

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
CONVÊNIO UFSCar/UNESP**

**Mecanismos adrenérgicos do núcleo parabraquial lateral e da área Kölliker
Fuse/A7 no controle da ingestão de água e sódio.**

Silvia Gasparini

**SÃO CARLOS
2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
CONVÊNIO UFSCar-UNESP**

**Mecanismos adrenérgicos do núcleo parabraquial lateral e da área Kölliker
Fuse/A7 no controle da ingestão de água e sódio.**

Silvia Gasparini

**Dissertação de Mestrado apresentada no
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas, Convênio UFSCar/UNESP, do
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da
Universidade Federal de São Carlos, como
parte dos requisitos para a obtenção do Título
de Mestre, em Ciências, área de
Concentração: Fisiologia.**

Orientador: Prof Dr José Vanderlei Menani

SÃO CARLOS

2009

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

G249ma

Gasparini, Silvia.

Mecanismos adrenérgicos do núcleo parabraquial lateral e da área Kölliker Fuse/A7 no controle da ingestão de água e sódio / Silvia Gasparini. -- São Carlos : UFSCar, 2009.
73 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

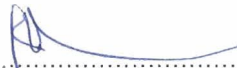
1. Fisiologia. 2. Núcleo parabraquial lateral. 3. Ingestão de água e sódio. 4. Excreção renal. I. Título.

CDD: 612 (20^a)

Universidade Federal de São Carlos
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Convênio UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Silvia Gasparini

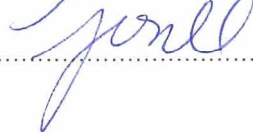
Prof. Dr. José Vanderlei Menani.....



Prof. Dr. Thiago dos Santos Moreira.....



Prof. Dr. João Carlos Callera.....



**À MINHA MÃE
GRACIA**

**E MINHAS IRMÃS
CAROLINA E ELISA**

Agradeço pelo apoio e todo amor sempre

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. José Vanderlei pela orientação, dedicação e apoio a este trabalho.

A todo corpo docente do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP- pela contribuição no trabalho e pelos conhecimentos que pude adquirir com os professores.

Aos funcionários Ana, Reginaldo, Silvana, Silvia e Silas pela dedicação e atenção no dia a dia do laboratório. Particularmente agradeço a Silas pelos implantes de cânulas na área KF/A7.

Aos alunos pós-graduandos e estagiários pelo carinho e amizade. Às companheiras de república pelo apoio, paciência e amizade.

Em especial, à minha mãe que me apoiou e me deu a oportunidade de concluir meus estudos. Às minhas irmãs que sempre me apoiaram e me ajudaram em todos os momentos que precisei. Aos meus amigos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos órgãos de fomento FAPESP, CAPES e CNPq sem os quais muito deste trabalho não seria concretizado. Especialmente à FAPESP, pela concessão da bolsa.

RESUMO

O bloqueio serotoninérgico com metisergida ou a ativação de receptores adrenérgicos α_2 com moxonidina no núcleo parabraquial lateral (NPBL) aumenta a ingestão de NaCl 0,3 M e de água em ratos tratados com furosemida (FURO) combinado com captopril (CAP). Além do NPBL, a área Kölliker Fuse/ A7 (área KF/A7) localizada rostralmente e lateralmente ao NPBL também é importante para a ingestão de água. No estudo presente investigamos os efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina (o neurotransmissor endógeno de receptores adrenérgicos α_2) sozinho ou combinado com o antagonista de receptores adrenérgicos α_2 , RX 821002, na área KF/A7 ou no NPBL. Os efeitos de moxonidina, metisergida ou proglumide na ingestão de água e NaCl 0,3 M em animais tratados com FURO + CAP também foram investigados. Além do mais, testamos simultaneamente a ingestão de água e de sódio e a excreção renal em ratos tratados com FURO + CAP que receberam noradrenalina na área KF/A7 para investigar os efeitos deste tratamento no balanço de sódio e água. Os efeitos de noradrenalina na área KF/A7 em animais tratados com FURO + CAP sobre os as respostas cardiovasculares também foram investigados.

Ratos Holtzman com cânulas de aço inoxidável implantadas bilateralmente na área KF/A7 ou NPBL foram utilizados. A ingestão de NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP aumentou depois de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol) no NPBL ($26,5 \pm 5,9$ e $20,7 \pm 2,0$ ml/2 h, vs. salina: $4,4 \pm 0,9$ ml/2 h) ou na área KF/A7 ($31,5 \pm 6,1$ e $25,9 \pm 4,7$ ml/2 h, vs. salina: $7,2 \pm 1,6$ ml/2 h). Contudo, o aumento da ingestão de água causado pela injeção de noradrenalina bilateralmente na área KFA7 não é consistente. As injeções bilaterais de RX 821002 no NPBL ou na área KF/A7 aboliram os efeitos de noradrenalina nas mesmas áreas na ingestão de NaCl 0,3 M ($7,5 \pm 2,5$ e $9,8 \pm 4,4$ ml/2 h, respectivamente). Moxonidina (0,5 nmol) injetada bilateralmente na área KF/A7 aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M ($39,5 \pm 6,3$ ml/3 h, vs. veículo: $5,7 \pm 1,5$ ml/ 3h) e a ingestão de água ($26,8 \pm 4,2$ ml/ 3 h v.s. veículo: $11,6 \pm 1,3$ ml/3 h), enquanto metisergida (4 μ g) ou proglumide (50 μ g) na área KF/A7 não alteraram a ingestão de NaCl de 0,3 M ou a ingestão de água.

Quanto aos parâmetros renais, as injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 μ l) na área KF/A7 não alteraram o volume urinário, a excreção de potássio ou a excreção de sódio. Contudo, noradrenalina (160 nmol/0,2 μ l) no KF/A7 induziu u

balanço cumulativo positivo de sódio ($5179 \pm 1045 \mu\text{Eq}/3 \text{ h}$ v.s. salina: $2 \pm 545 \mu\text{Eq}/3 \text{ h}$) e de água ($25,2 \pm 4,5 \text{ ml}/3 \text{ h}$ v.s. salina: $2,5 \pm 4,1 \text{ ml}/3 \text{ h}$).

Para investigar os efeitos da noradrenalina na área KF/A7 sobre a pressão arterial, foram utilizados animais com cânulas de polietileno (PE 10 conectado a PE-50) introduzidos na artéria aorta através da artéria femoral. Injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/ 0,2 μl) na área KF/A7 promoveram um potente aumento da pressão arterial (69 ± 12 e $61 \pm 10 \text{ mmHg}$, respectivamente).

Os resultados do presente estudo sugerem que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 é um mecanismo comum da área KF/A7 e do NPBL para facilitar a ingestão de sódio. Além disso, injeções de noradrenalina na área KF/A7 promovem respostas renais facilitando a retenção de sódio. Contudo, os mecanismos serotoninérgico e colecistocinérgico que controlam a ingestão de sódio estão presentes no NPBL, mas não na área KF/A7.

ABSTRACT

The blockade of serotonergic receptors with methysergide or the activation of α_2 -adrenoceptors with moxonidine into the lateral parabrachial nucleus (LPBN) increases water and 0.3 M NaCl intake in rats treated with furosemide (FURO) combined with captopril (CAP). Besides LPBN, also the Kölliker-Fuse nucleus/A7 area (KF/A7 area) located at the rostral and lateral end of the LPBN is important for water intake. In the present study we investigated the effects of bilateral injections of noradrenaline (the endogenous neurotransmitter for α -adrenoceptors) alone or combined with the α_2 -adrenoceptor antagonist RX 821002 into the KF/A7 area or into LPBN. The effects of moxonidine, methysergide or proglumide on FURO + CAP-induced water and 0.3 M NaCl intake were also investigated. In addition, we tested simultaneously water and sodium intake and renal excretion in rats treated with FURO + CAP that received noradrenaline into the KF/A7 area to investigate the effects of this treatment on water and sodium balance. The effects of noradrenaline into KF/A7 area in rats treated with FURO + CAP on cardiovascular responses were also investigated.

Male Holtzman rats with bilateral stainless steel guide-cannulas implanted into KF/A7 area or LPBN were used. FURO + CAP-induced 0.3 M NaCl intake strongly increased after bilateral injections of noradrenaline (80 or 160 nmol) into LPBN (26.5 ± 5.9 and 20.7 ± 2.0 ml/2 h, vs. salina: 4.4 ± 0.9 ml/2 h) or into the KF/A7 area (31.5 ± 6.1 and 25.9 ± 4.7 ml/2 h, vs. salina: 7.2 ± 1.6 ml/2 h). However, increases in water intake caused by noradrenaline injected in KFA7 area are not consistent. Bilateral injections of RX 821002 into LPBN or KF/A7 area abolished the effects of noradrenaline in the same areas on 0.3 M NaCl intake (7.5 ± 2.5 and 9.8 ± 4.4 ml/2 h, respectively). Moxonidine (0.5 nmol) injected bilaterally into the KF/A7 area increased 0.3 M NaCl intake (39.5 ± 6.3 ml/3 h v.s. vehicle: 5.7 ± 1.5 ml/3 h) and water intake (26.8 ± 4.2 ml/3 h v.s. vehicle: 11.6 ± 1.3 ml/3 h), while methysergide (4 μ g) or proglumide (50 μ g) into the KF/A7 area did not alter 0.3 M NaCl or water intake.

Injections of noradrenaline (80 or 160 nmol/0.2 μ l) into the KF/A7 did not alter urinary volume, potassium excretion or sodium excretion. However, noradrenaline into the KF/A7 induced a positive cumulative sodium balance (5179 ± 1045 μ Eq/3 h v.s saline: 2 ± 545 μ Eq/3 h) and a cumulative water balance (25.2 ± 4.5 ml/3 h v.s. saline: 2.5 ± 4.1 ml/3 h).

In rats with a polyethylene tubing (PE-10 connected to a PE-50) inserted into abdominal aorta through femoral artery, injections of noradrenaline (80 or 160 nmol/0.2 μ l) into KF/A7 area promoted a powerful increased in blood pressure (69 ± 12 and 61 ± 10 mmHg, respectively).

The results of the present study suggest that α_2 -adrenoceptor activation is a common mechanism in the KF/A7 area and LPBN to facilitate sodium intake. In addition, injections of noradrenaline into the KF/A7 area induce renal responses to reduce sodium excretion. However, the serotonergic or cholecystokinergic mechanisms that control sodium intake are present in LPBN, not in the KF/A7 area.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANG II, angiotensina II;

ANOVA, análise de variância;

AP, área postrema;

CAP, captopril;

CCK, colecistocinina

DOI, bromidrato de 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina;

ECA, enzima conversora de angiotensina

FC, frequência cardíaca

FURO, furosemida;

5-HT, serotonina;

icv, intracerebroventricular;

ip, intraperitoneal;

KF/A7, núcleo Kölliker-Fuse/área A7;

kg, quilograma;

M, molar;

mg, miligrama;

ml, mililitro;

min, minuto;

mm, milímetro;

NaCl, cloreto de sódio;

NPBL, núcleo parabraquial lateral;

moxo, moxonidina;

mNTS, porção medial do núcleo do trato solitário;

nmol, nanomol;

NOR, noradrenalina;

NTS, núcleo do trato solitário;

OVLT, órgão vascular da lâmina terminal;

PAM, pressão arterial média;

SAL, salina;

s.c, subcutâneo;

SCP, pedúnculo cerebelar superior;

OSF, órgão subfornical;

NPBLVL, NPBLventrolateral;

α , alfa;

β , beta;

μ Eq, microequivalente;

μ g, micrograma;

μ l, microlitro;

\pm , mais ou menos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização histológica das injeções bilaterais no NPBL e na área KF/A7.....	33
Figura 2: Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	35
Figura 3: Efeitos da combinação de injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) + noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	37
Figura 4: Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) no KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	39
Figura 5: Efeitos da combinação de injeções bilaterais de RX 821002 (80 nmol/0,2 µl) + noradrenalina (80 nmol/0,2 µl) no KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	41
Figura 6: Efeitos da combinação de injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) + noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) no KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	42
Figura 7: Efeitos de injeções bilaterais de metisergida ou moxonidina na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	44
Figura 8: Efeitos de injeções bilaterais de proglumide na área KF/A ₇ sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	45
Figura 9: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na excreção renal de ratos tratados com FURO + CAP.....	47
Figura 10: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na ingestão de Na ⁺ e água de ratos tratados com FURO + CAP.....	48
Figura 11: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 no balanço cumulativo de Na ⁺ e de água de ratos tratados com FURO + CAP.....	49
Figura 12: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a pressão arterial e frequência cardíaca.....	51

Figura 13: Traçado representativo da pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) de rato tratado com FURO + CAP s.c. que recebeu injeções bilaterais de noradrenalina (80 nmol/ 0,2 µl) na área KF/A7.....	52
Figura 14: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 em ratos normohidratados/saciados	54
Figura 15: Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na ingestão de sacarose 2%.....	56
Figura 16: Esquema do mecanismo inibitório da ingestão de sódio do NPBL e da área KF/A7.....	62

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	17
2-OBJETIVOS	23
3-MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1- Animais	23
3.2- Cirurgia geral	23
3.3 - Injeções das drogas no cérebro.....	24
3.4 - Drogas injetadas	24
3.5 - Indução e medida da ingestão de água e de NaCl	25
3.6 - Coleta de urina	25
3.7 - Medidas da pressão arterial e frequência cardíaca	25
3.8 - Histologia cerebral para confirmação dos pontos de injeção	26
3.9 - Análises dos resultados	26
3.10 - Protocolos Experimentais	26
4. RESULTADOS	32
4.1- Localização histológica das cânulas no NPBL e na área KF/A7.....	32
4.2 - Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c	34
4.3 - Efeitos da combinação de injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) com RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	36
4.4 - Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) no KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.....	38
4.5 - Efeitos combinação de injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/ 0,2 µl) com RX 821002 (80 ou 160 nmol/ 0,2 µl) no KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c	40
4.6 - Efeitos de injeções bilaterais de metisergida, moxonidina ou proglumide na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c	43

4.7 - Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na excreção renal de ratos tratados com FURO + CAP.....	46
4.8 - Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a pressão arterial e frequência cardíaca.....	50
4.9 - Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 em ratos normohidratados/saciados	52
4.10 - Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na ingestão de sacarose 2%.....	55
4.11 - Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina em sítios fora do KF/A7 e do NPBL na ingestão de água e de NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP.....	57
5 – DISCUSSÃO	58
6- CONCLUSÕES.....	65
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

1- INTRODUÇÃO

A água e o sódio são fundamentais para a manutenção da quantidade e concentração dos líquidos corporais, sendo por isso controlados por diferentes mecanismos ativados em situações de alterações de volume ou da osmolaridade dos líquidos corporais. A ativação desses mecanismos ajustando a ingestão e a excreção de água e sódio normalmente permite se manter o equilíbrio hidroeletrólítico do organismo. A ingestão de água e de sódio ou apenas de água é estimulada diante de uma hipovolemia ou de aumento da osmolaridade. Nessas situações, receptores localizados em diversas partes do organismo ou hormônios produzidos sinalizam para algumas regiões específicas do cérebro, que uma vez ativadas, desencadeiam respostas renais e/ou comportamento de busca por água e sódio (JOHNSON & EDWARDS, 1990; THUNHORST & JOHNSON, 1994).

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um dos mais importantes sistemas hormonais ativados em situações de deficiência de água e sódio no organismo. A renina, uma enzima proteolítica secretada pelo aparelho justaglomerular renal, atua sobre o substrato angiotensinogênio (uma proteína globular sintetizada no fígado), produzindo o decapeptídeo, angiotensina I (Ang I). Sob a ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) localizada especialmente nos endotélios da circulação pulmonar, é convertida em um octapeptídeo ativo, a angiotensina II (ANG II). A angiotensina II (ANG II), o principal peptídeo formado pela ativação do sistema renina-angiotensina, apresenta inúmeras funções fisiológicas, como regulação da pressão arterial, controle da excreção de sódio (controla a secreção de aldosterona, e tem uma ação tubular renal direta na conservação do sódio), atua em algumas áreas do cérebro controlando a ingestão de água e sódio e a secreção de vasopressina, além da atividade simpática (FITZSIMONS, 1998). Receptores centrais para as ações da ANG II, já foram demonstrados tanto em áreas cerebrais anteriores (órgão subfornical, órgão vascular da lâmina terminal, núcleo supra óptico), como posteriores (área postrema, núcleo do trato solitário, núcleo parabraquial), (LEWIS et al., 1986; MCKINLEY et al., 1987; ALLEN et al., 1988). Dos vários receptores de ANG II, (existem pelo menos quatro), os mais importantes para seu efeito dipsogênico são os receptores AT1 presentes em órgãos cirncuventriculares proencefálicos, tais como OSF e OVLT, podendo ter alguma participação de receptores AT2 (FITZSIMONS, 1998). Além da angiotensina II, hormônios esteróides adrenocorticais também podem participar da produção de

apetite ao sódio na desidratação extracelular seletiva (EPSTEIN, 1991; ZHANG et al, 1993). Ao contrário do que ocorre na desidratação absoluta produzida por privação hídrica, na desidratação extracelular ocorre secreção de aldosterona na zona fasciculada da adrenal, induzida pela angiotensina II e pela redução na concentração plasmática de sódio (RAMSAY et al.,1988; BOOTH et al, 2002). A ação natriorexigênica mineralocorticóide foi inicialmente demonstrada para a desoxicorticosterona e confirmada posteriormente para a aldosterona (BRAUN-MENENDEZ & BRANDT,1952; FITZSIMONS, 1998) O mineralocorticóide aldosterona, também tem papel fundamental no controle do sódio no organismo, podendo atuar tanto periféricamente, nos ductos coletores renais e cólon para regular a (re)absorção de sódio e secreção de potássio (BOOTH et al., 2002), bem como em receptores centrais especialmente em estruturas límbicas, como o núcleo central da amígdala induzindo aumento do apetite ao sódio(GALAVARNA et al., 1991; SAKAI et al., 1996).

Paralelamente à atuação dos mecanismos, como os acima citados, que estimulam a ingestão de água e de sódio, o organismo dispõe também de mecanismos inibitórios da ingestão de água e de sódio que atuam limitando a ingestão nas situações em que o equilíbrio está presente, ou seja, sinalizam para que ocorra a saciedade. Assim como os mecanismos excitatórios, os mecanismos inibitórios também são importantes no controle da ingestão de água e sódio. A ocitocina e o ANP são secretados na circulação sanguínea durante expansão de volume, particularmente durante expansão hipertônica, e ambos tem ação natriurética, um mecanismo importante para compensar ou pelo menos atenuar essa expansão (MCCANN et al., 2003). Complementando a ação renal, esses hormônios também agem centralmente inibindo a sede e o apetite ao sódio. Injeção intracerebroventricular de ANP reduz ingestão de água e de sódio induzidos por privação hídrica, por depleção de sódio ou por injeção central de angiotensina II (ANTUNES-RODRIGUES et al.,1986; MCCANN et al., 2003). Aumento na ingestão de sódio ocorre com injeção intracerebral de anticorpo para ANP (FRANCI, 1997). A ocitocina tem efeitos semelhantes aos do ANP. Injeção intracerebroventricular de ocitocina reduz a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio e a injeção de antagonista de ocitocina pela mesma via potencia a ingestão de sódio induzida por angiotensina II (VERBALIS et al., 1995; SATO et al., 1997).

