

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”**  
**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FISIOLÓGICAS**  
**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**KARINE CRISTINA BORSARI**

**SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO E RESPOSTAS**  
**CARDIORRESPIRATÓRIAS APÓS A ATIVAÇÃO E**  
**DESATIVAÇÃO DO BARORREFLEXO EM RATOS**  
**DEPLETADOS DE SÓDIO**

**ARARAQUARA**  
**2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”**  
**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FISIOLÓGICAS**  
**PIPGCF UFSCar/UNESP**

**KARINE CRISTINA BORSARI**

**SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO E RESPOSTAS**  
**CARDIORRESPIRATÓRIAS APÓS A ATIVAÇÃO E**  
**DESATIVAÇÃO DO BARORREFLEXO EM RATOS**  
**DEPLETADOS DE SÓDIO**

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos/Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- PIPGCF UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas, área de concentração: fisiologia.

Orientadora: Patrícia Maria de Paula

**Araraquara**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B738s Borsari, Karine Cristina  
Sensibilidade do barorreflexo e respostas  
cardiorrespiratórias após a ativação e desativação do  
barorreflexo em ratos depletados de sódio / Karine  
Cristina Borsari. -- São Carlos : UFSCar, 2016.  
110 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de  
São Carlos, 2015.

1. Depleção de sódio. 2. Barorreflexo. 3. Diurético  
furosemida. 4. Ventilação. 5. Respostas  
cardiorrespiratórias. I. Título.



Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Karine Cristina Borsari, realizada em 16/10/2015:

Profa. Dra. Patricia Maria de Paula  
UNESP

Profa. Dra. Ana Carolina Thomaz Takakura  
USP

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani  
UNESP

2015

## DADOS CURRICULARES

KARINE CRISTINA BORSARI

NASCIMENTO 27.03.1985 – Araraquara/SP

FILIAÇÃO Irineu Dirceu Borsari  
Antonia do Carmo Pinto

2013/2015 Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Programa Interinstitucional de Pós-Graduação PIPGCF- UFSCar/UNESP).

2004/2007 Curso de Graduação em Fisioterapia - Centro Universitário de Araraquara – UNIARA

**AOS MEUS PAIS,  
ANTONIA E DIRCEU  
AO MEU NOIVO,  
RICARDO**

**AOS MEUS IRMÃOS, FAMILIARES E AMIGOS QUERIDOS.**

**Obrigada por sempre estarem ao meu lado, pela dedicação, amor e  
carinho.**

## AGRADECIMENTOS

*À Deus que iluminou o meu caminho e me deu força durante esta caminhada;*

*Agradeço especialmente à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Maria De Paula, pela orientação, apoio e dedicação a este trabalho;*

*Agradeço o Prof. Dr. José Vanderlei Menani por todo apoio, pela confiança depositada em mim, e pela oportunidade de ingresso neste laboratório, ao Prof. Dr. Daniel Breseghello Zoccal e à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Regina Célia Vendramini pela ajuda e colaboração.*

*Ao meu noivo Ricardo eu agradeço por todo o amor, paciência e carinho;*

*À minha mãe, mulher mais batalhadora que já conheci e que me deu a oportunidade de ter estudado. Agradeço imensamente;*

*Ao meu pai, minha irmã, meu sobrinho, por estarem sempre apoiando as minhas decisões;*

*Aos meus amigos, em especial Suélen e Rodolpho, pela imensa amizade e ótimos momentos que me proporcionam, e ao meu afilhado Filipo, que me motivou muito nesta reta final;*

*Agradeço aos professores do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP e do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, pelos ensinamentos transmitidos e pela confiança no meu trabalho;*

*Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP pelo auxílio na execução deste trabalho;*

*Aos membros da banca: Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Carolina Thomaz Takakura.*

*Aos órgãos de fomento CNPq (Processo n<sup>o</sup>134578/2013-9), FAPESP (Processo n<sup>o</sup>2014/02343-5), e CAPES, pelo suporte financeiro durante a realização deste trabalho;*

