cdn.com/S0031938411003726/1-s2.0-S0031938411003726-main.pdf?\\_tid=4b1c24c8-1f98-11e3-9ac0-00000aacb35d&acdnat=1379422650\\_0f545d577f0275496f8f8ed532a7f802](http://ac.els-cdn.com/S0031938411003726/1-s2.0-S0031938411003726-main.pdf?_tid=4b1c24c8-1f98-11e3-9ac0-00000aacb35d&acdnat=1379422650_0f545d577f0275496f8f8ed532a7f802) >.

ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Controle neuroendócrino do balanço hidroeletrólítico. In: (Ed.). **Fisiologia, Aires, M. M.** 4. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. cap. 75, p.1182-1198.

ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Neuroendocrinology of Hydromineral Homeostasis. In: DE LUCA, L. A.;MENANI, J. V., *et al* (Ed.). **Neurobiology of Body Fluid Homeostasis: Transduction and Integration**. Boca Raton (FL), 2014. (Frontiers in Neuroscience). ISBN 9781466506930.

BERRIDGE, K. C. Measuring hedonic impact in animals and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 24, n. 2, p. 173-98, Mar 2000. ISSN 0149-7634 (Print) 0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10714382> >.

\_\_\_\_\_. Motivation concepts in behavioral neuroscience. **Physiol Behav**, v. 81, n. 2, p. 179-209, Apr 2004. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15159167> >.

BERRIDGE, K. C. et al. Sodium depletion enhances salt palatability in rats. **Behav Neurosci.**, v. 98, n. 4, p. 652-660, 1984 1984.

BERRIDGE, K. C.; SCHULKIN, J. Palatability shift of a salt-associated incentive during sodium depletion. **Q J Exp Psychol B**, v. 41, n. 2, p. 121-38, May 1989. ISSN 0272-4995 (Print) 0272-4995 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2748936> >.

BHATIA, K.; ZIMMERMAN, M. A.; SULLIVAN, J. C. Sex differences in angiotensin-converting enzyme modulation of Ang (1-7) levels in normotensive WKY rats. **Am J Hypertens**, v. 26, n. 5, p. 591-8, May 2013. ISSN 1941-7225 (Electronic) 0895-7061 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23547034> >.

BLUME, A. et al. Increased brain transcription factor expression by angiotensin in genetic hypertension. **Hypertension**, v. 29, n. 2, p. 592-8, Feb 1997. ISSN 0194-911X (Print) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9040444> >.

BOOTH, R. E.; JOHNSON, J. P.; STOCKAND, J. D. Aldosterone. **Adv. Physiol. Educ.**, v. 26, p. 8-20, 2002 2002.

BROWN, R. D. et al. Sex differences in the pressor and tubuloglomerular feedback response to angiotensin II. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 129-35, Jan 2012. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22124434> >.

BUTCHER, R. L.; COLLINS, W. E.; FUGO, N. W. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17beta throughout the 4-day estrous cycle of the rat. **Endocrinology**, v. 94, n. 6, p. 1704-8, Jun 1974. ISSN 0013-7227 (Print) 0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4857496> >.

CLARKE, S. N.; OSSENKOPP, K. P. Taste reactivity responses in rats: influence of sex and the estrous cycle. **Am J Physiol**, v. 274, n. 3 Pt 2, p. R718-24, Mar 1998. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9530238> >.

CROFTON, J. T.; SHARE, L. Gonadal hormones modulate deoxycorticosterone-salt hypertension in male and female rats. **Hypertension**, v. 29, n. 1 Pt 2, p. 494-9, Jan 1997. ISSN 0194-911X (Print) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9039148> >.

CURTIS, K. S.; CONTRERAS, R. J. Sex differences in electrophysiological and behavioral responses to NaCl taste. **Behav Neurosci**, v. 120, n. 4, p. 917-24, Aug 2006. ISSN 0735-7044 (Print) 0735-7044 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16893297> >.

