

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCAR**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**EFEITOS DA DESCONEXÃO HIPOTALÂMICA AGUDA E CRÔNICA  
SOBRE AS RESPOSTAS PRESSORAS INDUZIDAS PELA INJEÇÃO  
CENTRAL DE SALINA HIPERTÔNICA, CARBACOL E  
ANGIOTENSINA II EM RATOS.**

**Lilia Simone Urzedo Rodrigues**

SÃO CARLOS

2005

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCar**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**EFEITOS DA DESCONEXÃO HIPOTALÂMICA AGUDA E CRÔNICA  
SOBRE AS RESPOSTAS PRESSORAS INDUZIDAS PELA INJEÇÃO  
CENTRAL DE SALINA HIPERTÔNICA, CARBACOL E  
ANGIOTENSINA II EM RATOS.**

**Lilia Simone Urzedo Rodrigues**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos como requisito para obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas, área de concentração Fisiologia.

SÃO CARLOS

2005

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

R696ed

Rodrigues, Lilia Simone Urzedo.

Efeitos da desconexão hipotalâmica aguda e crônica sobre as respostas pressoras induzidas pela injeção central de salina hipertônica, carbacol e angiotensina II em ratos / Lilia Simone Urzedo Rodrigues. -- São Carlos : UFSCar, 2005.

73 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Medicina experimental - rato. 2. Angiotensina. 3. Desconexão hipotalâmica. 4. Salina hipertônica. 5. Respostas pressoras. 6. Carbacol. I. Título.

CDD: 619.93 (20<sup>a</sup>)

## **RESUMO**

Diversos estudos anatômicos e funcionais têm demonstrado que o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH) constitui um centro de integração neuroendócrina. O PVH está intimamente relacionado com a regulação da atividade simpática e com a secreção de vasopressina. A injeção intracerebroventricular de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica promovem um aumento da pressão arterial devido a ativação do simpático e/ou secreção de vasopressina. Ademais, foi demonstrado que a desconexão hipotalâmica (DH) caudal ao PVH, realizada por meio de um corte no encéfalo na região do hipotálamo com uma microfacas em forma de baioneta, promoveu uma redução da pressão arterial basal sugerindo que as fibras interrompidas por esta DH, provavelmente oriundas do PVH, fariam parte da circuitaria neural responsável pela manutenção tônica da pressão arterial. Portanto, os objetivos do nosso trabalho foram determinar em ratos não anestesiados os efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) sobre: a) a resposta pressora induzida pela injeção intracerebroventricular de angiotensina II (ANG II), carbacol e salina hipertônica (NaCl 2 M), b) o barorreflexo e quimiorreflexo; c) a excreção urinária após 24 h de privação hídrica.

Ratos Holtzman (280-320 g) foram submetidos à DH-fictícia ou a DH-C aguda (1 dia) ou crônica (15 dias) que foram realizadas utilizando uma microfacas em forma de baioneta. A microfacas (raio = 2mm, altura = 3mm), adaptada no estereotáxico, foi posicionada 1,5 mm caudal ao bregma que foi introduzida no cérebro até a superfície interna do esfenoide e submetida a movimentos giratórios de 90° à esquerda e 90° à direita. Para a DH-fictícia não se realizou a rotação da microfacas. Após a DH, foi implantada uma cânula no ventrículo lateral (VL). Após a cânula no VL (grupo agudo) ou 14 dias após a DH (grupo crônico) foram inseridos cateteres na veia e artéria femoral para o registro da pressão arterial e infusão de drogas, respectivamente.

Animais submetidos à DH-C aguda não tiveram alteração na pressão arterial média (PAM) basal, mas tiveram aumentos na frequência cardíaca (FC) basal ( $423 \pm 17$  bpm) comparada com a FC basal dos ratos com DH-Fictícia ( $346 \pm 8$  bpm). A DH-C crônica não alterou os valores basais de PAM e FC. O barorreflexo também não foi alterado pela DH-C aguda ou crônica. Com relação ao quimiorreflexo, embora o pico de resposta pressora e bradicardia induzidos pela ativação do quimiorreflexo não tenham sido alterados pela DH-C aguda ou crônica, a duração da resposta pressora foi reduzida nos ratos com DH-C crônica ( $18 \pm 2$  s) comparada com a observada nos ratos com DH-fictícia ( $28 \pm 3$  s). A resposta pressora induzida pela injeção intracerebroventricular (ICV) de salina hipertônica foi reduzida pela

DH-C aguda ou crônica ( $7\pm 3$  e  $21\pm 2$  mmHg vs. DH-Fictícia :  $19\pm 4$  e  $36\pm 5$  mmHg, respectivamente). A DH-C aguda e crônica também reduziu a resposta pressora induzida pela injeção icv de carbacol ( $12\pm 3$  e  $21\pm 3$  mmHg vs. DH-Fictícia:  $32\pm 4$  e  $35\pm 4$  mmHg, respectivamente) e ANG II ( $12\pm 3$  e  $12\pm 2$  mmHg vs. DH-Fictícia:  $23\pm 2$  e  $22\pm 2$  mmHg, respectivamente). Nos experimentos com privação hídrica, observamos uma maior excreção de potássio em ratos com DH-C aguda (DH-C:  $1278\pm 248$   $\mu$ Eq/24h vs DH-Fictícia:  $682\pm 87$   $\mu$ Eq/24h) ou crônica (DH-C:  $1480\pm 281$   $\mu$ Eq/24h vs DH-Fictícia:  $787\pm 75$   $\mu$ Eq/24h), respectivamente. Nos ratos com DH-C crônica o volume urinário excretado em 24 h de privação hídrica foi maior do que aquele observado nos ratos com DH-Fictícia (DH-C:  $19\pm 2$  ml vs DH-Fictícia:  $9\pm 0,4$  ml), enquanto que o volume urinário excretado em 24 h de privação hídrica nos ratos com DH-C aguda não foi diferente dos ratos com DH-Fictícia. A excreção de sódio observada após a privação hídrica não foi diferente entre os grupos experimentais aguda ou cronicamente. Os animais com DH-C tiveram polidipsia a partir do 6° - 8° dia da DH-C, a qual perdurou até o último dia analisado (14 ou 17° dia).

Nossos resultados demonstram que as respostas pressoras induzidas pelas injeções centrais de ANG II, carbacol e salina hipertônica, mas não o baro e quimiorreflexo, dependem de vias neurais interrompidas pela DH-C. Possivelmente a menor resposta pressora às injeções centrais dessas substâncias em ratos DH-C seja decorrente de uma menor ativação do sistema nervoso simpático e/ou secreção de vasopressina. É possível também que a menor secreção de vasopressina nos ratos DH-C seja responsável pela polidipsia observada nestes animais.

## **ABSTRACT**

Several anatomical and functional studies have demonstrated that the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) constitutes a neuroendocrine center. The PVN is intimately related to the regulation of the sympathetic nerve activity and vasopressin secretion. Intracerebroventricular injections of angiotensin II (ANG II), carbachol and hypertonic saline induce an increase in arterial pressure by sympathetic activation and/or vasopressin secretion. Furthermore, it was demonstrated that hypothalamic disconnection (HD) caudal to PVN, performed by way of a knife-cut into the hypothalamus using a microknife of bayonet shape, produced a decrease in basal arterial pressure, suggesting that the fibers interrupted by this HD, probably from PVN, are part of a neural circuitry responsible for tonic maintenance of the arterial pressure. Therefore, the aims of this study were to determine, in conscious rats, the effects of HD caudal to PVN (HD-C) on: a) the pressor response induced by intracerebroventricular injection of ANG II, carbachol and hypertonic saline, b) on the baroreflex and chemoreflex, c) on urinary excretion after 24 h of water deprivation.

Male Holtzman rats (280-320 g) were submitted to sham-HD or acute (1 day) or chronic (15 days) HD caudal to PVN (HD-C) performed with a microknife of bayonet shape (radius = 1 mm, height = 2 mm) stereotaxically placed, positioned 1.5 mm caudal to the bregma, lowered along the midline down to the inner surface of the sphenoid and the cut as achieved by rotating it 90° left e 90° right. In sham-HD no rotation was performed. After the HD, a cannula was implanted into the lateral ventricle. Femoral vein and arterial catheters were introduced after the surgery to implant the cannula into LV (acute group) or 14 days after HD (chronic group).

Rats submitted to acute HD-C did not have changes in basal mean arterial pressure (MAP), but had an increase in basal heart rate (HR), ( $423 \pm 17$  bpm) compared to sham HD rats ( $346 \pm 8$  bpm). Chronic HD did not change basal levels of MAP or HR. Baroreflex was also not changed by acute or chronic HD-C. In regard to chemoreflex, although the peak of the pressor and the bradycardic response to chemoreflex activation were not changed by acute or chronic HD-C, the duration of the pressor response was reduced in rats submitted to chronic HD-C ( $18 \pm 2$  s) compared to sham-HD ( $28 \pm 3$  s). The pressor response induced by intracerebroventricular (icv) injection of hypertonic saline was reduced by acute or chronic HD-C ( $7 \pm 3$  and  $21 \pm 2$  mmHg vs. sham-HD:

19±4 and 36±5 mmHg, respectively). The acute or chronic HD-C also reduced the pressor response induced by icv injection of carbachol (12±3 and 21±3 mmHg vs. sham-HD: 32±4 and 35±4 mmHg, respectively) and ANG II (12±3 and 12±2 mmHg vs. sham-HD: 23±2 and 22±2 mmHg, respectively). In the 24 h water deprivation experiments, we observed a higher potassium excretion in rats with acute HD-C (DH-C: 1278±248 µEq/24 h vs sham-HD: 682±87 µEq/24 h) or chronic (DH-C: 1480±281 µEq/24 h vs sham-HD: 787±75 µEq/24 h), respectively. In chronic HD-C rats the urine volume excreted in 24 h of water deprivation was greater than the one observed in sham-HD rats (DH-C: 19±2 ml vs sham-HD: 9±0,4 ml), while the urinary volume excreted in 24 h of water deprivation in rats submitted to acute HD-C were not different from sham-HD rats. HD-C animals had polydipsia from the 6<sup>th</sup> – 8<sup>th</sup> day after the HD-C, which was maintained until the last day of the experiment (14 or 17<sup>th</sup> day).

These results suggest that the pressor responses induced by central injections of ANG II, carbachol and hypertonic saline, but not the baro and chemoreflex, depend on the neural pathways injured by HD-C. It is possible that the lesser pressor responses induced by central injections of these substances in HD-C rats are due to a lesser activation of sympathetic activity and/or vasopressin secretion. It is also possible that the lesser vasopressin secretion in HD-C rats is responsible for the polydipsia observed in these animals.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** Esquema representativo de um corte sagital do encéfalo, mostrando o posicionamento da faca utilizada para desconexão hipotalâmica caudal ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH). HP = hipotálamo posterior, ca = comissura anterior, AV3V = região anteroventral do terceiro ventrículo, VL = ventrículo lateral, 4V = quarto ventrículo..... 18
- FIGURA 2:** Esquema representativo de um corte sagital do encéfalo, mostrando o posicionamento da faca utilizada para desconexão hipotalâmica rostral ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH). HP = hipotálamo posterior, ca = comissura anterior, AV3V = região anteroventral do terceiro ventrículo, VL = ventrículo lateral, 4V = quarto ventrículo..... 21
- FIGURA 3:** Fotomicrografia de um corte horizontal do prosencéfalo de um rato representativo do grupo, mostrando a região atingida pela desconexão hipotalâmica caudal (DH-C) ao PVH. As setas indicam o local da DH-C. PVH: núcleo paraventricular do hipotálamo; F: fórnix; 3° V: terceiro ventrículo; FPM: feixe prosencefálico medial..... 28
- FIGURA 4:** Fotomicrografia de um corte coronal do prosencéfalo de um rato representativo do grupo mostrando o local de injeção unilateral no VL (seta). VL: ventrículo lateral, ac: comissura anterior. .... 29
- FIGURA 5:** Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) basais em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia. Teste *t* de Student, ( $p < 0,05$ ). .... 31
- FIGURA 6:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de fenilefrina (5 $\mu$ g/ kg) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais..... 32
- FIGURA 7:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de nitroprussiato de sódio (30 $\mu$ g/kg) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais..... 33
- FIGURA 8:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de KCN (40 $\mu$ g/rato) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais..... 34
- FIGURA 9:** Variações na duração ( $\Delta T$ ) da resposta pressora (A) e bradicárdica (B) do quimiorreflexo em animais com DH-C e DH-Fictícia aguda. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. .... 35
- FIGURA 10:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina (NaCl 0,15 M, 1  $\mu$ l) e angiotensina II (ANG II, 50 ng/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o

número de animais. * diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + ANG II; (ANOVA de duas vias, $p < 0,05$ ).....	36
<b>FIGURA 11:</b> Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina (NaCl 0,15M, 1 $\mu$ l) e carbacol (4nmol/1 $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. *diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + carbacol. (ANOVA de duas vias, $p < 0,05$ ).....	37
<b>FIGURA 12:</b> Variação da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15M, 1 $\mu$ l) e salina hipertônica (NaCl 2 M, 2 $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. *diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + salina hipertônica. (ANOVA de duas vias, $p < 0,05$ ).....	38
<b>FIGURA 13:</b> Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) basais em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. ....	40
<b>FIGURA 14:</b> Variações da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de fenilefrina (5 $\mu$ g/ Kg) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.....	41
<b>FIGURA 15:</b> Variações da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de nitroprussiato de sódio (30 $\mu$ g/ Kg) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.....	42
<b>FIGURA 16:</b> Variações da Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de KCN (40 $\mu$ g/rato) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.....	43
<b>FIGURA 17:</b> Variações na duração ( $\Delta T$ ) da resposta pressora (A) e bradicárdica (B) do quimiorreflexo em animais com DH-C e DH-Fictícia crônica. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. *diferente de DH-Fictícia. Teste T de Student ( $p < 0,05$ ).....	44
<b>FIGURA 18:</b> Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1 $\mu$ l) e angiotensina II (ANG II, 50 ng/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. * diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + ANG II; (ANOVA de duas vias, $p < 0,05$ ).....	45
<b>FIGURA 19:</b> Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1 $\mu$ l) e carbacol (4nmol/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. * diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + carbacol; (ANOVA de duas vias, $p < 0,05$ ).....	46

- FIGURA 20:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1 µl) e salina hipertônica (NaCl 2 M, 2 µl) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média ± EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \*diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + salina hipertônica. (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ )..... 47
- FIGURA 21:** Ingestão diária de água nos animais submetidos à DH-C ou à DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do basal (dia -2), † diferente de DH-Fictícia (ANOVA de duas vias, seguida de Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ )..... 48
- FIGURA 22:** Variações da ingestão de alimento (g/24 h) em ratos com DH-C e DH-Fictícia aguda submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média ± EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. .... 50
- FIGURA 23:** Variações de excreção urinária de sódio (µEq/24 h) (A), excreção urinária de potássio (µEq/24 h) (B) e volume urinário (mL/24 h) (C) em ratos com DH-C e DH-Fictícia (aguda) submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média ± EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ). .... 51
- FIGURA 24:** Variações na ingestão de alimento (g/24 h) nos ratos com DH-C e DH-Fictícia (crônica) submetidos à privação hídrica. Os resultados foram expressos como média ± EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ). .... 53
- FIGURA 25:** Variações de excreção urinária de sódio (µEq/24 h) (A), excreção urinária de potássio (µEq/24 h) (B) e volume urinário (mL/24 h) (C) em ratos com DH-C e DH-Fictícia (crônica) submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média ± EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ). .... 54
- FIGURA 26:** Variação de peso corporal (Δ peso) dos animais submetidos à DH-C ou a DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do dia 0; † diferente de DH-Fictícia; ( $p < 0,05$ ). .... 55
- FIGURA 27:** Ingestão diária de água nos animais submetidos à DH-C ou a DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do basal (dia -2); † diferente de DH-Fictícia ( $p < 0,001$ ). .... 56

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
3.1 - Animais .....	23
3.2 - Cirurgia cerebral.....	23
3.3 - Injeção de substâncias no cérebro .....	24
3.4 - Registro da pressão arterial e da frequência cardíaca .....	24
3.5 - Coleta e análise bioquímica da urina .....	25
3.6- Histologia .....	25
3.7 - Análise Estatística .....	25
<b>4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS .....</b>	<b>26</b>
4.1 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) (1 dia) sobre o barorreflexo e o quimiorreflexo e sobre as respostas pressoras induzidas pela injeção de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica no ventrículo lateral (VL) de ratos acordados. ....	26
4.2 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) (15 dias) sobre o barorreflexo e quimiorreflexo e sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica no ventrículo lateral (VL) de ratos acordados. ....	26
4.3. Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) sobre ingestão diária de água. ....	27
4.4. Efeito da DH-C (aguda e crônica) sobre a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados. ....	27
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>
5.1 - Análise Histológica .....	28
5.2 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) aguda (1 dia) sobre o quimiorreflexo e barorreflexo e sobre os parâmetros cardiovasculares basais em ratos acordados. ....	30
5.3 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) aguda (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II (ANG II) no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados.....	36

5.4 - Efeitos da DH caudal ao PVH (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de carbacol no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados.....	37
5.5 - Efeitos da DH caudal ao PVH (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção da salina hipertônica (NaCl 2 M) no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados .....	38
5.6 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15dias) sobre o quimiorreflexo e barorreflexo em ratos acordados.....	39
5.6 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15 dias) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados.....	45
5.7 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15 dias) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de carbacol no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados .....	46
5.9. Ingestão diária de água nos animais com DH caudal ao PVH (DH-C) crônica.....	48
5.10 - Efeitos da DH caudal ao PVH (aguda) sobre a ingestão de alimento e a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.....	49
5.11 - Efeitos da DH caudal ao PVH (crônica) sobre a ingestão de alimento e a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.....	52
5.12-. Peso dos animais com DH-C crônica.....	55
5.13. Ingestão diária de água nos animais com DH-C crônica.....	56
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A manutenção da composição e do volume do compartimento extracelular dentro de uma faixa de variação restrita é fundamental para que haja uma pressão sanguínea adequada para perfeita irrigação tecidual. O sistema nervoso central (SNC) tem um papel fundamental na regulação de mecanismos homeostáticos que controlam a pressão arterial, a volemia e a osmolaridade dos líquidos corporais. Ele detecta essas variações por meio de sinais gerados, por pelo menos dois conjuntos de receptores sensíveis ao estiramento, situados nas paredes dos grandes vasos e nas câmaras cardíacas: os barorreceptores arteriais e os receptores cardiopulmonares, respectivamente. Outra maneira do SNC detectar essas variações é por meio de hormônios circulantes, como a angiotensina II (ANG II), que atuam diretamente no SNC, bem como a ativação de células especializadas, como os osmorreceptores centrais (JOHNSON & EDWARDS, 1990).

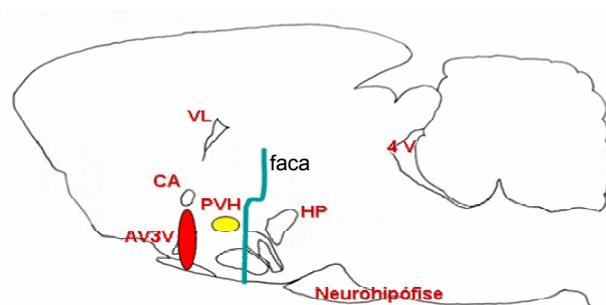
Uma vez detectadas alterações, toda circuitaria neural é recrutada para que os ajustes homeostáticos sejam realizados. Dentre as áreas do SNC que participam do controle da pressão arterial e da composição e do volume do líquido extracelular, podemos destacar o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH).

Estudos anatômicos e funcionais indicam que o PVH constitui um importante centro de integração neuroendócrina (BADOER, 1996). Este núcleo constitui um extenso conjunto de neurônios situados adjacentes ao terceiro ventrículo. Baseado em dados citoarquitetônicos e em sua hodologia o PVH pode ser subdividido em 8 subnúcleos distintos, sendo 3 subnúcleos magnocelulares, que se subdividem na porção anterior, medial e posterior e 5 subnúcleos parvocelulares, que se subdividem nas porções anterior, medial, dorsal, lateral e periventricular (SWANSON & SAWCHENKO, 1980). As porções magnocelulares são constituídas por neurônios grandes, secretores de vasopressina e de ocitocina, que se projetam para a hipófise posterior, onde estes hormônios são liberados na circulação (POULAIN, D.A & WAKERLEY, J.B, 1982). A porção parvocelular está relacionada principalmente com as vias neurais envolvidas no controle da atividade simpática. É constituída de neurônios pequenos, que se projetam para a eminência média liberando fatores que influenciam a liberação de hormônios da hipófise anterior, portanto, relacionados à liberação de hormônios hipotalâmicos reguladores (BADOER, 1996). Outros neurônios parvocelulares projetam para numerosas regiões do SNC, incluindo diversas estruturas envolvidas no controle cardiovascular e no equilíbrio hidroeletrólítico (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; BADOER, 1996).

Dentre essas áreas podemos destacar as conexões do PVH com estruturas que são críticas para a regulação cardiovascular: o núcleo do trato solitário (NTS), que é o local onde ocorre a primeira sinapse das aferências cardiovasculares, e os núcleos vasomotores do tegmento ventrolateral do bulbo: o núcleo reticular rostroventrolateral e a região caudoventrolateral (SAPER et al., 1976; SWANSON & KUYPERS, 1980; SWANSON & SAWCHENKO, 1983; ZHENG et al., 1995; SHAFTON et al., 1998). O PVH também possui neurônios que se projetam diretamente à coluna intermediolateral em segmentos torácicos da medula espinhal, onde se localizam os neurônios simpáticos pré-ganglionares que inervam coração, vasos e medula da supra-renal (SAPER et al., 1976; SWANSON & SAWCHENKO, 1983; ZHENG et al., 1995; SHAFTON et al., 1998). Esses neurônios localizam-se em toda a porção parvocelular, porém concentram-se principalmente nos subnúcleos medial, lateral e dorsal com aproximadamente 88 % dos neurônios da porção dorsal projetando-se para a coluna intermediolateral (SWANSON E SAWCHENKO, 1980). Por isso, o PVH caracteriza-se como um núcleo pré-motor, assim como outras estruturas localizadas principalmente no tronco cerebral, como a área rostroventrolateral (RVLM), o núcleo caudal da rafe e o grupo de células pontinas (DAMPNEY, 1994). Mais recentemente foi demonstrado em ratos, que há uma população de neurônios do PVH que enviam projeções para a medula espinhal e para o RVLM, área essencial para a atividade simpática reflexa e para a geração do tono simpático (SHAFTON et al., 1998).

Estudos demonstram que um conjunto de informações de receptores de baixa e alta pressão, bem como de outras aferências são transmitidas para o PVH, envolvendo conexões diretas vindas do NTS (CIRIELLO et al., 1994; REIS et al., 2000); e da região caudoventrolateral, especificamente da região A1 (REIS et al., 2000). Portanto, estes trabalhos sugerem que o PVH poderia receber informações sobre o volume circulante e a pressão arterial e assim modular estas respostas. Além de receber informações desses aferentes cardiovasculares, algumas regiões do prosencéfalo, que também estão envolvidas com regulação cardiovascular e com o controle do equilíbrio hidroeletrólítico projetam-se ao PVH (MISELIS, 1981; JOHNSON & LOEWY, 1990; WESTERHAUS & LOEWY, 1999; TONEY et al., 2003). Dados neuroanatômicos demonstram que o PVH recebe projeções de estruturas da lâmina terminal como o órgão subfornical e órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT) (MISELIS, 1981; JOHNSON & LOEWY, 1990; WESTERHAUS & LOEWY, 1999; TONEY et al., 2003), que são estruturas livres de barreira hematoencefálica e ricas em receptores de ANG II, acetilcolina e osmo/sódio receptores (JOHNSON & LOEWY, 1990).