*A todos, expresso minha mais profunda gratidão.*

## RESUMO

Respostas cardiorrespiratórias após ativação do barorreflexo são afetadas pelo balanço de sódio ou anestesia. No presente estudo, investigamos as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo: após ativação e desativação dos barorreceptores com infusões intravenosa (iv) de fenilefrina (fenil) e nitroprussiato de sódio (NP) com e sem o bloqueio de receptores angiotensinérgicos do tipo 1 (AT<sub>1</sub>); após ativação dos barorreceptores com infusão iv de angiotensina II (ANG II), e as respostas cardiorrespiratórias: após ativação de receptores cardiopulmonares com infusões iv de fenilbiguanida; após ativação quimiorreceptores com infusões iv de cianeto de potássio (KCN) em ratos não anestesiados normovolêmicos, depletados e repletos de sódio. Foram utilizados ratos Holtzman (280-320 g, n = 8 - 19) com um tubo de polietileno inserido na aorta abdominal através da artéria femoral para registrar a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) e veia femoral para administração das drogas. A frequência respiratória (fR), volume corrente (VC) e ventilação (V<sub>E</sub>) foram determinadas por pletismografia de corpo inteiro. A depleção de sódio não modificou os valores basais de PAM ( $102 \pm 2$ , vs. normovolêmicos:  $107 \pm 2$  mmHg), FC ( $382 \pm 9$ , vs. normovolêmicos:  $385 \pm 7$  bpm) ou V<sub>E</sub> ( $468 \pm 27$ , vs. normovolêmicos:  $447 \pm 26$  ml/min/kg). A infusão iv de fenil ( $5 \mu\text{g/kg}$ ,  $0,011\text{ml/s}$ ) produziu resposta pressora e bradicárdica semelhante em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio ( $\Delta +58 \pm 2$ ,  $+59 \pm 2$  e  $+60 \pm 3$  mmHg, respectivamente) ( $\Delta -97 \pm 10$ ,  $-120 \pm 11$  e  $-110 \pm 9$  bpm, respectivamente), no entanto, os ratos depletados de sódio mostraram um aumento na V<sub>E</sub> ( $\Delta +152 \pm 40$ , vs. normovolêmicos:  $+53 \pm 26$  ml/min/kg,  $p < 0,05$ ). Após a repleção de sódio, a V<sub>E</sub> retornou próximo ao valor dos ratos normovolêmicos ( $\Delta +125 \pm 50$  ml/min/kg). Em outro grupo de animais, foi realizado bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub> com injeções iv em bolus de losartana e não foi observado este aumento da V<sub>E</sub> nos ratos depletados de sódio ( $\Delta +77 \pm 33$

ml/min/kg). O ganho do componente bradicárdico também aumentou em ratos depletados ( $-1,9 \pm 0,1$ , vs. normovolêmicos:  $-1,3 \pm 0,1$  bpm/mmHg,  $p < 0,05$ ) e retornou aos valores basais nos ratos repletos de sódio ( $-1,5 \pm 0,1$  bpm/mmHg). A infusão iv de NP ( $30 \mu\text{g/kg}$ ,  $0,011\text{ml/s}$ ) promoveu respostas hipotensoras e taquicárdicas semelhantes nos ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio assim como a  $V_E$  e o ganho do componente taquicárdico não sofreram alterações significativas. A infusão iv de fenilbiguanida ( $50 \mu\text{g/kg/ml}$ ) promoveu respostas hipotensoras e bradicárdicas semelhantes nos ratos normovolêmicos e depletados de sódio, porém aumentou a  $V_E$  nos animais depletados de sódio ( $\Delta +281 \pm 34$ , vs. normovolêmicos:  $+150 \pm 50$  ml/min/kg,  $p < 0,05$ ). A infusão iv de cianeto de potássio (KCN,  $40 \mu\text{g}/0,1\text{ml}$  por rato) não alterou as respostas cardiorrespiratórias. Sendo assim, os resultados sugerem que a depleção de sódio com furosemida seguido de dieta deficiente em sódio aumentou componente bradicárdico do barorreflexo e as mudanças neuroendócrinas produzidas pela depleção de sódio (como aumento da ANG II) podem facilitar as respostas respiratórias à ativação dos barorreceptores.

**Palavras-chave:** depleção de sódio, barorreflexo, diurético furosemida, ventilação, respostas cardiorrespiratórias, dieta deficiente em sódio.

## ABSTRACT

Cardiorespiratory responses to peripheral baroreceptor activation are affected by sodium balance or anesthesia. In the present study, we investigated the baroreflex sensitivity and cardiorespiratory responses: to baroreceptor activation and deactivation with intravenous (iv) infusions of phenylephrine (phenyl) and sodium nitroprusside (NP) with or without angiotensinergic type 1 receptor (AT<sub>1</sub>) blocking; to baroreceptor activation with iv infusions of angiotensin II (ANG II), and cardiorespiratory responses: to cardiopulmonary receptor activation with iv infusions of fenilbiguanide: to chemoreceptor activation with iv infusions of sodium nitroprusside (KCN) in normovolemic, sodium depleted, and sodium repleted unanesthetized rats. Male Holtzman rats (280-320 g, n = 8 - 19) with a polyethylene tubing inserted into abdominal aorta through femoral artery to record mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) and femoral vein to perform iv administration drugs were used. Respiratory frequency (fR), tidal volume (V<sub>T</sub>) and ventilation (V<sub>E</sub>) were recorded by whole-body plethysmography. Sodium depletion did not modify baseline MAP (102 ± 2, vs. normovolemic: 107 ± 2 mmHg), HR (382 ± 9, vs. normovolemic: 385 ± 7 bpm) or V<sub>E</sub> (468 ± 27, vs. normovolemic: 447 ± 26 ml/min/kg). Iv infusion of phenyl (5 µg/kg/ml, 0.011ml/s) in normovolemic, sodium depleted and repleted rats produced similar pressor (Δ +58 ± 2, +59 ± 2 and +60 ± 3 mmHg, respectively) and bradycardic (Δ -97 ± 10, -120 ± 11 and -110 ± 9 bpm, respectively) responses, however, sodium depleted rats showed an increased in V<sub>E</sub> (Δ +152 ± 40, vs. normovolemic: +53 ± 26 ml/min/kg, p<0.05). After sodium repletion the V<sub>E</sub> returned to approximate value of normovolemic rats (Δ +125 ± 50 ml/min/kg). In the other group of animal was made AT<sub>1</sub> receptor blocking with iv bolus injections of losartan and was observed an attenuation of V<sub>E</sub> that was increased in sodium depleted rats (Δ +77 ± 33 ml/min/kg).