CUTLER, J. A. et al. Trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control rates in United States adults between 1988-1994 and 1999-2004. **Hypertension**, v. 52, n. 5, p. 818-27, Nov 2008. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18852389> >.

DALMASSO, C.; AMIGONE, J. L.; VIVAS, L. Serotonergic system involvement in the inhibitory action of estrogen on induced sodium appetite in female rats. **Physiol Behav**, v. 104, n. 3, p. 398-407, Sep 1 2011. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21554894> >.

DANIELSEN, J.; BUGGY, J. Depression of ad lib and angiotensin-induced sodium intake at oestrus. **Brain Res Bull**, v. 5, n. 5, p. 501-4, Sep-Oct 1980. ISSN 0361-9230 (Print) 0361-9230 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7191763> >.

---

---

DE LUCA JR, L. A.; BARBOSA, S. P.; MENANI, J. V. Brain serotonin blockade and paradoxical salt intake in rats. **Neuroscience**, v. 121, n. 4, p. 1055-1061, 2003 2003.

DE LUCA JR, L. A.; VIVAS, L.; MENANI, J. V. Controle neuroendócrino da ingestão de água e sal. In: ANTUNES-RODRIGUES, J.; MOREIRA, A. C., *et al* (Ed.). **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap. 10, p.116-131.

DE LUCA, L. A., JR. et al. Water deprivation-induced sodium appetite. **Physiol Behav**, v. 100, n. 5, p. 535-44, Jul 14 2010. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226201> >.

DE LUCA, L. A., JR. et al. Water deprivation-induced sodium appetite: humoral and cardiovascular mediators and immediate early genes. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 282, n. 2, p. R552-9, Feb 2002. ISSN 0363-6119 (Print) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11792666> >.

DEAN, S. A. et al. Regulation of components of the brain and cardiac renin-angiotensin systems by 17beta-estradiol after myocardial infarction in female rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 1, p. R155-62, Jul 2006. ISSN 0363-6119 (Print) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16455770> >.

DENTON, D. A. et al. Salt and water homeostasis. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 9, n. 5, p. 518, 1982.

DI LORENZO, P. M.; MONROE, S. Taste responses in the parabrachial pons of male, female and pregnant rats. **Brain Res Bull**, v. 23, n. 3, p. 219-27, Sep 1989. ISSN 0361-9230 (Print) 0361-9230 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2819479> >.

\_\_\_\_\_. Taste responses in the parabrachial pons of ovariectomized rats. **Brain Res Bull**, v. 25, n. 5, p. 741-8, Nov 1990. ISSN 0361-9230 (Print) 0361-9230 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2289163> >.

DI NICOLANTONIO, R. et al. Salt preference of congenic strains derived from the spontaneously hypertensive rat. **Physiol Behav**, v. 80, n. 5, p. 617-22, Feb 2004. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14984794> >.

DINICOLANTONIO, R.; HUTCHINSON, J. S.; MENDELSON, F. A. Exaggerated salt appetite of spontaneously hypertensive rats is decreased by central angiotensin-converting enzyme blockade. **Nature**, v. 298, n. 5877, p. 846-8, Aug 26 1982. ISSN 0028-0836 (Print) 0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7050726> >.

DO-VALE, C. F. et al. Progesterone administration to ovariectomized rats reduces water and salt intake induced by central administration of angiotensin II. **Braz J Med Biol Res**, v. 28, n. 9, p. 999-1002, Sep 1995. ISSN 0100-879X (Print) 0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8580890> >.

ELY, D.; TURNER, M.; MILSTED, A. Review of the Y chromosome and hypertension. **Braz J Med Biol Res**, v. 33, n. 6, p. 679-91, Jun 2000. ISSN 0100-879X (Print)

---

---

---

---

0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10829096> >.