No tronco cerebral, um importante mecanismo inibitório da ingestão de água e sódio foi recentemente descoberto no núcleo parabraquial lateral (NPBL), (OHMAN & JOHNSON, 1989; EDWARDS & JOHNSON, 1991; MENANI et al., 1995; MENANI et al., 1996; MENANI et al., 1998; MENANI & JOHNSON, 1998; DE GOBBI et al., 2000; MENANI et al., 2000). O NPBL é uma estrutura pontina que recebe projeções aferentes da área postrema (AP) e da porção medial do núcleo do trato solitário (NTSm) e que faz conexões com áreas prosencefálicas envolvidas no controle do balanço hidroeletrólítico, como núcleos específicos do hipotálamo e amígdala (CIRIELLO et al., 1984; HERBERT et al., 1990; KRUKOFF et al., 1993; JHAMANDAS et al., 1996). Assim, um papel importante do NPBL seria integrar as informações ascendentes do NTSm e AP que por sua vez poderiam influenciar a atividade das áreas prosencefálicas envolvidas no controle do equilíbrio hidroeletrólítico. Estudos têm mostrado que injeções bilaterais no NPBL de metisergida, um antagonista de receptores serotoninérgicos, aumenta a ingestão de NaCl induzida pela ANG II administrada tanto icv quanto no órgão subfornical (MENANI et al., 1996; COLOMBARI et al., 1996). Metisergida injetada bilateralmente no NPBL também aumentou a ingestão de NaCl induzida pelo tratamento combinando o diurético furosemida e o bloqueador da enzima conversora de angiotensina captopril, ambos injetados subcutaneamente (MENANI et al., 1996). Por outro lado, a injeção de DOI (agonista de receptores 5-HT_{2A/2C}) no NPBL reduziu a ingestão de NaCl induzida pelo tratamento com furosemida + captopril subcutaneamente (sc), (MENANI et al., 1996).

Além da serotonina, também a colecistocinina (CCK) no NPBL tem um papel inibitório na ingestão de água e sódio (MENANI & JOHNSON, 1998), demonstrando-se inclusive uma interdependência e cooperatividade entre serotonina (5-HT) e CCK no NPBL no controle da ingestão de água e sódio (De GOBBI et al., 2001). Estudos mais recentes mostraram que paralelamente à serotonina e colecistocinina, vários outros neurotransmissores e receptores participam do controle da ingestão de sódio no NPBL. Entre eles temos o fator liberador de corticotrofina e o glutamato que também ativariam esse mecanismo inibitório reduzindo ou limitando a ingestão de sódio, enquanto a ativação de receptores gabaérgicos, opióides e adrenérgicos α_2 no NPBL bloqueiam o mecanismo inibitório levando a uma intensa ingestão de sódio por ratos saciados ou estimulados a ingerir sódio (OLIVEIRA et al., 2005; CALLERA et al., 2005) Portanto, pelo que se sabe até hoje parece que existem

neurotransmissores que ativam (serotonina, colecistocinina, fator liberador de corticotrofina e glutamato) e outros que desativam ou bloqueiam (agonistas gabaérgicos, opióides e adrenérgicos α_2) o mecanismo inibitório da ingestão de sódio presente no NPBL.

É bem conhecido também o efeito inibitório na ingestão de água e sódio produzido pela injeção de agonistas de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos como a clonidina e a moxonidina em áreas prosencefálicas (FREGLY et al., 1981; FREGLY et al., 1984a; FREGLY et al., 1984b; FERRARI et al., 1990; FERRARI et al., 1991; CALLERA et al., 1993; CALLERA et al., 1994; DE PAULA et al., 1996; DE LUCA Jr. & MENANI, 1997; MENANI et al., 1999). Tanto o efeito antidipsogênico como a inibição da ingestão de sódio pela moxonidina injetada intracerebroventricularmente (i.c.v) foi abolido pelo tratamento prévio com RX 821002 ou ioimbina (antagonistas de receptores adrenérgicos α_2), (MENANI et al., 1999, MARTINEZ et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003), sugerindo envolvimento de receptores adrenérgicos α_2 centrais no mecanismo inibitório da ingestão de água e de sódio.

Ao contrário do que se verifica com injeções em áreas prosencefálicas, trabalhos recentes mostraram que injeções bilaterais de moxonidina no núcleo parabraquial lateral (NPBL), promoveram um potente e surpreendente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M e um pequeno aumento da ingestão de água após o tratamento combinado com furosemda + captopril subcutaneamente (FURO + CAP s.c), (ANDRADE et al., 2004). O aumento da ingestão de NaCl produzido pelas injeções bilaterais de moxonidina no NPBL é maior do que aquele que foi demonstrado anteriormente em estudos em que se injetaram no NPBL bloqueadores da serotonina e da colecistocinina (MENANI & JOHNSON, 1998). Injeções bilaterais de clonidina também promoveram aumento significativo da ingestão de sódio e água, porém de menor intensidade do que o aumento produzido pelas mesmas doses de moxonidina (MENANI et al., 2006). Os efeitos da moxonidina foram revertidos com as prévias injeções de RX 821002, um antagonista de receptores adrenérgicos α_2 , no NPBL, sugerindo a participação de receptores adrenérgicos α_2 nos efeitos da moxonidina (ANDRADE et al., 2004) Portanto, além da serotonina e da colecistocinina, também receptores adrenérgicos α_2 do NPBL estão envolvidos com mecanismos inibitórios da ingestão de NaCl e água.

Quando se trata do possível envolvimento de receptores adrenérgicos α_2 , adrenalina ou noradrenalina são os neurotransmissores endógenos a serem considerados e candidatos a serem testados. Assim como a clonidina e moxonidina, a noradrenalina atuando em áreas prosencefálicas também inibe a ingestão de água e sódio induzido por diferentes protocolos (LEIBOWITZ, 1972; SUGAWARA et al., 1999; YADA et al., 1997b). Por outro lado, os antagonistas adrenérgicos α_1 e α_2 (prazosin e ioimbina, respectivamente) não alteraram a ingestão de água induzida por privação hídrica, porém reduziram a ingestão de água induzida pela ANG II. Estes resultados sugerem que a noradrenalina poderia apresentar uma ação dual sobre a ingestão hidrossalina, ora inibindo ora estimulando a ingestão de água e NaCl (FERRARI et al., 1990; FERRARI et al., 1991; DE LUCA et al., 1994; BARBOSA et al., 1995; DE PAULA et al., 1996; DE LUCA & MENANI, 1997; YADA et al., 1997a).

Os efeitos da injeção de noradrenalina em áreas do tronco encefálico sobre a ingestão de água e NaCl ainda não foram estudados. Agindo sobre os receptores adrenérgicos α_2 do NPBL a noradrenalina poderia produzir efeitos semelhantes àqueles produzidos pela moxonidina no NPBL. Mas como a noradrenalina também atua nos outros tipos de receptores adrenérgicos não seria surpresa efeitos diferentes daqueles da moxonidina. Um efeito oposto ao da moxonidina seria possível se a moxonidina atuando em receptores adrenérgicos α_2 do NPBL estivesse modulando a liberação de noradrenalina. Ou seja, a noradrenalina no NPBL poderia ativar o mecanismo inibitório atuando em receptores adrenérgicos α_1 pós-sinápticos. Portanto, a moxonidina atuando em receptores adrenérgicos α_2 do NPBL poderia estar reduzindo a liberação de noradrenalina e assim, dificultando a ativação do mecanismo inibitório da ingestão de água e NaCl. Por outro lado não se pode descartar que a moxonidina atuando em receptores adrenérgicos α_2 do NPBL pudesse estar inibindo a liberação de serotonina que já se sabe é um mediador inibitório da ingestão de NaCl no NPBL (MENANI et al., 2002). Portanto, somente estudos com injeção de noradrenalina no NPBL poderão caracterizar o papel dos receptores adrenérgicos do NPBL no controle da ingestão de água e NaCl.

Além do NPBL, estudos de Ohman e Johnson (1986, 1989) mostraram que lesões eletrolíticas do NPBL ventral e lateral, que foi chamado de NPBL ventrolateral (NPBLVL), aumentaram a ingestão de água induzida por ANG II ou isoproterenol s.c,

mas não por solução hipertônica de NaCl. O NPBLVL é parte da área adrenérgica peribraquial, Kölliker Fuse/A7 área (KF/A7), testada no presente estudo, que além do NPBLVL inclui uma região mais rostral e lateral ao NPBL. A área A7 é parte dos núcleos pontinos de células noradrenérgicas que se localizam imediatamente ventral ao locus cerulleus chamada núcleos subcerulleus (OLSON & FUXE, 1972). Conexões de células A7 com células do núcleo motor do trigêmeo, medula espinhal e substância cinzenta periaquedutal em sua porção ventrolateral foram descritas, sugerindo um papel das células A7 no controle motor e na antinocicepção. (LYONS & GRZANNA, 1988; BaJIC & PROUDFIT, 1999; HOLDEN et al., 1999; NUSIER et al., 1999; CHEN et al., 2000; NUSIER & PROUDIFT 2000; HOWORTH et al., 2008). O núcleo KF, considerado parte do NPBL, está envolvido no controle da respiração, pois estimulações glutamatérgicas do KF produzem aumento e prolonga a inspiração (CHAMBERLING & SAPER, 1994). As evidências sugerindo a importância da área KF/A7 no comportamento ingestivo são os estudos de Ohman e Johnson (1986, 1989) mostrando que lesões eletrolíticas do NPBLVL aumentam a ingestão de água induzida por ANG II ou isoproterenol.

Logo, considerando os estudos prévios que demonstraram o envolvimento do NPBL e da área KF/A7 no controle da ingestão de sódio e/ou água e que a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 com moxonidina no NPBL aumenta a ingestão de água e sódio, no presente estudo investigamos os efeitos de noradrenalina injetada sozinha ou combinada com o antagonista de receptores adrenérgicos α_2 RX 821002 no NPBL ou na área KF/A7 na ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento com FURO + CAP. Além disso, foram investigados os efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 com moxonidina, bloqueio de receptores serotoninérgicos e colecistocinérgicos com metisergida e proglumide, respectivamente, na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP. Também foram investigados os efeitos das injeções de noradrenalina na área KF/A7 sobre a excreção de sódio e potássio e sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

2- OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi investigar a participação dos receptores adrenérgicos α_2 no núcleo parabrachial lateral e no núcleo Kölliker Fuse/A7 na ingestão de água e NaCl 0,3 M. Para tanto, foram investigados os efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina ou de RX 821002 sozinhos ou combinados no NPBL e na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento com FURO + CAP injetados s.c. Em adição, foram testados os efeitos de injeções de antagonistas serotoninérgico e colecistocinérgico, metisergida e proglumide, respectivamente, na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP para se comparar com os efeitos já conhecidos dessas drogas no NPBL.

Também foram investigados os efeitos das injeções de noradrenalina na área KF/A7 sobre a excreção de sódio e potássio e sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Animais:

Foram utilizados ratos Holtzman com peso em torno de 300 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em salas climatizadas com ciclo claro-escuro 12-12 h, tendo disponível ração Guabi (Paulina, SP), água e NaCl 0,3 M *ad libitum*. Os protocolos experimentais aos quais os animais foram submetidos foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal – CEEA (n° 10/2007) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

3.2- Cirurgia geral:

Os ratos foram anestesiados com quetamina (100 mg/kg de peso corporal) combinada com xilazina (7 mg/kg de peso corporal) adaptados a um aparelho estereotáxico (modelo Kopf 900). O lambda e bregma foram utilizados como referência para nivelar a cabeça dos ratos. Utilizando-se o bregma foram determinados os pontos de introdução das cânulas de aço inoxidável nas cabeças dos ratos. Nestes pontos foi feita uma trepanação do osso do crânio com uma broca esférica, abrindo um orifício de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro. Para o NPBL, cânulas de aço inoxidável (12 X 0,5 mm d.i.) foram posicionadas bilateralmente no

cérebro conforme as coordenadas: 9,4 mm caudal ao bregma, 2,2 mm lateral à linha mediana e 4,2 mm abaixo da dura-máter. Para o KF/A7 as cânulas de aço inoxidável foram posicionadas bilateralmente no cérebro conforme as coordenadas: 8,9 mm caudal ao bregma, 2,3 mm lateral à linha mediana e 5,3 mm abaixo da dura-máter. As cânulas foram fixadas nas cabeças dos ratos com parafusos e resina acrílica.

Após a cirurgia cerebral, os ratos receberam uma injeção intramuscular (0,2 ml/rato) de Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte (Fort Dodge Saúde Animal Ltda.) e do analgésico/antiinflamatório Ketoflex (cetoprofeno 1%, 0,03 ml/rato).

3.3- Injeção das drogas no cérebro

As drogas foram dissolvidas em solução salina fisiológica ou veículo (propilenoglicol + água, 2:1) e foram injetadas no cérebro dos ratos utilizando-se uma seringa Hamilton (5 µl), conectada com um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora que foi introduzida no cérebro pela cânula guia previamente fixada no cérebro. A cânula injetora (0,3 mm diâmetro) era 2 mm mais longa do que a cânula guia. O volume de injeção foi 0,2 µl.

3.4- Drogas injetadas

Noradrenalina (Sigma Chemical Co), agonista de receptores adrenérgicos, nas doses de 80 e 160 nmol/0,2 µl, foi dissolvida em salina isotônica e administrada na área KF/A7 e no NPBL. Cloridrato de RX 821002 (Research Biomedical International, RBI), antagonista de receptores adrenérgicos α_2 , foi dissolvido em salina isotônica e foi administrado na área KF/A7 e no NPBL nas doses de 80 e 160 nmol/0,2 µl. Cloridrato de moxonidina (Solvay Pharma), agonista de receptores adrenérgicos α_2 e imidazólicos, foi administrado na área KF/A7 na dose de 0.5 nmol/0.2 µl. Maleato de metisergida, (Research Biomedical International) um antagonista inespecífico de receptores serotoninérgicos foi administrado na área KF/A7 na dose de 4 µg/0.2 µl. Moxonidina e metisergida foram dissolvidas numa mistura propilenoglicol e água 2:1 (veículo). Proglumide (Research Biomedical International), antagonista de receptores colecistocinérgico) na dose 50 µg/0.2 µl foi dissolvido em salina isotônica e administrado na área KF/A7.

Furosemida (FURO), diurético/saliurérico, (10 mg/kg de peso corporal), foi dissolvida em salina isotônica com pH próximo a 9,0 ajustado com solução de

hidróxido de sódio 0,1 N. Captopril (CAP), inibidor da enzima conversora de angiotensina (5 mg/kg de peso corporal, administração subcutânea) foi dissolvido em salina isotônica. Furosemida e captopril foram comprados de Sigmal Chemical Company, St Louis, MO, USA. O tratamento com FURO + CAP foi utilizado como descrito previamente por Fitts & Masson, 1989 e Menani et al, 1996.

3.5– Indução e medida da ingestão de água e de NaCl

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição tubos com NaCl 0,3 M desde pelo menos sete dias antes do início dos experimentos.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento combinado de FURO (10 mg/kg) + CAP (5 mg/kg) s.c. Imediatamente após o tratamento com FURO + CAP, os ratos foram mantidos sem água e sem NaCl 0,3 M por uma hora. Após esse período, foram oferecidos aos animais água e NaCl 0,3 M. Para o registro da ingestão de água e NaCl 0,3 M foram utilizados tubos com divisão de 0,1 ml.

Foi guardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Durante o período de experimento, os ratos não tiveram acesso à ração.

3.6- Coleta de urina

Os ratos foram mantidos em gaiolas metabólicas. No início dos testes, água e o sódio foram removidos e os animais foram submetidos ao tratamento com FURO + CAP sc. Imediatamente após o tratamento com FURO + CAP teve início a coleta de urina espontaneamente eliminada, que foi feita a cada 30 min durante as próximas 3 h. Passados 45 min do tratamento com FURO + CAP, noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) ou veículo foram injetados na área KF/A7. Quinze minutos após as injeções na área KF/A7 água e NaCl 0,3 M foram oferecidos aos animais. A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi medida a cada 30 minutos pelo período de 2 horas, enquanto as coletas de urina a cada 30 min continuaram por igual período. As amostras de urina coletadas foram analisadas em um analisador de sódio e potássio eletrodo sensível (Nova 1, Nova Biomedical).

3.7 - Medida da pressão arterial e frequência cardíaca

A pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram registradas em ratos não anestesiados. Um dia antes do registro da PAM e FC, a artéria femoral

foi canulada com um tubo de polietileno PE 10 que foi conectado com um tubo de polietileno PE 50 o qual foi exteriorizado pelo dorso do animal. No dia seguinte, o tubo PE 50 foi conectado com um transdutor de pressão (Stathan P 23 Db) acoplado a um sistema computadorizado de registro (Mac Lab/Power Lab). Após um período de 20 min de registro controle da PAM e FC, os animais foram tratados com FURO + CAP sc. Injeções da salina foram feitas na área KF/A7 30 min após o tratamento com FURO + CAP sc e injeções de noradrenalina (80 e 160 nmol/0,2 µl) foram feitas na área KF/A7 15 minutos após as injeções de salina na mesma área. Os registros da PAM e FC continuaram por mais 30 minutos após as injeções de noradrenalina.

3.8- Histologia cerebral para confirmação dos pontos de injeção

Terminados os experimentos, os ratos receberam injeções de corante (azul de Evans 2%, 0,2 µl) no NPBL ou na área KF/A7, foram profundamente anestesiados e submetidos a uma perfusão cerebral através de injeção no coração de solução salina tamponada (50 ml) seguida de solução de formalina a 10% (50 ml). A seguir os cérebros foram retirados e fixados em formalina 10% por alguns dias. Cortes transversais (50 µm de espessura) foram feitos nos pontos de injeção com auxílio de um criostato (Leica). Os cortes histológicos, montados em lâmina foram corados com Giemsa e analisados para se localizar os pontos das injeções de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson (1997).

3.9- Análise dos resultados

Os resultados foram tabelados. A média e o erro padrão da média foram representados em gráficos. Análise de variância e o teste de Newman Keuls ou teste de Fisher (aplicado para análise da frequência cardíaca e da ingestão cumulativa de NaCl em animais saciados) foram utilizados para as comparações entre diferentes tratamentos. Diferenças foram consideradas significantes para $p < 0,05$.

3.10- Protocolos Experimentais

3.10.1- Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.

Em ratos com cânulas bilateralmente implantadas no NPBL, a ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c, conforme descrito no item 5 dos métodos. Injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) ou salina no NPBL foram feitas quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos animais.

Para testar os efeitos de noradrenalina injetada no NPBL três grupos de ratos foram usados: um grupo recebeu noradrenalina (80 nmol/0,2 µl), outro grupo recebeu noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) e o terceiro grupo recebeu 0,2 µl de salina no NPBL. Cada rato foi testado uma vez.

3.10.2- Efeitos da combinação de injeções bilaterais de noradrenalina com RX 821002 no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.

Em ratos com cânulas bilateralmente implantadas no NPBL a ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c, conforme descrito no item 5 dos métodos. Injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) ou salina no NPBL foram feitas trinta minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos animais. Quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos ratos, foram feitas as injeções de noradrenalina no NPBL.

Para testar os efeitos de noradrenalina combinada com RX 821002 injetada no NPBL, os ratos receberam os seguintes tratamentos: salina + salina; salina + noradrenalina; RX 821002 + salina; RX 821002 + noradrenalina. Em cada teste, o grupo de ratos foi dividido em dois e metade do grupo recebeu um tratamento no NPBL e o restante dos animais recebeu outro tratamento no NPBL. A sequência dos tratamentos no NPBL em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos experimentos todos os ratos receberam os quatro experimentos.

3.10.3- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.

Em ratos com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7 a ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c, conforme descrito no item 5 dos métodos. Injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) ou

salina na área KF/A7 foram feitas quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos animais.