The bradycardic component gain also was increased in depleted rats ( $-1.9 \pm 0.1$ , vs. normovolemic:  $-1.3 \pm 0.1$  bpm/mmHg,  $p < 0.05$ ) and returned to baseline values in sodium repleted rats ( $-1.5 \pm 0.1$  bpm/mmHg). Iv infusion of NP ( $30 \mu\text{g/kg/ml}$ ,  $0.011\text{ml/s}$ ) in normovolemic, sodium depleted and repleted rats produced similar hypotensive, tachycardic responses, similar  $V_E$  and the tachycardic component gain. The iv infusion of fenibiguanide ( $50 \mu\text{g/kg/ml}$ ) induced similar hypotensive and bradycardic responses in normovolemic and sodium depleted rats, however increased  $V_E$  in sodium depleted rats ( $\Delta +281 \pm 34$ , vs. normovolemic:  $+150 \pm 50$  ml/min/kg,  $p < 0.05$ ). Iv infusion of potassium cyanide (KCN,  $40 \mu\text{g}/0.1\text{ml}$  per rat) did not change cardiorespiratory responses. Thus, the results suggest that sodium depletion with furosemide plus sodium-deficient diet increased bradycardic component of baroreflex and the neuroendocrine changes produced by sodium depletion (like increased angiotensin II) may facilitate respiratory responses to baroreceptor activation with phenyl iv.

**Keywords:** sodium depletion, baroreflex, furosemide, ventilation, cardiorespiratory responses, sodium deficient diet.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**ANG II**, angiotensina II;

**bpm**, batimentos por minuto;

**cpm**, ciclos por minuto;

**CVLM**, área caudoventrolateral do bulbo;

**E.P.M**, erro padrão da media;

**FC**, frequência cardíaca;

**Fenil**, fenilefrina;

**fR**, frequência respiratória;

**Hb**, hemoglobina;

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>**, bicarbonato;

**Hct**, hematócrito;

**Hz**, hertz;

**ip**, intraperitoneal;

**iv**, intravenosa;

**KCN**, cianeto de potássio;

**n**, número de ratos;

**NA**, núcleo ambíguo;

**NaCl**, cloreto de sódio;

**NDA**, nervo depressor aórtico;

**NMDV**, núcleo motor dorsal do vago;

**NOR**, norepinefrina;

**NP**, nitropussiato de sódio;

**NTS**, núcleo do trato solitário;

**PAM**, pressão arterial média;

**PAP**, pressão arterial pulsátil;

**PCO<sub>2</sub>**, pressão parcial de gás carbônico;

**PE**, polietileno;

**P<sub>K</sub><sup>+</sup>**, concentração plasmática de potássio;

**P<sub>Na</sub><sup>+</sup>**, concentração plasmática de sódio;

**PO<sub>2</sub>**, pressão parcial de oxigênio;

**P<sub>osm</sub>**, osmolalidade plasmática;

**P<sub>t</sub>**, proteínas totais;

**RVLM**, área rostroventrolateral do bulbo;

**sc**, subcutânea;

**SNC**, sistema nervoso central;

**sO<sub>2</sub>**, saturação de oxigênio;

**TE**, tempo expiratório;

**TI**, tempo inspiratório;

**VC**, volume corrente;

**V<sub>E</sub>**, ventilação pulmonar;

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Valores basais da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....43

**Figura 2:** Valores basais da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória (fR, B), e volume corrente (VC, C), em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....44

**Figura 3:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....46

**Figura 4:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....47

**Figura 5:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média E.P.M.; n = número de ratos.....49

**Figura 6:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) em ratos

normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....50

**Figura 7:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) e fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (círculos), depletados de sódio (quadrados) e repletos de sódio (triângulo). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos ( $p < 0,05$ ).....52

**Figura 8:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada da regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) (A) e de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) (B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....53

**Figura 9:** Taquicardia máxima (A) em resposta a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) e bradicardia máxima (B) em resposta a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....54

**Figura 10:** Valores basais da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....60

**Figura 11:** Valores basais da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória (fR, B), e volume corrente (VC, C), em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....61

**Figura 12:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*Diferente dos ratos normovolêmicos. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....63

**Figura 13:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....64

**Figura 14:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (círculos), depletados de sódio (quadrados) e repletos de sódio (triângulo). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos ( $p < 0,05$ ).....66

**Figura 15:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada da regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....67

**Figura 16:** Bradicardia máxima em resposta a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.....68

**Figura 17:** Valores da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....72

**Figura 18:** Valores da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória (fR, B), e volume corrente (VC, C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo.....73