EPSTEIN, A. N. Instinct and motivation as explanations for complex behavior. In: DW, P. (Ed.). **The Physiological Mechanisms of Motivation**. New York: Ed. Springer-Verlag, 1982. p.25-58.

EPSTEIN, A. N.; STELLAR, E. The control of salt preference in the adrenalectomized rat. **J Comp Physiol Psychol**, v. 48, n. 3, p. 167-72, Jun 1955. ISSN 0021-9940 (Print) 0021-9940 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13242684> >.

FARIA, A. M. et al. Taste reactivity to hypertonic NaCl in normotensive and spontaneously hypertensive rats. 1st PanAmerican Congress of Physiological Sciences - PANAM, 2014., 2014, Foz do Iguaçu, PR - Brazil. 02-06/08/2014. p.03.086

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol.Rev**, v. 78, p. 583-686, 1998 1998.

FLYNN, F. W.; CULVER, B.; NEWTON, S. V. Salt intake by normotensive and spontaneously hypertensive rats: two-bottle and lick rate analyses. **Physiol Behav**, v. 78, n. 4-5, p. 689-96, Apr 2003. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12782224> >.

FLYNN, F. W.; SCHULKIN, J.; HAVENS, M. Sex differences in salt preference and taste reactivity in rats. **Brain Res Bull**, v. 32, n. 2, p. 91-5, 1993. ISSN 0361-9230 (Print) 0361-9230 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8348348> >.

FORMAKER, B. K.; HILL, D. L. Peripheral taste responses in genetically hypertensive rats. **Physiol Behav**, v. 47, n. 6, p. 1229-37, Jun 1990. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2168566> >.

\_\_\_\_\_. Lack of amiloride sensitivity in SHR and WKY glossopharyngeal taste responses to NaCl. **Physiol Behav**, v. 50, n. 4, p. 765-9, Oct 1991. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1775551> >.

FORTEPIANI, L. A. et al. Characterization of an animal model of postmenopausal hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 41, n. 3 Pt 2, p. 640-5, Mar 2003. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12623972> >.

GANONG, W. F. **Review of medical physiology**. . 21. McGraw-Hill/Appleton & Lange, 2003. ISBN 0071402365.

GASPARINI, S.; MENANI, J. V.; DANIELS, D. Moxonidine into the lateral parabrachial nucleus modifies postingestive signals involved in sodium intake control. **Neuroscience**, v. 284, p. 768-74, Jan 22 2015. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25264033> >.

---

---

---

---

GOLDMAN, R. K. et al. Baroreflex sensitivity varies during the rat estrous cycle: role of gonadal steroids. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 296, n. 5, p. R1419-26, May 2009. ISSN 0363-6119 (Print)  
0363-6119 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261912> >.

GRILL, H.; BERRIDGE, K. Taste reactivity as a measure of the neural control of palatability. In: SPRAGUE, J. e EPSTEIN, A. (Ed.). **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**. Orlando: Academic Press, 1985. p.1-61.

GRILL, H. J.; BERNSTEIN, I. L. Strain differences in taste reactivity to NaCl. **Am J Physiol**, v. 255, p. R424-R430, 1988 1988.

GRILL, H. J.; BERRIDGE, K. C. Taste reactivity as a measure of the neural control of palatability. In: JM, S. e AN, E. (Ed.). **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**. Orlando: Academic Press, 1985. p.1-61.

GRILL, H. J.; NORGREN, R. The taste reactivity test.I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. **Brain Res.**, v. 143, p. 263-279, 1978 1978.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**. 10th. Philadelphia: Saunders, 2000. xxxii, 1064 p. ISBN 072168677X.

HE, F. J.; MACGREGOR, G. A. Salt intake, plasma sodium, and worldwide salt reduction. **Ann Med**, v. 44 Suppl 1, p. S127-37, Jun 2012. ISSN 1365-2060 (Electronic)  
0785-3890 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22713141> >.