Conforme citado anteriormente, o PVH está envolvido com a regulação da atividade simpática, visto que a ativação do PVH induz aumentos na pressão arterial e na atividade simpática (KANNAN et al., 1989; MALPAS & COOTE, 1994; COOTE et al., 1998), enquanto que sua inibição com o agonista gabaérgico muscimol, produz uma queda da pressão arterial e da atividade simpática em animais normotensos ou hipertensos (ZHANG & PATEL, 1998; ALLEN, 2002). Ademais, a participação do PVH na regulação da atividade simpática e a pressão arterial podem também ser evidenciadas em experimentos onde ocorre um aumento na atividade simpática, como por exemplo, durante a privação hídrica (GARDINER & BENNET, 1985), onde a inativação deste núcleo com muscimol promove uma maior redução da atividade simpática e de pressão arterial comparado com ratos normohidratados (STOCKER et al., 2004; STOCKER et al., 2005). Outros estudos, como o desenvolvido por Lopes et al.(1977), empregando a remoção de conexões do PVH também apóiam a idéia de que este núcleo esteja envolvido com a regulação da atividade simpática. Neste estudo (LOPES et al., 1977) os autores demonstraram que em animais com uma desconexão hipotalâmica (DH), que é seccionamento de feixes nervosos realizada por meio de um corte no encéfalo na região do hipotálamo com uma microfaca em forma de baioneta, posicionada caudalmente ao PVH (esquema na figura 1), a retirada de volume menores de sangue promoveu uma queda semelhante na pressão arterial em ratos sem DH, os quais tiveram uma remoção de sangue quase 2 vezes maior. Estes autores sugerem que os animais com DH caudal ao PVH têm um comprometimento da atividade simpática, portanto a remoção de volumes menores de sangue promoveria a mesma queda de pressão observada em ratos controles, pois os animais com DH estariam com mecanismos compensatórios da pressão arterial (no caso o simpático) comprometidos.



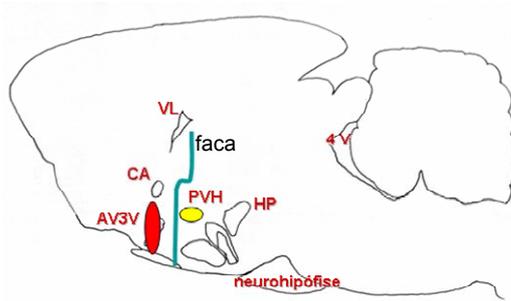
**FIGURA 1:** Esquema representativo de um corte sagital do encéfalo, mostrando o posicionamento da faca utilizada para desconexão hipotalâmica caudal ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH). HP = hipotálamo posterior, ca = comissura anterior, AV3V = região anteroventral do terceiro ventrículo, VL = ventrículo lateral, 4V = quarto ventrículo.

Dados da literatura sugerem que o PVH participa também da regulação tônica da pressão arterial (CAMPOS JR et al., 1998; ZHANG & PATEL, 1998; COLOMBARI et al., 2002). Campos Jr. et al. (1998), demonstraram que a DH caudal ao PVH (esquema na figura 1) promovia uma queda significativa da pressão arterial, que se iniciava 10 min após a desconexão e atingia o seu máximo após 60 min. Este efeito desaparece se a DH é realizada rostralmente ao PVH, poupando as conexões deste núcleo com o tronco cerebral e a medula espinhal. Complementando os estudos de Campos Jr et al. (1998), resultados de (COLOMBARI et al., 2002), demonstraram que a queda da pressão arterial observada após a DH caudal ao PVH é decorrente de uma vasodilatação nos membros posteriores e no leito mesentérico. Devido à associação entre o PVH e a atividade simpática como descrito acima, e também do indício de que existe uma boa relação entre atividade simpática e condutância vascular (BLESSING & WILLOUGHBY, 1987; CRAVO et al., 1991), Colombari et al. (2002), sugeriram que as alterações na condutância vascular observadas poderiam refletir alterações na atividade simpática que inerva estes leitos, ou seja, o PVH estaria exercendo uma atividade tônica excitatória sobre os leitos dos membros posteriores e mesentérico.

Com relação à participação do PVH nos reflexos cardiovasculares foi observado por Oliván et al. (2001), que a resposta pressora e a duração da resposta pressora induzida pela ativação do quimiorreflexo com cianeto de potássio (KCN) foram reduzidas em ratos com lesão bilateral do PVH, sugerindo que o componente simpatoexcitatório do quimiorreflexo depende da integridade do PVH. No que diz respeito ao barorreflexo, dados da literatura têm demonstrado que o PVH tem um efeito inibitório sobre este reflexo (PATEL & SCHIMD, 1988; MIFFLIN et al., 1988; CHENG-DEAN et al., 1995), seja por promover hiperpolarização de neurônios do NTS (MIFFLIN et al., 1988) ou modular a atividade do simpático (PATEL & SCHIMD, 1988). Os efeitos da DH caudal ao PVH sobre os reflexos cardiovasculares ainda não foram determinados.

A administração intracerebroventricular (ICV) de ANG II, carbacol (agonista colinérgico) e salina hipertônica, atuando em seus respectivos receptores provavelmente situados no OVLT, produz aumento da pressão arterial por aumento da atividade do sistema nervoso simpático e/ou secreção de vasopressina (HOFFMAN et al., 1977; HATZINIKOLAOU et al., 1981; MIYAJIMA & BUNAG, 1984). A participação do hipotálamo na mediação destas respostas foi demonstrada por meio de estudos que empregaram a DH ou lesão eletrolítica de regiões hipotalâmicas (BUGGY & JOHNSON, 1977; JOHNSON et al., 1978; BRODY et al., 1978; BEALER, 1982; HARTLE & BRODY, 1982; MENANI et al., 1990; COLOMBARI et al., 1992a; COLOMBARI et al., 1992b).

Vários estudos demonstraram que a lesão eletrolítica da região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V), que engloba o OVLT, a porção ventral do núcleo pré-óptico mediano e regiões periventriculares (JOHNSON & LOEWY, 1990), promove uma redução significativa das respostas pressoras e secreção de vasopressina induzidas por carbacol, ANG II e salina hipertônica injetadas no ventrículo lateral e em outras áreas centrais como o órgão subfornical e a área septal medial, sugerindo um importante papel integrador desta região hipotalâmica para o aparecimento de respostas pressoras dependentes de aumento da atividade simpática e da secreção de vasopressina (BUGGY & JOHNSON, 1977; JOHNSON et al., 1978; BRODY et al., 1978; MENANI et al., 1990; COLOMBARI et al., 1992a; COLOMBARI et al., 1992b). A região AV3V, por sua vez, projeta-se para áreas do SNC envolvidas na regulação da atividade simpática e secreção de hormônios como o PVH (WESTERHAUS & LOEWY, 1999). Além de sua projeção para o PVH, a região AV3V também se projeta para o núcleo supra-óptico (CARITHERS et al., 1980), e uma outra via eferente emerge da região AV3V e cursa mais lateralmente pelo feixe prosencefálico medial, ou seja, pelo hipotálamo lateral (HARTLE & BRODY, 1982). Outros estudos realizando desconexão hipotalâmica (DH), por meio de uma microfaca introduzida no encéfalo, foram também empregados para demonstrar a participação do hipotálamo e de vias eferentes da região AV3V na mediação das respostas pressoras induzidas pela ANG II, carbacol e salina hipertônica (BEALER, 1982; HARTLE & BRODY, 1982). A DH situada entre a região AV3V e o PVH (representação na Figura 2), reduz a resposta pressora induzida pela administração ICV de ANG II (BEALER, 1982; HARTLE & BRODY, 1984) e carbacol (HARTLE & BRODY, 1982). Entretanto, existe uma contradição na literatura sobre as vias neurais eferentes da região AV3V responsáveis pela resposta pressora da salina hipertônica (BEALER, 1982; HARTLE & BRODY, 1982). Enquanto Bealer (1982), demonstrou que a DH entre a região AV3V e o PVH (figura 2) não reduzia a resposta pressora induzida por salina hipertônica ICV, Hartle & Brody (1982), mostraram uma redução da resposta pressora à salina hipertônica ICV, embora estas diferenças possam ser decorrentes do tipo de DH, transversal no caso de Bealer e horizontal no caso de Hartle e Brody. A participação de vias neurais caudais ao PVH (conforme representada na figura 1) na modulação das respostas pressoras induzidas por ANG II, carbacol e salina hipertônica injetadas ICV ainda permanece por esclarecer.



**FIGURA 2:** Esquema representativo de um corte sagital do encéfalo, mostrando o posicionamento da faca utilizada para desconexão hipotalâmica rostral ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH). HP = hipotálamo posterior, ca = comissura anterior, AV3V = região anteroventral do terceiro ventrículo, VL = ventrículo lateral, 4V = quarto ventrículo.

## 2. OBJETIVOS

Considerando a importância do PVH para a regulação cardiovascular e da sua integração com áreas do SNC envolvidas na regulação cardiovascular, como a região AV3V e os núcleos vasomotores do bulbo, bem como seu papel na secreção de hormônios como a vasopressina, neste estudo nos propusemos a estudar a participação de vias neurais que cursam caudais ao PVH na regulação cardiovascular e no equilíbrio hidroeletrólítico por meio de uma desconexão hipotalâmica (DH) realizada com uma microfaca posicionada caudal ao PVH. Mais especificamente nossos objetivos foram:

1. Determinar os efeitos da DH caudal ao PVH sobre o barorreflexo e quimiorreflexo em ratos acordados;
2. Determinar os efeitos da DH caudal ao PVH sobre a resposta pressora induzida pela injeção no ventrículo lateral de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica em ratos acordados;
3. Determinar os efeitos da DH caudal ao PVH sobre a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Animais

Foram utilizados ratos adultos Holtzman, pesando entre 280 – 320 g, fornecidos pelo Biotério do campus de Araraquara. Os animais foram mantidos com água de torneira e ração granulada *ad libitum* em gaiolas individuais. A temperatura ambiente foi de  $23\pm 2$  °C, e o ciclo claro/escuro foi definido por luzes acesas das 7:30 às 20:00 h.

#### 3.2 - Cirurgia cerebral

Os animais foram anestesiados com uma mistura anestésica de xilazina (7mg/kg de peso corporal) e quetamina (80mg/kg de peso corporal) e fixados em um aparelho estereotáxico para pequenos animais (modelo Kopf 900). A seguir foram realizadas as cirurgias descritas nos itens **a** e **b**.

a) Desconexão hipotalâmica (DH)

Após o posicionamento da cabeça do animal no estereotáxico, foi feita uma incisão longitudinal da pele e corte do tecido subcutâneo. O crânio foi nivelado entre as estruturas bregma e lambda e uma microfaca em forma de baioneta com 3,0 mm de altura e 2 mm de raio foi utilizada para realizar a DH. As coordenadas empregadas foram 1,5 mm caudal ao bregma, na linha média. Determinado o ponto de introdução da microfaca foi feita a trepanação do crânio com o auxílio de uma broca odontológica. Após a introdução da microfaca no cérebro, até a base do crânio, a desconexão foi realizada promovendo-se a rotação da microfaca 90° à esquerda e 90° à direita. Estas coordenadas estereotáxicas promoveram a DH caudal ao PVH (DH-C).

No grupo controle foi realizado a DH fictícia, onde a faca foi introduzida no cérebro seguindo as mesmas coordenadas estereotáxicas, entretanto não foi realizada a rotação da microfaca.

**b) Implante de cânulas no ventrículo lateral**

Logo após a desconexão hipotalâmica, com os animais ainda posicionados no estereotáxico, foi determinado o ponto de introdução da cânula de aço inoxidável (12 x 0,7 mm d.i.) no ventrículo lateral (VL). As coordenadas utilizadas foram: 0,5 mm caudal ao bregma, 1,5 mm lateral à linha média e 3,2 mm abaixo da dura-máter. As cânulas foram fixadas na cabeça dos ratos com parafusos e resina acrílica.

**3.3 - Injeção de substâncias no cérebro**

Angiotensina II (50 ng/1  $\mu$ L) ou carbacol (4 nmol/1  $\mu$ L), dissolvidos em salina estéril, e a salina hipertônica (NaCl 2 M) foram injetados no VL dos ratos utilizando-se uma seringa Hamilton (10  $\mu$ L), conectada por um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora, a qual foi introduzida no VL com auxílio de uma cânula guia previamente fixada no VL (item 3.2 b). A cânula injetora (0,3 mm d.i.) era 2.0 mm mais longa do que a cânula guia. O volume de injeção foi de 1  $\mu$ L para angiotensina II ou carbacol e de 2  $\mu$ L para a salina hipertônica.

**3.4 - Registro da pressão arterial e da frequência cardíaca**

Cânulas (tubos de polietileno PE-10 soldados a tubos de polietileno PE-50) para o registro da pressão arterial (PA) foram inseridas na aorta abdominal, através da artéria femoral para o registro da PA, e inseridas na veia femoral para a administração endovenosa de drogas. As cânulas para registro da PA foram conectadas a um transdutor de pressão acoplado a um amplificador (ETH-200 CB SCIENCES INC) e a um sistema de aquisição e análise de dados (PowerLab, ADInstruments). A pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram registradas simultaneamente. A PAM foi calculada a partir do sinal de PAP. A FC foi calculada como a frequência instantânea do sinal de PAP. No final da canulação da artéria e veia femorais, as cânulas foram exteriorizadas no dorso do animal e suturadas na pele do dorso do animal.

### **3.5 - Coleta e análise bioquímica da urina**

Os animais foram acondicionados em gaiolas metabólicas e a urina foi coletada por gravidade. As amostras de urina foram analisadas em um dosador de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> (Nova 1, Nova Biomedical). A excreção total de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> foi calculada como concentração de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> multiplicado pelo volume urinário.

### **3.6- Histologia**

Ao final dos experimentos, sob anestesia profunda, o coração dos animais foi exposto cirurgicamente e foi realizada primeiramente perfusão de solução salina isotônica e a seguir de solução de formalina a 10%. A seguir, os cérebros foram retirados e mergulhados no mesmo agente fixador por pelo menos 72h. Posteriormente, utilizando um micrótomo de congelamento (Leica SM 2000 R) os cérebros foram inicialmente seccionados em cortes coronais de 50 µm até o nível da área pré-óptica medial para a análise da injeção no VL. A seguir os cérebros foram seccionados em cortes horizontais para a análise da DH. Todos os cortes obtidos foram corados pela técnica de Nissl para posterior análise no microscópio óptico.

### **3.7 - Análise Estatística**

Os dados foram expressos como média ± EPM e analisados pelo test *t* de Student ou da análise de variância de duas vias (ANOVA) associadas ao Student-Newman-Keuls, conforme o mais apropriado, assumindo-se  $p < 0,05$ .

#### **4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS**

##### **4.1 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) (1 dia) sobre o barorreflexo e o quimiorreflexo e sobre as respostas pressoras induzidas pela injeção de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica no ventrículo lateral (VL) de ratos acordados.**

No grupo agudo, no dia anterior ao do experimento foram realizados seqüencialmente: 1) cirurgia de DH-C ou DH-Fictícia, 2) implante de cânula no VL e 3) canulação da artéria e veia femorais para o registro da PAM e FC e infusão de drogas, respectivamente. Após os animais terem sido conectados ao transdutor de pressão, foi feito um registro basal de aproximadamente 20 min, a seguir o barorreflexo foi testado com a injeção de dose pressora de fenilefrina (5µg/kg de peso corporal) e dose hipotensora de nitroprussiato de sódio (30µg/Kg de peso corporal). O quimiorreflexo foi testado com dose intravenosa de KCN (40µg/0,1 mL/rato). Após cada teste de reflexo, foi aguardado um período de 10 min. Após os testes dos reflexos, uma parte dos animais recebeu injeção de angiotensina II (ANG II, 50 ng/1 µL) no VL, e após um período de 4h, que nos garantia que a PAM havia retornado aos seus níveis basais, foi realizada a injeção de carbacol (4 nmol/1µL). Outro grupo de animais, recebeu após o teste de reflexos, injeção no VL de salina hipertônica (NaCl 2 M, 2 µl) no VL. A injeção de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1 µL) precedeu a injeção de substâncias no VL, e foi usada como controle.

##### **4.2 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) (15 dias) sobre o barorreflexo e quimiorreflexo e sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica no ventrículo lateral (VL) de ratos acordados.**

No grupo crônico, a DH (DH-C ou DH-Fictícia) seguido do implante de cânula no VL, foram realizadas 15 dias antes do experimento. Neste grupo, 14 dias após as cirurgias cerebrais, ou seja, 24 h antes do experimento, os animais foram anestesiados com xilazina e quetamina para a canulação da artéria e veia femorais para o registro da PAM e FC e infusão de drogas, respectivamente. Os testes de baro e quimiorreflexo, bem como de injeção central de drogas foram testados como descrito no item 4.1.

#### **4.3. Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) sobre ingestão diária de água.**

No grupo com DH-C crônica utilizado no protocolo de alterações cardiovasculares (item 4.2), a ingestão diária de água foi medida 3 dias antes da DH e até 14 dias depois da DH.

#### **4.4. Efeito da DH-C (aguda e crônica) sobre a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.**

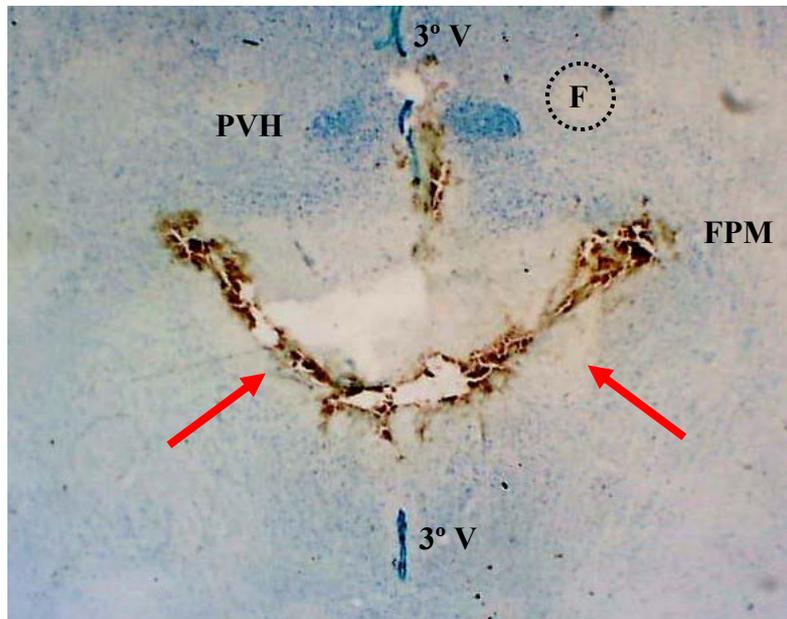
Um grupo de animais previamente submetidos apenas à cirurgia de DH (DH-C e DH-Fictícia) foram privados de água e colocados imediatamente em gaiolas metabólicas, onde permaneceram sem água, mas com livre acesso à ração por 24 h. A urina e a quantidade de alimento ingerido foram coletadas durante as 24 h de privação hídrica. Os testes de excreção urinária foram testados nos mesmos animais tanto na fase aguda (3 – 6 dias) como na fase crônica (14 – 17 dias).

Bealer et al. (Bealer et al., 1984), demonstraram que em animais com uma DH realizada entre a região AV3V e o PVH, apresentavam uma significativa queda de peso ao final da segunda semana após a cirurgia. Para controlarmos esta variável, os animais foram pesados três dias antes da cirurgia, e a cada três dias, até o 17º dia. Foi medida também a ingestão diária de água nesses animais 3 dias antes da DH até 17º dia após a DH.

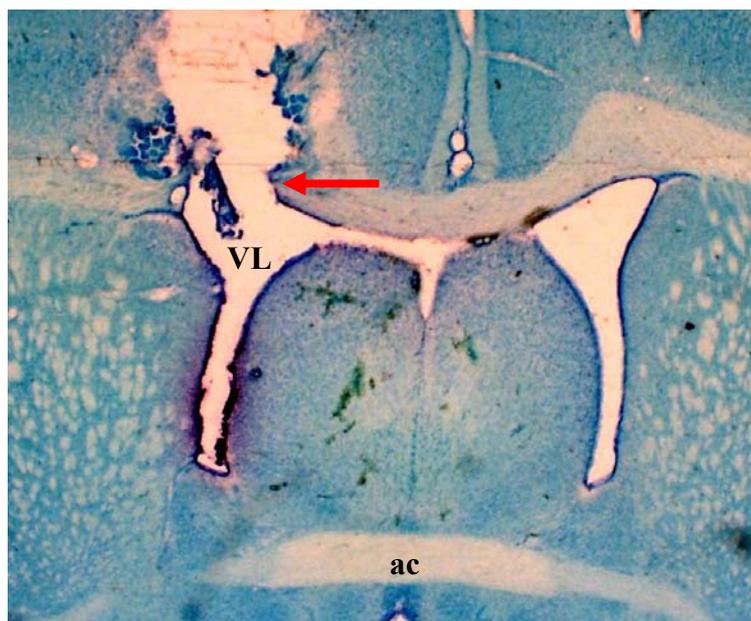
## 5. RESULTADOS

### 5.1 - Análise Histológica

As figuras 3 e 4 mostram fotomicrografias representativas da DH caudal ao PVH (DH-C) e da injeção no VL, respectivamente. A análise histológica da DH (figura 1) mostra que esta foi realizada na altura do núcleo dorso-mediano, estendendo-se lateralmente até o fornix, deixando intacta a maior parte do fascículo prosencefálico medial (FPM). No sentido dorsoventral, a DH estendeu-se até a base do encéfalo (não está representada nesta fotomicrografia).