Para testar os efeitos da noradrenalina injetada na área KF/A7, três grupos de ratos foram usados: um grupo recebeu noradrenalina (80 nmol/0,2 µl), outro grupo recebeu noradrenalina (160 nmol/0,2 µl), e o terceiro grupo recebeu 0,2 µl de salina na área KF/A7. Cada rato foi testado uma vez.

3.10.4- Efeitos combinação de injeções bilaterais de noradrenalina com RX 821002 na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.

Em ratos com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7, a ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c. Injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) ou salina na área KF/A7 foram feitas 30 minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos animais. Quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos ratos, foram feitas as injeções de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7. Para se testar os efeitos de noradrenalina combinada com RX 821002 injetados na área KF/A7, os ratos receberam os seguintes tratamentos: salina + salina; salina + noradrenalina; RX 821002 + salina; RX 821002 + noradrenalina. Em cada teste, o grupo de ratos foi dividido em dois e metade do grupo recebeu um tratamento na área KF/A7 e o restante dos animais receberam outro tratamento na área KF/A7. A sequência dos tratamentos no KF/A7 em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos experimentos todos os ratos receberam os quatro experimentos.

3.10.5- Efeitos de injeções bilaterais de metisergida, moxonidina ou proglumide na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado FURO + CAP s.c.

Em ratos com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7, a ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c. Quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos ratos, foram feitas as injeções de metisergida (4 µg/0,2 µl), moxonidina (0,5 nmol/0,2 µl), proglumide (50 µg/0,2 µl) ou veículo na área KF/A7. No grupo tratado com proglumide, também foram

feitas injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) para comparações de efeitos das duas drogas.

Para testar os efeitos da moxonidina ou metisergida injetada na área KF/A7, o grupo de ratos foi dividido em 3 subgrupos, os quais foram submetidos a 3 testes. Em cada teste, um subgrupo recebeu moxonidina, um recebeu metisergida e outro recebeu veículo na área KF/A7. A sequência do tratamento em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos 3 testes cada rato recebeu três tratamentos.

Para testar os efeitos de proglumide e noradrenalina injetada na área KF/A7, o grupo de ratos foi dividido em 3 subgrupos, os quais foram submetidos a 3 testes. Em cada teste, um subgrupo recebeu proglumide, um recebeu noradrenalina e outro recebeu salina na área KF/A7. A sequência dos tratamentos em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos 3 testes cada rato recebeu três tratamentos.

3.10.6- Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na excreção renal de ratos tratados com FURO + CAP s.c.

Ratos com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7 foram ambientados durante uma semana em gaiolas metabólicas. Os ratos foram inicialmente tratados com FURO + CAP s.c. e 45 min após receberão injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) ou salina na área KF/A7. Os ratos tiveram acesso à água e NaCl 0,3 M 15 min após as injeções na área KF/A7. A urina espontaneamente eliminada foi coletada a cada 30 minutos durante 3 horas, iniciando-se a coleta uma hora após o tratamento com FURO + CAP.

Para testar os efeitos de noradrenalina (80 nmol ou 160 nmol) injetada na área KF/A7, o grupo de ratos foi dividido em 3 subgrupos, os quais foram submetidos a 3 testes. Em cada teste, um subgrupo recebeu noradrenalina (80 nmol/0,2 µl), um recebeu noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) e outro recebeu salina na área KF/A7. A sequência dos tratamentos em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos 3 testes cada rato recebeu três tratamentos

3.10.7- Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a pressão arterial e frequência cardíaca.

Em ratos normotensos com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7 e submetidos à canulação prévia (um dia antes) da artéria femoral foi realizado o registro da pressão arterial (PAM) e frequência cardíaca (FC). Após um período controle de registro da PAM e FC, os animais foram tratados com furosemida + captopril. Injeções da salina foram feitas na área KF/A7 30 min após o tratamento de FURO + CAP e injeções de noradrenalina (80 e 160 nmol/0,2 µl) foram feitas 15 minutos após as injeções de salina na área KF/A7. Os registros da PAM e FC continuaram por mais 30 min.

Para testar os efeitos da noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 na pressão arterial e na frequência cardíaca, um grupo de animais foi dividido em dois subgrupos, os quais foram submetidos a dois testes. Em cada teste um subgrupo recebeu noradrenalina 80 nmol/0,2 µl e o outro subgrupo recebeu noradrenalina 160 nmol/0,2 µl na área KF/A7. A sequência dos tratamentos em cada rato nos diferentes teste foi randomizada e no final dos experimentos cada animal recebeu os dois tratamentos.

3.10.8- Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 em ratos normohidratados/saciados.

Em ratos normohidratados/saciados com cânulas bilateralmente implantadas na área KF/A7, injeções bilaterais de salina ou noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 foram feitas quinze minutos antes do oferecimento de água e NaCl 0,3 M aos animais.

Para testar os efeitos da noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7, em animais saciados um grupo de animais foi dividido em dois subgrupos, os quais foram submetidos a dois testes inicialmente. Em cada teste subgrupo recebeu 160 nmol/0,2 µl e o outro subgrupo salina na área KF/A7. Posteriormente, para efeitos de comparação, foram feitos mais dois experimentos e os animais foram novamente divididos em dois subgrupos. Em cada teste os animais foram tratados com FURO + CAP e um subgrupo recebeu salina e o outro noradrenalina na área KF/A7. A sequência dos tratamentos em cada rato nos diferentes testes foi randomizada e no final dos experimentos cada animal recebeu os quatro tratamentos.

3.10.9- Efeitos das injeções bilaterais de noradrenalina no na área KF/A7 na ingestão de sacarose 2%.

Para se testar a especificidade de injeções de noradrenalina na área KF/A7 para aumentar a ingestão de NaCl em comparação com outros tipos de comportamentos de ingestão, um grupo de animais que receberam ração e água *ad libitum* tiveram acesso a solução de sacarose 2% por duas horas por dia durante sete dias (“teste de sobremesa”). Após esse período, noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) ou salina foram injetados na área KF/A7 quinze minutos antes dos animais terem acesso a solução de sacarose. A ingestão cumulativa de sacarose e água foi medida a cada 30 minutos durante 2 horas.

Para testar os efeitos da noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7, um grupo de animais foi dividido em dois subgrupos, os quais foram submetidos a dois testes inicialmente. Em cada teste um subgrupo recebeu 160 nmol/0,2 µl e o outro subgrupo salina na área KF/A7. Nestes dois experimentos os animais tiveram acesso a buretas de sacarose 2% e de água. Posteriormente, para efeitos de comparação, foram feitos mais dois experimentos e os animais foram novamente divididos em dois subgrupos. Em cada teste os animais foram tratados com FURO + CAP e um subgrupo recebeu salina e o outro noradrenalina na área KF/A7. A sequência dos tratamentos em cada rato nos diferentes teste foi randomizada e no final dos experimentos cada animal recebeu os quatro tratamentos.

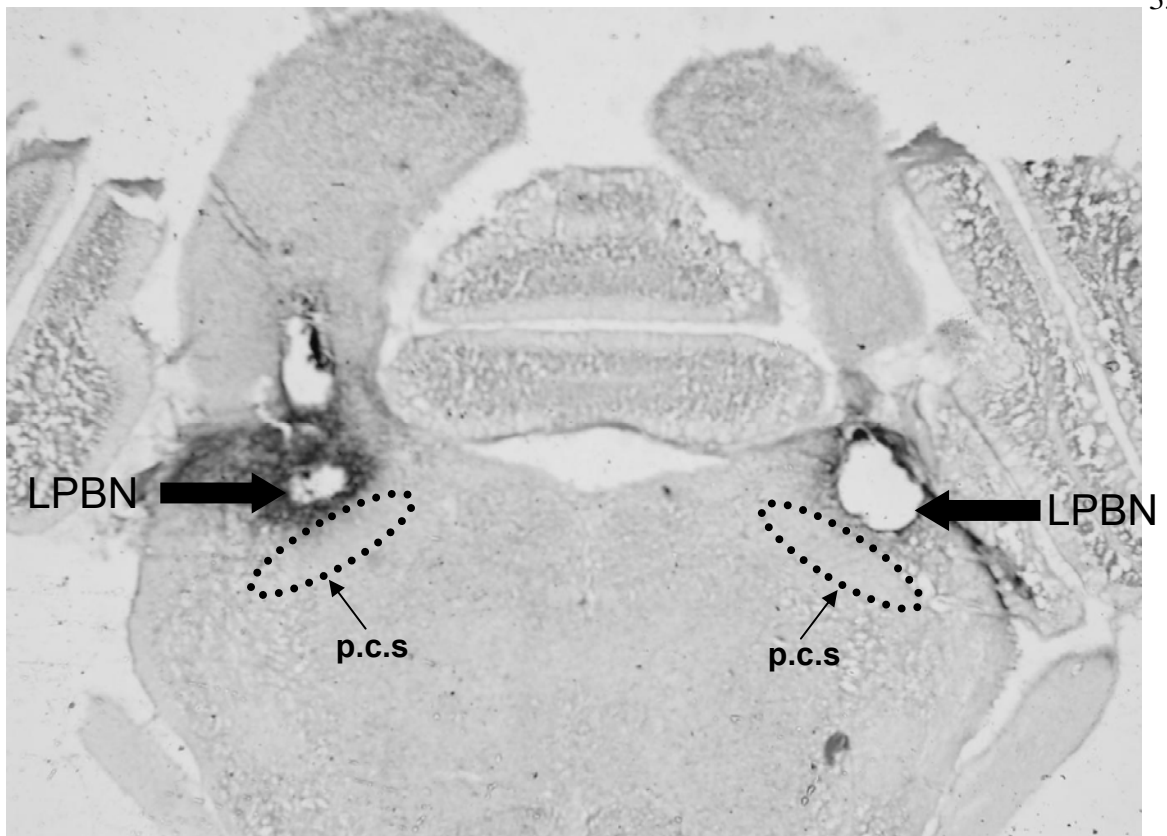
4. RESULTADOS

4.1- Localização histológica das cânulas no NPBL e na área KF/A7.

A Figura 1A mostra injeções bilaterais típicas no NPBL. Os pontos de injeção foram localizados principalmente nas porções centro lateral e dorso lateral do NPBL [vide Fulwiler e Saper para definições dos sub núcleos do NPBL (FULWILER & SAPER, 1984)]. Os pontos de injeção do presente estudo são similares àqueles em que estudos anteriores mostraram os efeitos de metisergida, proglumide ou DOI sobre a ingestão de água e sódio (MENANI & JOHNSON, 1995; MENANI *et al.*, 1996; MENANI *et al.*, 1998a; MENANI *et al.*, 1998b; DE GOBBI *et al.*, 2000; MENANI *et al.*, 2000).

A área Kölliker-Fuse/A7 está localizada na porção ventral e lateral do complexo parabraquial. Entretanto, em alguns ratos, injeções na área KF/A7 alcançaram também a porção lateral do complexo parabraquial próximo ao pedúnculo cerebelar superior (p.c.s) (Fig 1B).

A



B

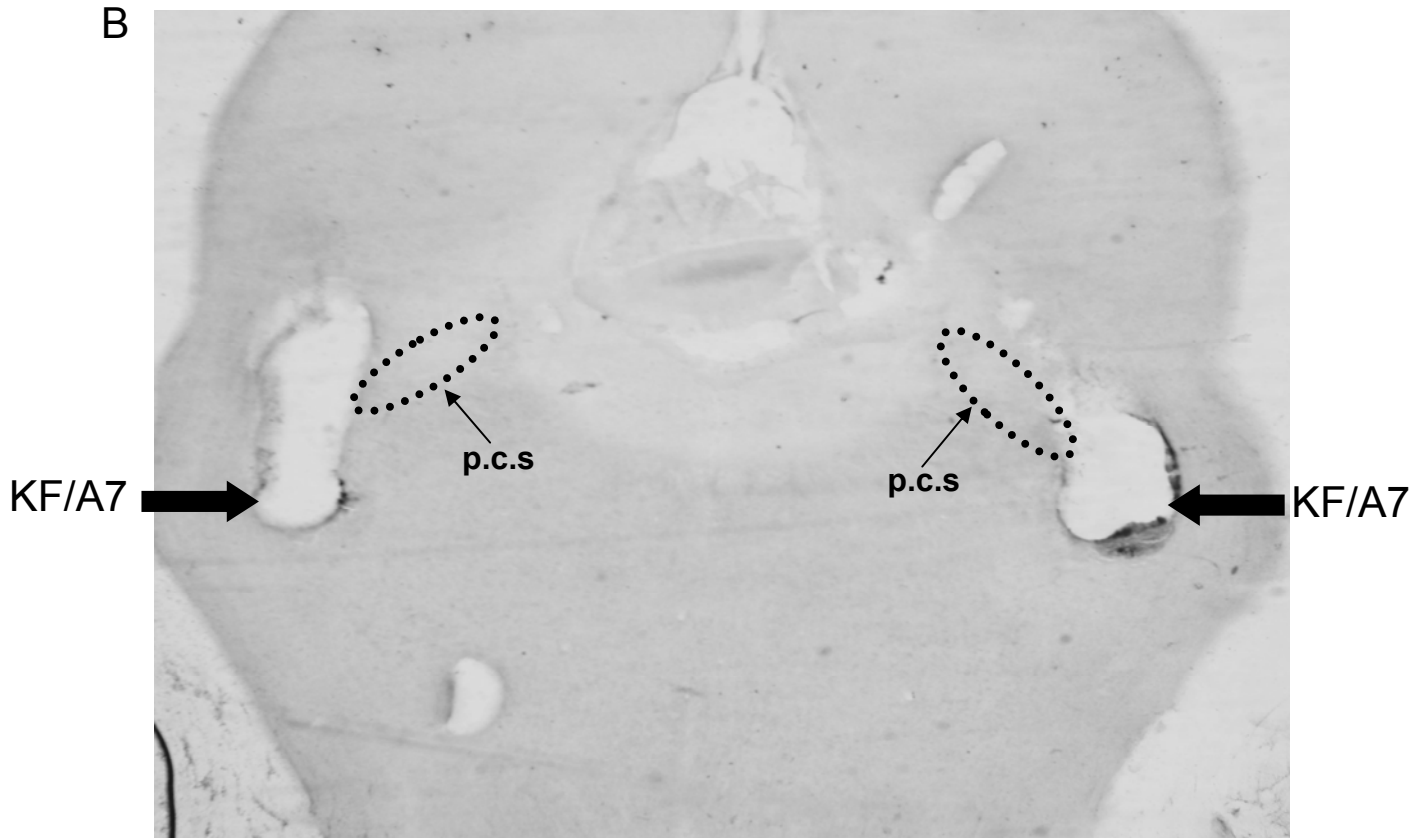


Figura 1: Fotomicrografias de um cortes transversais de cérebros de ratos mostrando o local das injeções, indicados pelas setas, (A) no núcleo parabraquial lateral (NPBL) e (B) na área KF/A7. p.c.s, pedúnculo cerebelar superior.

4.2- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

Injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/ 0,2 µl) no NPBL aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M a partir dos 60 minutos até os 120 minutos de teste [F(2,120) = 29,56; p<0,05] (Figura 2A), mas não alteraram a ingestão de água [F (2,120)= 0,88; p>0,05](Figura 2B).

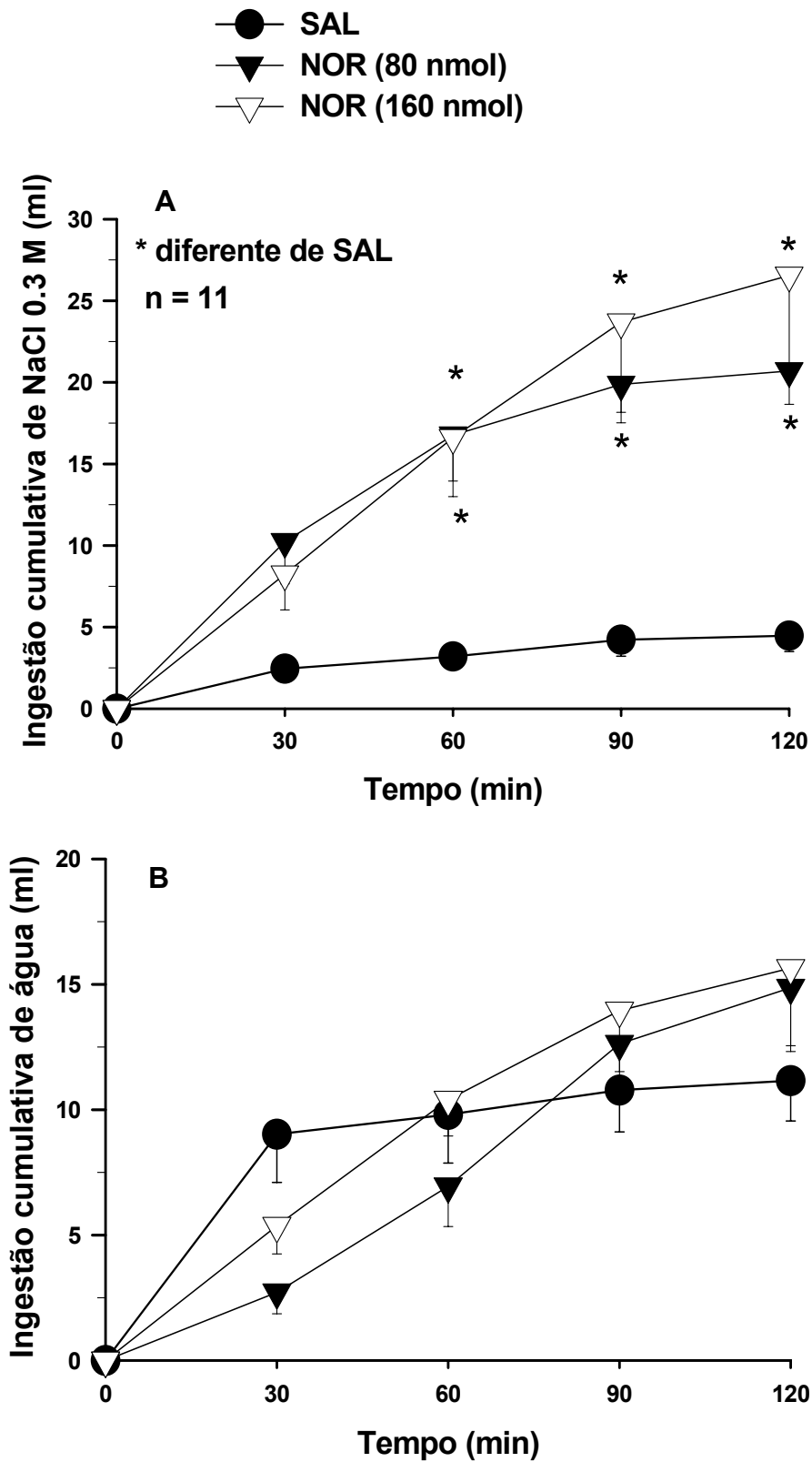


Figura 2: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de noradrenalina (NOR, 80 ou 160 nmol/0,2 μ l) ou salina (SAL) no NPBL. Os resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.3- Efeitos da combinação de injeções bilaterais de noradrenalina com RX 821002 no NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

Injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 μ l) no NPBL aboliram os efeitos de noradrenalina (160 nmol/ 0,2 μ l) na mesma área sobre a ingestão de NaCl 0,3 M [F(3,24) = 8,61; p < 0,05] (Figure 3A). Injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 μ l) sozinho no NPBL aumentaram a ingestão de água aos 60 minutos de teste [F(3, 24) = 4,99; p < 0,05] (Figure 3B).