HINOJOSA-LABORDE, C. et al. Ovariectomy augments hypertension in aging female Dahl salt-sensitive rats. **Hypertension**, v. 44, n. 4, p. 405-9, Oct 2004. ISSN 1524-4563 (Electronic)  
0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15337736> >.

HOLLENBERG, N. K. The influence of dietary sodium on blood pressure. **J Am Coll Nutr**, v. 25, n. 3 Suppl, p. 240S-246S, Jun 2006. ISSN 0731-5724 (Print)  
0731-5724 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16772635> >.

HORVATHOVA, H. et al. Compliance and the therapeutic effect in patients with arterial hypertension. **Bratisl Lek Listy**, v. 104, n. 4-5, p. 149-54, 2003. ISSN 0006-9248 (Print)  
0006-9248 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14604255> >.

JOHNSON, A. K. The sensory psychobiology of thirst and salt appetite. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 8, p. 1388-400, Aug 2007. ISSN 0195-9131 (Print)  
0195-9131 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17762373> >.

JOHNSON, A. K.; EDWARDS, G. L. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. In: GANTEN, D. e PFAFF, D. (Ed.). **Current Topics in Neuroendocrinology, Behavioral Aspects of Neuroendocrinology**. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p.149-190.

KEAST, R. S. J.; BRESLIN, P. A. An overview of binary taste–taste interactions. **Food Quality and Preference**, v. 14., n. 2, p. 111–124, 2003.

---

---

---

---

KISLEY, L. R.; SAKAI, R. R.; FLUHARTY, S. J. Estrogen decreases hypothalamic angiotensin II AT1 receptor binding and mRNA in the female rat. **Brain Res**, v. 844, n. 1-2, p. 34-42, Oct 9 1999. ISSN 0006-8993 (Print)  
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10536259> >.

KRAUSE, E. G. et al. Estrogen influences stimulated water intake by ovariectomized female rats. **Physiol Behav**, v. 79, n. 2, p. 267-74, Jul 2003. ISSN 0031-9384 (Print)  
0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12834798> >.

KRAUSE, E. G. et al. Oestrogen and weight loss decrease isoproterenol-induced Fos immunoreactivity and angiotensin type 1 mRNA in the subfornical organ of female rats. **J Physiol**, v. 573, n. Pt 1, p. 251-62, May 15 2006. ISSN 0022-3751 (Print)  
0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16543266> >.

LEWIS, S. J. et al. 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 1986.

LIEM, D. G.; MIREMADI, F.; KEAST, R. S. Reducing sodium in foods: the effect on flavor. **Nutrients**, v. 3, n. 6, p. 694-711, Jun 2011. ISSN 2072-6643 (Electronic)  
2072-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22254117> >.

LIMA, R.; WOFFORD, M.; RECKELHOFF, J. F. Hypertension in postmenopausal women. **Curr Hypertens Rep**, v. 14, n. 3, p. 254-60, Jun 2012. ISSN 1534-3111 (Electronic)  
1522-6417 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22427070> >.

MARANON, R.; RECKELHOFF, J. F. Sex and gender differences in control of blood pressure. **Clin Sci (Lond)**, v. 125, n. 7, p. 311-8, Oct 2013. ISSN 1470-8736 (Electronic)  
0143-5221 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23746374> >.

MCKINLEY, M. J. et al. Angiotensin receptor binding in the human hypothalamus: autoradiographic localization. **Brain Res.**, v. 420, n. 2, p. 375-379, 1987 1987.

MCKINLEY, M. J.; JOHNSON, A. K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **News Physiol Sci**, v. 19, p. 1-6, 2004 2004.

MECAWI, A. S. et al. Oestrogenic influence on brain AT1 receptor signalling on the thirst and sodium appetite in osmotically stimulated and sodium-depleted female rats. **Exp Physiol**, v. 93, n. 8, p. 1002-10, Aug 2008. ISSN 0958-0670 (Print)  
0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18441334> >.