**Figura 19:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....75

**Figura 20a:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....76

**Figura 20b:** Registro do fluxo inspiratório e expiratório (ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio), e animais depletados de sódio que tiveram bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub> após injeção intravenosa de losartana (10 mg/kg de peso corporal).....77

**Figura 21:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de Dunn's,  $p < 0,05$ ).....79

**Figura 22:** Variações na ventilação ( $\Delta$  V<sub>E</sub>, A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo.....80

**Figura 23:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) e fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (círculos) ou depletados de sódio (quadrados), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou bloqueador de receptores AT<sub>1</sub> (losartana). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos/salina ( $p < 0,05$ ).....83

**Figura 24:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) (A) e fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) (B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou losartana. Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente ratos normovolêmicos que

receberam injeção iv em bolus de salina (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....84

**Figura 25:** Taquicardia máxima (A) em resposta a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e bradicardia máxima (B) em resposta a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou losartana. Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n = 9/\text{grupo}$ . \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).....85

**Figura 26:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de fenilbiguanida (50  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{ml}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n =$  número de ratos.....91

**Figura 27:** Variações na ventilação ( $\Delta$   $V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após injeção intravenosa em bolus de fenilbiguanida (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n =$  número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (teste t de student,  $p < 0,05$ ).....92

**Figura 28:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de cianeto de potássio [KCN] - (40  $\mu\text{g}/0,1\text{ml}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n =$  número de ratos.....94

**Figura 29:** Variações na ventilação ( $\Delta$   $V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta$  fR, B), e volume corrente ( $\Delta$  VC, C) após injeção intravenosa em bolus de cianeto de potássio [KCN] - 40  $\mu\text{g}/0,1\text{ml}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n =$  número de ratos.....95

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Ingestão cumulativa de água e NaCl 0,3 M por 2 h, para restabelecer equilíbrio hidroeletrolítico após a depleção de sódio com furosemida.....56
- Tabela 2.** Concentração plasmática de sódio ( $P_{Na^+}$ ), potássio ( $P_{K^+}$ ), proteínas totais ( $P_t$ ), osmolalidade ( $P_{osm}$ ) em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.....58
- Tabela 3.** Ingestão cumulativa de água e NaCl 0,3 M por 2 h, para restabelecer equilíbrio hidroeletrolítico após a depleção de sódio com furosemida.....70
- Tabela 4.** Concentração plasmática de sódio ( $P_{Na^+}$ ), potássio ( $P_{K^+}$ ), proteínas totais ( $P_t$ ), osmolalidade ( $P_{osm}$ ) nos mesmos ratos submetidos às condições normovolêmica, depletada e repleta de sódio.....87
- Tabela 5.** Potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de gás carbônico ( $PCO_2$ ), pressão parcial de oxigênio ( $PO_2$ ), bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), saturação de oxigênio ( $sO_2$ ), hematócrito (Hct) e hemoglobina (Hb) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio.....89

## SUMÁRIO

RESUMO.....	06
ABSTRACT.....	08
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE TABELAS.....	18
SUMÁRIO .....	19
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS.....	29
3 MATERIAL E MÉTODO.....	30
3.1 Animais.....	30
3.2 Canulação da artéria e veia femoral.....	30
3.3 Medida da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).....	31
3.4 Determinação da ventilação pulmonar.....	31
3.5 Drogas e soluções utilizadas.....	33
3.6 Depleção de sódio por 24 horas.....	33
3.7 Teste de ingestão de NaCl.....	33
3.8 Coleta de sangue.....	34
a. para a determinação da concentração plasmática de sódio, potássio, proteína total e a osmolalidade.....	34

b. para e determinações gasométricas de sangue arterial.....	35
3.9 Análise do barorreflexo.....	36
3.10 Análise estatística.....	36
4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.....	37
4.1 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente em ratos não anestesiados.....	37
4.2 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após ativação do barorreceptores com ANG II em ratos não anestesiados.....	38
4.3 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente em ratos não anestesiados com e sem o bloqueio de receptores AT <sub>1</sub> .....	39
4.4 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação de receptores cardiopulmonares e de quimiorreceptores com fenilbiguanida e KCN respectivamente em ratos não anestesiados.....	40
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP, respectivamente, em ratos não anestesiados.....	42
a. Alterações cardiorrespiratórias basais.....	42
b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de fenilefrina.....	45

c. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de nitroprussiato de sódio.....	48
d. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenilefrina e nitroprussiato de sódio respectivamente, em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.....	51
e. Ingestão cumulativa de água e sódio após a depleção de sódio.....	55
f. Concentrações plasmáticas de sódio, potássio, proteínas totais e osmolaridade nos animais normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.....	57
5.2 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores com ANG II em ratos não anestesiados.....	59
a. Alterações cardiorrespiratórias basais.....	59
b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por injeção iv em bolus de ANG II.....	62
c. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação barorreceptores com ANG II em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.....	65
d. Ingestão cumulativa de água e sódio após a depleção de sódio.....	69
5.3 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente, em ratos não anestesiados com e sem o bloqueio de receptores AT <sub>1</sub> .....	71
a. Alterações cardiorrespiratórias basais após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT <sub>1</sub> .....	71
b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de fenilefrina após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT <sub>1</sub> .....	74

c. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de nitroprussiato de sódio após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT <sub>1</sub> .....	78
d. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente, em ratos normovolêmicos ou depletados com e sem o bloqueio dos receptores AT <sub>1</sub> .....	81
e. Concentrações plasmáticas de sódio, potássio, proteínas totais e osmolaridade nos animais normovolêmicos ou depletados de sódio .....	86
f. Análise gasométrica de sangue arterial nos ratos submetidos à condição normovolêmica ou depletada de sódio .....	88
5.4 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação de receptores cardiopulmonares em ratos não anestesiados.....	90
5.5 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação dos quimiorreceptores periféricos em ratos não anestesiados.....	93
6 DISCUSSÃO.....	96
7 CONCLUSÃO.....	105
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106

## 1. INTRODUÇÃO

### **Balanço de água e íons.**

O corpo humano é amplamente constituído por fluidos, no qual corresponde cerca de 55-65% do peso corporal, variando com a idade, sexo e quantidade de gordura corpórea (Évora e cols., 1999). Este líquido encontra-se distribuído entre os compartimentos intracelular e extracelular (líquido intersticial e plasma sanguíneo). (Évora e cols., 1999, Vebalis, 2003). A manutenção da quantidade desses líquidos se dá por um balanço entre ganhos e perdas. O ganho ocorre principalmente através da ingestão de líquidos e pela água contida nos alimentos, além disso, a oxidação dos carboidratos também libera uma quantidade de água, porém menor. A perda ocorre através da excreção de urina, de fezes, pela evaporação que ocorre nos pulmões durante a respiração e pelo suor dependendo da temperatura ambiente e do grau de atividade física (Vebalis, 2003, Souza e Elias, 2006).

Além dos líquidos que permeiam esses compartimentos, tem-se a presença de soluto, os íons, no qual sua composição se difere nos dois compartimentos, pois no compartimento extracelular o sódio é o cátion predominante, enquanto que o potássio é o cátion predominante no compartimento intracelular (Évora e cols., 1999). A diferença na composição entre os líquidos intracelular e extracelular é muito importante, para o desempenho adequado das funções celulares (Vebalis, 2003, Souza e Elias, 2006).

Assim, o volume e a distribuição dos fluidos corporais são em última análise, determinados pela quantidade de água corporal e principalmente pelo íon sódio. A importância do sódio está relacionada com o controle que ele exerce na distribuição da água em todo o organismo. O número de moléculas de sódio por unidade de água determina a osmolalidade do líquido extracelular. Se o sódio é perdido, a água é

excretada na tentativa de manter a osmolalidade normal, e se o sódio é retido, a água também deve ser retida para diluí-lo (Évora e cols., 1999).

No entanto, a regulação no volume de água e sódio é altamente complexa, envolvendo múltiplos fatores que atuam tanto de forma independente como em conjunto (Anderson, 1977).

### **Desbalanço hidroeletrólítico e modelos experimentais.**

Transtornos de fluidos corporais estão entre os problemas mais comuns encontrado na prática da medicina clínica (Verbalis, 2003). Alterações no volume sanguíneo podem ser causadas por diferentes situações como vômito, diarreia, aumento da ingestão de sódio, ou uso de diuréticos (Évora e cols., 1999).

Para reproduzir essas alterações no balanço de fluidos e de íons, existem modelos experimentais, dentre eles podemos citar: a privação de água, a gavagem intragástrica com salina hipertônica, a depleção de sódio com diuréticos, entre outros.

### **Modelo experimental de depleção de sódio.**

A depleção de sódio produzida por injeção subcutânea (sc) do diurético/natriurético furosemida associada a 24 horas de dieta deficiente em sódio é um modelo amplamente utilizado em nosso laboratório para o estudo do apetite ao sódio (Sato e cols., 1996; Menani e cols., 1998; Nozaki e cols., 2002; de Oliveira e cols., 2003; de Oliveira e cols., 2007; Menezes e cols., 2011).

O diurético/natriurético, furosemida, age na alça Henle do néfron e seu mecanismo de ação ocorre pelo bloqueio do co-transportador tri-iônico de íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2 \text{Cl}^-$  prejudicando a reabsorção destes íons que então serão excretados (natriurese). Além disso, esta porção do néfron é impermeável à água, que também será excretada em maior quantidade (diurese) levando ao aumento do volume urinário excretado

(Weiner, 1990). Alterações no equilíbrio de água e sódio no organismo modifica a atividade de vários hormônios (angiotensina, aldosterona, peptídeo natriurético atrial, vasopressina) e sistemas neurais (atividade simpática) com o objetivo de reestabelecer o balanço hidroeletrólítico (Menani e cols., 2004).