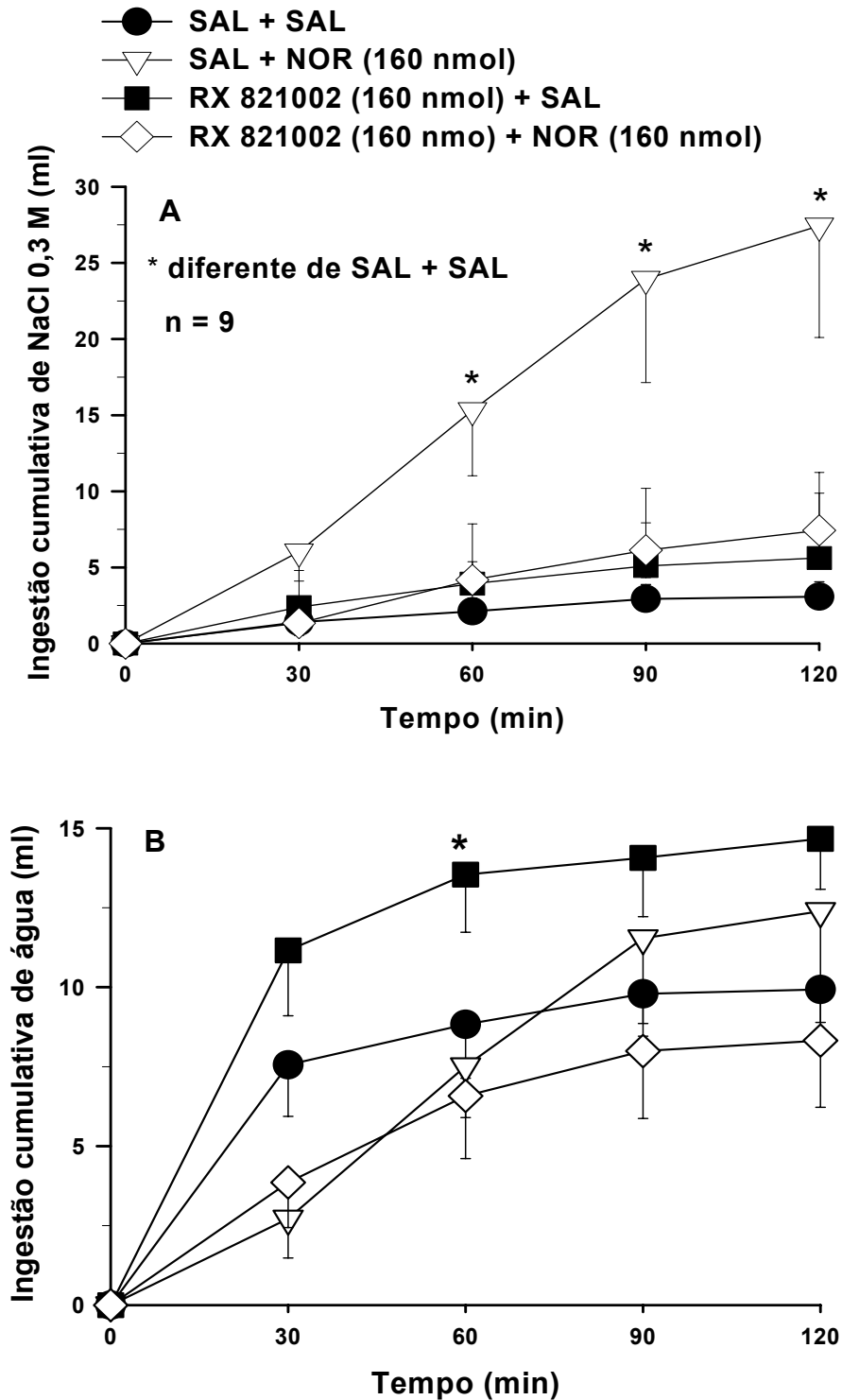


Figura 3: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/ 0,2 μ l) ou salina (SAL) + noradrenalina (NOR, 160 nmol/0,2 μ l) ou SAL no NPBL. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.4- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

Injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 μ l) na área KF/A7 aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M a partir dos 60 minutos até os 120 minutos de teste [F(2,144) = 26,15; p < 0,05] (Figura 4A), e a ingestão de água aos 120 minutos de teste [F (2,144) = 6,29; p < 0,05] (Figura 4B).

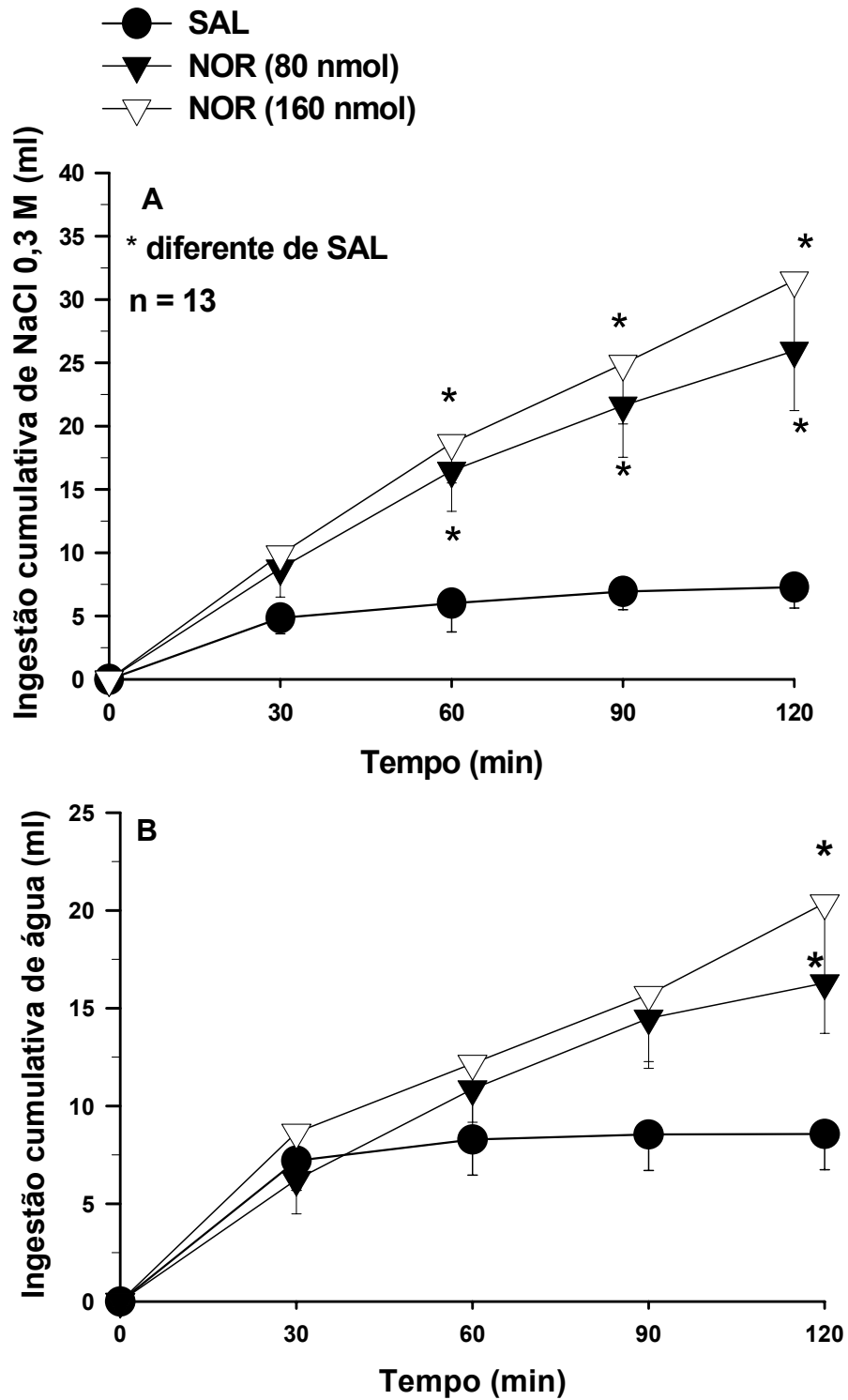


Figura 4: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de noradrenalina (NOR, 80 ou 160 nmol/0,2 μ l) ou salina na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.5- Efeitos combinação de injeções bilaterais de noradrenalina com RX 821002 na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

Injeções bilaterais de RX 821002 (80 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 aboliram os efeitos de noradrenalina (80 nmol/0,2 µl) na mesma área sobre a ingestão de NaCl 0,3 M [$F(3,21) = 13,81$; $p < 0,05$], (Figure 5A). Injeções de noradrenalina na área KF/A7 não alteraram a ingestão de água [$F(3,21) = 0,66$; $p > 0,05$] (Figure 5B) Injeções bilaterais de RX 821002 na área KF/A7 não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M ou de água.

Injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 também aboliram os efeitos de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) na mesma área sobre a ingestão de NaCl 0,3 M [$F(3,18) = 4,37$; $p < 0,05$], (Figure 6A). Injeções de noradrenalina ou RX 821002 na área KF/A7 sozinhos ou combinados não alteraram a ingestão de água nesse grupo de animais [$F(3,18) = 1,97$; $p > 0,05$] (Figure 6B).

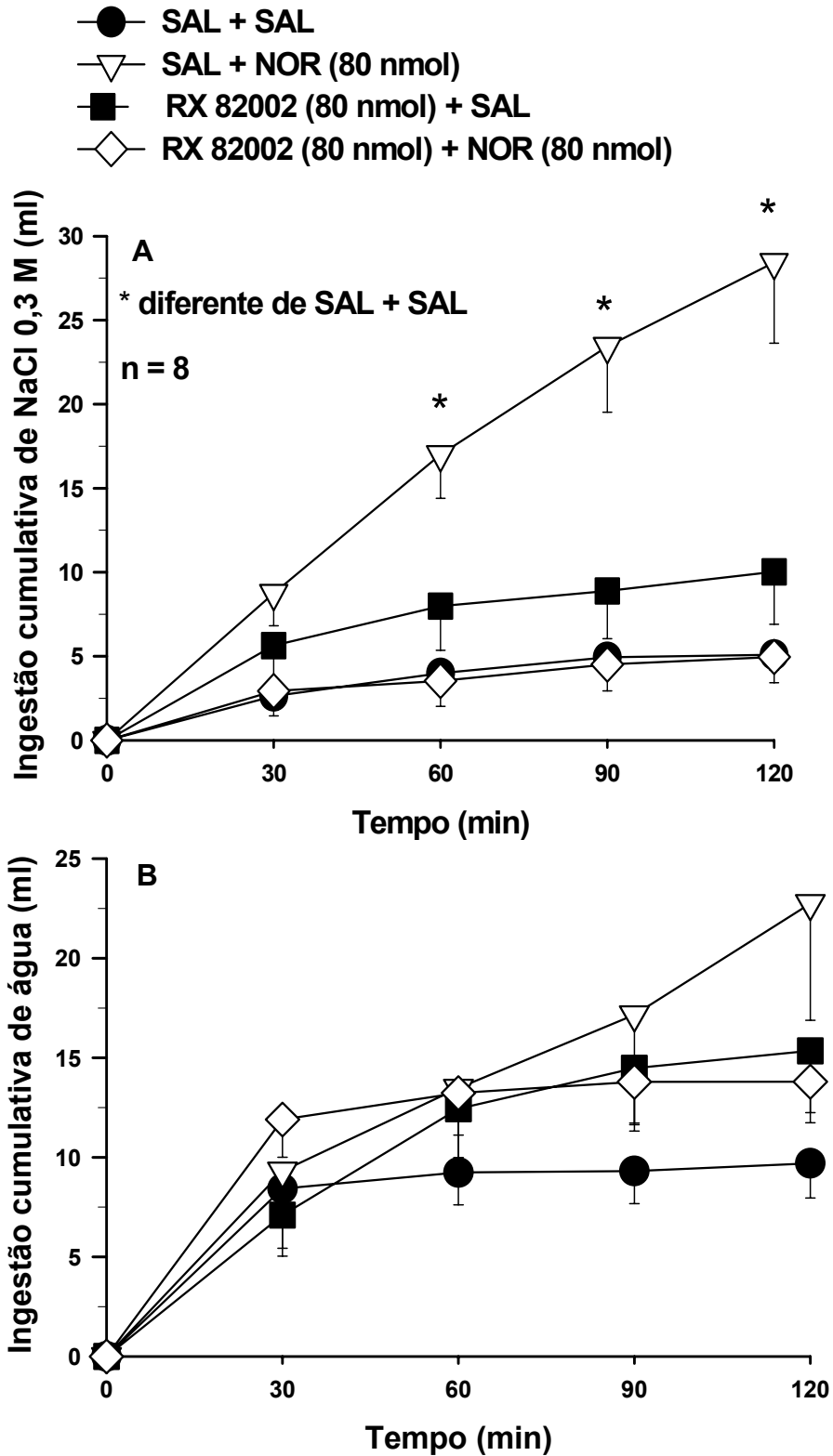


Figura 5: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de RX 821002 (80 nmol/ 0,2 μ l) ou salina (SAL)+ noradrenalina (NOR, 80 nmol/0,2 μ l) ou SAL na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

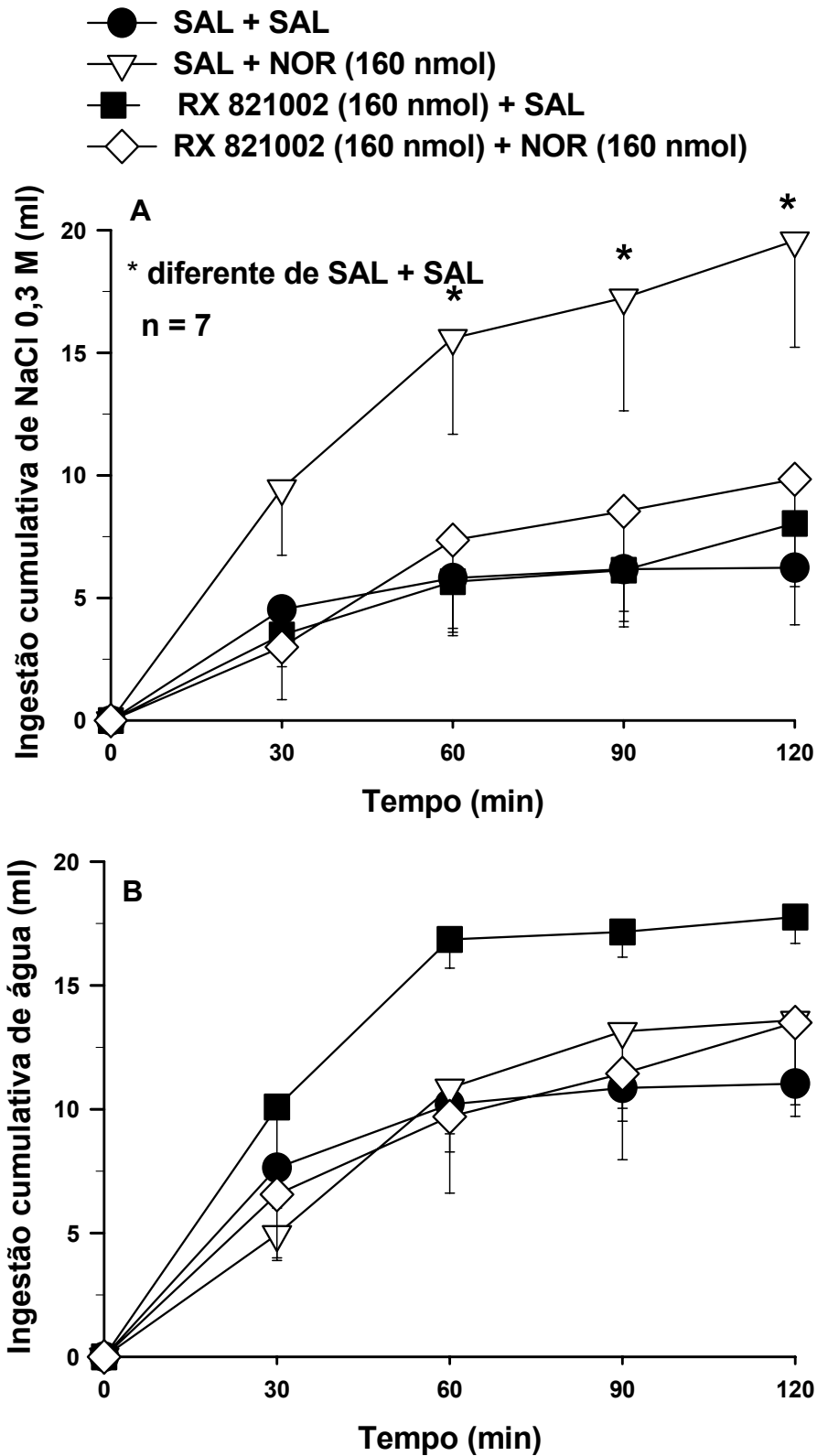


Figura 6: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de RX 821002 (160 nmol/0,2 μ l) ou salina (SAL) + noradrenalina (NOR, 160 nmol/0,2 μ l) ou SAL na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.6- Efeitos de injeções bilaterais de moxonidina, metisergida ou proglumide na área KF/A7 sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

Semelhante a noradrenalina, moxonidina (0,5 nmol/0,2 μ l) injetada bilateralmente na área KF/A7 aumentou a ingestão de NaCl 0,3 M de 60 até 180 minutos de teste [$F(2,16) = 25,48$; $p < 0,05$] e a ingestão de água dos 120 até 180 minutos de teste [$F(2,16) = 3,18$; $p < 0,05$] (Figura 7). Entretanto, injeções bilaterais de metisergida (4 μ g/0,2 μ l) ou de proglumide (50 μ g/0,2 μ l) na área KF/A7 não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M e nem de água (Figuras 7 e 8).

Nos mesmos ratos que receberam injeções de proglumide, injeções de noradrenalina (160 nmol/ 0,2 μ l) na área KF/A7 aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M [$F(2, 14) = 8,78$; $p < 0,05$], mas também não alteraram a ingestão de água induzida por FURO + CAP s.c [$F(2,14) = 1,1023$; $p = 0,388$] (Figura 7).