**FIGURA 3:** Fotomicrografia de um corte horizontal do prosencéfalo de um rato representativo do grupo, mostrando a região atingida pela desconexão hipotalâmica caudal (DH-C) ao PVH. As setas indicam o local da DH-C. PVH: núcleo paraventricular do hipotálamo; F: fórnix; 3º V: terceiro ventrículo; FPM: feixe prosencefálico medial (aumento de 10X)



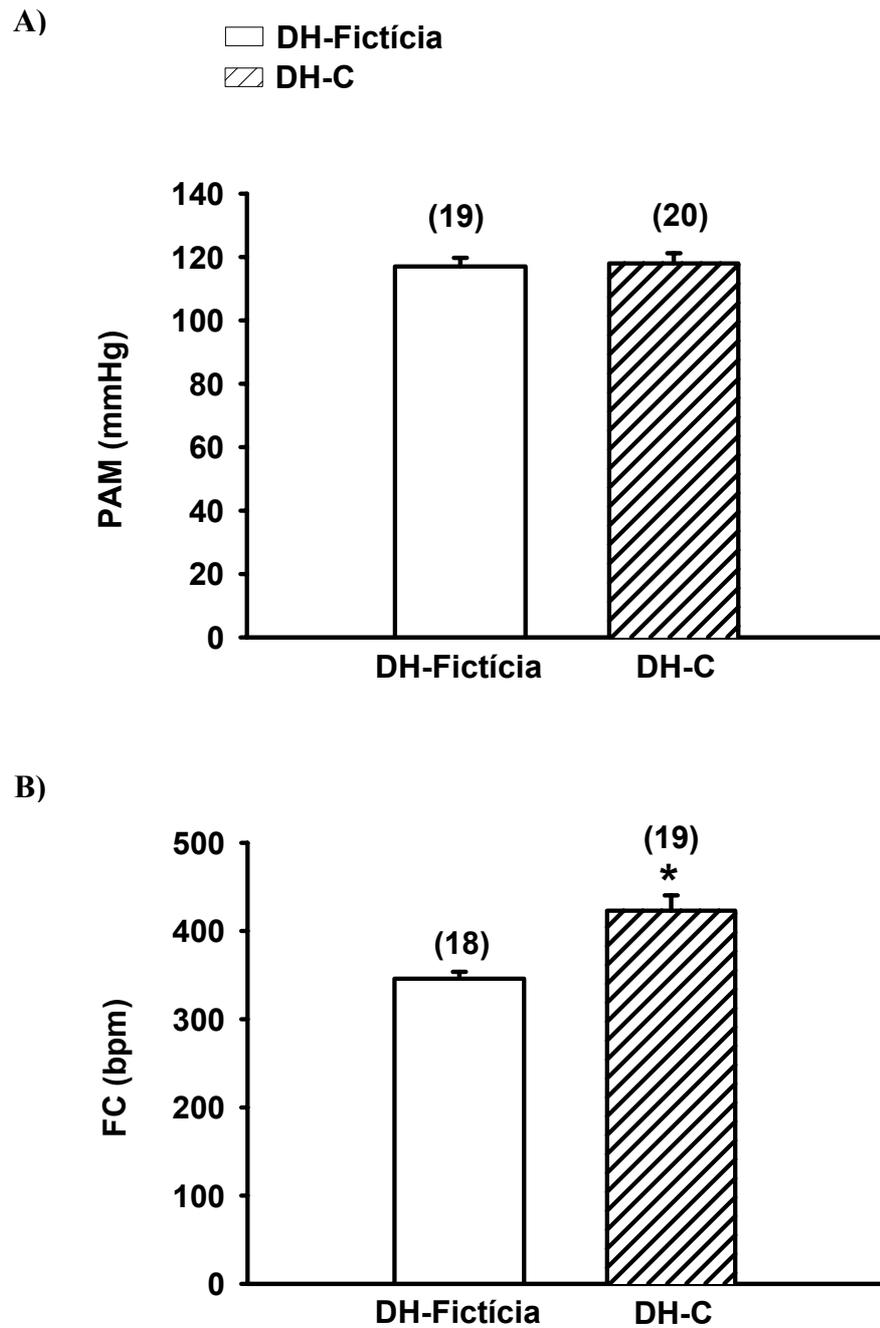
**FIGURA 4:** Fotomicrografia de um corte coronal do prosencéfalo de um rato representativo do grupo mostrando o local de injeção unilateral no VL (seta). VL: ventrículo lateral, ac: comissura anterior (aumento de 10X).

## 5.2 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) aguda (1 dia) sobre o quimiorreflexo e barorreflexo e sobre os parâmetros cardiovasculares basais em ratos acordados.

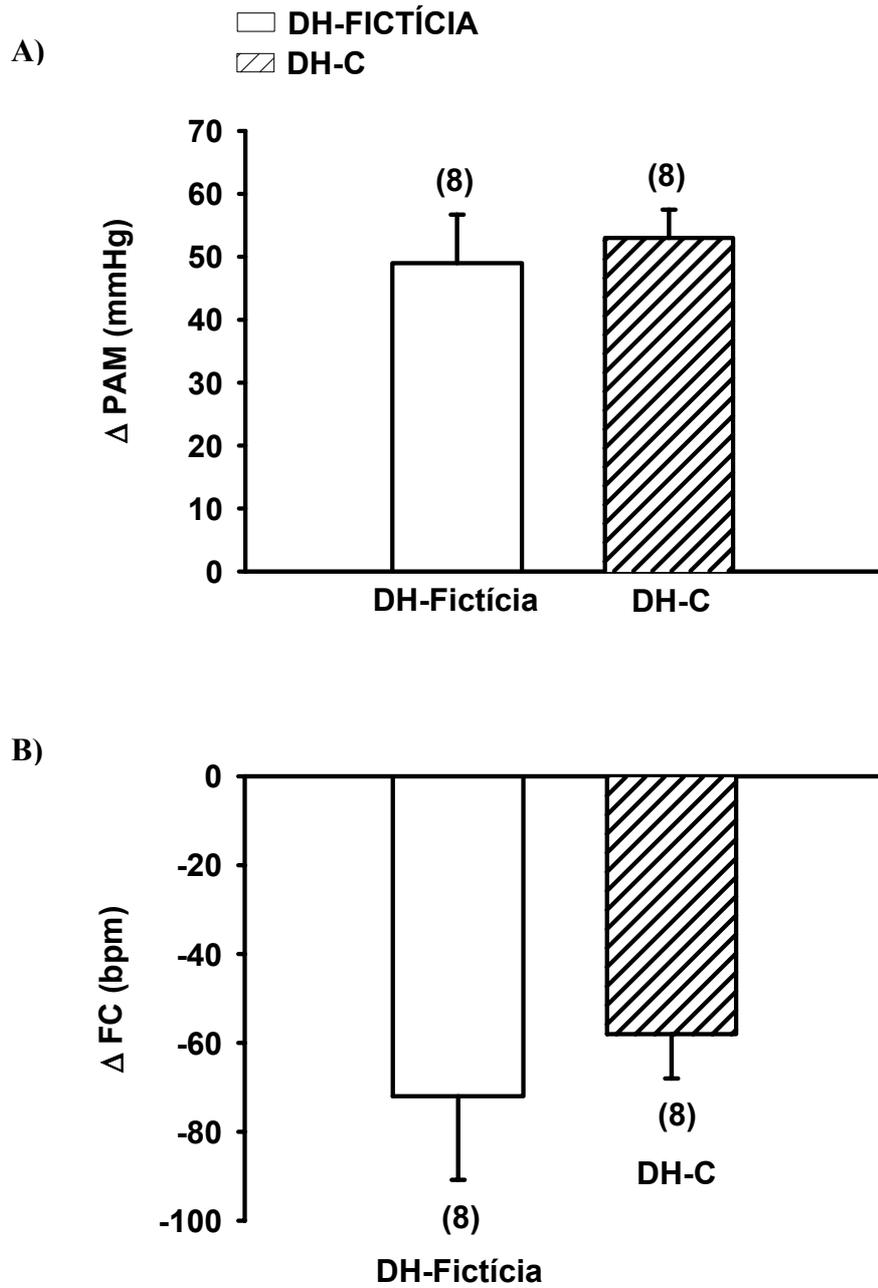
Como podemos observar na figura 5A, a PAM basal dos animais com DH-C aguda ( $118 \pm 3$  mmHg) não foi diferente da PAM basal dos animais com DH-Fictícia ( $117 \pm 3$  mmHg). Por outro lado, a FC basal nos animais com DH-C aguda ( $423 \pm 17$  bpm) foi significativamente maior do que aquela observada nos ratos com DH-Fictícia ( $346 \pm 8$  bpm), (figura 5B).

Como pode ser observado na figura 6, a resposta pressora e a bradicardia reflexa induzidas pela administração endovenosa de fenilefrina ( $5\mu\text{g}/\text{kg}$ ) não foi diferente entre os animais com DH-Fictícia ( $49 \pm 8$  mmHg e  $-72 \pm 19$  bpm, respectivamente) e com DH-C ( $53 \pm 5$  mmHg  $-58 \pm 10$  bpm). Também não houve diferença na resposta hipotensora induzida por nitroprussiato de sódio ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) entre os animais com DH-Fictícia:  $-37 \pm 4$  e DH-C  $-41 \pm 3$  mmHg), ou na taquicardia reflexa (DH-Fictícia:  $95 \pm 15$  vs DH-C  $104 \pm 16$  bpm) (figura 7). Da mesma forma, a administração de KCN ( $40\mu\text{g}/\text{rato}$ ) promoveu resposta pressora (DH-Fictícia:  $48 \pm 6$  mmHg vs DH-C  $38 \pm 4$  mmHg), e bradicardia (DH-Fictícia:  $-168 \pm 46$  bpm vs DH-C  $-119 \pm 27$  bpm), equivalentes nos dois grupos de animais, (figura 8).

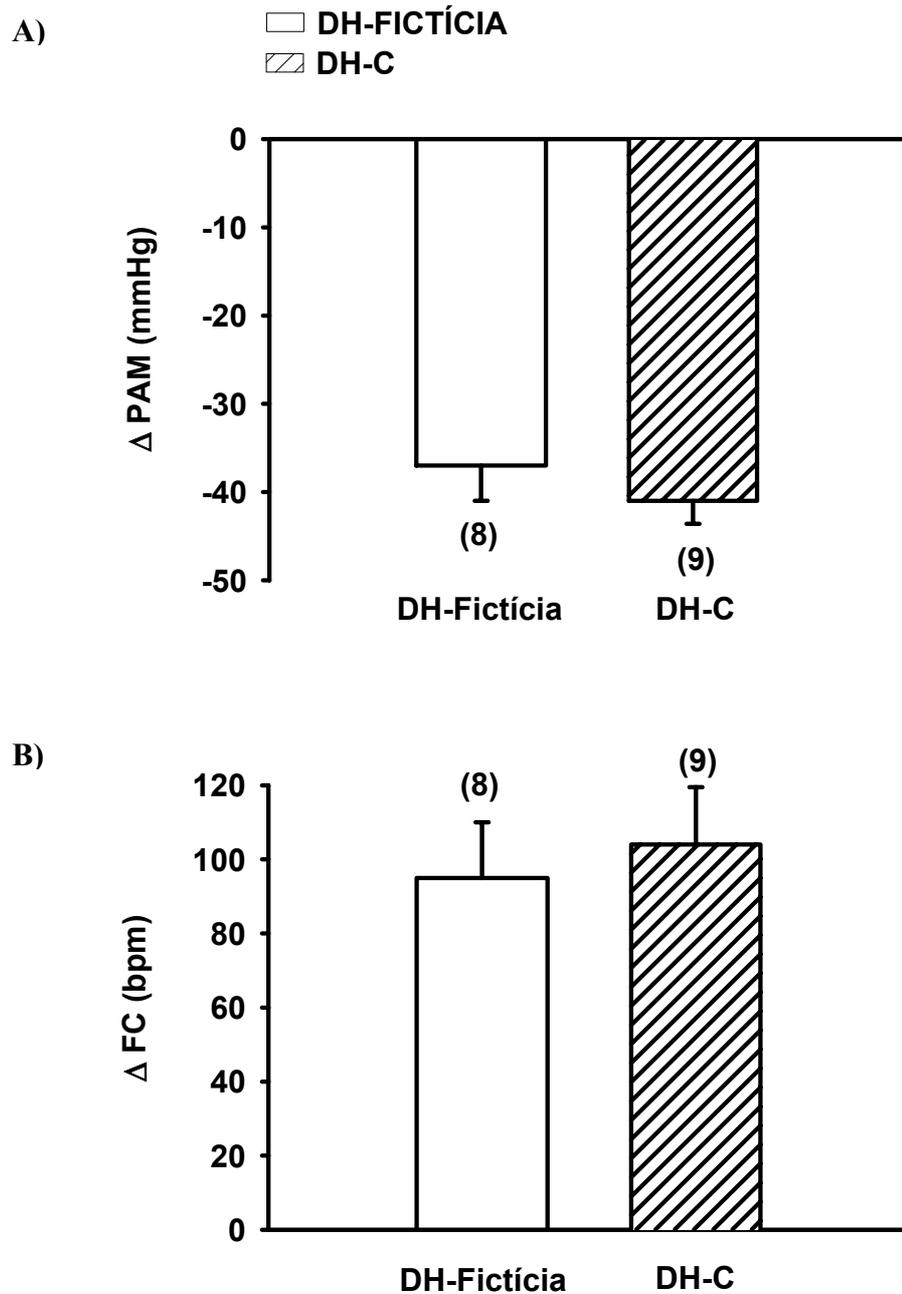
A figura 9 sumariza os dados sobre a duração da resposta pressora induzida pela ativação do quimiorreflexo com KCN e demonstra que o tempo necessário para a PAM retornar a seus níveis basais em ratos que foram submetidos à DH-C foi semelhante ao de animais com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $20 \pm 3$  vs DH-C:  $17 \pm 2$  s). A duração da resposta bradicárdica induzida pela ativação do quimiorreflexo também foi similar nos dois grupos experimentais (DH-Fictícia:  $16 \pm 1$  vs DH-C:  $14 \pm 2$  s), (figura 9).



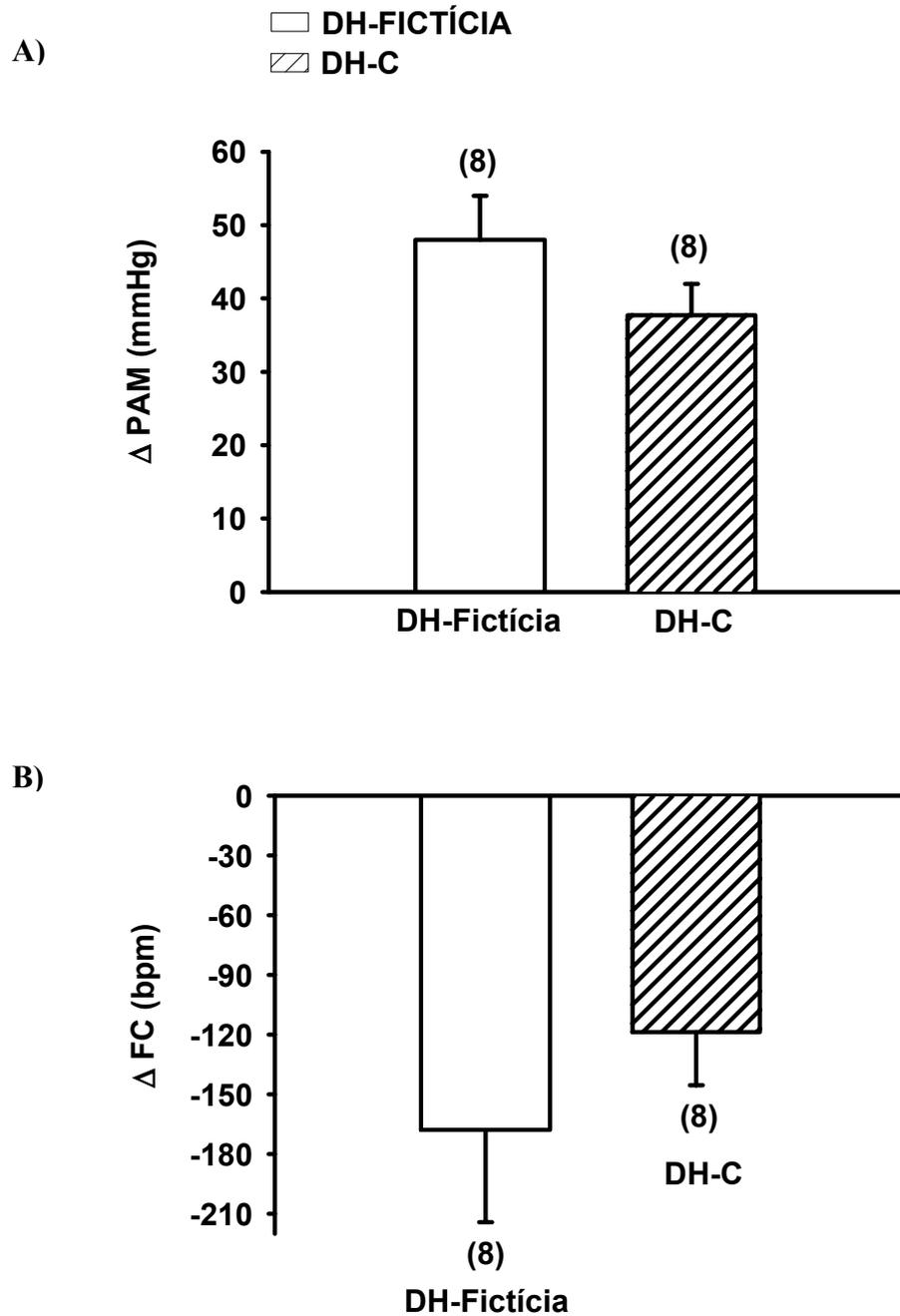
**FIGURA 5:** Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) basais em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia. Teste *t* de Student, ( $p < 0,05$ ).



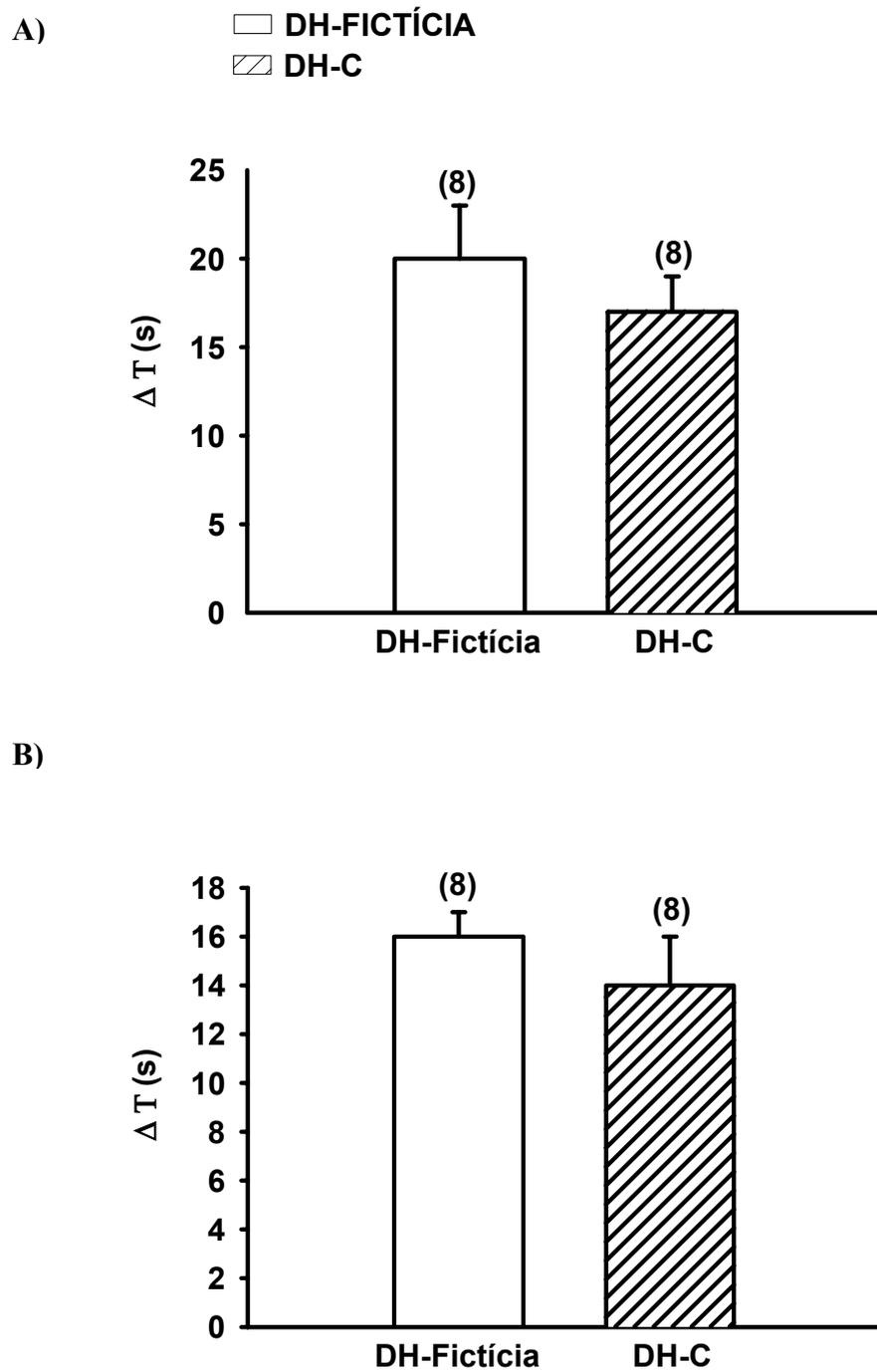
**FIGURA 6:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de fenilefrina ( $5\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



**FIGURA 7:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de nitroprussiato de sódio ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



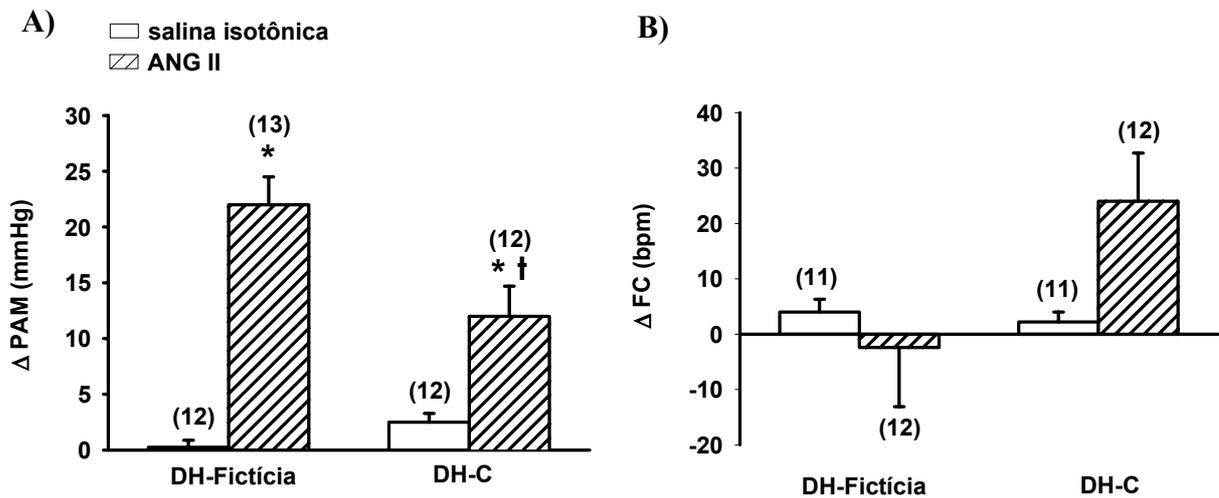
**FIGURA 8:** Variações da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) produzida pela injeção iv de KCN ( $40\mu\text{g}/\text{rato}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



**FIGURA 9:** Variações na duração ( $\Delta T$ ) da resposta pressora (A) e bradicárdica (B) do quimiorreflexo em animais com DH-C e DH-Fictícia aguda. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.