MECAWI, A. S. et al. Assessment of brain AT1-receptor on the nocturnal basal and angiotensin-induced thirst and sodium appetite in ovariectomised rats. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v. 8, n. 4, p. 169-75, Dec 2007. ISSN 1470-3203 (Print)  
1470-3203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18205095> >.

---

---

---

---

MENANI, J. V.; DE LUCA, L. A., JR.; JOHNSON, A. K. Role of the lateral parabrachial nucleus in the control of sodium appetite. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 306, n. 4, p. R201-10, Feb 15 2014. ISSN 1522-1490 (Electronic) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24401989> >.

MENDONÇA LDE, S.; FERNANDES-SANTOS, C.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Cardiac and aortic structural alterations due to surgically-induced menopause associated with renovascular hypertension in rats. **Int J Exp Pathol**, v. 88, n. 4, p. 301-9, Aug 2007. ISSN 0959-9673 (Print) 0959-9673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17696911> >.

MERCURO, G. et al. Menopause induced by oophorectomy reveals a role of ovarian estrogen on the maintenance of pressure homeostasis. **Maturitas**, v. 47, n. 2, p. 131-8, Feb 20 2004. ISSN 0378-5122 (Print) 0378-5122 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14757272> >.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J**, v. 27, p. 282-93, Mar 1963. ISSN 0047-1828 (Print) 0047-1828 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13939773> >.

PEREIRA-DERDERIAN, D. T. et al. Water deprivation-induced sodium appetite and differential expression of encephalic c-Fos immunoreactivity in the spontaneously hypertensive rat. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 298, n. 5, p. R1298-309, May 2010. ISSN 1522-1490 (Electronic) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20200133> >.

RECKELHOFF, J. F.; FORTEPIANI, L. A. Novel mechanisms responsible for postmenopausal hypertension. **Hypertension**, v. 43, n. 5, p. 918-23, May 2004. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15023933> >.

RICHTER, C. P.; BRAILEY, M. E. Water-Intake and Its Relation to the Surface Area of the Body. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 15, n. 7, p. 570-8, Jul 15 1929. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16587493> >.

RONCARI, C. F. et al. The lateral parabrachial nucleus and central angiotensinergic mechanisms in the control of sodium intake induced by different stimuli. **Behav Brain Res**, v. 333, p. 17-26, Aug 30 2017. ISSN 1872-7549 (Electronic) 0166-4328 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28625546> >.

ROWLAND, N. E. et al. Fos induced in brain of spontaneously hypertensive rats by angiotensin II and co-localization with AT-1 receptors. **Brain Res**, v. 675, n. 1-2, p. 127-34, Mar 27 1995. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7796121> >.

SAKAI, R. R. et al. Salt appetite is enhanced by one prior episode of sodium depletion in the rat. **Behav Neurosci**, v. 101, n. 5, p. 724-31, Oct 1987. ISSN 0735-7044 (Print) 0735-7044 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3675851> >.

---

---

SAMPSON, A. K. et al. The arterial depressor response to chronic low-dose angiotensin II infusion in female rats is estrogen dependent. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 302, n. 1, p. R159-65, Jan 1 2012. ISSN 1522-1490 (Electronic) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22031787> >.

SARNO, F. et al. [Estimated sodium intake for the Brazilian population, 2008-2009]. **Rev Saude Publica**, v. 47, n. 3, p. 571-8, Jun 2013. ISSN 1518-8787 (Electronic) 0034-8910 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346570> >.

SCHULKIN, J. The allure of salt. **Psychobiology**, v. 19, n. 2, p. 116-121, June 01 1991. ISSN 0889-6313. Disponível em: < <https://doi.org/10.3758/BF03327180> >.

SHENOY, V. et al. 17beta-Estradiol modulates local cardiac renin-angiotensin system to prevent cardiac remodeling in the DOCA-salt model of hypertension in rats. **Peptides**, v. 30, n. 12, p. 2309-15, Dec 2009. ISSN 1873-5169 (Electronic) 0196-9781 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19747516> >.