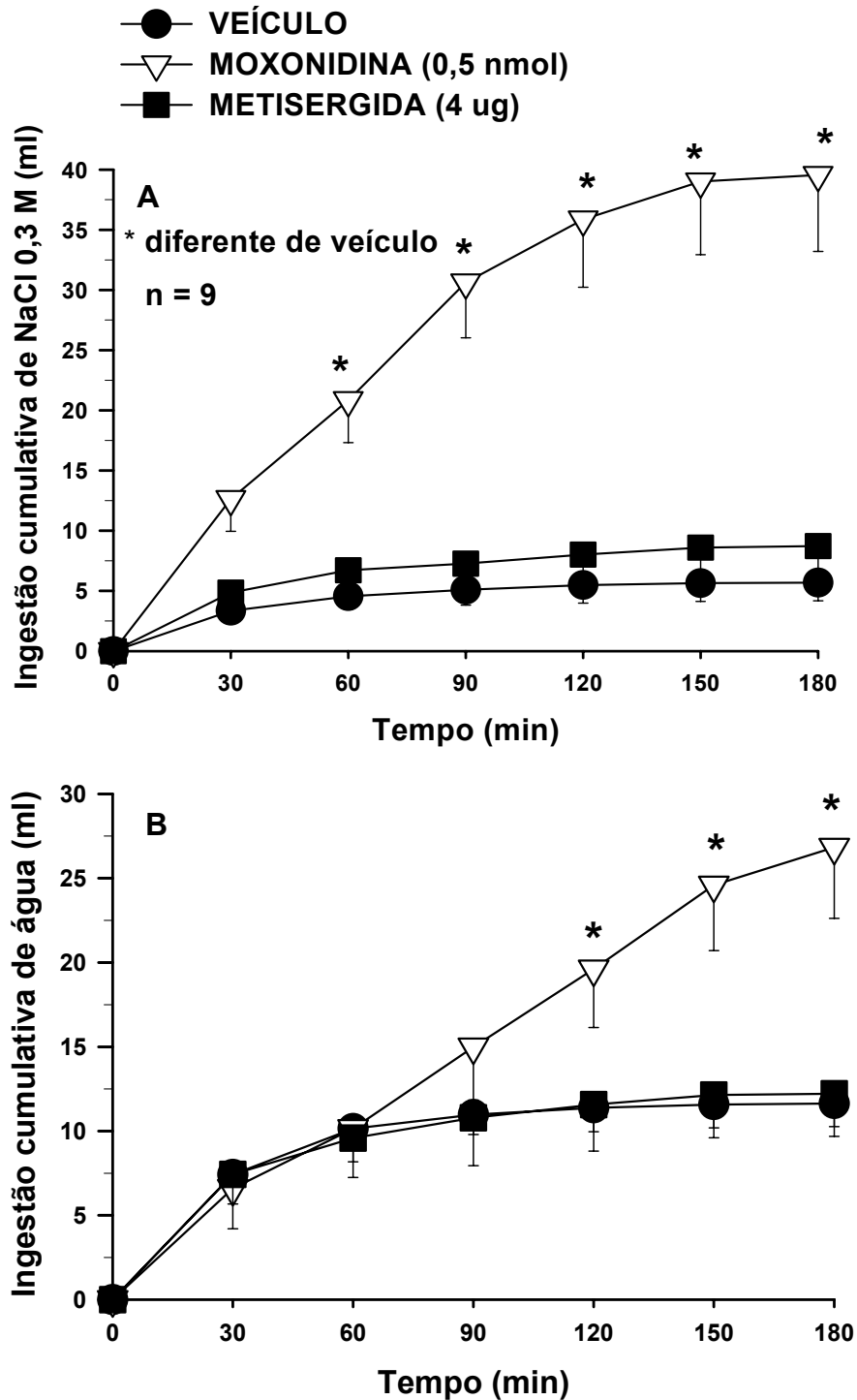


Figura 7: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol/0,2 μ l), metisergida (4 μ g/0,2 μ l) ou veículo na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

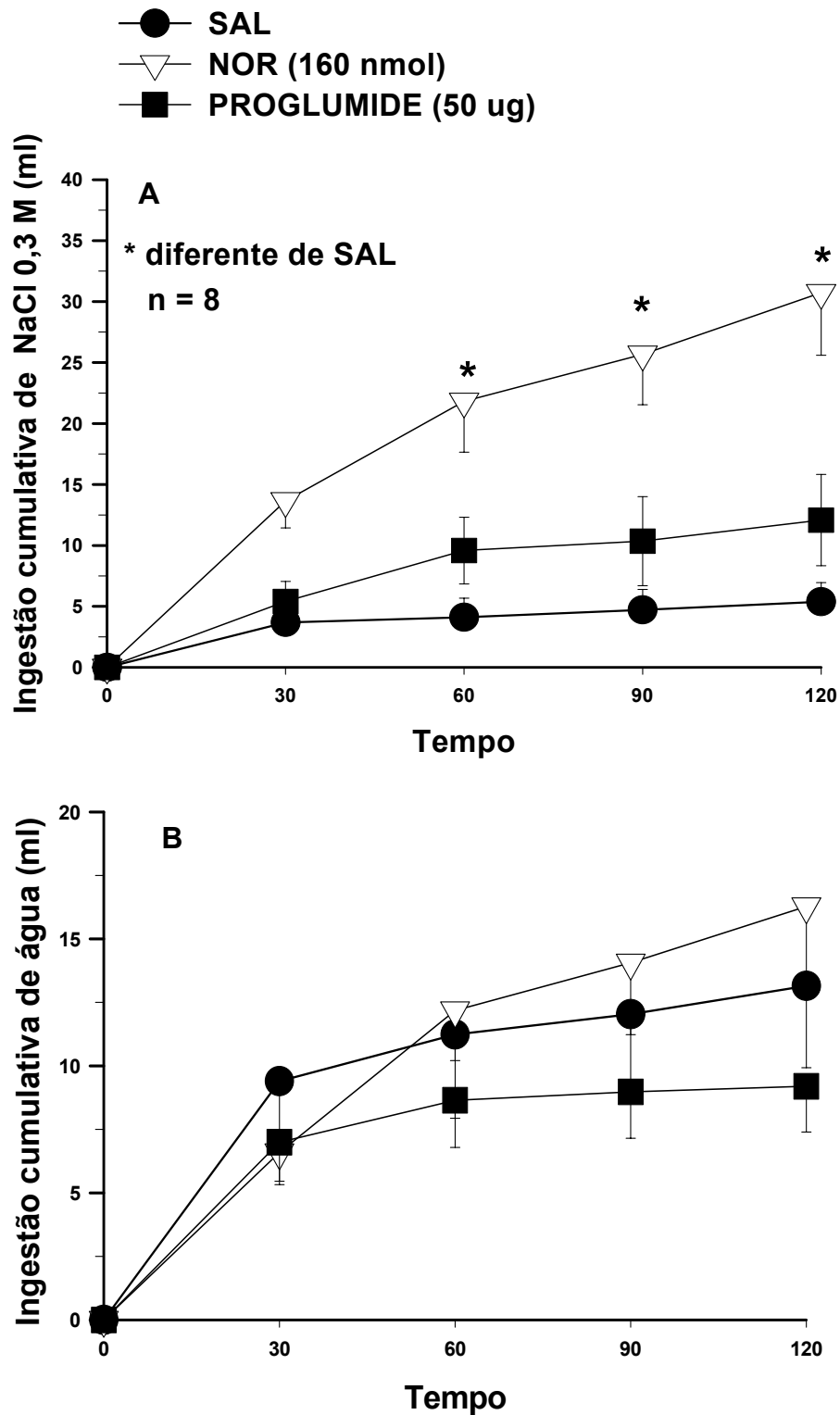


Figura 8: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de proglumide (50 μ g/0,2 μ l), noradrenalina (NOR,160 nmol/0,2 μ l) ou salina na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.7- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na excreção renal de ratos tratados com FURO + CAP s.c.

Após injeções bilaterais de noradrenalina (80 e 160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 não houve alteração da excreção cumulativa de sódio [$F(2,12) = 2,41$; $p > 0,05$], potássio [$F(2,12) = 0,08$; $p > 0,05$] ou volume urinário [$F(2,12) = 1,63$; $p > 0,05$] (Figura 9). Porém, injeções bilaterais de noradrenalina (80 ou 160 nmol/0,2 µl) na área KF/A7 aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M dos 60 até 120 minutos de teste [$F(2,12) = 13,521$; $p < 0,05$], sem modificações na ingestão de água [$F(2,12) = 3,55$; $p < 0,05$](Figura 10).

Como ocorreu aumento da ingestão de sódio sem modificação na excreção, o balanço cumulativo de sódio aumentou nos animais que receberam noradrenalina [$F(2,12) = 10,613$; $p < 0,05$] (Figure 11). O balanço cumulativo de sódio aumentou com injeções de noradrenalina na dose de 80 nmol/0,2 µl aos 90 minutos do teste e na dose de 160 nmol/0,2 µl a partir dos 30 minutos de teste. O balanço cumulativo de água foi modificado pelas injeções de noradrenalina na dose de 160 nmol/0,2 µl a partir dos 60 minutos de teste e por noradrenalina na dose de 80 nmol/0,2 µl aos 90 minutos de teste [$F(2,12) = 4,619$; $p < 0,05$] (Figura 11).

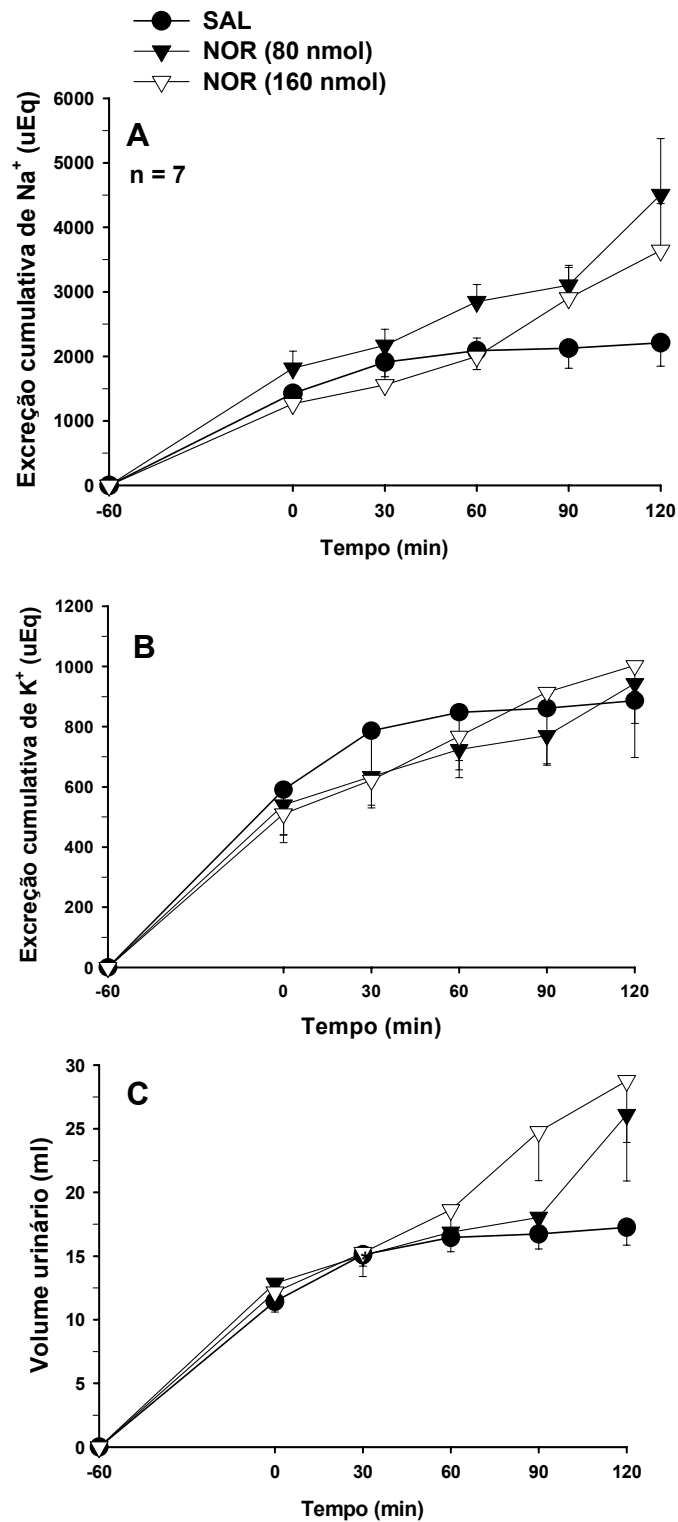


Figura 9: Excreção cumulativa de (A) Na^+ , (B) K^+ e (C) volume urinário de ratos tratados com FURO + CAP s.c que receberam injeções bilaterais de noradrenalina (80 e 160 nmol/0,2 μl) ou salina na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

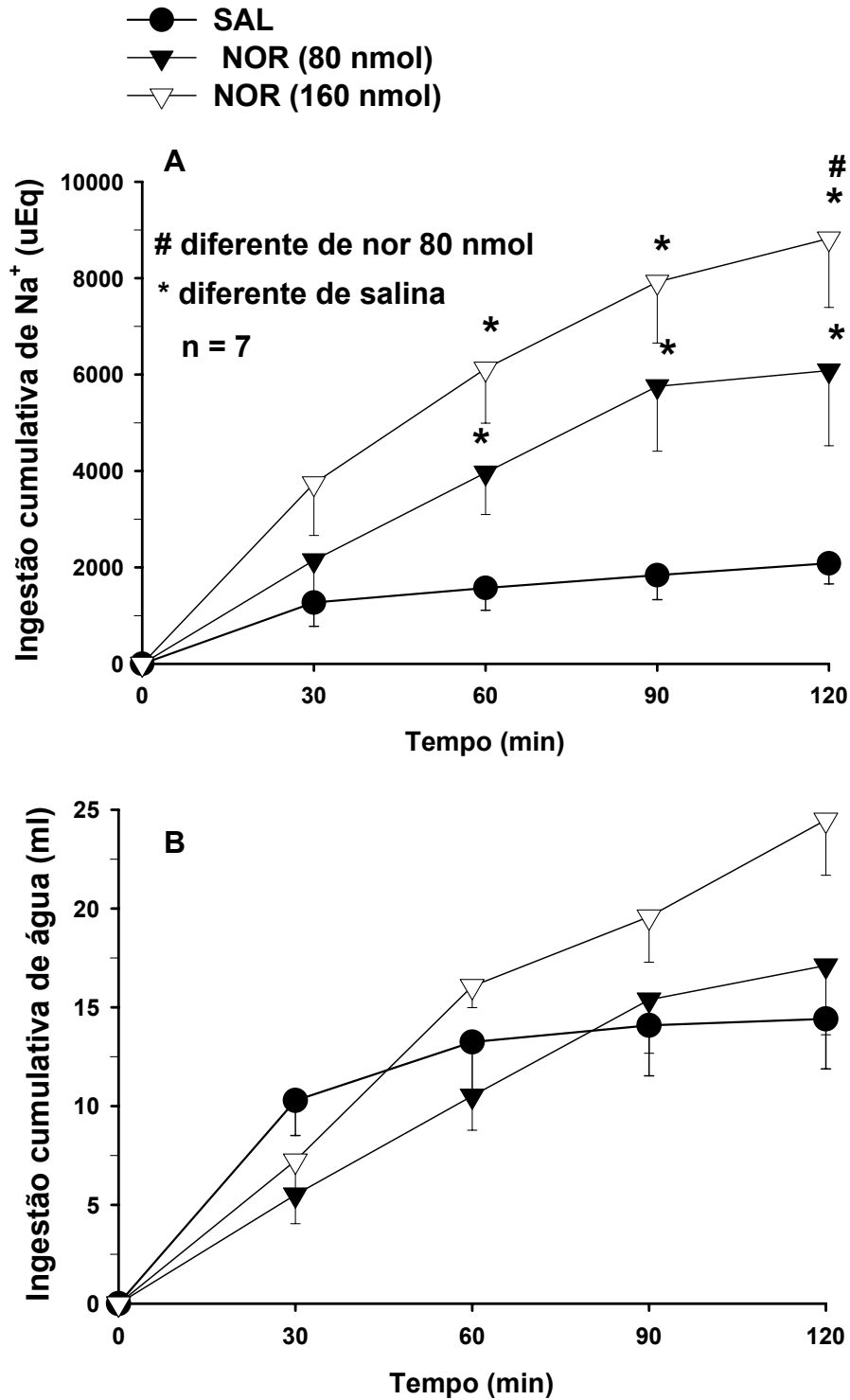


Figura 10: Ingestão cumulativa de (A) Na⁺ e (B) água induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c em ratos que receberam injeções bilaterais de noradrenalina (80 e 160 nmol/ 0,2 µl) ou salina na área KF/A7. Resultados expressos como média ± EPM. n = número de animais.

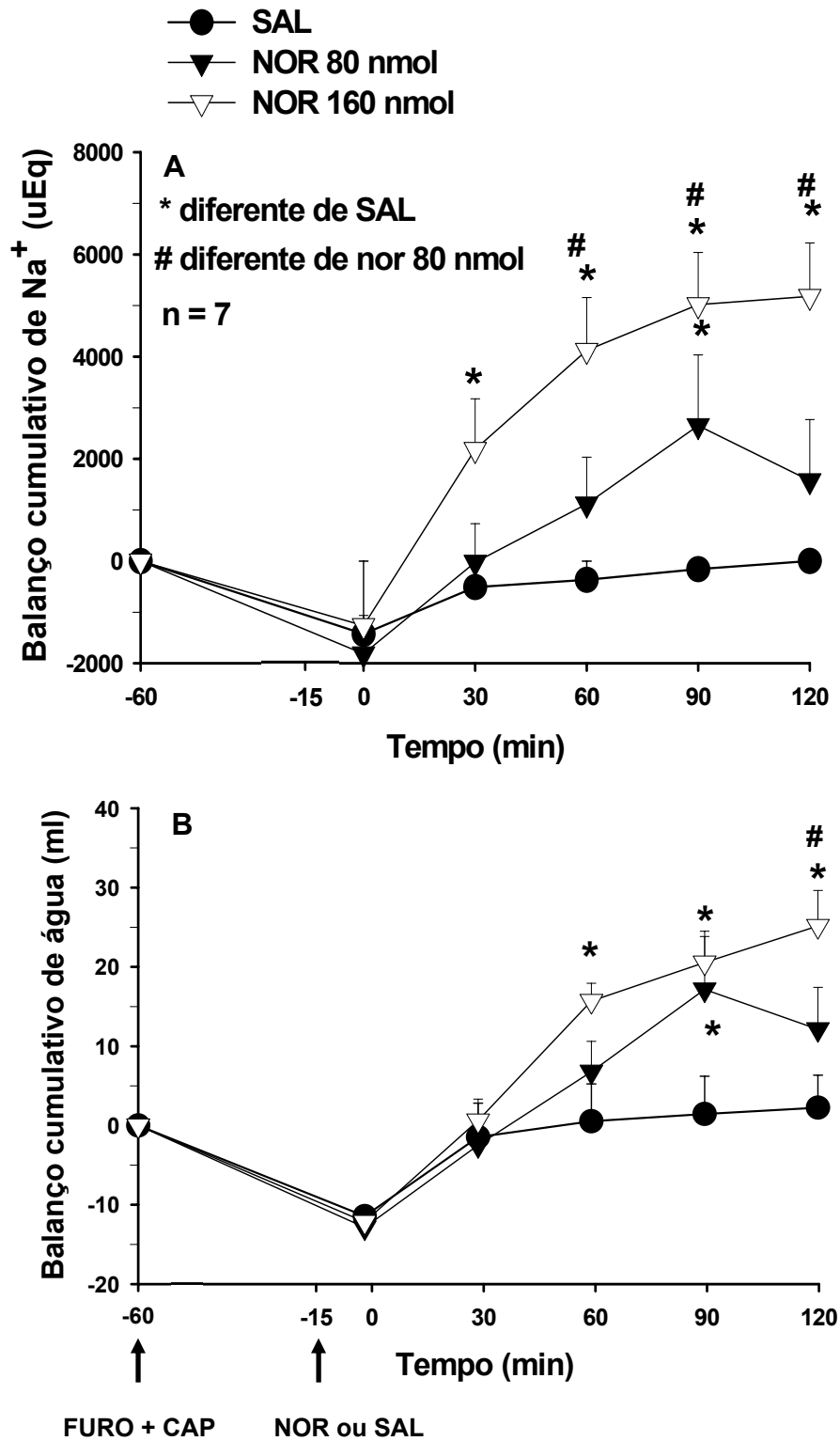


Figura 11: Balunço cumulativo de (A) Na⁺ e (B)  gua em animais tratados com FURO + CAP s.c que receberam inje es bilaterais de noradrenalina (NOR, 80 e 160 nmol/0,2  l) ou salina na  rea KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.8- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sobre a pressão arterial e frequência cardíaca de ratos tratados com FURO + CAP s.c.

O tratamento com FURO + CAP s.c reduziu a PAM basal (95 ± 6 mmHg, vs. pré-tratamento: 114 ± 2 mmHg) [$F(1,4) = 12,55$; $p < 0,05$], mas não alterou a frequência cardíaca (412 ± 28 bpm, vs. pré-tratamento: 392 ± 19 bpm) [$F(1,4) = 0,37$; $p > 0,05$]. O máximo de redução da PAM ocorreu 45 minutos após a injeção de FURO + CAP sc.