A depleção de sódio provoca mudanças no balanço dos fluidos corporais, promovendo respostas comportamentais, hormonais e autônomas para corrigir essas alterações e restaurar o equilíbrio na homeostase de sódio (Zardetto-Smith e cols., 1993; De Luca e cols., 2000). Um estudo não publicado do nosso laboratório mostrou que a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) não são alteradas após a depleção de sódio com uma única injeção sc de furosemida seguido por dieta deficiente de sódio, embora estes animais estivessem hipovolêmico (Favero, 2012). A PAM e a FC não se altera devido a um aumento na atividade do sistema renina-angiotensina que mantém PAM em níveis normais.

Está bem estabelecido que durante a depleção de sódio com furosemida ocorre uma diminuição do fluxo sanguíneo renal, e isto leva à alterações neuroendócrinas como um elevado nível de angiotensina II (ANG II) e um aumento de aldosterona circulante (Haber, 1976; Speilman e Davis, 1974), redução da reatividade vascular (Armsworth e cols., 1986; Gerkens e cols., 1987), desativação de receptores de volume e atenuação barorreflexo (Rocchini e cols., 1977; Echtenkamp e Anderson, 1988). Embora ANG II aumente a atividade simpática (Zimmerman, 1973; Zimmerman e cols, 1984) foi demonstrado que durante a depleção de sódio em cães a atividade simpática foi reduzida (Brosnihan e cols., 1981; Szilagy e cols., 1981). Estas alterações neuroendócrinas que ocorrem após a depleção de sódio modificam as respostas cardiovasculares de alguns agentes vasoativos como a ANG II e norepinefrina (NOR), e também afeta a hipertensão durante a oclusão bilateral da carótida (Salgado e cols., 1986). Além disso, estudo do nosso laboratório mostrou que a depleção de sódio

reduziu a resposta pressora à injeção periférica de ANG II e NOR, e à injeção central da ANG II, NOR e carbacol, sugerindo que a depleção de sódio afeta os mecanismos envolvidos na resposta pressora através da ativação central e periférica mediada por ativação simpática e ANG II (Colombari e cols., 1992). No entanto, nenhum destes estudos analisou se a depleção de sódio poderia alterar a função de um importante mecanismo relacionado ao controle rápido da PAM, o barorreflexo.

### **Barorreflexo.**

O barorreflexo é o principal e mais estudado mecanismo de regulação rápida da PAM, porque é o único com velocidade suficiente para responder às frequentes mudanças na PAM em diferentes estímulos, como por exemplo, exercícios físicos, alterações emocionais, posturais, sono, alimentação, etc. O sistema de auto-regulação renal, humoral e tecidual que também estão envolvidos no controle da PAM, são muito lentos para responder de forma eficaz a esses estímulos (Heesch, 1999; Irigoyen e cols., 2001).

Desta forma, a grande sensibilidade dos barorreceptores permite a manutenção da PAM dentro de uma faixa de variação que permite a perfusão sanguínea através dos vasos de elevada resistência e também o controle tecidual de fluxo, obtido através da modificação do calibre de artérias e arteríolas por fatores como tensão parcial de oxigênio (O<sub>2</sub>), íons hidrogênio, gás carbônico (CO<sub>2</sub>), metabólitos celulares e por fatores miogênicos intrínsecos (Guyton e Hall, 2002). Os barorreceptores exercem a regulação da pressão arterial através da regulação reflexa da frequência cardíaca, débito cardíaco, contratilidade miocárdica, vasomotricidade e conseqüentemente distribuição regional do fluxo sanguíneo (Heesch, 1999; Irigoyen e cols., 2001).

Esse reflexo inicia-se pelos barorreceptores arteriais que são mecanorreceptores localizados na circulação torácica, no arco aórtico, na região do tronco braquiocefálica e

artérias subclávias, e também nos seios carotídeos da região cervical (Kirchheim, 1976, Bogue e Stella, 1935, Landgren, 1952). Eles respondem às deformações ou distensões na parede vascular, onde estão localizados. A elevação da PA provoca distensão da parede vascular e dos elementos conjuntivos (colágeno e elastina) que estão conectados em série com as terminações barossensíveis (causando ativação do barorreflexo e disparo de potenciais de ação). Estes potenciais de ação gerados nas aferências do seio carotídeo e do arco da aorta trafegam pelo nervo de Hering, glossofaríngeo e nervo vago respectivamente (Guyton e Hall, 2002) para regiões do bulbo no sistema nervoso central (SNC), como núcleo do trato solitário (NTS). O NTS envia projeções para núcleo ambíguo (NA) e núcleo motor dorsal do vago (NMDV). Além disso, envia projeções para área bulbar ventrolateral caudal (CVLM), que se projeta para área bulbar ventrolateral rostral (RVLM), onde ocorre integração dos mecanismos aferentes com os eferentes, desencadeando respostas autônomas caracterizadas por ativação do sistema nervoso autônomo parassimpático e inibição do sistema nervoso autônomo simpático (Campagnole-Santos e Haibara, 2001; Albaghdadi, 2007) consistindo em diminuição da resistência vascular periférica, frequência cardíaca e força contrátil do coração (Kirchheim, 1976, Reis e Ledoux, 1987).