SILVA-ANTONIALLI, M. M. et al. A lower ratio of AT1/AT2 receptors of angiotensin II is found in female than in male spontaneously hypertensive rats. **Cardiovasc Res**, v. 62, n. 3, p. 587-93, Jun 01 2004. ISSN 0008-6363 (Print) 0008-6363 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15158151> >.

STEINER, J. E. The gustofacial response: observation on normal and anencephalic newborn infants. **Symp Oral Sens Percept**, n. 4, p. 254-78, 1973. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4612820> >.

\_\_\_\_\_. Discussion paper: innate, discriminative human facial expressions to taste and smell stimulation. **Ann N Y Acad Sci**, v. 237, n. 0, p. 229-33, Sep 27 1974. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4529591> >.

\_\_\_\_\_. Human facial expressions in response to taste and smell stimulation. **Adv Child Dev Behav**, v. 13, p. 257-95, 1979. ISSN 0065-2407 (Print) 0065-2407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/484324> >.

STRICKER, E. M.; THIELS, E.; VERBALIS, J. G. Sodium appetite in rats after prolonged dietary sodium deprivation: a sexually dimorphic phenomenon. **Am J Physiol**, v. 260, n. 6 Pt 2, p. R1082-8, Jun 1991. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2058736> >.

TAZUMI, S. et al. Effects of estrogen replacement on stress-induced cardiovascular responses via renin-angiotensin system in ovariectomized rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 311, n. 5, p. R898-R905, Nov 1 2016. ISSN 1522-1490 (Electronic) 0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27511283> >.

THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Renin-angiotensin, arterial blood pressure, and salt appetite in rats. **Am J Physiol**, v. 266, n. 2 Pt 2, p. R458-65, Feb 1994. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8141403> >.

TORDOFF, M. G.; ALARCON, L. K.; LAWLER, M. P. Preferences of 14 rat strains for 17 taste compounds. **Physiol Behav**, v. 95, n. 3, p. 308-32, Oct 20 2008. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18639567> >.

VALENSTEIN, E. S.; KAKOLEWSKI, J. W.; COX, V. C. Sex differences in taste preference for glucose and saccharin solutions. **Science**, v. 156, n. 3777, p. 942-3, May 19 1967. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6023257> >.

VERBALIS, J. G. Disorders of body water homeostasis. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 17, n. 4, p. 471-503, Dec 2003. ISSN 1521-690X (Print) 1521-690X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14687585> >.

VILHENA-FRANCO, T. et al. Oestradiol potentiates hormone secretion and neuronal activation in response to hypertonic extracellular volume expansion in ovariectomised rats. **J Neuroendocrinol**, v. 23, n. 6, p. 481-9, Jun 2011. ISSN 1365-2826 (Electronic) 0953-8194 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21470318> >.

\_\_\_\_\_. Oestradiol effects on neuroendocrine responses induced by water deprivation in rats. **J Endocrinol**, v. 231, n. 2, p. 167-180, Nov 2016. ISSN 1479-6805 (Electronic) 0022-0795 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27613338> >.

WADE, G. N.; ZUCKER, I. Hormonal modulation of responsiveness to an aversive taste stimulus in rats. **Physiol Behav**, v. 5, n. 3, p. 269-73, Mar 1970. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5525706> >.

WHO. In: (Ed.). **Guideline: Sodium Intake for Adults and Children**. Geneva, 2012. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee). ISBN 9789241504836.

\_\_\_\_\_. World Health Organization. Top 10 causes of death. Global Health Observatory (GHO) data., 2017. Disponível em: < [http://www.who.int/gho/mortality\\_burden\\_disease/causes\\_death/top\\_10/en/](http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death/top_10/en/) >.