### 5.3 - Efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) aguda (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II (ANG II) no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

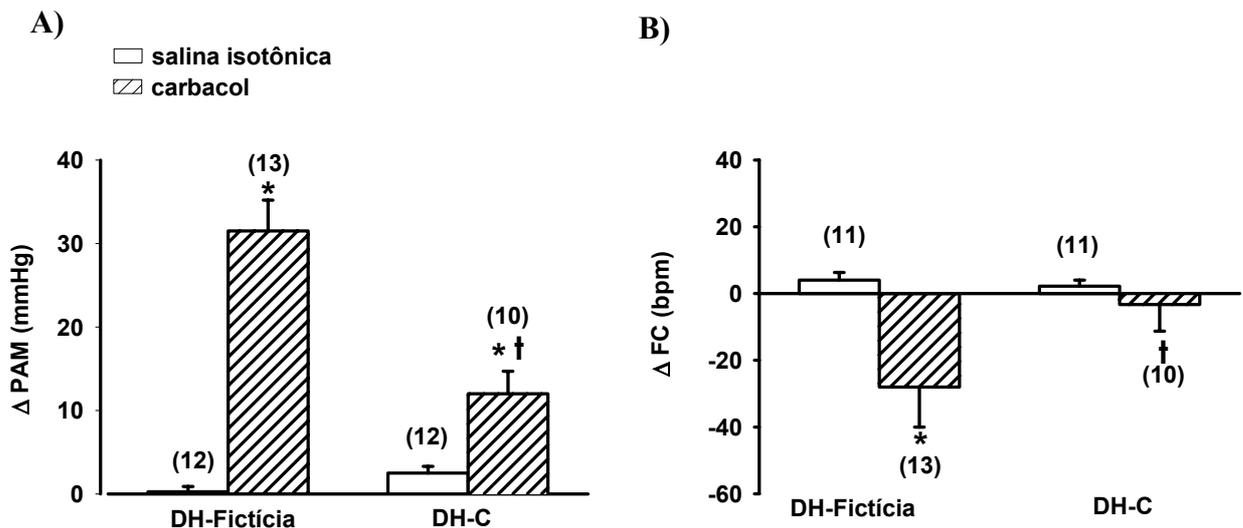
A resposta pressora induzida pela injeção de ANG II no VL de ratos DH-C ( $12 \pm 3$  mmHg) foi significativamente menor do que aquela observada nos ratos DH-Fictícia ( $22 \pm 3$  mmHg), [ $F(1,45) = 4,162$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 10A). A injeção de ANG II no VL não promoveu alterações significantes na FC de ratos DH-C ( $24 \pm 9$  bpm) ou DH-Fictícia ( $-2 \pm 11$  bpm), [ $F(1,42) = 2,788$ ;  $p > 0,05$ ], ou seja, as respostas na FC não foram diferentes entre si, tampouco diferentes de salina no VL (figura 10B).



**FIGURA 10:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina (NaCl 0,15 M, 1  $\mu$ l) e angiotensina II (ANG II, 50 ng/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + ANG II; (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

#### 5.4 - Efeitos da DH caudal ao PVH (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de carbacol no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

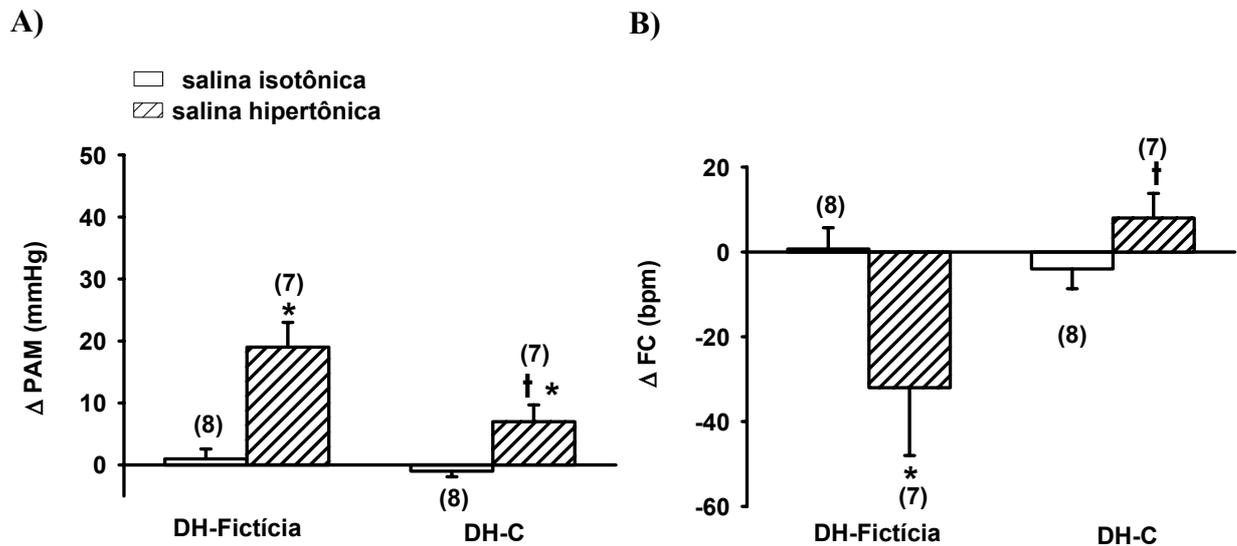
A injeção de carbacol no VL de ratos DH-Fictícia produziu uma resposta pressora que foi reduzida nos ratos com DH-C aguda (DH-Fictícia:  $32 \pm 4$  vs DH-C:  $12 \pm 3$  mmHg), [ $F(1,46) = 8,291$ ;  $p < 0,05$ ], (Figura 11A). A bradicardia induzida pela injeção de carbacol no VL de ratos DH-Fictícia ( $-28 \pm 12$  bpm) foi bloqueada nos ratos DH-C ( $3 \pm 8$  bpm), [ $F(1,44) = 5,410$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 11B).



**FIGURA 11:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina (NaCl 0,15M, 1  $\mu$ l) e carbacol (4nmol/1 $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \*diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + carbacol. (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

### 5.5 - Efeitos da DH caudal ao PVH (1 dia) sobre a resposta pressora induzida pela injeção da salina hipertônica (NaCl 2 M) no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

A injeção de salina hipertônica no VL de ratos DH-Fictícia produziu uma resposta pressora que foi reduzida nos ratos com DH-C (DH-Fictícia:  $19 \pm 4$  vs DH-C:  $7 \pm 3$  mmHg), [ $F(1,27) = 8,519$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 12A). Por outro lado, a bradicardia observada após a injeção de salina hipertônica no VL de ratos DH-Fictícia ( $-32 \pm 16$  bpm), foi bloqueada nos ratos com DH-C ( $8 \pm 6$  bpm), [ $F(1,27) = 4,220$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 12B).



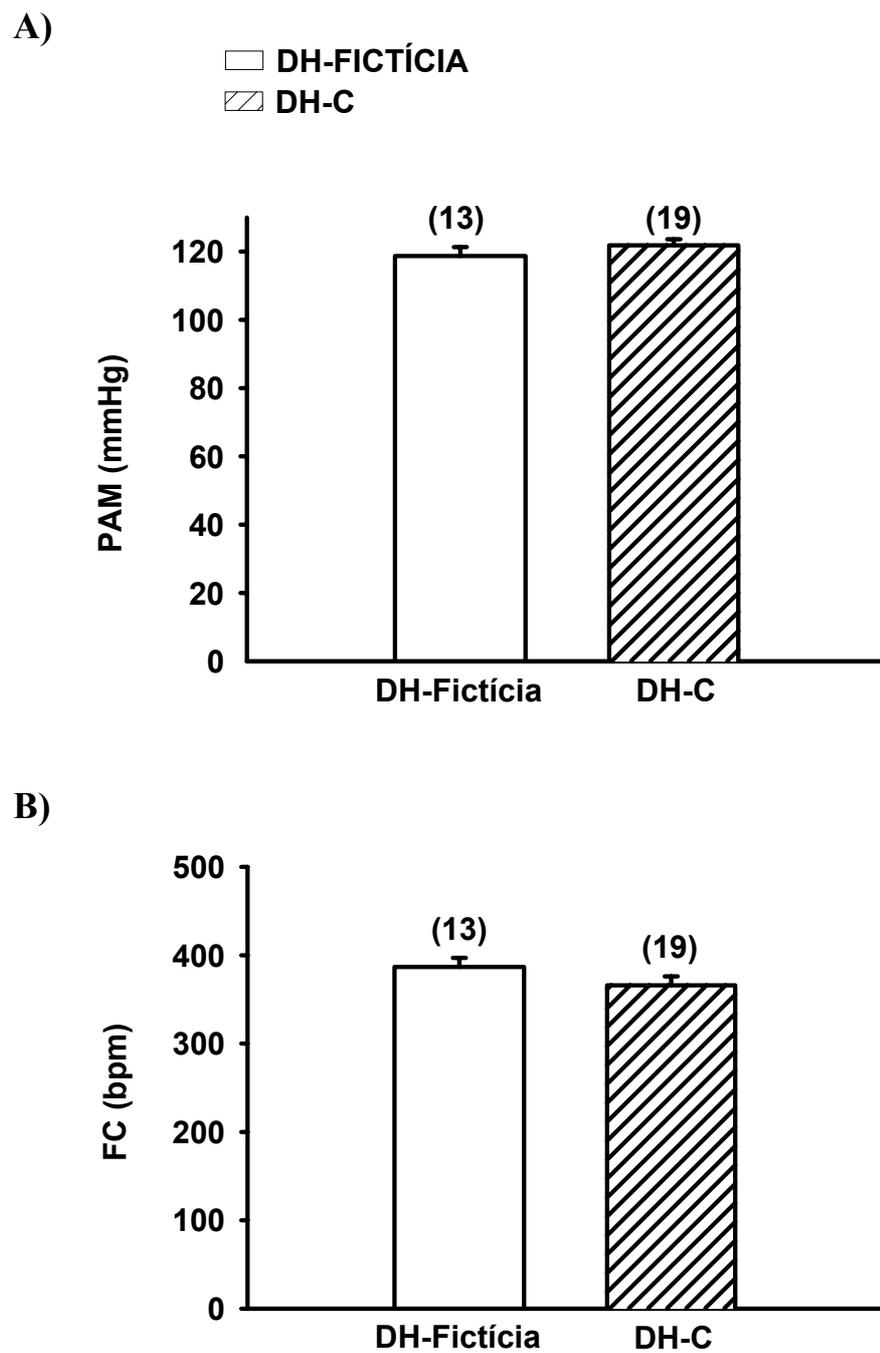
**FIGURA 12:** Variação da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15M, 1  $\mu$ l) e salina hipertônica (NaCl 2 M, 2  $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia aguda (1 dia). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \*diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + salina hipertônica. (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

### **5.6 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15dias) sobre o quimiorreflexo e barorreflexo em ratos acordados.**

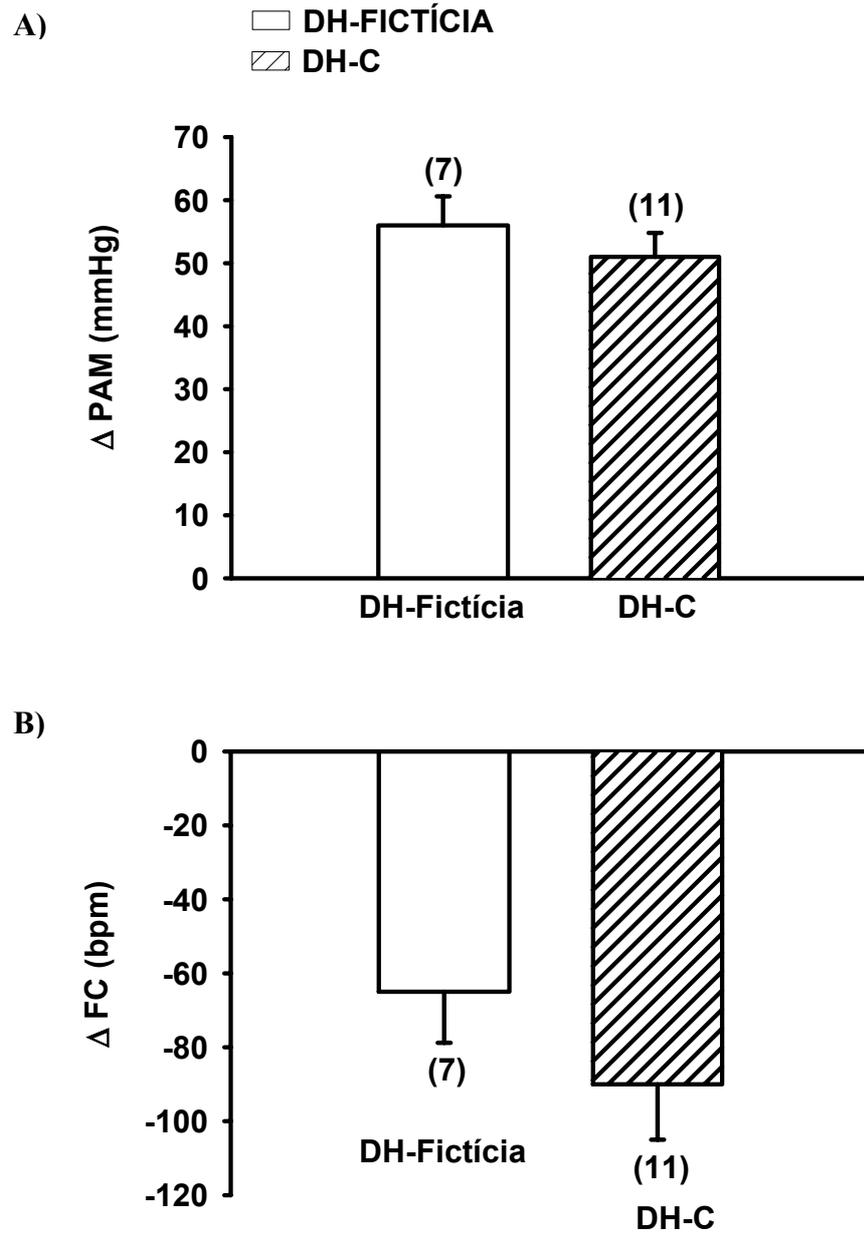
A PAM e a FC basais dos animais com DH-C crônica ( $122 \pm 2$  mmHg e  $366 \pm 10$  bpm, respectivamente) não foi diferente da PAM e a FC basais dos animais com DH-Fictícia ( $119 \pm 3$  mmHg e  $386 \pm 10$  bpm), (figura 13).

Como pode ser observado na figura 14, a resposta pressora e a bradicardia reflexa induzidas pela administração endovenosa de fenilefrina ( $5\mu\text{g}/\text{kg}$ ) não foi diferente entre os ratos com DH-Fictícia ( $56 \pm 5$  mmHg e  $-65 \pm 14$  bpm, respectivamente) e DH-C ( $51 \pm 4$  mmHg e  $-90 \pm 15$  bpm). Também não houve diferença entre os grupos na resposta hipotensora (DH-Fictícia:  $-40 \pm 3$  vs DH-C  $-37 \pm 4$  mmHg) e na taquicardia reflexa (DH-Fictícia:  $116 \pm 17$  vs DH-C  $131 \pm 8$  bpm) induzida por nitroprussiato de sódio ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ), (figura 15). Da mesma forma, a resposta pressora (DH-Fictícia:  $58 \pm 9$  mmHg vs DH-C  $46 \pm 3$  mmHg), assim como a bradicardia (DH-Fictícia:  $-165 \pm 38$  bpm vs DH-C  $-179 \pm 24$  bpm) induzida pelo KCN ( $40\mu\text{g}/0,1$  mL/rato) não foram significativamente diferentes entre os dois grupos de animais, (figura 16).

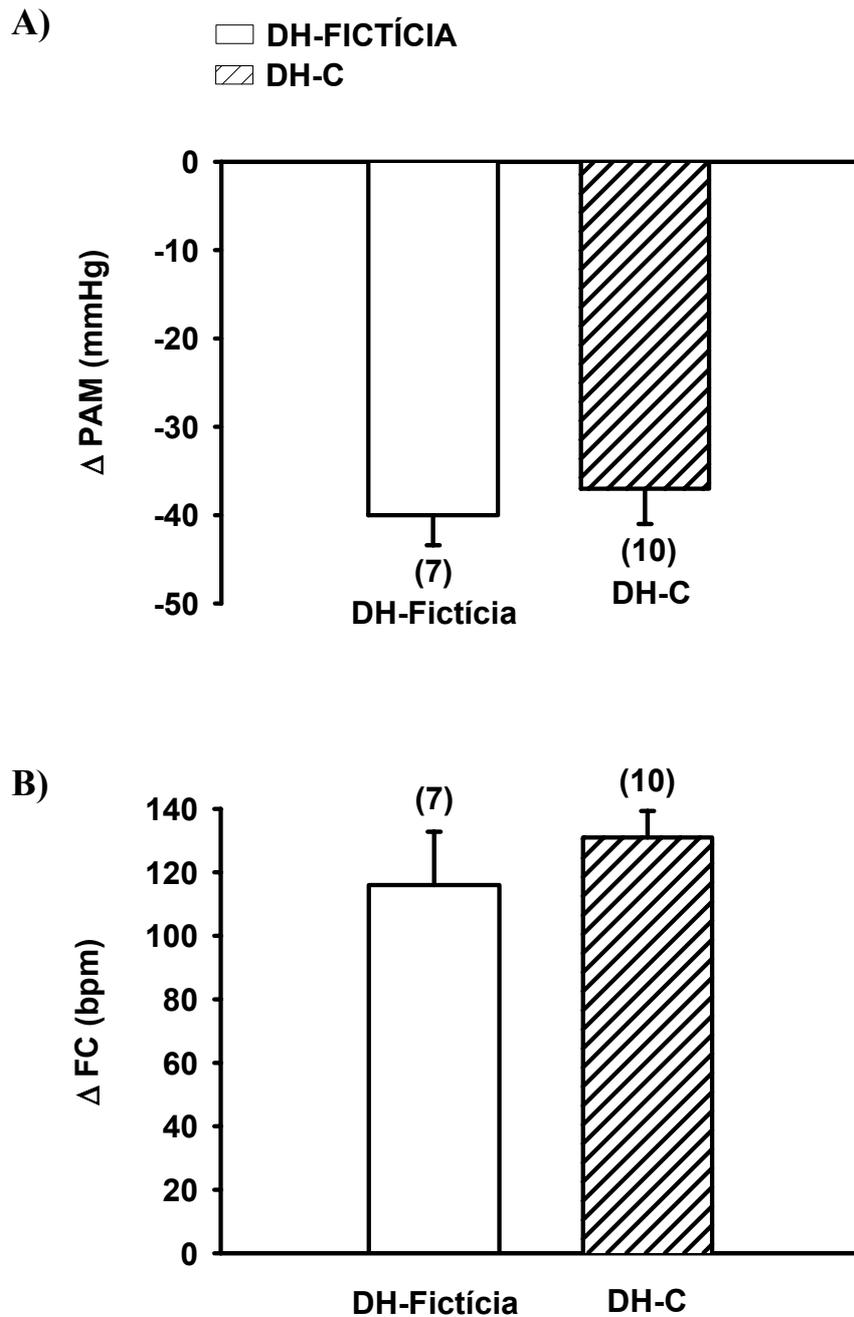
A figura 17 sumariza os dados sobre a duração da resposta pressora induzida pela ativação do quimiorreflexo com KCN e demonstra que o tempo necessário para a PAM retornar à seus níveis basais em ratos que foram submetidos à DH-C crônica foi significativamente menor do que em animais com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $28 \pm 3$  vs DH-C:  $18 \pm 2$  s). A duração da resposta bradicárdica induzida pela ativação do quimiorreflexo foi semelhante nos dois grupos experimentais (DH-Fictícia:  $18 \pm 2$  vs DH-C:  $15 \pm 2$  s), (figura 17).



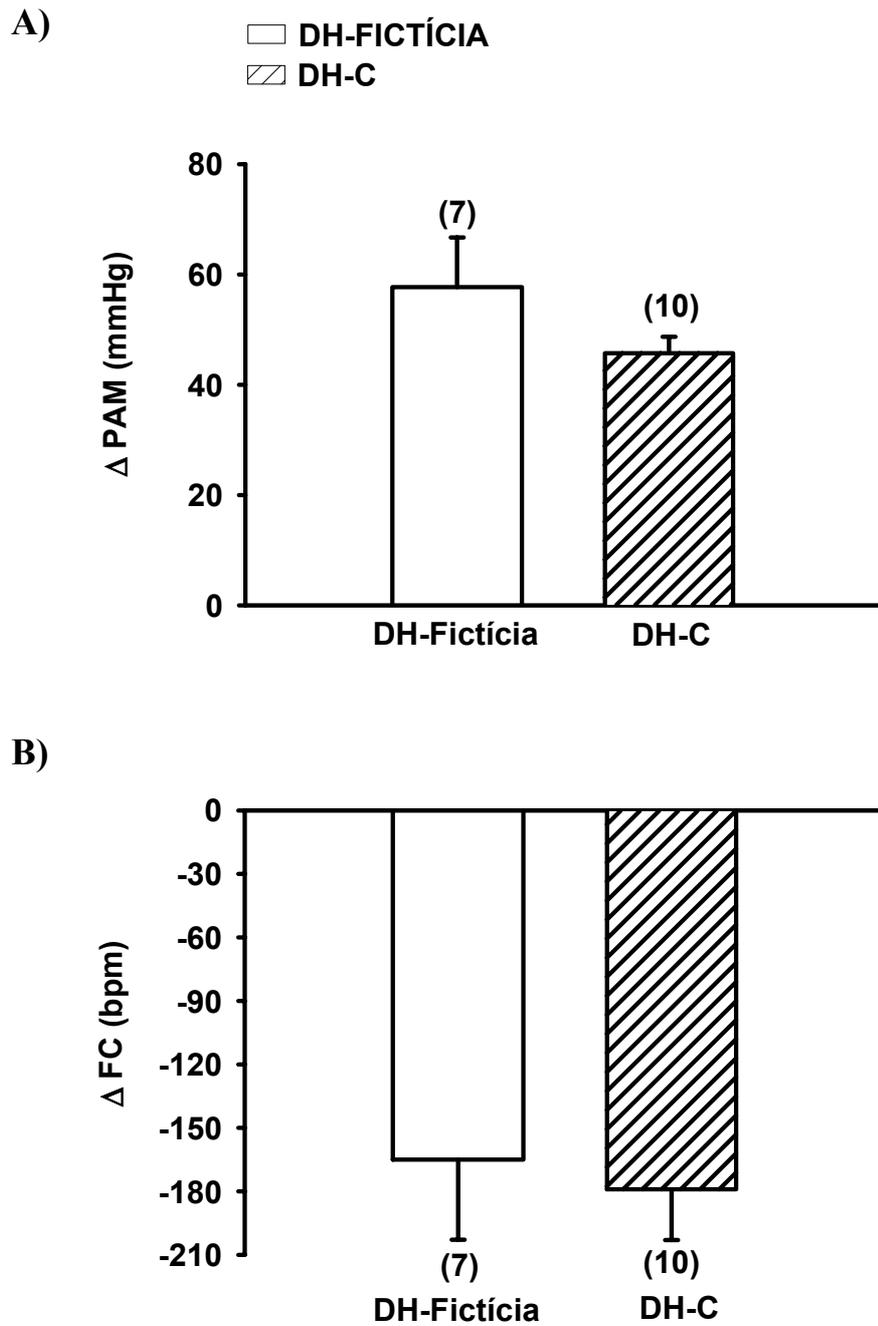
**FIGURA 13:** Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) basais em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