Apesar de muitos estudos sobre o envolvimento do barorreflexo na regulação cardiovascular, ainda pouco se sabe sobre mudanças ventilatórias ( $V_E$ ) causadas após a ativação deste reflexo.

### **Alterações ventilatórias durante ativação do barorreflexo.**

Alguns estudos têm relatado que a ativação do barorreflexo demonstra uma série de efeitos variáveis sobre  $V_E$  (Sapru e cols., 1981; Miserocchi e Quinn, 1980; Dove e Katona, 1985; Hayashi e cols., 1993; McMullan e cols., 2007 e 2009). Sapru e cols., (1981) investigaram que em ratos descerebrados e não vagotomizados, a estimulação do

nervo depressor aórtico (NDA) deprime o ritmo respiratório. Estudo de Dove e Katona (1985) mostrou que a ativação dos barorreceptores promoveu um aumento no tempo de inspiração (TI) e no tempo de expiração (TE). Além disso, Miserocchi e Quinn (1980) mostraram que a frequência respiratória (fR) não se alterou durante hipotensão hemorrágica em gatos e Hayashi e cols., (1993) não observaram mudanças na fR durante a estimulação do NDA em ratos anestesiados. Assim, todos estes estudos sugeriram que a variabilidade dos efeitos sobre a ventilação durante a ativação do barorreflexo depende da espécie animal, da cepa, do tipo de preparação e da anestesia.

Portanto, baseado nas evidências acima, neste estudo, investigamos a sensibilidade do barorreflexo e respostas cardiorrespiratórias após a ativação e desativação do barorreflexo com infusões intravenosa (iv) do agente vasoconstritor fenilefrina (fenil) e do agente vasodilatador nitroprussiato de sódio (NP), respectivamente, em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (24 h após a depleção de sódio com furosemida, 20mg/kg por peso corporal, injetado subcutâneamente associado à 24 horas de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (duas horas após o livre acesso à água e 0,3 M de NaCl, para restaurar o equilíbrio de água e sódio). Também investigamos as respostas cardiorrespiratórias após a ativação do reflexo cardiopulmonar e quimiorreflexo com infusões intravenosa (iv) de fenilbiguanida e cianeto de potássio, respectivamente, em ratos normovolêmicos e depletados de sódio.

## 2 OBJETIVOS

- 1) Investigar as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo:
  - a) após a ativação e desativação dos barorreceptores com infusões intravenosa (iv) de fenilefrina (fenil) e de nitroprussiato de sódio (NP), respectivamente, em ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio;
  - b) após a ativação dos barorreceptores com injeção iv em bolus de angiotensina II (ANG II), em ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio;
  - c) após a ativação e desativação dos barorreceptores com infusões iv de fenil e de NP, respectivamente, em ratos normovolêmicos e depletados de sódio com e sem o bloqueio dos receptores angiotensinérgicos do tipo 1 (AT<sub>1</sub>).
- 2) Investigar as respostas cardiorrespiratórias após a ativação dos receptores cardiopulmonares com injeção iv em bolus de fenilbiguanida e após a ativação dos quimiorreceptores periféricos com injeção iv em bolus de cianeto de potássio (KCN) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Holtzman adultos (aproximadamente 12 semanas) não anestesiados, com peso entre 280-320 g, fornecidos pelo Biotério do Campus de Araraquara, UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, com livre acesso a ração contendo sódio normal (Guabi Rat Chow, Paulínia, SP - Brasil), água e 0,3 M de NaCl (quando necessário). A temperatura foi mantida  $23 \pm 2^\circ \text{C}$  e umidade de  $55 \pm 10\%$ , com ciclo claro-escuro de 12 h, com as luzes acendendo às 7:30 horas da manhã. Os experimentos foram realizados entre 08:00 e 18:00h. Os protocolos experimentais realizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, Brasil (Proc.CEUA nº 29/2013) e seguiram as normas do Instituto Nacional de Guia de Saúde para o cuidado e uso de Animais de Laboratório (NIH publicações nº 80-23, 1996, EUA). Foram feitos todos os esforços para minimizar o desconforto do animal e o número de animais utilizados.

#### **3.2 Canulação da artéria e veia femoral**

Um dia antes dos experimentos foi realizada canulação da artéria e da veia femoral. As cânulas utilizadas foram confeccionadas previamente com um tubo de polietileno PE-10 (Clay Adams, Parsipanny, NJ) de 3,5 cm conectado a outro tubo de polietileno PE-50 de 15 cm. Antes de serem implantadas, as cânulas foram preenchidas com solução fisiológica e obstruídas na extremidade livre do PE-50 com pino de metal. Assim, os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal (ip) de cetamina (80 mg/kg do peso corporal) combinada com xilazina (7 mg/kg do peso corporal) e a cânula arterial foi introduzida na aorta abdominal, através da artéria femoral e um outro tubo de polietileno foi introduzido na veia femoral. Uma vez implantados, os tubos de

polietileno foram dirigidos subcutaneamente, com auxílio de um trocáter, foram exteriorizados para a região escapular do rato, e fixados com linha de sutura, permitindo o livre movimento dos ratos. A cânula arterial foi utilizada para registro direto da pressão arterial pulsátil (PAP) e cálculo da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). A cânula venosa foi utilizada para administração sistêmica de drogas. No final da cirurgia, foi injetado via intramuscular um coquetel de antibióticos (benzilpenicilina-diidroestreptomicina-estreptomicina; 80.000 UI/kg, 33 mg/kg e 33 mg/kg, respectivamente) e injeção subcutânea de anti-inflamatório (Cetoprofeno 1% - 0,1 ml/rato). Após a cirurgia, os animais foram monitorados até retomarem a consciência.