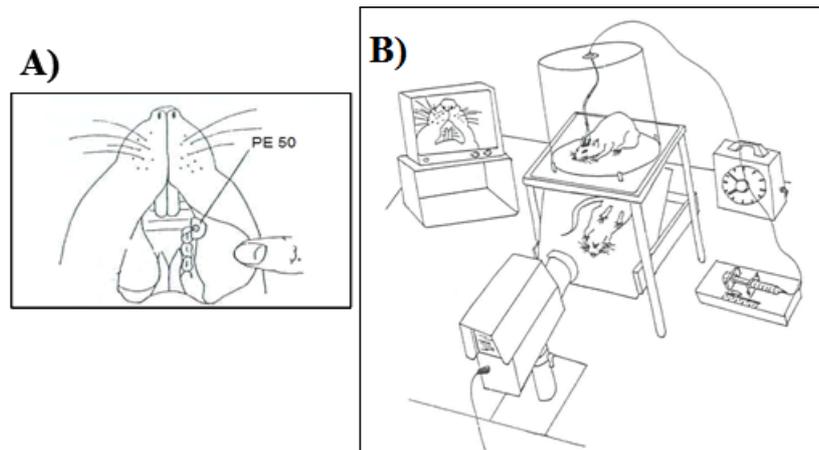
XUE, B.; PAMIDIMUKKALA, J.; HAY, M. Sex differences in the development of angiotensin II-induced hypertension in conscious mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 288, n. 5, p. H2177-84, May 2005. ISSN 0363-6135 (Print) 0363-6135 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15626687> >.

XUE, B. et al. Central estrogen inhibition of angiotensin II-induced hypertension in male mice and the role of reactive oxygen species. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 295, n. 3, p. H1025-H1032, Sep 2008. ISSN 0363-6135 (Print) 0363-6135 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18599599> >.

ZUCKER, I. Hormonal Determinants of sex differences in saccharin preference, food Intake and body weight. **Physiology and Behavior**, v. 4, p. 595-602, 1969.

## 8. APÊNDICE

8.1 A) Esquema da localização do local de implante da cânula intra-oral e B) esquema do aparato experimental para o estudo da palatabilidade (reatividade ao sabor) a soluções infundidas diretamente na cavidade oral (Grill e Berridge, 1985).



GRILL, H. J.; BERRIDGE, K. C. Taste reactivity as a measure of the neural control of palatability. In: JM, S. e AN, E. (Ed.). **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**. Orlando: Academic Press, 1985. p.1-61.

## 8.2 Descrição de análises estatísticas realizadas

Protocolo	Parâmetro avaliado	Estatística	Resultados
1	Tabela 1: Índice uterino (IU)	ANOVA Duas vias	Linhagem x tratamento: [F(1,37) = 26,11; p < 0,001]
1	Figura 2: ingestão diária de NaCl 0,3 M (A) e água (B)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,450) = 112,124; p < 0,001] e B) [F(3,450) = 38,787; p < 0,001]
1	Figura 3: ingestão de NaCl 0,3 M (A) e água (B) durante fase apetite ao sódio	ANOVA Duas vias	Linhagem x tratamento: A) [F(1,37) = 16,82; p < 0,001] e B) [F(1,37) = 0,902; p > 0,05]
1	Reidratação parcial	ANOVA uma via	Tratamento: [F(3,37) = 0,512; p > 0,05]
1	Figura 4: respostas hedônicas (A) e aversivas (B) ao teste de reatividade ao sabor	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,110) = 34,6; p < 0,001] e B) [F(3,110) = 23,86; p < 0,001]
2	Tabela 2: índice uterino (IU)	Teste t	Tratamento: (t = 3,3, GL = 17; P < 0,05)
2	Figura 5: ingestão diária de NaCl 0,3 M (A) e água (B)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(1,100) = 4,964; p < 0,05] e B) [F(1,100) = 21,762; p < 0,001]
2	Reidratação parcial	Teste t	Tratamento: (t = 0,657, GL = 17; P = 0,520)
2	Figura 6: ingestão de NaCl 0,3 M (A) e água (B) durante fase apetite ao sódio	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) Tempo: [F(1,34) = 7,413; p < 0,05], Tratamento: [F(1,34) = 1,457; p > 0,05], interação entre tempo e tratamento: [F(1,34) = 3,809; p > 0,05] e B) tratamento: [F(1,34) = 2,459; p > 0,05]
2	Figura 7: respostas hedônicas (A) e aversivas (B) ao teste de reatividade ao sabor	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(1,45) = 7,076; p < 0,05] e B) [F(1,45) = 8,931; p < 0,05].
3	Tabela 3: Índice Uterino (IU)	Teste t	Tratamento: t = -4,249, GL 8, (P <