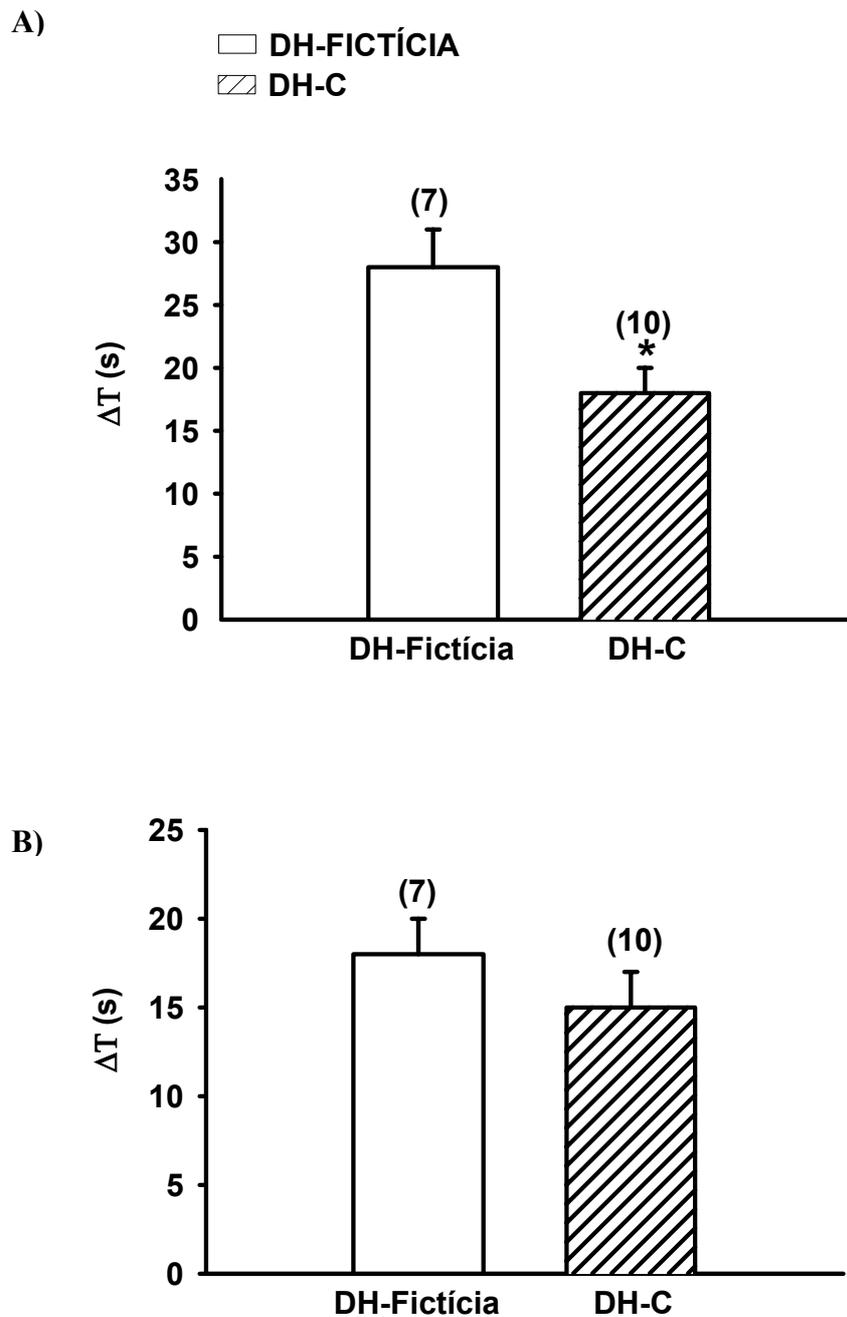
**FIGURA 14:** Variações da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de fenilefrina ( $5\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



**FIGURA 15:** Variações da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de nitroprussiato de sódio ( $30\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



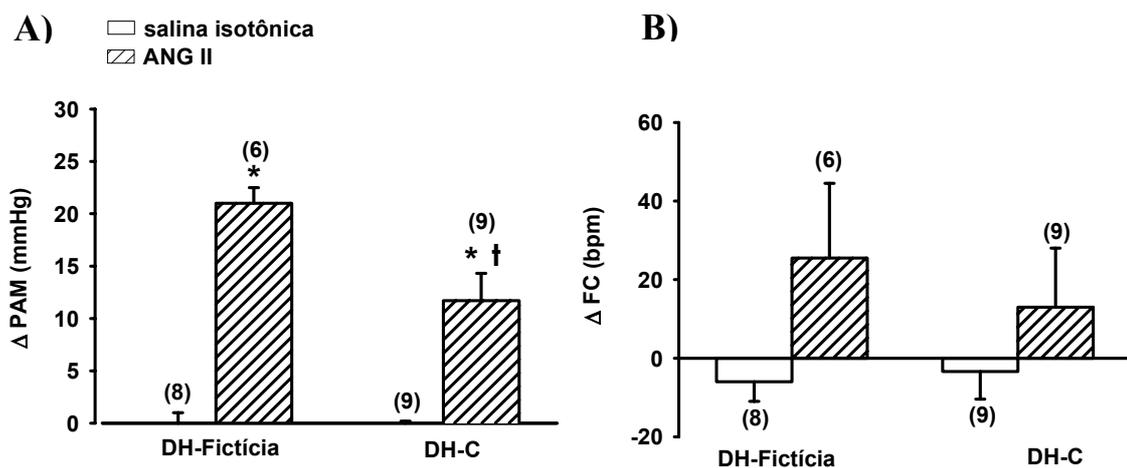
**FIGURA 16:** Variações da Pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) produzida pela injeção iv de KCN ( $40\mu\text{g}/\text{rato}$ ) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



**FIGURA 17:** Variações na duração ( $\Delta T$ ) da resposta pressora (A) e bradicárdica (B) do quimiorreflexo em animais com DH-C e DH-Fictícia crônica. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \*diferente de DH-Fictícia. Teste T de Student ( $p < 0,05$ ).

### 5.6 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15 dias) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de angiotensina II no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

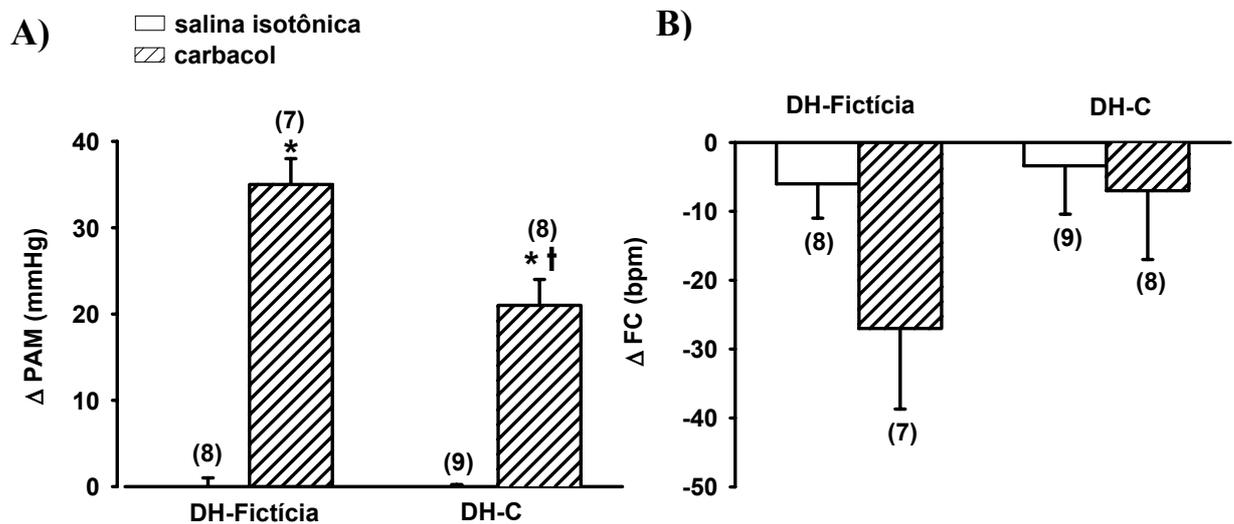
A injeção de ANG II no VL de ratos DH-Fictícia produziu uma resposta pressora que foi reduzida nos ratos com DH-C crônica (DH-Fictícia:  $21 \pm 1$  vs  $12 \pm 3$  mmHg), [ $F(1,30) = 55,572$ ;  $p < 0,05$ ], (Figura 18A). Entretanto, não houve diferença entre as alterações na FC induzidas pela ANG II nos ratos com DH-Fictícia ou DH-C (DH-Fictícia  $25 \pm 19$  vs DH-C:  $13 \pm 15$  bpm), [ $F(1,30) = 0,0218$ ;  $p > 0,05$ ], bem como estas respostas não foram diferentes das observadas após salina no VL (figura 18B).



**FIGURA 18:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1  $\mu$ l) e angiotensina II (ANG II, 50 ng/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + ANG II; (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

### 5.7 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15 dias) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de carbacol no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

A injeção de carbacol no VL de ratos DH-Fictícia produziu uma resposta pressora que foi reduzida nos ratos com DH-C crônica (DH-Fictícia:  $35 \pm 3$  vs  $21 \pm 3$  mmHg), [ $F(1,28) = 11,395$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 19A). A injeção de carbacol não promoveu alterações significantes na FC dos ratos DH-Fictícia ou DH-C (DH-Fictícia  $-27 \pm 12$  vs DH-C:  $-7 \pm 10$  bpm), [ $F(1,28) = 1,784$ ;  $p > 0,05$ ], (figura 19B).

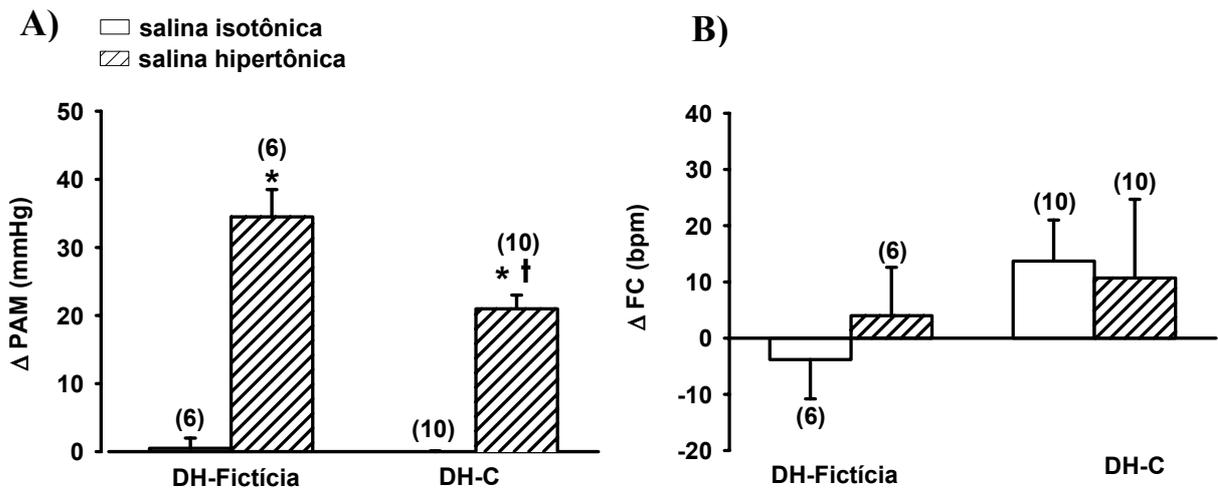


**FIGURA 19:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1  $\mu$ l) e carbacol (4nmol/ $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + carbacol; (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

### 5.8 - Efeitos da DH caudal ao PVH (15 dias) sobre a resposta pressora induzida pela injeção de salina hipertônica no ventrículo lateral (VL) em ratos acordados

A injeção de salina hipertônica (NaCl 2 M) no VL de ratos DH-Fictícia produziu resposta pressora que foi reduzida nos ratos com DH-C crônica (DH-Fictícia:  $34 \pm 4$

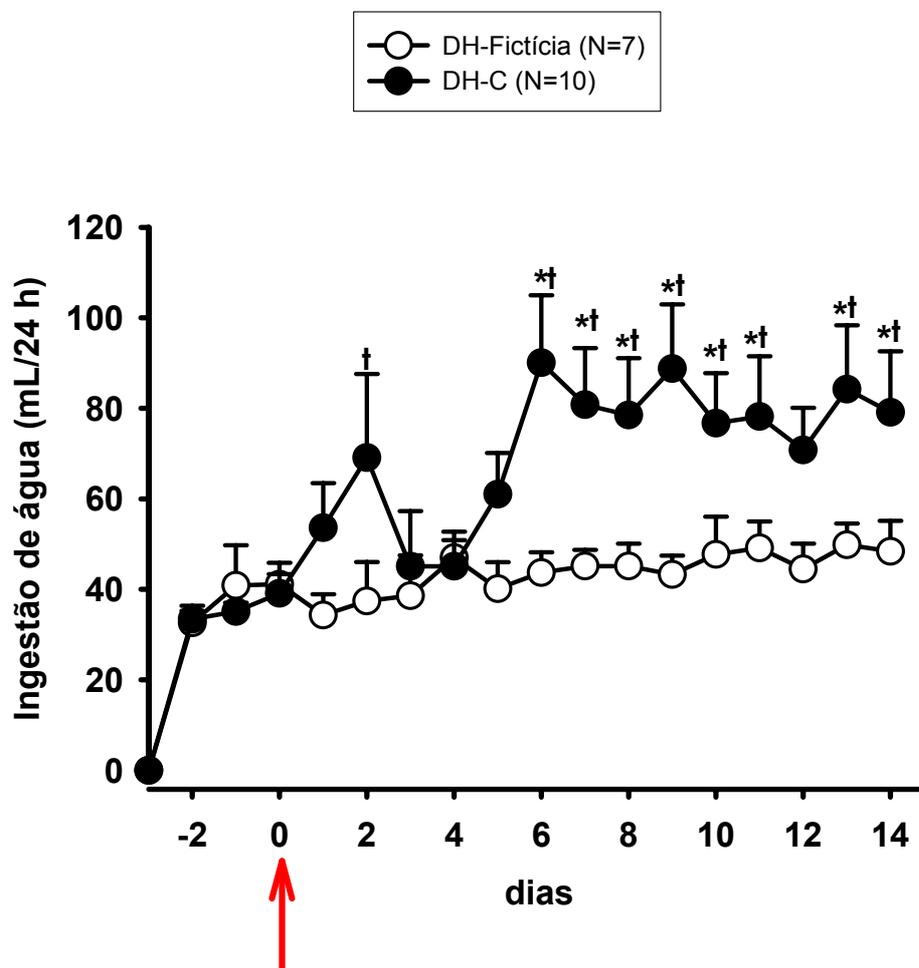
vs  $21 \pm 2$  mmHg), [ $F(1,28) = 11,371$ ;  $p < 0,05$ ], (figura 20A). Não houve alterações significantes na FC após a injeção de salina hipertônica no VL de ratos DH-Fictícia ou DH-C (DH-Fictícia:  $4 \pm 9$  vs DH-C:  $11 \pm 14$  bpm), [ $F(1,28) = 0,306$ ;  $p > 0,05$ ], (figura 20B).



**FIGURA 20:** Variações da PAM (A) e FC (B) produzida pela injeção no VL de salina isotônica (NaCl 0,15 M, 1  $\mu$ l) e salina hipertônica (NaCl 2 M, 2  $\mu$ l) em ratos com DH-C ou DH-Fictícia crônica (15 dias). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \*diferente de salina; † diferente de DH-Fictícia + salina hipertônica. (ANOVA de duas vias,  $p < 0,05$ ).

### 5.9. Ingestão diária de água nos animais com DH caudal ao PVH (DH-C) crônica

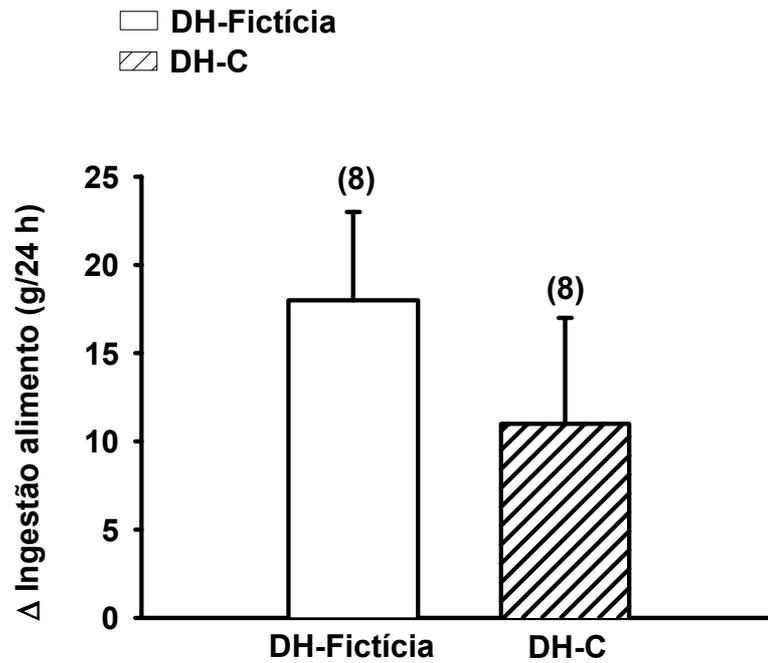
Conforme descrito nos protocolos experimentais, no grupo com DH-C crônica utilizado no protocolo de alterações cardiovasculares, a ingestão diária de água foi medida 3 dias antes da DH e até 14 dias depois da DH. Observamos que os ratos com DH-C apresentaram um aumento na ingestão diária de água maior que o seu próprio basal (dia -2), [ $F(15, 236) = 2,5; p < 0,01$ ] e maior que o grupo DH-Fictícia a partir do 6º dia após a DH-C [ $F(1, 236) = 35,26; p < 0,001$ ], (figura 21). No grupo DH-Fictícia não houve alteração na ingestão diária de água.



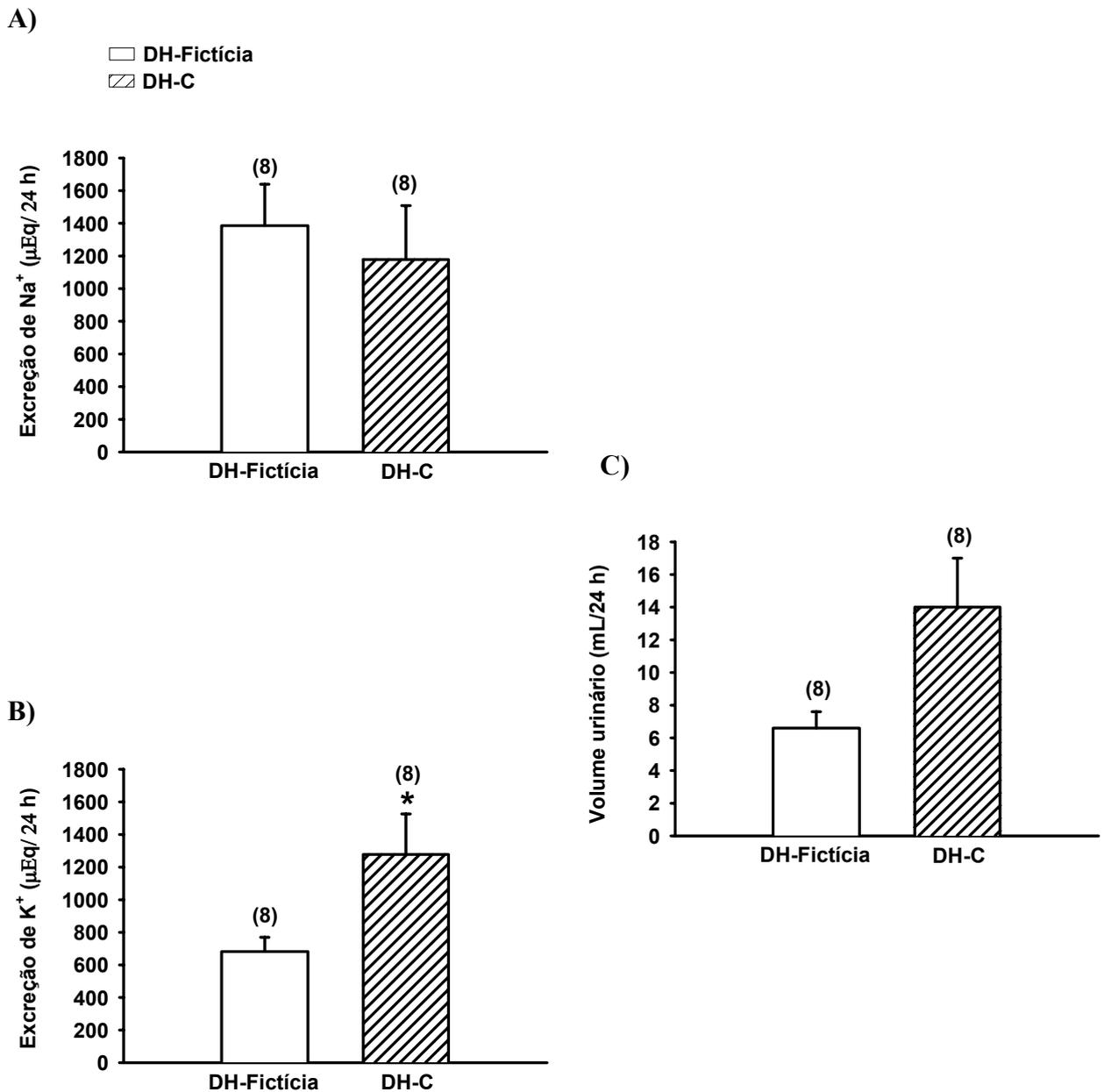
**FIGURA 21:** Ingestão diária de água nos animais submetidos à DH-C ou à DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do basal (dia -2), † diferente de DH-Fictícia (ANOVA de duas vias, seguida de Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ).

### **5.10 - Efeitos da DH caudal ao PVH (aguda) sobre a ingestão de alimento e a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.**

Os ratos com DH-fictícia ou DH-C aguda ingeriram quantidades equivalentes de alimento durante as 24 h de privação hídrica (DH-Fictícia:  $18 \pm 5$  vs. DH-C:  $11 \pm 6$  g/24 h), (figura 22). Com relação à excreção urinária, os resultados mostram que animais com DH-C ou DH-Fictícia que foram privados, não tiveram diferença significativa nos volumes urinários (DH-Fictícia:  $7 \pm 1$  vs. DH-C:  $14 \pm 3$  ml/24 h, figura 23C) e excreção de sódio (DH-Fictícia:  $1356 \pm 254$  vs. DH-C:  $1178 \pm 330$   $\mu\text{Eq Na}^+$ /24h, figura 23A). Porém, na excreção de potássio, os animais que foram submetidos à DH-C excretaram significativamente mais potássio quando comparados a animais com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $682 \pm 87$  vs. DH-C:  $1178 \pm 248$   $\mu\text{Eq K}^+$ /60 min, figura 23B).