Injeções bilaterais de noradrenalina (80 e 160 nmol/0,2 μ l) na área KF/A7 de ratos tratados com FURO + CAP, aumentaram a PAM [$F(2,8) = 16,30$; $p < 0,05$] e diminuíram a frequência cardíaca [$F(2,8) = 5,00$; $p < 0,05$] (Figuras 12 e 13).

O máximo da resposta pressora ocorreu nos primeiros três minutos após as injeções de noradrenalina (80 ou 160 nmol/ 0,2 μ l) na área KF/A7 e 20 minutos após, a resposta pressora já estava muito reduzida (redução de pelo menos 70%).

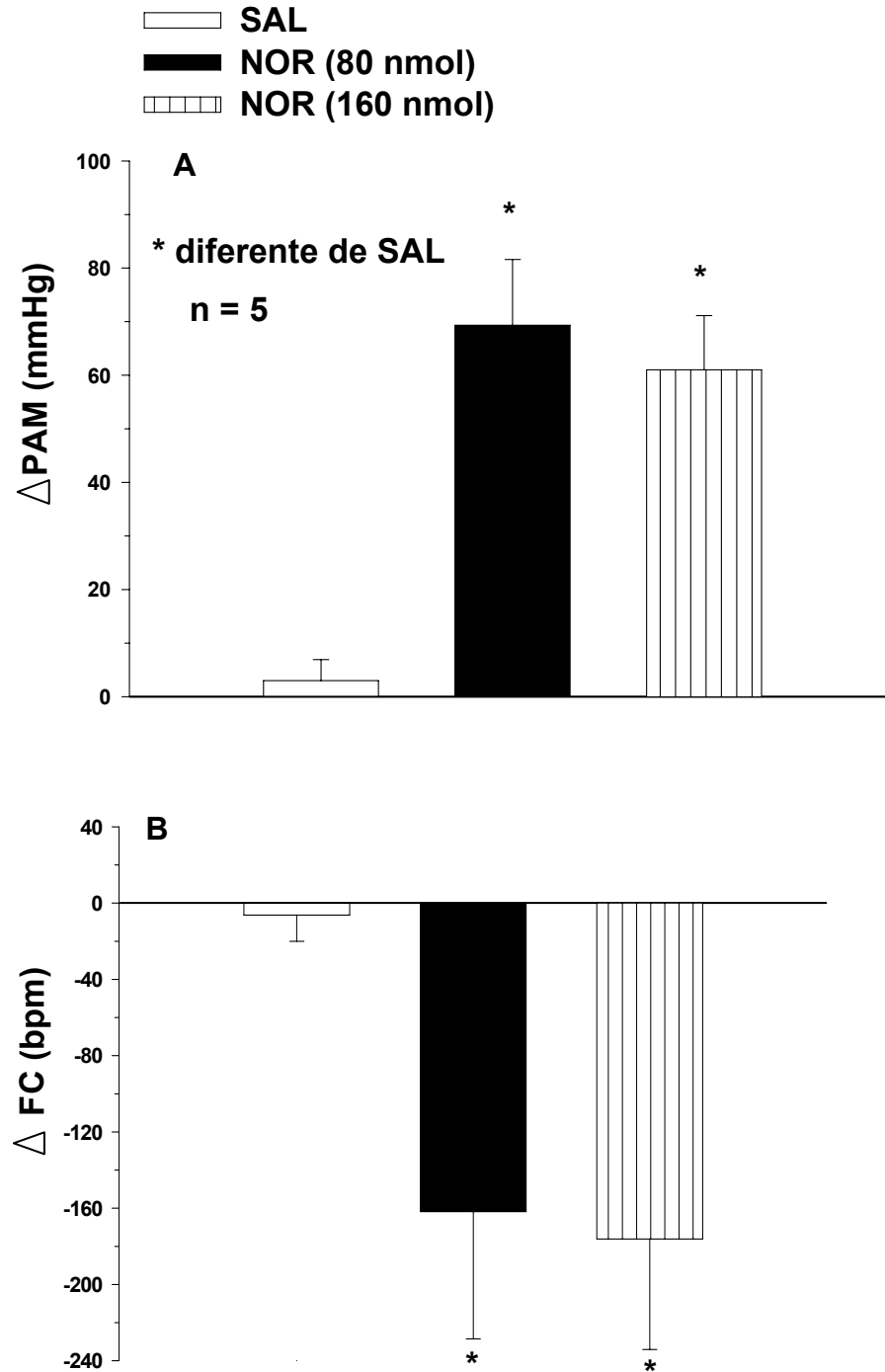


Figura 12: Variações (A) da PAM e (B) da frequência cardíaca produzidas por injeções bilaterais de noradrenalina (NOR, 80 e 160 nmol/0,2 μ l) ou salina (SAL) na área KF/A7 em ratos tratados com FURO + CAP s.c. que receberam. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais

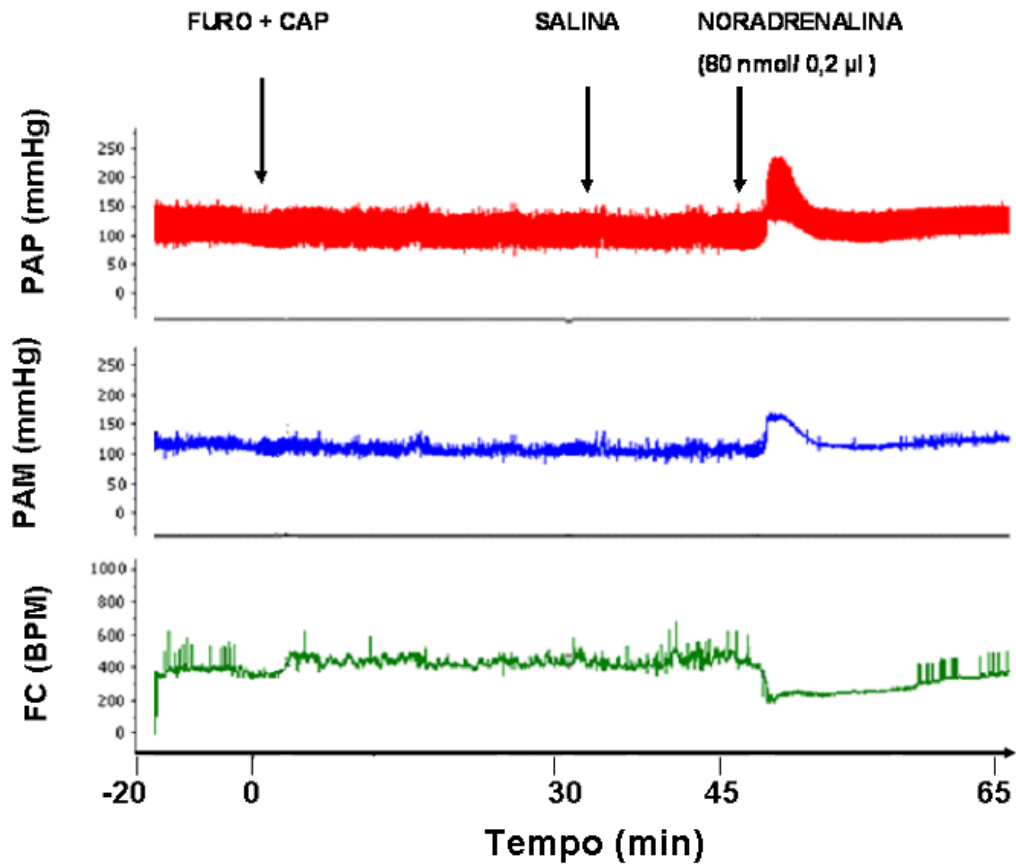


Figura 13: Traçado representativo mostrando pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), pressão arterial média (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, bpm) de um rato tratado com FURO + CAP s.c. que recebeu injeções bilaterais de salina ou noradrenalina (80 nmol/0,2 µl) na área KF/A7.

4.9- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 em ratos normohidratados/saciados.

Em animais saciados, injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M nem a ingestão de água (Figura 15).

Porém, nos mesmos animais, quando tratados com FURO + CAP s.c., injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/ 0,2 µl) na área KF/A7 aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M a partir dos 60 minutos de teste [$F(3,18) = 14,62$; $p < 0,05$] (Figura 14) e a ingestão de água a partir dos 90 minutos de teste [$F(3,18) = 22,52$; $p < 0,05$] (Figura 14).

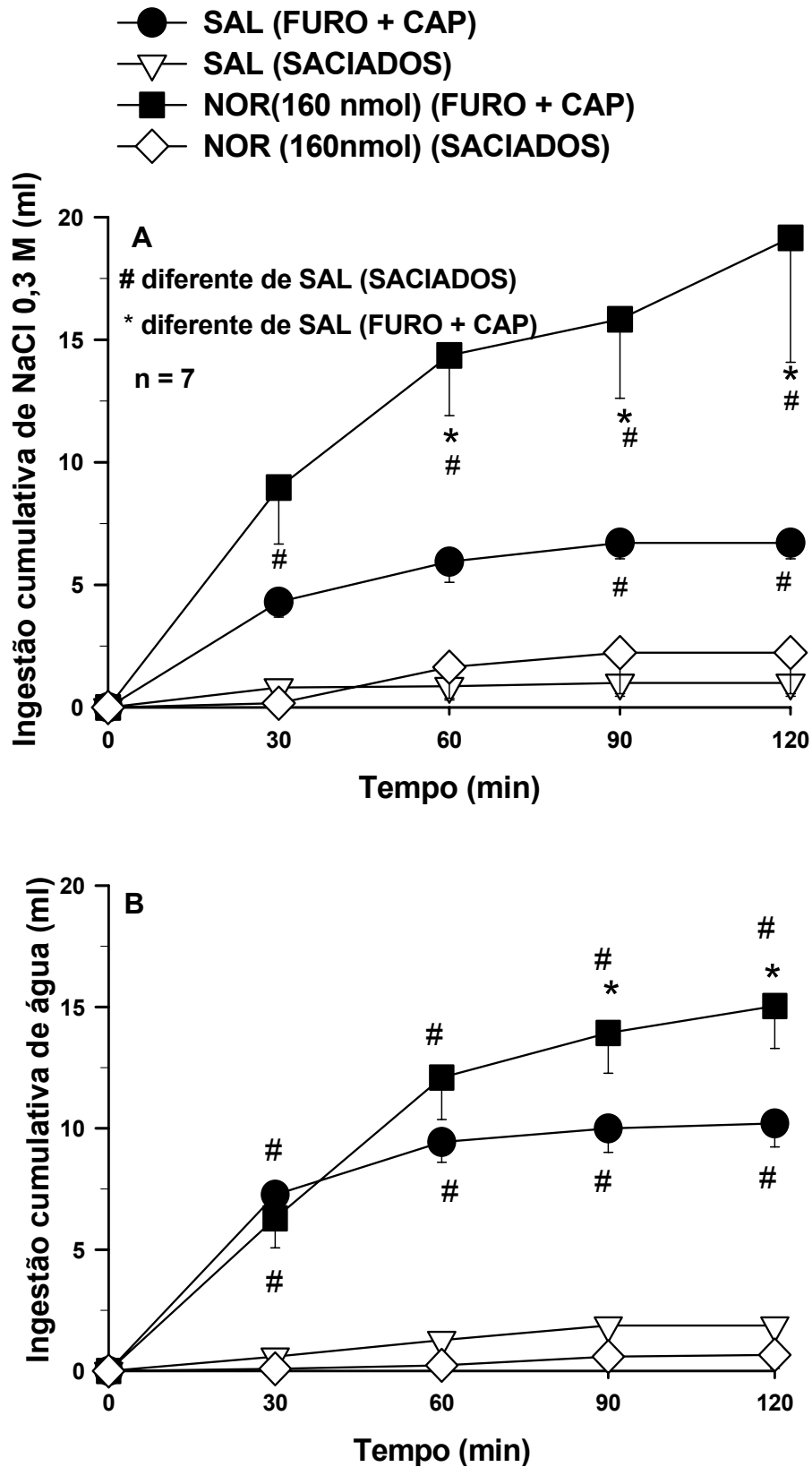


Figura 14: Ingestão cumulativa de (A) NaCl 0,3 M e (B) água após injeções bilaterais de noradrenalina (NOR, 160 nmol/0,2 μ l) ou salina (SAL) na área KF/A7 de ratos saciados ou tratados com FURO + CAP s.c. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.10- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 na ingestão de sacarose 2%.

Injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 μ l) na área KF/A7 diminuíram a ingestão de sacarose 2% comparada com os animais que receberam salina [F(1,5) = 16,737; $p < 0,05$], (Figura 15). Por outro lado, noradrenalina na área KF/A7 não alterou a ingestão de água que ocorreu concomitante à ingestão de sacarose [F (1,5) = 0,00377; $p > 0,05$] (Figura 15).

Porém, os mesmos animais, quando tratados com FURO + CAP s.c., injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 μ l) na área KF/A7 aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M a partir dos 60 minutos até aos 120 minutos do teste ($17,9 \pm 4,3$ ml/ 2 h v.s salina $4,5 \pm 1,62$ ml/ 2 h) [F(1,5) = 74,911; $p < 0,05$] mas não houve alteração na ingestão água ($13,1 \pm 2,99$ ml/ 2 h v.s salina $11,9 \pm 2,3$ ml/ 2 h) [F (1,5) = 0,356; $p > 0,05$].

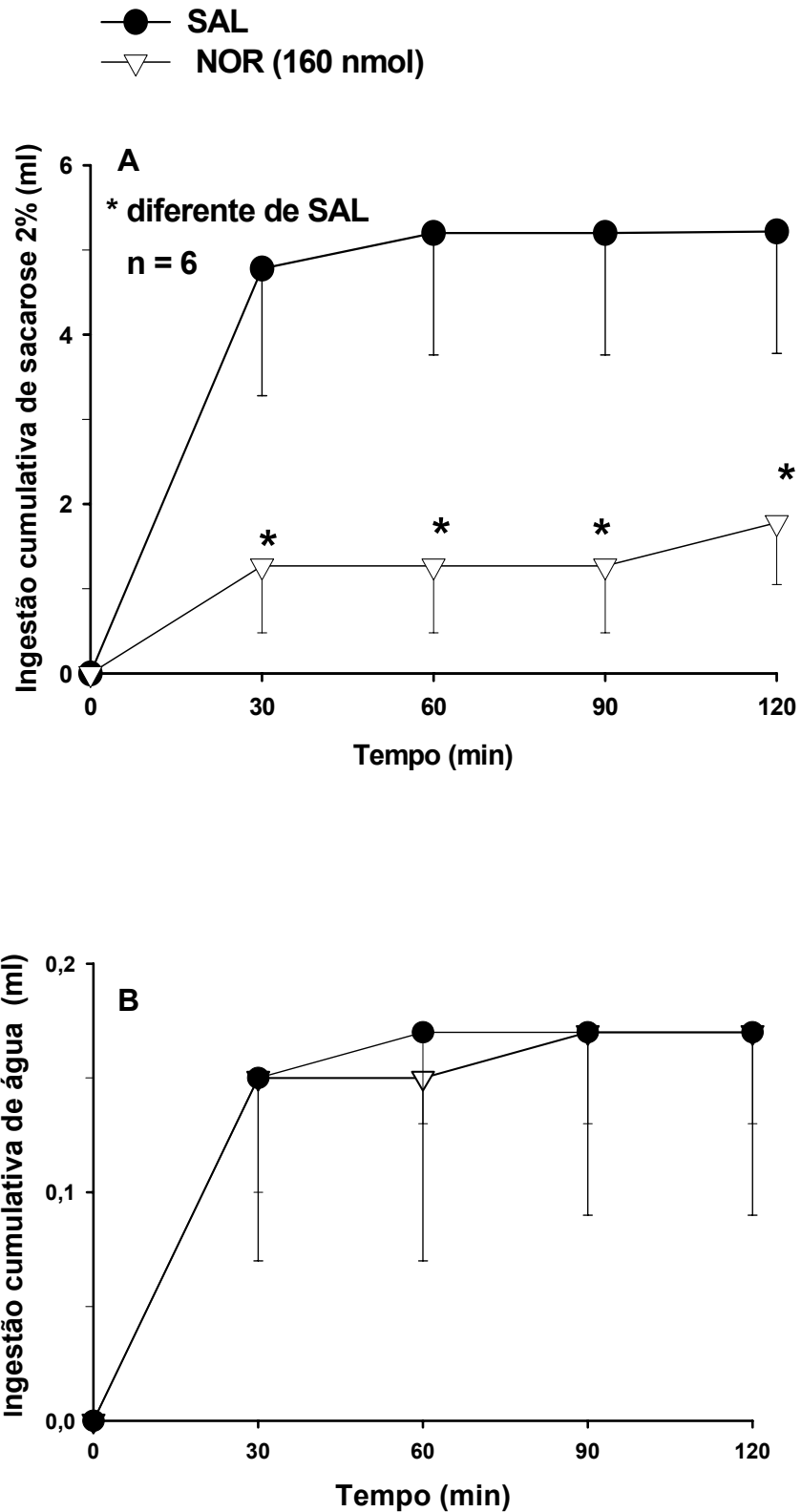


Figura 15: Ingestão cumulativa de (A) sacarose 2% e (B) água após injeções bilaterais de noradrenalina (NOR, 160 nmol/0,2 μ l) ou salina (SAL) na área KF/A7. Resultados expressos como média \pm EPM. n = número de animais.

4.11- Efeitos de injeções bilaterais de noradrenalina em sítios fora da área KF/A7 e do NPBL na ingestão de água e de NaCl 0,3 M induzida pelo tratamento combinado de FURO + CAP s.c.

A especificidade do NPBL ou da área KF/A7 como sítios onde as injeções de noradrenalina produzem efeitos na ingestão de água e NaCl 0,3 M foi confirmada pelos resultados de ratos em que as injeções não alcançaram o NPBL e nem a área KF/A7.

Injeções bilaterais de noradrenalina (160 nmol/0,2 µl) em sítios fora do NPBL e da área KF/A7 não alteraram a ingestão de NaCl 0,3 M [$F(1,6) = 0,15$ $p > 0,05$] ou a ingestão de água [$F(1, 6) = 1,30$; $p > 0,05$] (Tabela 1).

Resultados de injeções de moxonidina em sítios fora da área KF/A7 não foram analisados, pois apenas dois ratos tiveram injeções de moxonidina fora dessas áreas.

Tabela 1. Ingestão de água e NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP s.c. em ratos que receberam injeções de noradrenalina ou salina em sítios fora do NPBL ou da área KF/A7.

Tratamento	Ingestão de água (ml/2h)	Ingestão de NaCl 0,3 M (ml/2 h)
Salina	13,3 ± 1,5	18,6 ± 1,7
Noradrenalina	11,6 ± 0,9	8,6 ± 1,7

Resultados expressos como média ± EPM. n= 7. A dose de noradrenalina foi 160 nmol/0,2 µl em cada sítio.

5- DISCUSSÃO

Similar a estudos prévios com moxonidina, os resultados do presente estudo mostram que injeções bilaterais de noradrenalina no NPBL também aumentam a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP. Além dos efeitos no NPBL, injeções bilaterais de noradrenalina ou moxonidina na área KF/A7 também aumentam a ingestão de NaCl 0,3 M induzida por FURO + CAP. Moxonidina na área KF/A7 também aumenta a ingestão de água, enquanto que injeções de noradrenalina apenas na área KF/A7, e não de forma consistente, aumenta a ingestão de água. Injeções prévias de RX 821002 (antagonista de receptores adrenérgico α_2) na área KF/A7 ou no NPBL abolem os efeitos da noradrenalina injetada nas mesmas áreas. Logo, a ativação de receptores adrenérgicos α_2 pela noradrenalina na área KF/A7 ou no NPBL deve bloquear o mecanismo inibitório, facilitando a ingestão de sódio.