			0,05).
3	Figura 8: ingestão diária de NaCl 0,3 M (A) e água (B)	ANOVA Duas vias ANOVA	Tempo x tratamento: A) [F(1,63) = 10,916; p < 0,05] e B) [F(1,63) = 6,003; p < 0,05]
3	Reidratação parcial	Teste t	Tratamento: (t = 2,645, GL 7, P < 0,05).
3	Figura 9: ingestão de NaCl 0,3 M (A) e água (B) durante fase apetite ao sódio	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,42) = 14,810; p < 0,001] e B) [F(3,42) = 5,692; p < 0,002]
4	Tabela 4: Índice Uterino (IU)	ANOVA Duas vias	Linhagem x tratamento [F(1,25) = 31,863; p < 0,001]
4	Tabela 5: Níveis plasmáticos de beta-estradiol, ratas SHR e HTZ	ANOVA Duas vias	Linhagem x tratamento: [F(1,10) = 76,355; p < 0,001]
4	Figura 10: ingestão diária de NaCl 0,3 M (A) e água (B)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,100) = 7,654; p < 0,001]; B) [F(3,100) = 5,292; p < 0,05]
4	Reidratação parcial	ANOVA Uma via	Tratamento: [F(3,25) = 2,219; p > 0,05].
4	Figura 11: ingestão de NaCl 0,3 M (A) e água (B) durante fase apetite ao sódio (ratas SHR)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,48) = 18,879; p < 0,001], B) [F(3,48) = 4,374; p < 0,05]
4	Figura 12: ingestão de NaCl 0,3 M (A) e água (B) durante fase apetite ao sódio (ratas HTZ)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,52) = 6,166; p < 0,001], B) [F(3,52) = 9,348; p < 0,001]
4	Figura 13: respostas hedônicas (A) e aversivas (B) ao teste de reatividade ao sabor (ratas SHR)	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: A) [F(3,66) = 11,541; p < 0,001] B) [F(3,66) = 6,782; p < 0,001].
4	Tabela 6: respostas hedônicas e aversivas ao teste de reatividade ao sabor em diferentes condições	ANOVA Duas vias	Tempo x tratamento: Hedônicas: [F(1,45) = 8,809; p < 0,05]. Aversivas: [F(1,45) = 4,650; p < 0,05]
5	Tabela 7: Índice Uterino (IU) ratas SHR, grupo saciadas	Teste t	Tratamento: (t = -4,543, GL 10 (P < 0,05).
5	Tabela 8: Índice Uterino (IU) ratas	Teste t	Tratamento: (t = -4,112, GL 10; P <

SHR, grupo PH-RP.		0,05).
5	Figura 14: variação de A) PAM e B) FC em ratas saciadas hipertensas	ANOVA Duas vias Tempo x tratamento: A) [F(3,40) = 6,4; p < 0,001] e B) [F(3,40) = 0,32; p > 0,05].
5	Figura 15: A) PAM e B) FC em ratas hipertensas antes e após PH-RP	ANOVA Duas vias Tempo x tratamento: A) [F(1,30) = 0,0702; p > 0,05] e B) [F(1,30) = 0,0178; p > 0,05]