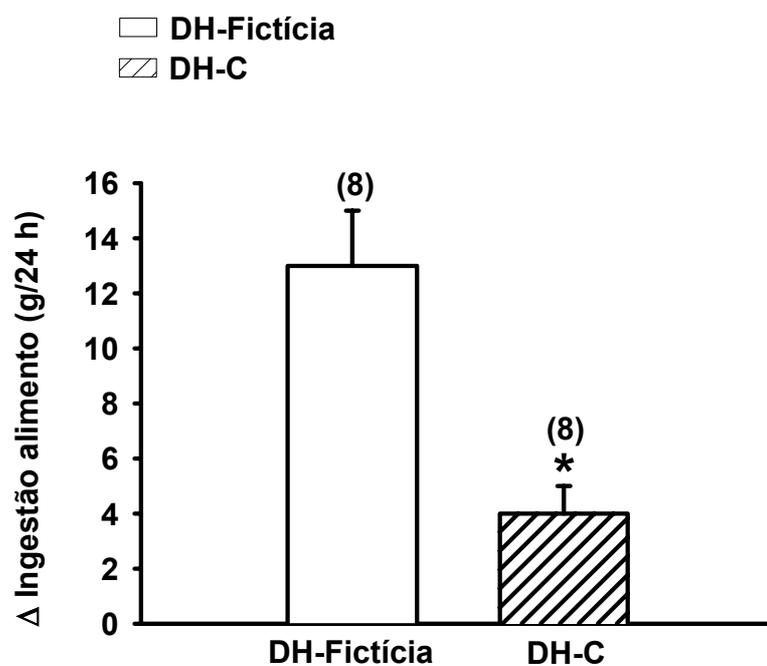
**FIGURA 22:** Variações da ingestão de alimento (g/24 h) em ratos com DH-C e DH-Fictícia aguda submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais.



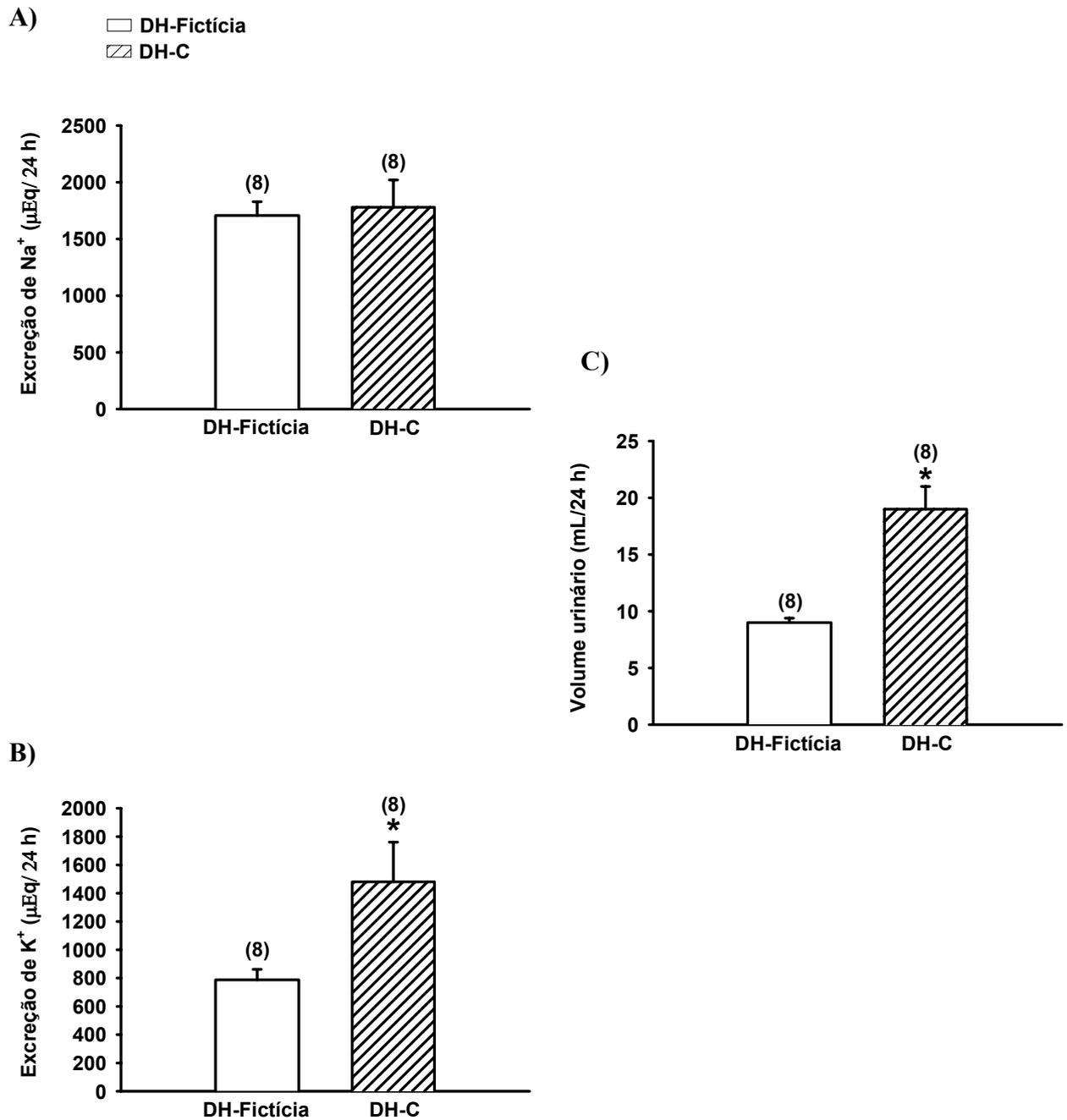
**FIGURA 23:** Variações de excreção urinária de sódio ( $\mu\text{Eq}/24\text{ h}$ ) (A), excreção urinária de potássio ( $\mu\text{Eq}/24\text{ h}$ ) (B) e volume urinário ( $\text{mL}/24\text{ h}$ ) (C) em ratos com DH-C e DH-Fictícia (aguda) submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ).

### **5.11 - Efeitos da DH caudal ao PVH (crônica) sobre a ingestão de alimento e a excreção urinária após 24 h de privação hídrica em ratos acordados.**

Cronicamente observamos que a ingestão de alimento foi menor em ratos com DH-C comparados com os ratos com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $13 \pm 2$  vs. DH-C:  $4 \pm 1$  g/24 h), (figura 24). Com relação à excreção urinária, os animais com DH-C crônica submetidos a 24 h de privação hídrica tiveram um maior volume urinário, quando comparados a animais com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $9 \pm 0,4$  vs. DH-C:  $19 \pm 2$  ml/24 h, figura 25C). A excreção de sódio nos ratos com DH-C foi semelhante aos ratos com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $1707 \pm 121$  vs. DH-C:  $1780 \pm 240$   $\mu\text{Eq Na}^+$ /24 h, figura 25A), mas os animais desconectados tiveram uma maior excreção de potássio comparada aos ratos com DH-Fictícia (DH-Fictícia:  $787 \pm 75$  vs. DH-C:  $1480 \pm 281$   $\mu\text{Eq K}^+$ /24 h, figura 25B).



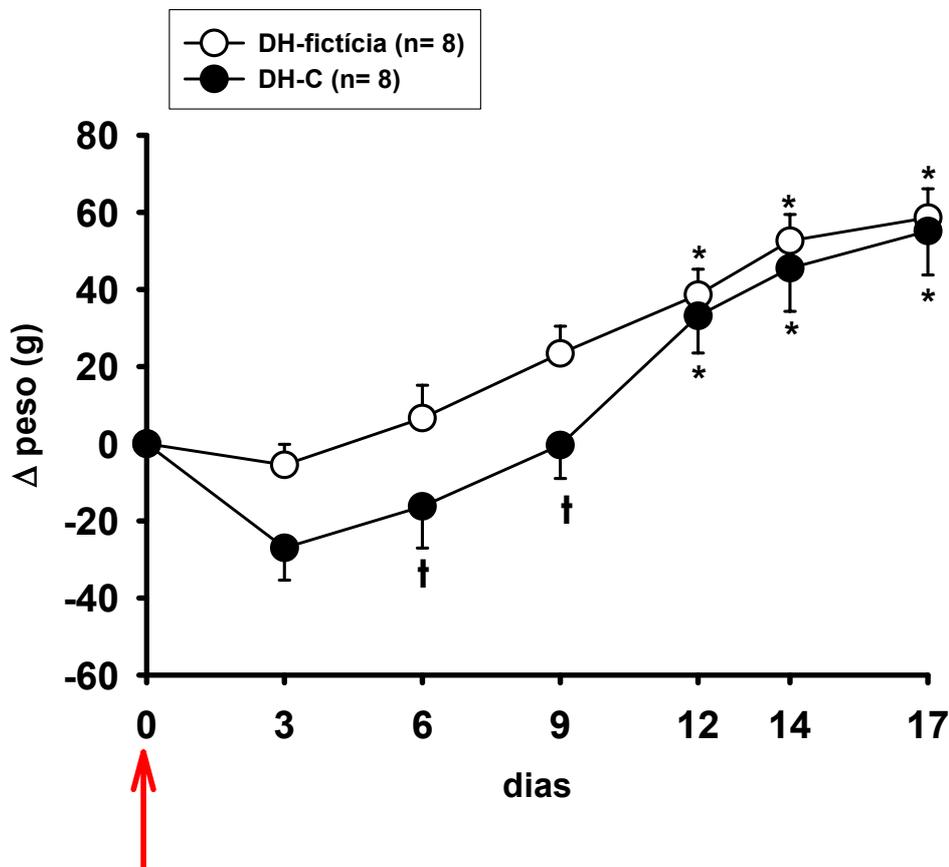
**FIGURA 24:** Variações na ingestão de alimento (g/24 h) nos ratos com DH-C e DH-Fictícia (crônica) submetidos à privação hídrica. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ).



**FIGURA 25:** Variações de excreção urinária de sódio ( $\mu\text{Eq}/24\text{ h}$ ) (A), excreção urinária de potássio ( $\mu\text{Eq}/24\text{ h}$ ) (B) e volume urinário ( $\text{mL}/24\text{ h}$ ) (C) em ratos com DH-C e DH-Fictícia (crônica) submetidos a 24 h de privação hídrica. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM. Entre parênteses está indicado o número de animais. \* diferente de DH-Fictícia (teste *t* de Student;  $p < 0,05$ ).

### 5.12-. Peso dos animais com DH-C crônica

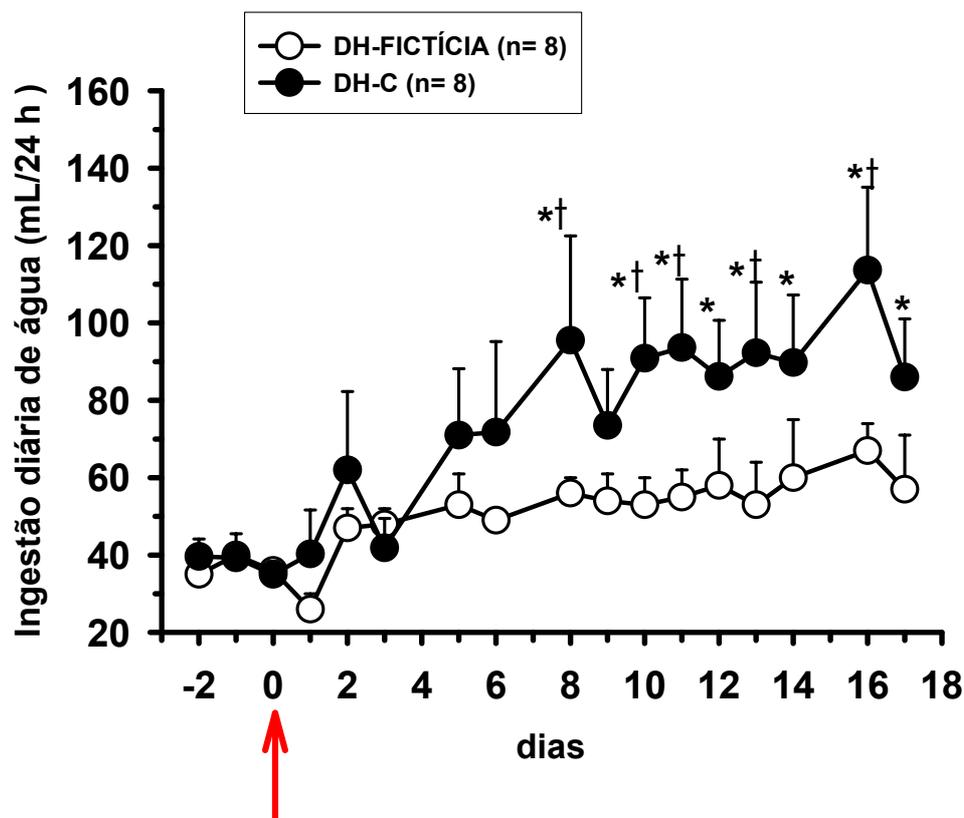
Os animais com DH-C tiveram uma perda de peso significativa entre o 6° e o 9° dia após a cirurgia, quando comparados a animais com DH-Fictícia [ $F(1,98) = 7,823$ ;  $p < 0,05$ ]. A partir do 12° dia pode-se observar que os animais com DH-C tiveram um ganho de peso semelhante aos ratos com DH-fictícia (figura 26).



**FIGURA 26:** Variação de peso corporal ( $\Delta$  peso) dos animais submetidos à DH-C ou a DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do dia 0; † diferente de DH-Fictícia; ( $p < 0,05$ ).

### 5.13. Ingestão diária de água nos animais com DH-C crônica

Observamos também neste grupo experimental que os animais com DH-C tiveram uma ingestão diária de água maior do que os animais DH-Fictícia. a partir do 8º dia [ $F(1,238) = 24,945; p < 0,05$ ], bem como maior do que o seu basal [ $F(16,238) = 3,582; p < 0,05$ ], (figura 27). No grupo DH-Fictícia não houve alteração na ingestão diária de água.



**FIGURA 27:** Ingestão diária de água nos animais submetidos à DH-C ou a DH-Fictícia crônica. A DH foi realizada no dia 0 (seta). \* diferente do basal (dia -2); † diferente de DH-Fictícia ( $p < 0,001$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a DH caudal ao PVH (DH-C), aguda e crônica, reduz significativamente a resposta pressora induzida pela ativação colinérgica e angiotensinérgica centrais, assim como pela ativação de osmo/sódio receptores centrais por meio de salina hipertônica administrada no VL de ratos. No grupo DH-Fictícia aguda, a injeção de carbacol e salina hipertônica promoveram bradicardia, que foi bloqueada nos ratos DH-C. ANG II injetada no VL de ratos DH-C ou DH-Fictícia aguda, não promoveu alterações significantes na FC. Cronicamente, não observamos qualquer alteração na FC de ratos DH-Fictícia ou DH-C. A PAM basal não foi diferente entre os animais DH-Fictícia ou DH-C, na fase aguda ou crônica. Já a FC basal, foi significativamente maior nos ratos com DH-C aguda comparada aos ratos com DH-Fictícia aguda. Na fase crônica da DH-C, os valores basais de FC foram equivalentes aos animais DH-Fictícia. A DH-C aguda ou crônica não altera o pico das respostas reflexas do baro e quimiorreflexo, mas nos ratos com DH-C crônica, houve uma redução da duração da resposta pressora do quimiorreflexo.

Os animais DH-C tiveram polidipsia após o 6º - 8º dia da DH que perdurou até o último dia analisado. O peso dos animais com DH-C foi significativamente menor do que o dos animais com DH-Fictícia nos primeiros 10 dias de DH. Após este período, o ganho de peso dos animais com DH-C foi equivalente ao dos ratos com DH-fictícia. Nos experimentos com privação hídrica, observamos que agudamente e cronicamente a excreção de potássio foi potencializada nos ratos com DH-C. Cronicamente, entretanto, a diurese dos ratos com DH-C submetidos à privação hídrica também foi significativamente maior. A excreção de sódio observada após a privação hídrica não foi diferente entre os grupos experimentais aguda ou cronicamente.

A análise histológica da nossa DH mostra que esta foi realizada na altura do núcleo dorsomedial do hipotálamo, estendendo-se lateralmente até o fornix, deixando intacta a maior parte do fascículo prosencefálico medial (FPM). No sentido dorsoventral, nossa DH, estendeu-se até a base do encéfalo.

Dados da literatura têm demonstrado que a circuitaria essencial para o controle reflexo da pressão arterial está situado no bulbo e envolve o núcleo do trato solitário, o núcleo ambíguo e o bulbo caudo e rostroventrolateral (LOEWY, 1993; CIRIELLO et al., 1994; COLOMBARI et al., 2001; MACHADO, 2001). Após a primeira sinapse no núcleo do trato solitário, as informações dos barorreceptores e quimiorreceptores podem alcançar as áreas bulbares que controlam as projeções

autônomicas para o sistema cardiovascular (LOEWY, 1993; CIRIELLO et al., 1994; COLOMBARI et al., 2001; MACHADO, 2001). Em adição, os sinais de barorreceptores e quimiorreceptores podem ascender ao hipotálamo, incluindo o PVH, após a primeira sinapse no núcleo do trato solitário (RICARDO & KOH, 1978; JOHNSON & LOEWY, 1990; KAWANO & MASUKO, 1996).

A participação do hipotálamo ou de feixes hipotalâmicos na modulação do barorreflexo tem sido demonstrada (PATEL & SCHIMD, 1988; MIFFLIN et al., 1988; MAKINO et al., 1990). Por exemplo, estudos de Makino et al. (1990), demonstraram que a DH, que secciona o FPM na altura do corpo mamilar, portanto uma DH mais posterior que a nossa, promove um aumento nas respostas bradicárdica e taquicárdica induzidas respectivamente, por aumentos e quedas da pressão arterial. Os dados obtidos por estes autores sugerem que fibras (ascendentes ou descendentes) que trafegam pelo FPM têm um papel inibitório sobre o barorreflexo. Por outro lado, os dados obtidos com o presente trabalho demonstram que a DH caudal ao PVH, mas em uma região anterior à desconexão realizada por Makino et al. (1990), não modificou o barorreflexo, tanto na fase aguda como na fase crônica da DH-C.

Estudos de Patel & Schmid (1988), que trabalharam diretamente com o PVH, observaram que a diminuição reflexa na atividade simpática lombar que ocorre por um aumento da pressão arterial é potencializada após a inativação do PVH com lidocaína (2%, 200 mL), no entanto a bradicardia reflexa não foi alterada nestes animais. Estes dados indicam que alterações na atividade nervosa simpática vascular e na FC em resposta a ativação dos barorreceptores podem ser moduladas diferencialmente pelo PVH. No presente trabalho o barorreflexo foi avaliado apenas pela resposta reflexa na FC, ou seja, o componente parassímptoexcitatório frente a alterações na PAM. Não sabemos, por exemplo, se nos nossos animais com DH-C a atividade simpática para os vasos estava alterada frente a alterações na PAM, ou seja, o componente simpatoinibitório. Sabemos que, à semelhança do trabalho de Patel & Schmid (1988), a bradicardia reflexa não foi alterada. Outro aspecto interessante em relação à participação de áreas prosencefálicas na regulação do barorreflexo é que a lesão eletrolítica da região AV3V, situada mais rostralmente em relação ao PVH, também não altera o barorreflexo (VIEIRA et al., 2004). Desta forma, é possível que as vias neurais que regulam as alterações reflexas na FC correm caudais ao PVH, talvez no nível do hipotálamo posterior e que correm por um caminho que dependa da porção mais posterior do FPM. Ademais, nossos ratos com DH-C não tiveram danificado o

FPM, isto também poderia explicar por que os nossos animais não têm alteração reflexa na FC frente às alterações de pressão arterial.

O PVH parece estar envolvido com a resposta pressora do quimiorreflexo, haja vista que a resposta pressora e a duração da resposta pressora induzida pela ativação do quimiorreflexo com KCN foram reduzidas em ratos com lesão eletrolítica bilateral ou inativação do PVH (OLIVAN et al., 2001; REDDY et al., 2005). Segundo Olivan et al. (2001), o mecanismo pelo qual a lesão do PVH reduz a resposta pressora do quimiorreflexo poderia ser devido a uma redução da atividade simpática e/ou uma redução da secreção de vasopressina. De fato, dados recentes de Reddy et al. (2005) demonstraram que o aumento da atividade simpática que ocorria em ratos anestesiados após a injeção de KCN foi significativamente reduzido em ratos com inativação do PVH por lidocaína ou muscimol. Em nossos animais com DH-C, ao contrário que esperávamos, não houve alteração no pico da resposta pressora, tanto na fase aguda como crônica. É possível que as vias neurais (aférentes e eferentes) que são importantes para o componente simpatoexcitatório do quimiorreflexo sejam poupadas pela DH-C realizada no presente trabalho.

Olivan et al. (2001), demonstraram que a duração da resposta pressora induzida pela ativação do quimiorreflexo também estava reduzida, sugerindo que um componente hormonal regulado pelo PVH, a vasopressina, também estivesse envolvido com esta resposta pressora. Nossos resultados demonstraram que pelo menos cronicamente a duração da resposta pressora do quimiorreflexo foi menor nos animais com DH-C quando comparado à DH-Fictícia. Isto pode nos sugerir a redução da duração da resposta pressora esteja associada a uma alteração na secreção de vasopressina, uma vez que tanto a lesão eletrolítica feita por Olivan et al. (2001), quanto o corte realizado na porção caudal ao PVH, pode desconectar vias descendentes do PVH à neurohipófise. Entretanto, mais recentemente, foi demonstrado que a resposta pressora do quimiorreflexo é inteiramente devido à ativação simpática, excluindo qualquer participação da vasopressina (FERNANDES et al., 2005). Portanto, a alteração que houve na duração da resposta pressora do quimiorreflexo nos nossos animais com DH-C, bem como nos ratos de Olivan et al (2001) com lesão do PVH não deve ser devido a uma redução da secreção de vasopressina. Não houve diferença na duração da resposta bradicárdica, induzida pelo KCN, nos ratos com DH-C aguda ou crônica. É possível que a ausência de qualquer alteração na FC induzida pela ativação do PVH seja por que a

bradicardia induzida pela estimulação do quimiorreflexo dependa apenas de áreas bulbares (MACHADO, 2001).

A resposta pressora induzida pela administração de ANG II, carbacol e salina hipertônica no VL de ratos é decorrente de aumento da atividade do sistema nervoso simpático e/ou secreção de vasopressina (HOFFMAN et al., 1977; HATZINIKOLAOU et al., 1981; MIYAJIMA & BUNAG, 1984). A injeção dessas substâncias no VL induz a expressão da proteína FOS (proteína marcadora de ativação neuronal) na lâmina terminal, no PVH e no núcleo supra-óptico (ROWLAND et al., 1994; XU et al., 2001; KATO et al., 2004). As áreas que compõe a lamina terminal (órgão subfornical, núcleo preóptico mediano, OVLT) se projetam ao PVH (JOHNSON & LOEWY, 1990). O PVH, contém neurônios secretores de vasopressina e neurônios que se projetam a áreas bulbares que regulam a atividade simpática, como o RVLM, ou a neurônios pré-ganglionares simpáticos da medula espinhal (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; LUITEN et al., 1985; RANSON et al., 1998). Um interessante estudo funcional, mostrando a importância do PVH na regulação da atividade simpática foi demonstrado por Stocker et al. (2004; 2005), onde esses autores observaram que em ratos submetidos à 48 h de privação hídrica (situação onde ocorre um aumento da osmolaridade plasmática e dos níveis plasmáticos de ANG II) a inativação com muscimol dos neurônios do PVH causava nestes animais uma maior queda da atividade simpática comparada a observada nos ratos normo-hidratados.