Apesar do mecanismo adrenérgico ser comum para o NPBL e área KF/A7, existem grandes diferenças entre essas áreas quando os neurotransmissores envolvidos são serotonina e colecistocinina. Já foi descrito na literatura o papel inibitório que esses neurotransmissores têm no NPBL no controle da ingestão de água e sódio (MENANI & JOHNSON, 1995; MENANI et al. 1996; MENANI & JOHNSON, 1998; MENANI et al., 1998b; DE GOBBI et al., 2000; MENANI et al., 2000; DE GOBBI et al., 2001). Nestes estudos, injeções bilaterais de metisergida ou proglumide, (antagonista de 5HT e CCK, respectivamente) aumentaram a ingestão de sódio e em alguns casos também a ingestão de água, induzida por diferentes protocolos como FURO + CAP, ANG II icv ou injetada no órgão subfornical, 24 horas de depleção de sódio, 24 horas de privação hídrica e tratamento com DOCA (deoxicorticosterona) s.c. Além do aumento da ingestão de sódio provocado pelo bloqueio serotoninérgico ou colecistoquinérgico no NPBL, sabe-se que existe uma interação entre esses dois neurotransmissores, visto que a combinação de baixas doses de metisergida com baixas doses de proglumide (antagonista serotoninérgico e antagonista colecistocinérgico, respectivamente) provocaram um aumento da ingestão de sódio maior do que quando se injetou os antagonistas sozinhos no NPBL. (DE GOBBI et al., 2001). Estudos mais recentes mostraram que a ativação de receptores serotoninérgicos 5HT_{1A} no NPBL aumenta a ingestão de sódio induzida por FURO + CAP (DE GOBBI et al., 2005). Também foi demonstrado recentemente que a ativação de receptores 5HT_{2A/2C} inibe a ingestão de sódio. Em contraste, a ativação de

receptores 5HT₃ do NPBL aumenta a ingestão de sódio em animais depletados (DE GOBBI, et al., 2007). Logo, os diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos do NPBL controlam a ingestão de sódio e, além disso, podem mediar efeitos opostos nesta ingestão. Diferente do que ocorre no NPBL, como mostrado no presente estudo, injeções de metisergida ou proglumide na área KF/A7, não produzem efeitos na ingestão de sódio ou água, o que sugere que os mecanismos serotoninérgicos e colecistocinérgicos são mais restritos ao NPBL e não estão presentes na área KF/A7.

Os presentes resultados são as primeiras evidências da presença de um mecanismo facilitatório mediado pelos receptores adrenérgicos α_2 na área KF/A7 no controle de água e sódio. Esses efeitos facilitatórios de noradrenalina ou moxonidina atuando em receptores adrenérgicos α_2 no NPBL ou na área KF/A7 são opostos dos efeitos inibitórios produzidos por esses agonistas injetados em áreas prosencefálicas. (FERRARI et al. 1990; CALLERA et al., 1993; DE PAULA et al., 1996; DE LUCA JR & MENANI, 1997; SUGAWARA, et al., 1999; MENANI et al., 1999; DE OLIVEIRA et al., 2003; ANDRADE et al., 2003). Logo, os presentes resultados reforçam aqueles de estudos prévios sugerindo que os receptores adrenérgicos α_2 podem ter efeitos opostos na ingestão de água e sódio, dependendo da área central em que estão localizados. Apesar da ativação de receptores adrenérgicos α_2 facilitar ou inibir a ingestão de água e sódio, injeções centrais de RX 821002 sozinho (no NPBL, na área KF/A7 ou no prosencéfalo) não produzem efeitos na ingestão de água e nem na ingestão de sódio, o que sugere que os receptores adrenérgicos α_2 não são tonicamente ativados. Entretanto, RX 821002 sozinho no NPBL aumentou a ingestão de água o que deve ser devido a algum efeito inespecífico desse antagonista.

Os receptores adrenérgicos α_2 no cérebro estão localizados pré- e pós-sinápticamente e pode produzir efeitos como consequência de uma inibição pré-sináptica da liberação de noradrenalina, serotonina ou glutamato ou pode produzir uma hiperpolarização pós-sináptica (UNNERSTALI et al., 1984; BERTOLINO et al., 1997; TRAVAGLI & WILLIAMS, 1996; GUYENET et al., 1994). Se a modulação da liberação de noradrenalina pela ativação de receptores pré-sinápticos fosse um mecanismo facilitatório na ingestão de sódio e água, injeções de noradrenalina no NPBL deveriam reduzir a ingestão de sódio como consequência de uma ativação pós-sináptica de receptores α_1 . No entanto, os efeitos das injeções de noradrenalina no NPBL parecem ser similares aos efeitos de moxonidina e os efeitos de ambos agonistas são bloqueados pelo antagonista de receptor adrenérgico α_2 . Esses

resultados sugerem que noradrenalina no NPBL e na área KF/A7 reduzem a liberação de outros neurotransmissores como serotonina ou glutamato como uma consequência de uma ativação pré-sináptica de receptores adrenérgicos α_2 ou atuando em receptores adrenérgicos α_2 pós-sinápticos induzindo uma hiperpolarização. Em ambos os casos, o resultado final deve ser a desativação do mecanismo inibitório do NPBL e da área KF/A7. A importância da serotonina e do glutamato na ativação do mecanismo inibitório do NPBL foi demonstrada previamente (MENANI et al., 1996; COLOMBARI et al., 1996, XU et al., 1997; MENANI et al., 1998; MENANI & JOHNSON, 1998; DE GOBBI et al., 2000; MENANI et al., 2000; DE GOBBI et al., 2005). No caso da área A7, onde existem corpos celulares de neurônios catecolaminérgicos, os receptores adrenérgicos α_2 também poderiam estar localizados nesses corpos celulares e, dessa maneira, ao serem ativados esses receptores ocorreria uma redução da liberação de noradrenalina em alguma área cerebral que recebesse projeção desses neurônios.

O NPBL e a área KF/A7 são áreas adjacentes e injeções de noradrenalina ou moxonidina no NPBL ou na área KF/A7 produzem efeitos similares na ingestão de NaCl 0,3 M e água. Os efeitos das injeções em uma área poderiam ser devido ao espalhamento da droga na área adjacente. Porém, os resultados mostram que metisergida ou proglumide injetadas no NPBL aumentam a ingestão de sódio (MENANI et al., 1996; MENANI & JOHNSON, 1998), mas não produzem nenhum efeito quando injetados na área KF/A7. Além de sugerir que não há espalhamento das drogas de uma área para a outra, esses resultados mostram claramente que os mecanismos serotoninérgico e colecistocinérgico estão presentes no NPBL, mas não na área KF/A7. A especificidade do NPBL e da área KF/A7 como sítios de ação da noradrenalina para produzir aumento da ingestão de sódio também é suportada pela ausência dos efeitos de noradrenalina em sítios ao redor do NPBL e da área KF/A7. Logo a ativação de receptores adrenérgicos α_2 é um mecanismo comum da área KF/A7 e do NPBL para facilitar a ingestão de sódio. No entanto, a área KF/A7 e o NPBL apenas dividem parcialmente os mecanismos de controle da ingestão de sódio, pois os mecanismos serotoninérgicos e colecistocinérgicos envolvidos no controle da ingestão de sódio estão presentes apenas no NPBL e não na área KF/A7.

As primeiras evidências sugerindo o envolvimento da área KF/A7 em respostas comportamentais foram estudos de Ohman e Johnson (1986, 1989) que

mostraram que lesões bilaterais de uma área ventral e lateral do NPBL, que denominaram NPBLVL, aumentaram a ingestão de água induzida por ANG II ou isoproterenol s.c. (OHMAN & JOHNSON, 1986, 1989). A área KF/A7 testada no presente estudo inclui o NPBLVL e também uma região mais rostral e lateral ao NPBLVL. O presente estudo mostra que similar aos efeitos no NPBL, a ativação de receptores adrenérgicos α_2 na área KF/A7 aumenta a ingestão de sódio.

Provavelmente os mesmos sinais envolvidos no controle da ingestão de sódio que alcançam o NPBL também chegam na área KF/A7. O NPBL recebe importantes projeções aferentes do NTSm/AP e da amígdala que transmitem sinais de receptores de volume e receptores gustatórios envolvidos no controle da ingestão de sódio e água (FRANCHINI & VIVAS, 1999; HERBERT et al., 1990; JHAMANDAS, 1996; KOBASHI et al., 1993; KRUKOFF et al., 1993; LANÇA et al., 1985; NORGREN, 1981; SHAPIRO & MISELIS, 1985; SPECTOR, 1995; YAMAMOTO et al., 1993). Esses sinais também podem alcançar a área KF/A7 diretamente do NTS ou através do NPBL. Interações entre NPBL e área KF/A7 no controle da ingestão de água ou sódio provavelmente existem, porém, apenas estudos futuros poderão dar informações sobre existência dessas interações entre essas duas áreas para controlar a ingestão de sódio e água. A figura 16 mostra um esquema de possíveis mecanismos envolvendo NPBL e área KF/A7 para inibição da ingestão de sódio.

POSSÍVEL MECANISMO INIBITÓRIO DO NPBL E DA ÁREA KF/A7

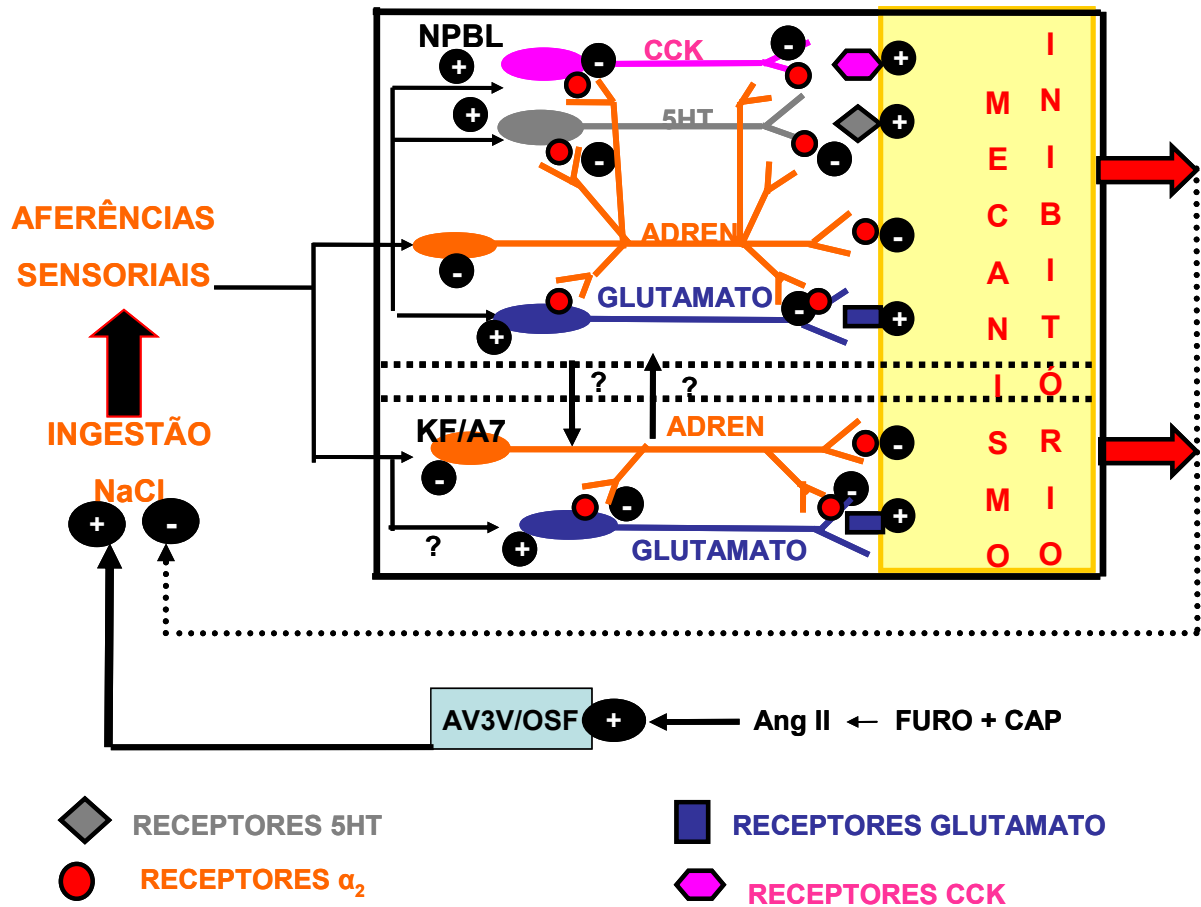


Figura 16: Modelo esquemático mostrando o mecanismo inibitório do NPBL e da área KF/A7 para o controle da ingestão de sódio e a possível interação com os mecanismos adrenérgicos α_2 , serotoninérgicos, colecistoquinérgicos e glutamatérgicos presentes nessa área. A ativação dos receptores adrenérgicos α_2 pode inibir diretamente o mecanismo inibitório ou promover uma desativação dos mecanismos serotoninérgico, glutamatérgico e/ou colecistocinérgico no NPBL. Na área KF/A7 apenas o mecanismo adrenérgico está presente. Serotonina, 5-HT, colecistoquinina, CCK.

Apesar do grande efeito sobre a ingestão de sódio em ratos tratados com FURO + CAP, noradrenalina injetada bilateralmente na área KF/A7 não modificou a ingestão de sódio ou água quando em ratos saciados, não tratados com FURO + CAP. Diferentemente da ingestão de água, a ingestão de NaCl hipertônico requer várias horas para ser induzida por tratamentos como depleção de sódio ou polietilenoglicol s.c. (STRICKER & VERBALIS., 1990). Agudamente apenas um pequeno aumento na ingestão de NaCl é produzido por ANG II central ou furosemida (MENANI et al., 1996 e 2000). Os resultados do presente estudo com noradrenalina sugerem que a ingestão de NaCl é extremamente facilitada se a ativação de mecanismos facilitatórios ocorrer simultaneamente com a desativação do mecanismo inibitório da área KF/A7. Em outras palavras, uma ingestão de NaCl significativa depende da combinação de dois fatores: a presença de um estímulo dipsogênico/natriurético e a desativação de mecanismos inibitórios. Na presença de apenas um fator, a ingestão de NaCl é pequena ou inexistente.

Os resultados do presente estudo mostraram que além da grande ingestão de sódio, noradrenalina na área KF/A7 também produz respostas renais e facilita a retenção de sódio e a expansão volumétrica, pois causa um balanço positivo de sódio. De acordo com estudos clássicos de Fitzsimons e colaboradores (para revisão ver FITZSIMONS, 1998) peptídeos natriuréticos inibem a atividade simpática do nervo renal, a liberação de vasopressina, a liberação de renina e a secreção de aldosterona levando a uma queda de pressão e um aumento da perda de sódio e água. Injeções de noradrenalina na área KF/A7 poderiam estar inibindo a liberação de ANP ou mesmo aumentando a atividade simpática do nervo renal, visto que há uma facilitação da retenção de sódio e uma expansão volumétrica. Estudos demonstraram que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 do núcleo parabraquial lateral diminui a resposta renal à sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M, pois injeções de moxonidina no NPBL diminui a natriurese e a diurese induzida pela sobrecarga hipertônica. (ANDRADE et al., 2007). A diminuição da natriurese e diurese causada por injeções de moxonidina no NPBL podem ser devido a uma diminuição dos níveis plasmáticos de vasopressina e ocitocina, já que injeções de moxonidina no NPBL em animais tratados com sobrecarga intragástrica de NaCl 2M diminuem os níveis plasmáticos desses hormônios (ANDRADE et al., 2008). A ativação de receptores adrenérgicos na área KF/A7 também compromete a excreção renal, pois a medida

que a ingestão de sódio aumenta devido às injeções de noradrenalina, era esperado que houvesse um aumento também da excreção renal de sódio, uma vez que mudanças no volume e na pressão levam a mudanças apropriadas na excreção renal e nas respostas hormonais adaptativas (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). No entanto, ocorre um comprometimento da excreção renal, visto que o balanço de sódio nos animais que receberam injeções de noradrenalina é maior do que nos animais controles. Esse efeito de comprometimento da excreção renal causado por noradrenalina ou moxonidina atuando em receptores adrenérgicos na área KF/A7 ou no NPBL, respectivamente, são opostos aos efeitos facilitatórios na excreção renal produzidos por moxonidina injetada em áreas prosencefálicas. Estudos demonstraram que injeções de moxonidina no ventrículo lateral leva a um aumento da excreção de sódio e potássio e aumenta o volume urinário (ANDRADE et al., 2009), diferentemente de quando essa droga é injetada no NPBL.

Sabe-se que a rápida indução da ingestão de NaCl pelo tratamento FURO + CAP resulta da associação de uma hipotensão branda (-19 mmHg, no presente estudo) e uma menor ativação dos receptores de volume, assim como um aumento de ANG II central (FITTS & MASSON, 1989; THUNHORST & JOHNSON, 1994). No entanto, o grande aumento da ingestão de NaCl não resulta de uma queda ainda maior na pressão arterial, visto que injeções bilaterais de noradrenalina no KF/A7 causa um grande aumento da pressão arterial média.

A diminuição da ingestão de sacarose 2% após injeções bilaterais de noradrenalina na área KF/A7 sugere que o aumento da ingestão de NaCl 0,3 M após a ativação de receptores adrenérgicos α_2 da área KF/A7 não é devido a uma facilitação não específica de todos os comportamentos de ingestão.

Os presentes resultados reforçam os estudos prévios que mostram que os receptores adrenérgicos α_2 podem ter efeitos opostos na ingestão de sódio e na excreção renal dependendo da área: a ativação de receptores adrenérgicos α_2 em áreas prosencefálicas pode inibir a ingestão de sódio e aumentar a excreção renal, enquanto que no NPBL e na área KF/A7 facilita a ingestão de sódio e compromete a excreção renal.