A DH utilizada no presente trabalho remove as projeções caudais ao PVH, que incluem a maior parte daquelas que se projetam às áreas bulbares e medula espinhal (possivelmente uma projeção do PVH que cursa dorso-lateralmente ao PVH é poupada, esquemas em (LUITEN et al., 1985; RANSON et al., 1998)). Portanto, é lícito supor que a redução da resposta pressora nos ratos DH-C frente à injeção central de ANG II, carbacol e salina hipertônica seja, em parte, devido a uma redução da atividade simpática. Reforçando a idéia de que eferentes do PVH são importantes para a ativação da atividade simpática, Colombari et al. (2002), demonstraram que uma DH caudal ao PVH promovia 30 min após a desconexão, uma queda acentuada da pressão arterial, com uma grande vasodilatação dos membros posteriores, possivelmente devido a uma retirada do tônus simpático. Também, como esta DH se estende ventralmente até a base do encéfalo, ocorre igualmente uma remoção das projeções do PVH à neurohipófise, o que poderia reduzir a secreção de vasopressina induzida pelas substâncias acima citadas

injetadas no VL, ou seja, a redução da resposta pressora induzida por essas substâncias também pode ter sido decorrente de uma redução da secreção de vasopressina.

Estudos anteriores demonstraram que em animais com DH rostral ao PVH (entre a região AV3V e o PVH) a resposta pressora induzida pela ANG II ou carbacol injetada no VL estava reduzida (BEALER, 1982; HARTLE & BRODY, 1982; KAWABE et al., 1995), entretanto, dependendo do tipo de corte da faca no encéfalo, horizontal ou transversal, a resposta pressora induzida pela salina hipertônica também injetada no VL de ratos foi respectivamente reduzida (HARTLE & BRODY, 1982) ou não foi alterada (BEALER, 1982). Como essas duas DH realizadas por Bealer (1982), e Hartle & Brody (1982), foram realizadas no mesmo nível antero-posterior, é possível que as vias neurais responsáveis pela resposta pressora da salina hipertônica ICV curse dorsal à DH realizada por Bealer et al (1982). Nossos resultados mostram que no nível mais caudal, ou seja, caudal ao PVH, a via neural ativada pela salina hipertônica que não foi desconectada nos estudos de Bealer (1982), mas foi por Hartle & Brody (1982), foi prejudicada pela presente desconexão, mostrando que as vias neurais ativadas pela salina hipertônica injetada ICV dependem da integridade da região desconectada no presente estudo.

É interessante notar que as respostas pressoras dessas substâncias injetadas centralmente não foram completamente bloqueadas, mas sim reduzidas. Isto pode nos sugerir que outras áreas que também são ativadas por essas substâncias quando injetadas no VL, não dependem das vias neurais interrompidas pela DH-C. Por exemplo, sabe-se que uma DH rostral ao PVH, que remova a maior parte do FPM, promove um bloqueio da resposta pressora induzida pela ANG II no VL, enquanto que uma DH rostral ao PVH, mas que poupe o FPM, promove uma redução (e não bloqueio) da resposta pressora à ANG II injetada no VL (BEALER, 1982; KAWABE et al., 1995). Além disso, A DH realizada por Kawabe et al (1995), também secciona o feixe do núcleo supra-óptico com a neurohipófise, promovendo um total bloqueio da secreção de vasopressina. Portanto, é possível que a DH realizada por Kawabe et al (1995), remova todas as eferências das regiões anteriores para a secreção de vasopressina bem como para a ativação do sistema nervoso simpático. Já a nossa DH, remove parte das vias neurais responsáveis pela secreção de vasopressina (o feixe do núcleo supra-óptico para a neurohipófise parece estar intacto), deixa o FPM intacto e ainda pode ser que uma das vias neurais eferentes, as que cursam dorso-lateralmente ao PVH, segundo

dados neuroanatômicos (LUITEN et al., 1985; RANSON et al., 1998), ainda estejam parcialmente intactas.

Enquanto que o efeito na PAM das substâncias injetadas centralmente foi muito consistente, na FC esses efeitos foram muito variáveis. No grupo agudo, por exemplo, observamos que o carbacol e a salina hipertônica promoveram bradicardia, provavelmente de origem reflexa. Isto porque na presença da DH-C, onde houve uma grande redução da resposta pressora, houve um bloqueio da resposta bradicárdica. Cronicamente nos animais em que foram injetados ANG II, carbacol e salina hipertônica não observamos alterações na FC nos ratos DH-Fictícia ou nos ratos DH-C. Não sabemos por que houve essa grande variabilidade na FC.

Os animais com DH-C não tiveram nenhuma alteração na PAM basal comparado a ratos com DH-Fictícia ao PVH, tanto na fase aguda como na fase crônica da DH. Com relação à FC basal, observamos que na fase aguda da DH-C (1 dia) houve uma taquicardia, ou seja a FC basal estava significativamente maior do que a do grupo DH-Fictícia. Um aumento da FC basal após a uma DH rostral ou caudal ao PVH já foi anteriormente verificada (BEALER, 1986; COLOMBARI et al., 2002). Uma vez que independente da DH ser rostral ou caudal ao PVH, haja o aparecimento de taquicardia, nos sugere que as vias neurais responsáveis pelo controle tônico inibitório da FC estão situadas rostralmente ao PVH. Provavelmente, estas projeções são oriundas da região AV3V, que uma vez lesada promove taquicardia nos animais (MENANI et al., 1988; COLOMBARI & CRAVO, 1999). Na fase crônica da DH-C, contudo, a FC basal não foi diferente do grupo com DH-Fictícia, sugerindo que houve plasticidade neural, ou seja, outras áreas do sistema nervoso central compensaram de alguma maneira este aumento de FC, aumentando o tônus inibitório sobre a FC.

Sabendo-se que a DH-C poderia estar comprometendo a secreção de vasopressina induzida por ANG II, carbacol e salina hipertônica, realizamos experimentos de excreção renal em ratos com DH-C submetidos à privação hídrica, onde indiretamente avaliamos a capacidade dos ratos com DH-C em secretar este hormônio. Segundo nossa hipótese, se os animais com DH-C tivessem a secreção de vasopressina normal, o volume urinário excretado destes animais frente à privação hídrica teria que ser equivalente ao grupo DH-Fictícia. Nossos resultados mostram que animais com DH-C crônica submetidos à privação hídrica de 24 h, excreta um volume de urina maior do que os ratos com DH-Fictícia, o que é sugestivo de que nesta fase da DH os animais não estejam secretando vasopressina adequadamente, por isso é que tem

um maior volume urinário frente à privação hídrica. Interessante, que embora em ratos com DH-C aguda submetidos à privação hídrica, haja uma tendência do volume urinário ser maior, não há diferença estatística, o que nos leva a sugerir que fase aguda da DH-C não existe uma grande alteração da secreção de vasopressina frente à privação hídrica. Outra possibilidade é de que os ratos com DH-C na fase aguda tenham níveis basais aumentados de vasopressina. Foi observado por Bealer et al (1983), que ratos com DH aguda (2 dias), realizada entre a região AV3V e o PVH os níveis plasmáticos basais de vasopressina eram maiores do que os ratos com DH-Fictícia. Em um estudo posterior, Carithers & Bealer (1985), verificaram que este tipo de DH, promovia uma maior liberação de vasopressina da neurohipófise, talvez por essa DH ter desconectado também fibras eferentes inibitórias da região do OVLT para a neurohipófise, conforme descritos em outros estudos (JOHNSON et al., 1978). Pode ser que os nossos animais com DH-C aguda, estejam com níveis basais de vasopressina ligeiramente aumentados por essa via inibitória do OVLT para a neurohipófise ter sido desconectada. Uma outra possibilidade é de que vias ascendentes catecolaminérgicas oriundas da região A1 (bulbo caudo ventrolateral) e da região A2 (núcleo do trato solitário) que se projetam para o PVH (BLESSING et al., 1982B; TUCKER et al., 1987; WOULFE et al., 1988) e são inibitórias para a secreção de vasopressina (BLESSING et al., 1982A; SVED et al., 1985; SMITH et al., 1995) também tenham sido desconectadas pela nossa DH-C. Seguindo esta hipótese, os ratos com DH-C aguda por terem níveis já mais altos de vasopressina, não tiveram um maior aumento no seu volume urinário comparado aos ratos com DH-fictícia. Entretanto, após 7 dias, os estoques de vasopressina na neurohipófise oriundos do PVH podem ter se esgotado, como demonstrado por outros estudos (CARITHERS & BEALER, 1985), e por isso, os animais apresentem cronicamente um déficit de secreção de vasopressina e conseqüentemente um maior volume urinário frente à privação hídrica.

Considerando que os dados de excreção renal são sugestivos de que os ratos com DH-C crônica têm uma menor secreção de vasopressina, então de fato essa menor secreção de vasopressina pode ser um dos mecanismos responsáveis pela menor resposta pressora induzida pela injeção ICV de ANG II, carbacol e salinha hipertônica. Entretanto, nossos dados de excreção renal sugerem que nos ratos com DH-C aguda os níveis basais de vasopressina estejam próximos aos normais. Porém, mesmo que durante a DH-C aguda os níveis basais de vasopressina estejam normais, é possível que a secreção de vasopressina induzida pela injeção ICV de ANG II, carbacol e salina

hipertônica esteja comprometida, pois a via neural para a secreção de vasopressina do PVH à neurohipófise foi desconectada. O comprometimento desta via neural faria com que não houvesse a secreção de vasopressina induzida por essas substâncias, com isso a resposta pressora destas substâncias nos ratos com DH-C aguda seria menor do que a do grupo DH-Fictícia. Além disso, como a secreção de vasopressina parece estar mais comprometida cronicamente, isto também poderia explicar porque apenas ratos com DH-C crônica têm uma redução da duração da resposta pressora do quimiorreflexo que parece ser dependente da secreção de vasopressina (OLIVAN et al., 2001).

Dados recentes demonstraram que a privação hídrica de 48 h em ratos acordados não promovia alterações significantes da atividade simpática renal basal, enquanto que a atividade simpática lombar basal estava significativamente elevada (SCROGIN et al., 1999; SCROGIN et al., 2002), sugerindo que, mesmo que a atividade simpática renal não estivesse diminuída (como era de se esperar), pelo fato dela não estar aumentada, isto seria um fator essencial para que continuasse a ocorrer natriurese durante a privação hídrica, em adição a um aumento de níveis plasmáticos de fatores natriuréticos, como a ocitocina, nesta situação (HUANG et al., 1996). Posteriormente, foi observado que em ratos submetidos à privação hídrica de 48 h, mas não a de 24 h, a injeção de muscimol no PVH de ratos anestesiados promoveu uma maior queda da atividade simpática renal e lombar comparada à observada nos ratos normo-hidratados. (STOCKER et al., 2004; STOCKER et al., 2005). Estes dados sugerem que 48 h, mas não 24 h, após a privação hídrica em ratos anestesiados, o aumento da osmolaridade plasmática e/ou dos níveis plasmáticos de ANG II promovia um aumento da atividade simpática renal por ativar os neurônios do PVH (STOCKER et al., 2004; STOCKER et al., 2005). Coletivamente estes estudos sugerem que 24 h após a privação hídrica não há alteração na atividade simpática renal e na atividade dos neurônios do PVH (SCROGIN et al., 1999; SCROGIN et al., 2002; STOCKER et al., 2004; STOCKER et al., 2005). Portanto, não é surpreendente que os nossos ratos com uma desconexão caudal ao PVH submetidos à privação hídrica de 24 h não tiveram uma excreção de sódio diferente dos ratos com DH-Fictícia tanto na fase aguda como crônica da DH-C, sugerindo que pelo menos em 24 h de privação hídrica a retirada de eferentes do PVH não esteja interferindo com a excreção urinária de sódio.

Com relação ao potássio, aguda e cronicamente os animais com DH-C tiveram uma maior excreção de potássio durante a privação hídrica. Pelo menos cronicamente, onde há uma maior excreção de volume urinário, este maior volume

poderia promover um aumento na excreção de potássio como demonstrado por alguns estudos (KHURI et al., 1975). Agudamente, se de fato os animais neste momento ainda tiverem níveis basais mais altos de vasopressina, este hormônio por sua vez promove um aumento da excreção de potássio (FIELD et al., 1984).

Os ratos com DH-C crônica tiveram um aumento na ingestão diária de água, ou seja, polidipsia a partir do 6º - 8º dia após a DH-C. Esta polidipsia pode ser devido a uma deficiência dos ratos com DH-C em secretar vasopressina, conseqüentemente, ocorre uma grande diurese, e a polidipsia seria secundária a este aumento de volume urinário. Agudamente, talvez pelo fato dos níveis basais de vasopressina ainda não estarem baixos, os animais não têm poliúria e conseqüentemente, não tem polidipsia. Porém, outros mecanismos também podem ser responsáveis pelo aumento na ingestão diária de água, como por exemplo, um aumento da osmolaridade plasmática. Dados da literatura demonstraram que a DH rostral ao PVH (e caudal à região AV3V), promove uma polidipsia já no 2º dia após esta DH, que provavelmente ocorreu devido a uma maior osmolaridade plasmática nestes animais (BEALER et al., 1983; BEALER et al., 1984), uma vez que nesses animais os níveis plasmáticos de vasopressina estavam na verdade elevados. Kawabe et al (1993), também realizando uma DH entre a região AV3V e o PVH, mas utilizando uma faca com um maior raio, também relataram polidipsia, mas como os animais não foram capazes de secretar vasopressina frente a uma privação hídrica, devido a desconexão da região AV3V com o núcleo supra-óptico e com o PVH, é possível que nestes animais a polidipsia tenha sido também conseqüência de uma poliúria. Como não medimos a osmolaridade plasmática, não podemos afirmar se os nossos animais têm uma polidipsia devido a um aumento da osmolaridade plasmática. Por outro lado, como eles são capazes de excretar quantidades equivalentes de sódio frente à privação hídrica, é possível que o mecanismo de excreção de sódio desses animais esteja funcionando corretamente e, portanto, seus níveis osmolares estejam iguais aos dos ratos com DH-fictícia.

Cronicamente, os ratos com DH-C ingeriram menos alimentos do que os ratos com DH-Fictícia. Dados semelhantes aos nossos foram observados por outros estudos Kawabe et al. (1993). Esses autores ainda mediram a ingestão diária de alimento e viram que eram igual ao dos animais controles, ou seja, apenas durante a privação hídrica é que os ratos ingeriam menos alimentos (KAWABE et al., 1993). Durante uma situação de privação hídrica, mas com livre acesso aos alimentos, a

osmolaridade plasmática sobe muito mais do que se não houver alimento (BEALER et al., 1983). Portanto, poderíamos supor que o animal com DH estaria ingerindo menos alimento para não sofrer um processo maior de desidratação celular.

Portanto, em conjunto, nossos resultados demonstram que as respostas pressoras induzidas pelas injeções centrais de ANG II, carbacol e salina hipertônica, mas não o baro e quimiorreflexo, dependem de vias neurais interrompidas pela DH-C. Possivelmente a menor resposta pressora às injeções centrais dessas substâncias em ratos DH-C seja decorrente de uma menor ativação do sistema nervoso simpático e/ou secreção de vasopressina. É possível também que a menor secreção de vasopressina nos ratos DH-C seja responsável pela polidipsia observada nestes animais.

**BIBLIOGRAFIA**

ALLEN, A.M. Inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus in spontaneously hypertensive rats dramatically reduces sympathetic vasomotor tone. **Hypertension**, 39, p. 275-280, 2002.

BADOER, E. Cardiovascular role of paraventricular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **News Physiol.Sci.**, 11, p. 43-47, 1996.

BEALER, S.L. Hypothalamic knife cuts alter vasopressin induced recovery of blood pressure following hemorrhage. **Exp.Brain Res.**, 63, p. 76-80, 1986.

BEALER, S.L. Hypothalamic knife cuts attenuate the pressor responses to angiotensin II. **Neuroendocrinology**, 35, [1]: p. 1-7, 1982.

BEALER, S.L.; CARITHERS, J.; JOHNSON, A. K. Fluid regulation, body weight and drinking responses following hypothalamic knife cuts. **Brain Res.**, 305, [2]: p. 239-245, 1984.

BEALER, S.L.; CROFTON, J. T.; SHARE, L. Hypothalamic knife cuts alter fluid regulation, vasopressin secretion, and natriuresis during water deprivation. **Neuroendocrinology**, 36, [5]: p. 364-370, 1983.

BLESSING, W.W.; SVED, A. F.; REIS, D. J. Destruction of noradrenergic neurons in rabbit brainstem elevates plasma vasopressin, causing hypertension. **Science**, 217, p. 661-663, 1982a.

BLESSING, W.W., SVED, A. F.; REIS, D. J. Hypothalamic projections of medullary catecholamine neurons in the rabbit: a combined catecholamine fluorescence and HRP transport study. **Brain Res.Bull.**, 9, p. 279-286, 1982b.

BLESSING, W.W.; WILLOUGHBY, J. O. Depressor neurons in rabbit caudal medulla do not transmit the baroreceptor-vasomotor reflex. **Am.J.Physiol.**, 253, p. H777-H786, 1987.

BRODY, M.J.; FINK, G. D.; BUGGY, J.; HAYWOOD, J. R.; GORDON, F. J.; JOHNSON, A. K. The role of the anteroventral third ventricle (AV3V) region in experimental hypertension. **Circ.Res.**, 43 (Suppl I), [1]: p. 2-13, 1978.

BUGGY, J.; JOHNSON, A. K. Preoptic-hypothalamic periventricular lesions: thirst deficits and hypernatremia. **Am.J.Physiol.**, 233, p. R44-R52, 1977.

CAMPOS JR., R.R.; BERGAMASCHI, C. T.; LOPES, O. U. Paraventricular nucleus and rostral ventrolateral medulla interactions in blood pressure control. **Physiologist** 41[5], 381. 1998.

Ref Type: Abstract

CARITHERS, J.; BEALER, S. L. The effects of transverse cuts caudal to the preoptic recess on the fine structure of paraventricular nuclei in rats. **Brain Res.**, 327, p. 15-28, 1985.

CARITHERS, J.; BEALER, S. L.; BRODY, M. J. Fine structural evidence of degeneration in supraoptic nucleus and subfornical organ of rats with lesions in the anteroventral third ventricle. **Brain Res.**, 201, p. 1-12, 1980.

CHENG-DEAN, S.; CHAN, S. H. H.; CHAN, J. Y. H. Participation of hypothalamic paraventricular nucleus in locus ceruleus-induced baroreflex suppression in rats. **Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.**, 269, p. H46-H52, 1995.

CIRIELLO, J., HOCHSTENBACH, S. L., RODER, S. **Central projections of baroreceptor and chemoreceptor afferents fibers in the rat.** In: Nucleus of the Solitary Tract, I Robin and A Barraco eds., Boca Raton, CRC Press, p. 35-50, 1994.

COLOMBARI, D. S. A; CRAVO, S. L. Effects of acute AV3V lesions on renal and hindlimb vasodilation induced by volume expansion. **Hypertension**, 34, [part 2]: p. 762-767, 1999.

COLOMBARI, D. S. A, PORTELINHA, L. S.; CAMPOS,R. R.; LOPES, O. U. Haemodynamic effects of hypothalamic disconnection in anaesthetized rats. **Auton.Neurosc.**, 98, p. 51-54, 2002.

COLOMBARI, D. S. A; SAAD, W. A., CAMARGO, L. A. A.; RENZI, A., DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, E.; MENANI, J. V. AV3V lesion impair responses induced by cholinergic activation of SFO in rats. **Am.J.Physiol.**, 263, p. R1277-R1283, 1992a.

COLOMBARI, E.; SAAD, W. A., CAMARGO, L. A. A.; RENZI, A.; DE LUCA JR, L. A.; MENANI, J. V. AV3V lesion supresses the pressor, dipsogenic and natriuretic responses to cholinergic activation of the septal area in rats. **Brain Res.**, 572, p. 172-175, 1992b.

COLOMBARI, E., SATO, M. A.; CRAVO, S. L., BERGAMASCHI, C. T., CAMPOS JR, R. R.; LOPES, O. U. Role of medulla oblongata in hypertension. **Hypertension**, 38, [3 part 2]: p. 549-554, 2001.

COOTE, J.H.; YANG, Z.; PYNER, S.; DEERING, J. Control of sympathetic outflows by the hypothalamic paraventricular nucleus. **Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.**, 25, p. 461-463, 1998.

COTTLE, M. A. Degeneration studies of the primary afferents of IXth and Xth cranial nerves in the cat. **J.Comp.Neurol.**, 122, p. 329-345, 1964.

CRAVO, S. L.; MORRISON, S. F.; REIS, D. J. Differentiation of two cardiovascular regions within caudal ventrolateral medull.**Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.**, 261, p. R985-R994, 1991.

FERNANDES, L. G.; ANTUNES, V. R.; BONAGAMBA, L. G. H.; MACHADO, B. H. Pressor response to chemoreflex activation in awake rats: role of vasopressin and adrenal medulla. **Physiol.Behav.**, 84, [1], p. 39-44, 2005.

FIELD, M.J., STANTON, B. A.; GIEBISCH, G. H. Influence of ADH on renal potassium handling: a micropuncture and microperfusion study. **Kidney Int.** 25, 502-511.1984.

Ref Type: Journal (Full)

GARDINER, S.M.; BENNET, T. Interactions between neural mechanisms, the renin-angiotensin system and vasopressin in the maintenance of blood pressure during water deprivation: studies in Long-Evans and Brattleboro rats. **Clin.Sci.**, 68, p. 647-657, 1985.

HARTLE, D.K.; BRODY, M. J. Hypothalamic vasomotor pathways mediating the development of hypertension in the rat. **Hypertension**, 4, [supp III]: p. III-68-III-71, 1982.

HARTLE, D.K., BRODY, M. J. The angiotensin II pressor system of the rat forebrain. **Circ.Res.**, 54, [4]: p. 355-366, 1984.

HATZINIKOLAOU, P., GAVRAS, H., BRUNNER, H. R.; GAVRAS, I. Role of vasopressin, catecholamines and plasma volume in hypertonic saline-induced hypertension. **Am.J.Physiol.Heart Circ.Physiol.**, 240, p. H827-H831, 1981.

HOFFMAN, W. E.; PHILLIPS, M. I.; SCHMID, P. G., FALCON, J., WEET, J. F. Antidiuretic hormone release and the pressor response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology**, 16, p. 463-472, 1977.

HUANG, W., LEE, S-L., ARNASON, S. S., SJÖQUIST, M. Dehydration natriuresis in male rats is mediated by oxytocin. **Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.**, 270, p. R427-R433, 1996.

JOHNSON, A.K., EDWARDS, G. L. Neuroendocrinology of thirst: afferent signalling and mechanisms of central integration. In: **Current topics in Neuroendocrinology**, D Ganten and D Pfaff eds., Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, p. 149-190, 1990.

JOHNSON, A.K.; HOFFMAN, W. E., BUGGY, J. Attenuated pressor responses to intracranially injected stimuli and altered antidiuretic activity following preoptic hypothalamic periventricular ablations. **Brain Res.**, 157, p. 161-166, 1978.

JOHNSON, A.K.; LOEWY, A. D. Circumventricular organs and their role in visceral functions. In: **Central regulation of autonomic functions**, AD Loewy and KM Spyer eds., New York, Oxford University Press, p. 247-267, 1990.

KANNAN, H.; HAYASHIDA, Y.; YAMASHITA, H. Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. **Am.J.Physiol.**, 256, p. R1325-R1330, 1989.

KATO, K.; CHU, C. P.; KANNAN, H.; ISHIDA, Y.; NISHIMORI, T.; NOSE, H. Regional differences in the expression of Fos-like immunoreactivity after central salt loading in conscious rats: modulation by endogenous vasopressin and role of the area postrema. **Brain Research**, 1022, [1-2]: p. 182-194, 2004.

KAWABE, H., LOPES, O. U.; BROSNIHAM, K. B.; SARUTA, T.; FERRARI, A. C. Angiotensin II pressor activity depends on medial and lateral anterior hypothalamic pathways. **Angiology**, 46, [8]: p. 641-648, 1995.

KAWABE, H.; LOPES, O. U.; CHERNICKY, C. L.; BROSNIHAM, K. B.; SARUTA, T.; FERRARIO, C. M. Effects of large and small transection of the preoptic-hypothalamic region on hydromineral regulation in rats. **Endocrine J.**, 40, [2]: p. 249-256, 1993.

KAWANO, H.; MASUKO, S. Neurons in the caudal ventrolateral medulla projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus receive synaptic inputs from the nucleus of the solitary tract: a light and electron microscopic double-labeling study in the rat. **Neurosci.Lett.**, 218, p. 33-36, 1996.

KHURI, R.N.; WIEDERHOLT, M.; STRIEDER, N.; GIEBISCH, G. Effects of flow rate and potassium intake on distal tubular potassium transfer. **AJP - Legacy** 228, 1249-1261.1975.

Ref Type: Abstract

LOEWY, A.D. **Central autonomic pathways.** In: Central regulation of autonomic functions, AD Loewy and KM Spyer eds., New York, Oxford University Press, p. 88-103, 1993.

LOPES, O.U.; CIPOLA-NETO, J.; ROCHA E SILVA JR, M. Hypothalamic component in pressor response to carotid occlusion in the rat. **Am.J.Physiol.**, 233, [2]: p. H240-H247, 1977.

LUITEN, P.G.M.; TER HORST, G. J.; KARST, H.; STEFFENS, A. B. The course of paraventricular hypothalamic efferents to autonomic structures in medulla and spinal cord. **Brain Res.**, 329, p. 374-378, 1985.

MACHADO, B. H. Neurotransmission of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii of awake rats. **Ann.N.Y.Acad.Sci.**, 940, p. 179-196, 2001.

MAKINO, S.; HASHIMOTO, K.; OTA, Z. Effect of posterior hypothalamic knife cuts on the baroreflex and hemorrhage-induced hormonal responses. **Acta Med.Okayama**, 44, [2]: p. 93-102, 1990.

MALPAS, S., COOTE, J. H. Role of vasopressin in sympathetic response to paraventricular nucleus stimulation in anesthetized rats. **Am.J.Physiol.**, 266, p. R228-R236, 1994.

MENANI, J.V.; MACHADO, B. H.; KRIEGER, E. M.; SALGADO, H. C. Tachycardia during the onset of one-kidney, one-clip renal hypertension: role of the renin-angiotensin system and AV3V tissue. **Brain Res.**, 446, p. 295-302, 1988.

MENANI, J.V.; SAAD, W. A.; CAMARGO, L. A. A.; RENZI, A.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, E. The anteroventral third ventricle (AV3V) region is essential for pressor, dipsogenic and natriuretic responses to central carbachol. **Neurosci.Lett.**, 113, p. 339-344, 1990.

MIFFLIN, S.W.; SPYER, K. M.; WITHINGTON -WRAY, D. J. Baroreceptor inputs to the nucleus tractus solitarius in the cat: modulation by the hypothalamus. **J.Physiol.**, 399, p. 369-387, 1988.

MISELIS, R. R. The efferent projections of the subformical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. **Brain Res.**, 230, [1]: p. 23, 1981.

MIYAJIMA, E.; BUNAG, R. D. Sympathetic hyperactivity elevates blood pressure during acute cerebroventricular infusions of hypertonic salt in rats. **J.Cardiovasc.Pharmacol.**, 6, p. 844-851, 1984.

OLIVAN, M.V.; BONAGAMBA, L. G. H.; MACHADO, B. H. Involvement of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the pressor response to chemoreflex activation in awake rats. **Brain Res.**, 895, p. 167-172, 2001.

PALKOVITS, M.; ZABORSKY, L. Neuroanatomy of central cardiovascular control. Nucleus tractus solitarius: afferent and efferent neuronal connections in relation to baroreceptor reflex arc. In: **Hypertension and Brain Mechanisms**, W De Jong, AP Provoost, and AP Shapiro eds., Amsterdam, Elsevier, p. 9-34, 1977.

PATEL, K.P.; SCHMID, P. G. Role of paraventricular nucleus (PVH) in baroreflex-mediated changes in lumbar sympathetic nerve activity and heart rate. **J.Auton.Nerv.Syst.**, 22, p. 211-219, 1988.

POULAIN, D.A.; WAKERLEY, J.B. Electrophysiology of hypothalamic magnocellular neurons secreting oxytocin and vasopressin. **Neuroscience** 7 (4) p: 773-808, 1982.

RANSON, R.N.; MOTAWEL, K.; PYNER, S.; COOTE, J. H. The paraventricular nucleus of the hypothalamus sends efferents to the spinal cord of the rat that closely appose sympathetic preganglionic neurones projecting to the stellate ganglion. **Experimental Brain Research**, 120, [2]: p. 164-172, 1998.

REDDY, M.K.; PATEL, K. P.; SCHULTZ, H. D. Differential role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in modulating the sympathoexcitatory component of peripheral and central chemoreflexes. **AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 289, [3]: p. R789-R797, 2005.

REIS, L.C.; COLOMBARI, E.; CANTERAS, N. S.; CRAVO, S. L. Projections from nucleus solitarius (NTS) and ventrolateral medulla (VLM) to paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) and median preoptic nucleus (MnPO). **Faseb J.** 14[4], A66. 2000.

Ref Type: Abstract

RICARDO, J.A.; KOH, E. T. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amigdala, and other forebrain structures in the rat. **Brain Res.**, 153, p. 1-26, 1978.

ROWLAND, N.; LI, B.H.; ROZELLE, A. K.; SMITH, G. C. Comparison of Fos-like immunoreactivity induced in rat brain by central injection of angiotensin II and carbachol. **Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.**, 267, p. R792-R798, 1994.

SAPER, C.B.; LOEWY, A. D.; SWANSON, L. W.; COWAN, W. M. Direct hypothalamo-autonomic connections. **Brain Res.**, 117, p. 305-312, 1976.

SCROGIN, K.E.; GRYGIELKO, E. T.; BROOKS, V. L. Osmolality: a physiological long-term regulator of lumbar sympathetic nerve activity and arterial pressure. **AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 276, p. R1579-R1586, 1999.

SCROGIN, K.E.; MCKEOGH, D. F.; BROOKS, V. L. Is osmolality a long-term regulator of renal sympathetic nerve activity in conscious water-deprived rats? **AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 282, p. R560-R568, 2002.

SMITH, D.W.; SIBBALD, J. R.; KHANNA, S.; DAY, T. A. Rat vasopressin cell response to simulated hemorrhage: stimulus-dependent role for A1 noradrenergic neurons. **Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.**, 268, p. R1336-R1342, 1995.

STOCKER, S.D.; HUNWICK, K. J.; TONEY, G. M. Hypothalamic paraventricular nucleus differentially supports lumbar and renal sympathetic outflow in water-deprived rats. **J.Physiol.**, 563, [1]: p. 249-263, 2005.

STOCKER, S.D.; KEITH, K. J.; TONEY, G. M. Acute inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus decreases renal sympathetic nerve activity and arterial blood pressure in water-deprived rats. **AJP - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 286, [4]: p. R719-R725, 2004.

SVED, A.F.; BLESSING, W. W.; REIS, D. J. Caudal ventrolateral medulla can alter vasopressin and arterial pressure. **Brain Res. Bull.**, 14, [3]: p. 227-232, 1985.

SWANSON, L.W.; KUYPERS, H. G. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. **J.Comp.Neurol.**, 194, [3]: p. 555-570, 1980.

SWANSON, L.W.; SAWCHENKO, P. E. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. **Neuroendocrinology**, 31, p. 410-417, 1980.

SWANSON, L.W.; SAWCHENKO, P. E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. **Ann.Rev.Neurosci.**, 6, p. 269-324, 1983.

TONEY, G.M.; CHEN, Q. H.; CATO, M. J.; STOCKER, S. D. Central osmotic regulation of sympathetic nerve activity. **Acta Physiol.Scand.**, 177, p. 43-55, 2003.

TORVIK, A. Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei: the nucleus of the solitary tracts and adjacent structures. **J.Comp.Neurol.**, 106, p. 51-139, 1956.

TUCKER, D.C.; SAPER, C. B.; RUGGIERO, D. A.; REIS, D. J. Organization of central adrenergic pathways: I. relationships of ventrolateral medullary projections to the hypothalamus and spinal cord. **J.Comp.Neurol.**, 259, p. 591-603, 1987.

VIEIRA, A.A.; COLOMBARI, E.; DE LUCA JR, L. A.; COLOMBARI, D. S. A.; MENANI, J. V. Cardiovascular responses to microinjection of L-glutamate into the NTS in AV3V-lesioned rats. **Brain Res.**, 1025, p. 106-112, 2004.

WESTERHAUS, M.J.; LOEWY, A. D. Sympathetic-related neurons in the preoptic region of the rat identified by viral transneuronal labeling. **J.Comp.Neurol.**, 414, p. 361-378, 1999.

WOULFE, J.M.; HRYCYSHYN, A. W.; FLUMERFEL, T. B. A. Collateral axonal projections from the A1 noradrenergic cell group to the paraventricular nucleus and bed nucleus of the stria terminalis in the rat. *Exp.Neurol.*, 102, p. 121-124, 1988.

XU, Z.; ROSS, M. G.; JOHNSON, A. K. Intracerebroventricular carbachol induces fos immunoreactivity in lamina terminalis neurons projecting to the supraoptic nucleus. *brain research*, 895, [1-2]: P. 104-110, 2001.

ZHANG, K.; PATEL, K. P. Effect Of Nitric Oxide Within In The Paraventricular Nucleus On Renal Sympathetic Nerve Discharge: Role Of Gaba. *Am.J.Physiol.*, 275, [3]: P. R728-R734, 1998.

ZHENG, J.Q.; SEKI, M.; HAYAKAWA, T.; ITO, H.; ZIO, K. Descending Projections From The Paraventricular Hypothalamic Nucleus To The Spinal Cord: Anterograde Tracind Study In The Rat. *Okajimas Folia Anat.Jpn.*, 72, [2-3]: P. 119-136, 1995.

---

Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Débora Simões de Almeida Colombari

*“São fúteis e cheias de erros as ciências que não nasceram  
da experimentação, mãe de todo o conhecimento.”*

*(Leonardo da Vinci)*

## ***AGRADECIMENTOS***

- A Prof<sup>a</sup> Dra. Débora Simões de Almeida Colombari, pela oportunidade de estar ingressando a uma pós-graduação e pela sua orientação.
- Ao Prof. José Vanderlei Menani, pela paciência, carinho e confiança depositado em mim. Pelas suas valiosíssimas sugestões no decorrer do trabalho. E por minha eterna admiração pelo seu sábio conhecimento científico.
- Ao Prof. Laurival Antonio De Luca Júnior, que me acolheu a esta instituição séria e eficaz.
- Aos amigos do Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara pela amizade e por todo o conhecimento adquirido com cada um em especial.
- Aos amigos do Laboratório de Fármaco da Faculdade de Farmácia de Araraquara pelo consolo, amizade e a uma grande virtude que é o ouvir.
- Aos demais docentes do programa de Pós-Graduação em ciências Fisiológicas pela minha formação científica, em especial aos docentes do departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara.
- A todos os funcionários do laboratório de fisiologia, Ana Victor, Silas P. Barbosa, Reginaldo C. Queiroz, Sílvia Fóglia e Silvana A. D. por terem me auxiliado na realização dessa tese.
- A todos que contribuíram meus sinceros agradecimentos.

## ***AGRADECIMENTOS ESPECIAIS***

- Agradeço a Deus por mais uma conquista em minha vida.
  
- A meus pais, principalmente a minha querida mãezinha, que sempre me ensinaram a batalhar por um futuro melhor e próspero. Pelos conselhos e apoio nos momentos em que mais precisei deles. Muito obrigada por vocês sempre estarem partilhando de minhas conquistas e alegrias.
  
- A minha querida e única irmã que sempre esteve ao meu lado e me apoiou. Obrigada pela nossa amizade.
  
- Ao meu querido e amável esposo, pelo companheirismo, paciência e por estar sempre presente nos momentos em que mais precisei. Obrigada pelo seu amor incondicional que nos une e fortalece o meu viver.

## ABREVIATURAS

ANG II = angiotensina II

AV3V = região anteroventral do terceiro ventrículo

DH = desconexão hipotalâmica

DH-C = desconexão hipotalâmica caudal ao núcleo paraventricular do hipotálamo

DH-Fictícia = desconexão hipotalâmica fictícia

FC = frequência cardíaca

KCN = cianeto de potássio

PAM = pressão arterial média

PAP = pressão arterial pulsátil

PVH = núcleo paraventricular do hipotálamo

FPM = feixe prosencefálico medial

OVLT = órgão vasculoso da lâmina terminal

RVLM = região rostroventrolateral do bulbo

SNC = sistema nervoso central

VL = ventrículo lateral

## **RESUMO**

Diversos estudos anatômicos e funcionais têm demonstrado que o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVH) constitui um centro de integração neuroendócrina. O PVH está intimamente relacionado com a regulação da atividade simpática e com a secreção de vasopressina. A injeção intracerebroventricular de angiotensina II, carbacol e salina hipertônica promovem um aumento da pressão arterial devido a ativação do simpático e/ou secreção de vasopressina. Ademais, foi demonstrado que a desconexão hipotalâmica (DH) caudal ao PVH, realizada por meio de um corte no encéfalo na região do hipotálamo com uma microfacas em forma de baioneta, promoveu uma redução da pressão arterial basal sugerindo que as fibras interrompidas por esta DH, provavelmente oriundas do PVH, fariam parte da circuitaria neural responsável pela manutenção tônica da pressão arterial. Portanto, os objetivos do nosso trabalho foram determinar em ratos não anestesiados os efeitos da DH caudal ao PVH (DH-C) sobre: a) a resposta pressora induzida pela injeção intracerebroventricular de angiotensina II (ANG II), carbacol e salina hipertônica (NaCl 2 M), b) o barorreflexo e quimiorreflexo; c) a excreção urinária após 24 h de privação hídrica.

Ratos Holtzman (280-320 g) foram submetidos à DH-fictícia ou a DH-C aguda (1 dia) ou crônica (15 dias) que foram realizadas utilizando uma microfacas em forma de baioneta. A microfacas (raio = 2mm, altura = 3mm), adaptada no estereotáxico, foi posicionada 1,5 mm caudal ao bregma que foi introduzida no cérebro até a superfície interna do esfenoide e submetida a movimentos giratórios de 90° à esquerda e 90° à direita. Para a DH-fictícia não se realizou a rotação da microfacas. Após a DH, foi implantada uma cânula no ventrículo lateral (VL). Após a cânula no VL (grupo agudo) ou 14 dias após a DH (grupo crônico) foram inseridos cateteres na veia e artéria femoral para o registro da pressão arterial e infusão de drogas, respectivamente.

Animais submetidos à DH-C aguda não tiveram alteração na pressão arterial média (PAM) basal, mas tiveram aumentos na frequência cardíaca (FC) basal ( $423 \pm 17$  bpm) comparada com a FC basal dos ratos com DH-Fictícia ( $346 \pm 8$  bpm). A DH-C crônica não alterou os valores basais de PAM e FC. O barorreflexo também não foi alterado pela DH-C aguda ou crônica. Com relação ao quimiorreflexo, embora o pico de resposta pressora e bradicardia induzidos pela ativação do quimiorreflexo não tenham sido alterados pela DH-C aguda ou crônica, a duração da resposta pressora foi reduzida nos ratos com DH-C crônica ( $18 \pm 2$  s) comparada com a observada nos ratos com DH-fictícia ( $28 \pm 3$  s). A resposta pressora induzida pela injeção intracerebroventricular (ICV) de salina hipertônica foi reduzida pela

DH-C aguda ou crônica ( $7\pm 3$  e  $21\pm 2$  mmHg vs. DH-Fictícia :  $19\pm 4$  e  $36\pm 5$  mmHg, respectivamente). A DH-C aguda e crônica também reduziu a resposta pressora induzida pela injeção icv de carbacol ( $12\pm 3$  e  $21\pm 3$  mmHg vs. DH-Fictícia:  $32\pm 4$  e  $35\pm 4$  mmHg, respectivamente) e ANG II ( $12\pm 3$  e  $12\pm 2$  mmHg vs. DH-Fictícia:  $23\pm 2$  e  $22\pm 2$  mmHg, respectivamente). Nos experimentos com privação hídrica, observamos uma maior excreção de potássio em ratos com DH-C aguda (DH-C:  $1278\pm 248$   $\mu$ Eq/24h vs DH-Fictícia:  $682\pm 87$   $\mu$ Eq/24h) ou crônica (DH-C:  $1480\pm 281$   $\mu$ Eq/24h vs DH-Fictícia:  $787\pm 75$   $\mu$ Eq/24h), respectivamente. Nos ratos com DH-C crônica o volume urinário excretado em 24 h de privação hídrica foi maior do que aquele observado nos ratos com DH-Fictícia (DH-C:  $19\pm 2$  ml vs DH-Fictícia:  $9\pm 0,4$  ml), enquanto que o volume urinário excretado em 24 h de privação hídrica nos ratos com DH-C aguda não foi diferente dos ratos com DH-Fictícia. A excreção de sódio observada após a privação hídrica não foi diferente entre os grupos experimentais aguda ou cronicamente. Os animais com DH-C tiveram polidipsia a partir do 6° - 8° dia da DH-C, a qual perdurou até o último dia analisado (14 ou 17° dia).

Nossos resultados demonstram que as respostas pressoras induzidas pelas injeções centrais de ANG II, carbacol e salina hipertônica, mas não o baro e quimiorreflexo, dependem de vias neurais interrompidas pela DH-C. Possivelmente a menor resposta pressora às injeções centrais dessas substâncias em ratos DH-C seja decorrente de uma menor ativação do sistema nervoso simpático e/ou secreção de vasopressina. É possível também que a menor secreção de vasopressina nos ratos DH-C seja responsável pela polidipsia observada nestes animais.

**ABSTRACT**

Several anatomical and functional studies have demonstrated that the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) constitutes a neuroendocrine center. The PVN is intimately related to the regulation of the sympathetic nerve activity and vasopressin secretion. Intracerebroventricular injections of angiotensin II (ANG II), carbachol and hypertonic saline induce an increase in arterial pressure by sympathetic activation and/or vasopressin secretion. Furthermore, it was demonstrated that hypothalamic disconnection (HD) caudal to PVN, performed by way of a knife-cut into the hypothalamus using a microknife of bayonet shape, produced a decrease in basal arterial pressure, suggesting that the fibers interrupted by this HD, probably from PVN, are part of a neural circuitry responsible for tonic maintenance of the arterial pressure. Therefore, the aims of this study were to determine, in conscious rats, the effects of HD caudal to PVN (HD-C) on: a) the pressor response induced by intracerebroventricular injection of ANG II, carbachol and hypertonic saline, b) on the baroreflex and chemoreflex, c) on urinary excretion after 24 h of water deprivation.

Male Holtzman rats (280-320 g) were submitted to sham-HD or acute (1 day) or chronic (15 days) HD caudal to PVN (HD-C) performed with a microknife of bayonet shape (radius = 1 mm, height = 2 mm) stereotaxically placed, positioned 1.5 mm caudal to the bregma, lowered along the midline down to the inner surface of the sphenoid and the cut as achieved by rotating it 90° left e 90° right. In sham-HD no rotation was performed. After the HD, a cannula was implanted into the lateral ventricle. Femoral vein and arterial catheters were introduced after the surgery to implant the cannula into LV (acute group) or 14 days after HD (chronic group).

Rats submitted to acute HD-C did not have changes in basal mean arterial pressure (MAP), but had an increase in basal heart rate (HR), ( $423 \pm 17$  bpm) compared to sham HD rats ( $346 \pm 8$  bpm). Chronic HD did not change basal levels of MAP or HR. Baroreflex was also not changed by acute or chronic HD-C. In regard to chemoreflex, although the peak of the pressor and the bradycardic response to chemoreflex activation were not changed by acute or chronic HD-C, the duration of the pressor response was reduced in rats submitted to chronic HD-C ( $18 \pm 2$  s) compared to sham-HD ( $28 \pm 3$  s). The pressor response induced by intracerebroventricular (icv) injection of hypertonic saline was reduced by acute or chronic HD-C ( $7 \pm 3$  and  $21 \pm 2$  mmHg vs. sham-HD:  $19 \pm 4$  and  $36 \pm 5$  mmHg, respectively). The acute or chronic HD-C also reduced the pressor response induced by icv injection of carbachol

( $12\pm 3$  and  $21\pm 3$  mmHg vs. sham-HD:  $32\pm 4$  and  $35\pm 4$  mmHg, respectively) and ANG II ( $12\pm 3$  and  $12\pm 2$  mmHg vs. sham-HD:  $23\pm 2$  and  $22\pm 2$  mmHg, respectively). In the 24 h water deprivation experiments, we observed a higher potassium excretion in rats with acute HD-C (DH-C:  $1278\pm 248$   $\mu$ Eq/24 h vs sham-HD:  $682\pm 87$   $\mu$ Eq/24 h) or chronic (DH-C:  $1480\pm 281$   $\mu$ Eq/24 h vs sham-HD:  $787\pm 75$   $\mu$ Eq/24 h), respectively. In chronic HD-C rats the urine volume excreted in 24 h of water deprivation was greater than the one observed in sham-HD rats (DH-C:  $19\pm 2$  ml vs sham-HD:  $9\pm 0,4$  ml), while the urinary volume excreted in 24 h of water deprivation in rats submitted to acute HD-C were not different from sham-HD rats. HD-C animals had polydipsia from the 6<sup>th</sup> – 8<sup>th</sup> day after the HD-C, which was maintained until the last day of the experiment (14 or 17<sup>th</sup> day).

These results suggest that the pressor responses induced by central injections of ANG II, carbachol and hypertonic saline, but not the baro and chemoreflex, depend on the neural pathways injured by HD-C. It is possible that the lesser pressor responses induced by central injections of these substances in HD-C rats are due to a lesser activation of sympathetic activity and/or vasopressin secretion. It is also possible that the lesser vasopressin secretion in HD-C rats is responsible for the polydipsia observed in these animals.

## ***INTRODUÇÃO***

## ***OBJETIVOS***

## ***MATERIAL E MÉTODOS***

***PROCOLOS EXPERIMENTAIS***

## ***RESULTADOS***

## ***BIBLIOGRAFIA***

***DISCUSSÃO***