6- CONCLUSÕES

1. A ativação de receptores adrenérgicos α_2 com injeções bilaterais de noradrenalina no NPBL e na área KF/A7 promove um potente aumento da ingestão de NaCl hipertônico induzida pelo tratamento com FURO + CAP s.c. Esses resultados são contrários aos efeitos inibitórios anteriormente descritos, ou seja, que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 em áreas prosencefálicas inibe a ingestão de água e NaCl hipertônico. Isso indica papéis opostos para receptores adrenérgicos α_2 na regulação da ingestão de sódio e água de acordo com sua distribuição no cérebro.
2. Injeções de noradrenalina na área KF/A7 promovem respostas renais, facilitando a retenção de sódio e também promovem um potente aumento na pressão arterial que dura em torno de 15 minutos.
3. Os mecanismos serotoninérgicos e colecistocinérgicos envolvidos no controle da ingestão de sódio estão presentes apenas no NPBL e não na área KF/A7.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN AM, McKinley MJ, Mendelsohn FAO. Comparative neuroanatomy of angiotensin receptor localization in the mammalian hypothalamus. *Clin Exp Pharmacol Physiol* ., v. 15, p.137-145, 1988.
- ANDRADE CAF, OLIVEIRA LB, MARTINEZ G, SILVA DC, DE LUCA LA JR, MENANI JV. Involvement of forebrain imidazoline and alpha (2)-adrenergic receptors in the antidipsogenic response to moxonidine. *Ann NY Acad Sci Dec.*, v. 1009, p. 262-264, 2003.
- ANDRADE CAF, BARBOSA SP, DE LUCA LA JR, MENANI JV. Activation of alpha2-adrenergic receptors into the lateral parabrachial nucleus enhances NaCl intake in rats. *Neuroscience.*, v. 129, p. 25–34, 2004.
- ANDRADE CAF, ANDRADE GMF, MARGATHO LO, ALMEIDA RL, DE LUCA JR LA, ANTUNES-RODRIGUES J, MENANI JV. Efeitos da moxonidina no núcleo parabraquial lateral sobre as respostas hormonais à sobrecarga aguda de NaCl hipertônico. In XII Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 87., 2008, Espírito Santo, Vitória. Resumos...p. 59.
- ANDRADE CAF, ANDRADE, GMF, DE PAULA PA, DE LUCA JR LA, MENANI JV. Involvement of central α 1-adrenoceptors on renal responses to central moxonidine and α -methylnoradrenaline. *European Journal of Pharmacology.*, v. 607, p. 60-67, 2009.
- ANDRADE GMF, COLOMBARI DSA, DE LUCA JR LA, MENANI J V. Moxonidine injected into the lateral parabrachial nucleus decreases renal responses to acute salt load in rats. In XII Reunião Anual da FESBE, 2007, Águas de Lindóia. Resumos... 2007. CD-ROOM
- ANTUNES-RODRIGUES J, MCCANN SM, SAMSON WK. Central administration of atrial natriuretic factor inhibits salt intake in the rat. *Endocrinology.*, v. 118, p. 1726-1729, 1986.
- ANTUNES-RODRIGUES J, DE CASTRO M, ELIAS LLK, VALENÇA MM, MCCANN SM. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physio Ver.*, v. 84, p. 169-208, 2004.
- BAJIC D & PROUDFIT HK. Projections of neurons in the periaqueductal gray to pontine and medullary catecholamine cell groups involved in the modulation of nociception. *J Comp Neurol.*, v. 405(3), p. 359-379, 1999.
- BARBOSA, S. P., DE GOBBI, J. I. F., ZILIOLO, L., CAMARGO, L. A. A., SAAD, W. A., RENZI, A., DE LUCA JR., L. A., MENANI, J. V. Role of cholinergic and adrenergic pathways of the medial septal area in the water intake and pressor response to central angiotensin II and carbachol in rats. *Brain Res. Bull.*, v. 37, p. 463-466, 1995.

BERTOLINO M, VICINI S, GILLIS R, TRAVAGLI A. Presynaptic alpha2-adrenoceptors inhibit excitatory synaptic transmission in rat brain stem. *Am J Physiol.*, v. 272, p. 654-661, 1997.

BOOTH RE, JOHNSON JP, STOCKAND JD. Aldosterone. *Adv. Physiol. Educ.*, v.26, p. 8-20, 2002.

BRAUN-MENENDEZ E & BRANDT P. Aumento del apetito específico para la sal provocado pela desoxicorticosterona I. Características. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, v. 28, p. 23-32, 1952.

CALLERA JC, CAMARGO LAA, DE LUCA JR L.A., MENANI J.V, RENZI A, SAAD WA. Clonidine and phenylephrine injected into the lateral preoptic area reduce water intake in dehydrated rats. *Pharmacol Biochem Behav.*, v. 46, p. 39-43, 1993.

CALLERA, J.C., SAAD, W.A., CAMARGO, L.A.A., RENZI, A., DE LUCA JR., L.A., MENANI, J.V. Role of the adrenergic pathways of the lateral hypothalamus on water intake and pressor response induced by the cholinergic activation of the medial septal area in rats. *Neurosc.Lett.*, v. 167, p.153-155, 1994.

CALLERA JC, OLIVEIRA LB, BARBOSA SP, COLOMBARI DSA, DE LUCA JR LA, MENANI JV. GABA(A) receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. *Neuroscience.*, v.134, p. 725–35, 2005.

CIRIELLO J, LAWRENCE D, PITTMAN QJ. Electrophysiological identification of neurons in the parabrachial nucleus projecting directly to the hypothalamus in the rat. *Brain Res.*, v. 322, p. 388-392, 1984.

CHAMBERLING LN & SAPER, CB. Topographic organization of respiratory response to glutamate microstimulation of the parabrachial nucleus in the rat. *J. Neurosci.*, v. 14, p. 6500-6510, 1994.

CHEN LN, WEI LC, LIU HL, RAO Z. Noradrenergic neurons expressing substance P receptor (NK1) in the locus coeruleus complex: A double immunofluorescence study in the rat. *Brain Res.*, v. 873, p.155-159, 2000.

COLOMBARI DSA, MENANI JV, JOHNSON AK. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. *Am J Physiol.*, v. 271, p. 1470-1476, 1996.

DE GOBBI JIF, DE LUCA JR LA, JOHNSON AK, MENANI JV. Interaction of serotonin and cholecystokinin in the lateral parabrachial nucleus to control sodium intake. *Am J Physiol.*, v. 280, p. 1301-1307, 2001.

DE GOBBI JIF, DE LUCA LA JR, MENANI JV. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. *Brain Res.*, v. 880, p. 131–138, 2000.

DE GOBBI JIF, BARBOSA SP, DE LUCCA LA JR, THUNHORST RL, JOHNSON AK, MENANI JV. Activation of serotonergic 5-HT(1A) receptors in the lateral parabrachial nucleus increases NaCl intake. *Brain Res*, v. 1006 (1-2), p. 1-9, 2005.

DE GOBBI JI, MARTINEZ G, BARBOSA SP, BELTZ TG, DE LUCA LA Jr, THUNHORST RL, JOHNSON AK, MENANI, JV. 5HT-2 e 5HT-3 receptors in lateral parabrachial nucleus mediate opposite effects on sodium intake. *Neuroscience.*, v.146, p.1453-1461, 2007.

DE LUCA JR LA, CAMARGO LA, MENANI JV, RENZI A, SAAD WA. On a possible dual role for central noradrenaline in the control of hydromineral fluid intake. *Braz J Med Biol Res.*, v. 27, p. 905-914, 1994.

DE LUCA Jr LA & MENANI, JV. Multifactorial control of water and saline intake: role of α_2 -adrenoceptors. *Braz J Med Biol Res.*, v. 30, p. 497-502, 1997.

DE OLIVEIRA LB, DE LUCCA Jr LA, MENANI JV. Moxonidine and central adrenergic receptors in sodium intake. *Brain Res.*, v. 993, p. 177-182, 2003.

DE OLIVEIRA LB, DE LUCA Jr LA, MENANI JV. Opioidergic activation into the lateral parabrachial nucleus induces hypertonic sodium intake. *Neuroscience.*, v. 155, p. 350-358, 2008.

DE PAULA PM, SATO MA, MENANI JV, DE LUCA LA Jr. Effects of central α -adrenergic agonists on hormone-induced 3% NaCl and water intake. *Neurosc Lett.*, v. 214, p. 155-158, 1996.

EDWARDS GL & JOHNSON AK. Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. *Am J Physiol.*, v. 261, p. 1039-1044, 1991.

EPSTEIN, AN. Neurohormonal control of salt intake in the rat. *Brain Res Bull.*, v. 27, p.315-320, 1991.

FERRARI, A.C., CAMARGO, L.A.A., SAAD, W.A., RENZI, A., DE LUCA JR., L.A. and MENANI, J.V. Clonidine and phenyleprine injected into the lateral hypothalamus inhibits water intake in rats. *Brain Res.*, v. 522, p.125-130, 1990.

FERRARI AC, CAMARGO LAA, SAAD WA, RENZI A, DE LUCA JR LA, MENANI JV Role of α_1 - and α_2 -adrenoceptors of the lateral hypothalamus in the dipsogenic response to central angiotensin II in rats. *Brain Res.*, v. 560, p. 291-296, 1991.

FITTS DA & MASSON DB. Forebrain sites of action for drinking and salt appetite to angiotensin or captopril. *Behav Neurosci.*, v. 103, p. 865-872, 1989.

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

FRANCHINI LF & VIVAS L. Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. *Am J Physiol.*, v. 276, p. 1180-1187, 1999.

FRANCI CR. Possible dual effect of endogenous ANP on water and sodium intake and role of AII. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 21, p. 525-529, 1997.

FREGLY MJ, KELLEHER DL, GREENLEAF JE . Antidipsogenic effect of clonidine on angiotensin II-, hypertonic saline-, pilocarpine- and dehydration-induced water intake. *Brain Res Bull.*, v. 7, p. 664, 1981.

FREGLY, M.J., ROWLAND, N., GREENLEAF, J.E. A role for presynaptic α_2 -adrenoceptors in angiotensin II-induced drinking in rats. *Brain Res.Bull.*, v. 12, p. 393-398, 1984a.

FREGLY, M.J., ROWLAND, N., GREENLEAF, J.E. Clonidine antagonism of angiotensin-related drinking: a central site of action. *Brain Res.*, v. 298, p. 321-327, 1984b.

FULWILER CE & SAPER CB. Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res Ver.*, v. 7, p. 229-259, 1984

GALAVERNA O, DE LUCA JR LA, SCHULKIN J, YAO SZ, EPSTEIN AK. Deficits in NaCl ingestion after damage to the central nucleus of the amygdala in the rat. *Brain Res Bull.*, v. 28, p. 89-98,1991.

GUYENET PG, STORNETTA RL, RILEY T, NORTON FR, ROSIN DL, LYNCH KR. Alpha 2A-adrenergic receptors are present in lower brainstem catecholaminergic and serotonergic neurons innervating spinal cord. *Brain Res.*, v. 638, p. 285-294. 1994.

HERBERT H, MOGA MM, SAPER CB. Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *J Comp Neurol.*, v. 293, p .540–580,1990.

HOLDEN JE, SCHWARTZ EJ, PROUDFIT HF. Microinjection of morphine in the A7 catecholamine cell group produces opposing effects on noci. *Neuroscience.*, v. 91, p. 979-990,1999.., v. 512(2), p. 141-157, 2008.

HOWORTH PW, TESCHEMACHER AG, PICKERING AE. Retrograde adenoviral vector targeting of nociresponsive pontospinal noradrenergic neurons in the rat in vivo. *J Comp Neurol.*, v. 512, p. 141-157, 2009

JHAMANDAS JH, PETROV T, HARRIS KH, VU T, KRUKOFF TL. Parabrachial nucleus projection to the amygdala in the rat. Electrophysiological and anatomical observations. *Brain Res Bull.*, v. 39, p. 115–126, 1996.

JOHNSON AK & EDWARDS GL. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. In: GANTEND, D.; PFAFF, D. (Eds.) *Current Topics in Neuroendocrinology, Behavioral Aspects of Neuroendocrinology*. Berlin: Heidelberg: Heidelberg: Springer-Verlag, 1990.p. 149-190.

KOBASHI M, ICHIKAWA H, SUGIMOTO T, ADACHI. A Response of neurons in the solitary tract nucleus, area postrema and lateral parabrachial nucleus to gastric load of hypertonic saline. *Neurosci Lett.*, v. 50, p. 158–247, 1993.

KRUKOFF TL, HARRIS KH, JHAMANDAS JH. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain Res Bull.*, v. 30, p. 163–172, 1993.

LANÇA AJ & VAN DER KOOY D. A serotonin-containing pathway from the area postrema to the parabrachial nucleus in the rat. *Neuroscience.*, v. 14, p. 1117–1126, 1985.

LEWIS SJ, ALLEN AM, VERBERNE AJM, FIGDOR R, JARROT B, MENDELSON FAO. 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.

LYONS WE & GRZANNA R. Noradrenergic neurons with divergent projections to the motor trigeminal nucleus and the spinal cord: a double retrograde neuronal labeling study. *Neuroscience.*, v. 26(2), p. 681–693, 1988.

MARTINEZ, G., MORETTI, T., DE LUCA JR., L.A., CAMARGO, L.A.A., MENANI, J.V. Associação de ioimbina e moxonidina centralmente na ingestão de água em ratos com privação hídrica. In: XV Reunião Anual da FESBE, Resumos... 2000. p. 46

LEIBOWITZ, S. F. Hypothalamic alpha-adrenergic suppression of drinking: effects of several types of thirst. In: Proc. 80th APA Annu. Convencion, 1972. p. 845–846.

McCANN, S.M., GUTKOWSKA, J, ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 36, p. 165–181, 2003.

MCKINLEY MJ, ALLEN AM, CLEVERS J, PAXINOS G, & MENDELSON FAO. Angiotensin receptor binding in the human hypothalamus: autoradiographic localization. *Brain Res.*, v.420, p. 375–379, 1987.

MENANI JV & JOHNSON AK. Serotonergic mechanism of the lateral parabrachial nucleus: angiotensin-induced pressor and drinking response. *Am J Physiol.*, v. 269, p..1044–1049. 1995.

MENANI, J.V., DE LUCA JR., L.A., THUNHORST, R.L., JOHNSON, A.K. Hindbrain serotonin and the rapid induction of sodium appetite, *Am. J. Physiol.*, v. 279, p. 126–131, 2000.

MENANI JV, COLOMBARI DSA, BELTZ TG, THUNHORST RL, JOHNSON AK. Salt appetite: interaction of forebrain angiotensinergic and hindbrain serotonergic mechanisms. *Brain Res.*, v. 801, p. 29–35, 1998a.

MENANI JV, DE LUCA Jr LA, & JOHNSON AK. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. *Am J Physiol.*, v .274, p. 555-560, 1998b.

MENANI, J.V. & JOHNSON, A.K. Cholecystokinin actions in the parabrachial nucleus: effects on thirst and salt appetite. *Am. J. Physio.*, v. 275, p. 1431-1437, 1998.

MENANI, J. V.; OLIVEIRA, LISANDRA BRANDINO DE ; ANDRADE, CARINA APARECIDA FABRÍCIO DE ; SUGAWARA, ALEXANDRE MASSAO ; LUCA JUNIOR, LAURIVAL ANTONIO DE . Role of central adrenergic/imidazoline receptors in the control of thirst, sodium appetite and renal excretion. In: F. Columbus. (Org.). *New Trends in Brain Research...* New York, USA: Nova Biomedical, 2006, p. 95-126.

MENANI, J.V., SATO, M.A., HAIKEL, L., VIEIRA, A.A., ANDRADE, C.A.F., SILVA, D.C.F et al. Central moxonidine on water and NaCl intake. *Brain Res.Bull.*, v. 49, p. 273-279, 1999.

MENANI, J.V., THUNHORST, R.L., JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. *Am. J. Physiol.*, v. 270, p. R162-R168, 1996.

NORGREN R. The central organization of the gustatory and visceral systems in the nucleus of the solitary tract. In:KATSUKI; NORGREN R; SATO M (Eds.) *Brain mechanisms of sensation.* New York: Wiley, 1981. p. 143-160.

NUSEIR K, HEIDENREICH BA, PROUDFIT HK. The antinociception produced by microinjection of a cholinergic agonist in the ventromedial medulla is mediated by noradrenergic neurons in the A7 catecholamine cell group. *Brain Res.*, v.822(1-2), p.1-7,1999.

NUSEIR K & PROUDFIT HK. Bidirectional modulation of nociception by GABA neurons in the dorsolateral pontine tegmentum that tonically inhibit spinally projecting noradrenergic A7 neurons. *Neuroscience.*, v. 96(4), p.773-83, 2000.

OHMAN LE & JOHNSON AK. Lesions in the lateral parabrachial nucleus enhance drinking to angiotensin II and isoproterenol. *Am J Physiol.*, v. 251, p. R504-R509, 1986.

OHMAN LE & JOHNSON AK. Brain stem mechanisms and the inhibition of angiotensin-induced drinking. *Am J Physiol.*, v. 256, p. R264-R269, 1989.

OLIVEIRA, L.B. Efeitos da injeção de moxonidina no controle da ingestão de sódio e regulação cardiovascular.2003. *Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.*

OLSON L & FUXE K. Further mapping out of central noradrenaline neuron systems: projections of the "subcoeruleus" area. *Brain Res.*, v. 43, p. 289-295,1972.

PAXINOS, G & WATSON, C. The Rat Brain in Stereotax Coordinates. 3rd. San Diego: Academic Press, Inc., 1997.

RAMSAY DJ, THRASHER TN, BIE P. Endocrine components of body fluid homeostasis. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, v. 90, p. 777-780, 1988.

SAKAI RR, MA L, ZHANG DM, MCEWEN BS, FLUHARTY SJ. Intracerebral administration of mineralocorticoid receptor antisense oligonucleotides attenuate adrenal steroid-induced salt appetite in rats. *Neuroendoc.*, v. 64, p. 425-429, 1996.

SATO MA, SUGAWARA AM, MENANI JV, DE LUCA JR LA. Idazoxan and the effect of intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. *Regul Pept.*, v. 69, p. 137-142, 1997.

SHAPIRO RE & MISELIS RR. The central neural connections of the area postrema of the rat. *J Comp Neurol.*, v. 234, p. 344-364, 1985.

SPECTOR, AC. Gustatory function in the parabrachial nuclei: implications from lesion studies in rats. *Rev Neurosci.*, v. 6, p. 143-175, 1995.

STRICKER EM & VERBALIS JG. Sodium appetite. In *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Vol. 10, *Neurobiology of Food and Fluid Intake*. New York: Plenum Press, 1990. p. 387-419.

SUGAWARA AM, MIGUEL TT, DE OLIVEIRA LB, MENANI JV, DE LUCA JR. LA. Noradrenaline and mixed α_2 -adrenoceptor/imidazoline-receptor ligands: effects on sodium intake. *Brain Res.*, v. 839, p. 227-234, 1999.

TRAVAGLI RA & WILLIAMS JT. Endogenous monoamines inhibit glutamate transmission in the spinal trigeminal nucleus of the guinea-pig. *J Physiol.*, v. 491Pt 1, p. 177-85, 1996.

THUNHORST RL & JOHNSON AK. Renin-angiotensin, arterial blood pressure and salt appetite in rats. *Am J Physiol.*, v. 266, p. R458-R465, 1994.

UNNERSTALL JR, KOPAJTIC TA, KUHAR MJ. Distribution of alpha 2 agonist binding sites in the rat and human central nervous system: analysis of some functional, anatomic correlates of the pharmacologic effects of clonidine and related adrenergic agents. *Brain Res.*, v. 319, p. 69-101, 1984.

VERBALIS JG, BLACKBURN RE, HOFFMAN GE, STRICKER EM. Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. *Adv Exp Med Biol.*, v. 395, p. 209-225, 1995.

XU J, WOODWORTH CH, JOHNSON AK. Glutamate and the role of the lateral parabrachial nucleus in the control of water and salt intake in rats. In: *Soc Neurosc*, 1997. Abstr...1997.v. 23, p.1348.

YADA MM, DE PAULA PM, MENANI JV, DE LUCA JR LA Central α -adrenergic agonists e need-induced 3% NaCl e water intake. *Pharmacol Biochem Behav.*, v. 57, p. 137-143, 1997a.

YADA MM, DE PAULA PM, MENANI JV, RENZI A, CAMARGO LA, SAAD WA, DE LUCA JR LA Receptor-mediated effects of clonidine on need-induced 3% NaCl and water intake. *Brain Res Bull.*, v. 42, p. 205-209, 1997b.

YAMAMOTO T, SHIMURA T, SAKO N, SAKAI N, TANIMIZU T, WAKISAKA S. c-Fos expression in the parabrachial nucleus after ingestion of sodium chloride in the rat. *Neuroreport.*, v. 4, p.1223–1226, 1993.

ZHANG DM, EPSTEIN AN, SCHULKIN J. Medial region of the amigdala involvement in adrenal steroid-induced salt appetite. *Brain Res.*, v. 600, p. 20-26, 1993.