### **3.3 Medida da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC)**

Vinte e quatro horas após a canulação da artéria e veia femoral, quando os ratos estavam recuperados da cirurgia e adaptados ao ambiente da sala de registro, o catéter arterial foi ligado a um transdutor de pressão (Stathan P 23 Db, Dover, NH, EUA) acoplado a um pré-amplificador (Bridge Amp, ML221, ADInstruments, Castle Hill, NSW, Austrália) que foi conectado ao Powerlab, um sistema computadorizado de registro (PowerLab 16/30, ML880, ADInstruments, Castle Hill, NSW, Austrália).

### **3.4 Determinação da ventilação pulmonar**

As medidas de  $V_E$  foram obtidas por pletismografia de corpo inteiro (Bartlett e Tenney, 1970). Este método é baseado no princípio de que um animal, dentro de uma câmara vedada, terá seu volume de ar corrente inspirado aquecido da temperatura da câmara à temperatura corporal e saturado com vapor de água; enquanto na expiração, seu volume de ar corrente será esfriado até a temperatura da câmara, havendo perda de vapor de água. Estas situações de aquecer e umidecer o ar inspirado e de esfriar e

desidratar o ar expirado são acompanhadas por pequenas mudanças de pressão, que podem ser detectadas por um transdutor sensível. A câmara de acrílico, onde o animal foi colocado e se movimentava livremente, tinha conexão com o transdutor diferencial de pressão e com outra câmara de referência, a qual evita artefatos de medidas provocados pela variação de pressão dentro do laboratório, como a abertura de portas. Além disto, a câmara estava equipada com um termômetro e uma seringa para calibração. Durante as medidas de ventilação, o fluxo foi interrompido e a câmara selada por curtos períodos de tempo (~ 2 min) e as oscilações na temperatura do ar causadas pela respiração foram medidas como oscilações na pressão. Os sinais detectados pelo transdutor diferencial de pressão foram coletados por um registrador, o qual estava conectado a um conversor analógico-digital. Isto permitiu a digitalização dos sinais em um computador, utilizando um programa de aquisição de dados. Os dados foram analisados através de um programa de cálculos, permitindo a obtenção da frequência respiratória (fR) e da amplitude do sinal (PT). O volume corrente (VC) foi calculado através da fórmula abaixo (Bartlett e Tenney, 1970). A calibração do volume foi feita antes e durante cada experimento por injeção na câmara de uma quantidade conhecida de ar (1 ml) usando uma seringa graduada. A V<sub>E</sub> foi calculada multiplicando o VC pela fR. Segundo Bartlett e Tenney (1970) e Malan (1973) medidas diretas de V<sub>E</sub> por pneumotacografia resultam em valores bastante próximos daqueles obtidos por pletismografia.

$$VC = \frac{PT}{PK} \times VK \times \frac{TC}{TR} \times \frac{(PB - PC)}{(PB-PC) - \frac{TC}{Tb} \times (PB-PR)}$$

Definição dos símbolos da equação:

VC: Volume de ar corrente.

VK: Volume de ar injetado na câmara do animal para calibração.

PT: Deflexão de pressão associada com cada volume de ar corrente.

PK: Deflexão de pressão associada ao volume injetado para calibração.

Tb: Temperatura corporal (em Kelvin)

TC: Temperatura do ar dentro da câmara do animal.

PB: Pressão barométrica.

PR: pressão de vapor de água a temperatura corporal.

PC: pressão de vapor de água na câmara do animal.

TR: temperatura ambiente.

### **3.5 Drogas e soluções utilizadas**

- Furosemida (20 mg/kg de peso corporal – diurético/saliurético), foi injetado sc e dissolvido em solução salina alcalina (pH ajustado para 9,0 com NaOH);
- Fenilefrina (Fenil, 5 µg/kg de peso corporal - agonista  $\alpha_1$  adrenérgico, agente vasoconstritor), foi administrada por infusão iv;
- Nitroprussiato de sódio (NP, 30 µg/kg de peso corporal - doador de óxido nítrico, agente vasodilatador) foi administrado por infusão iv;
- Losartana (10 mg/kg de peso corporal – antagonista de receptores angiotensinérgicos do tipo 1 - AT<sub>1</sub>) foi administrada por injeção iv em bolus;
- Angiotensina II [ANG II] - (50 ng/0,1ml por rato – agente vasoconstritor), foi administrada por injeção iv em bolus;
- Fenilbiguanida (50 µg/kg de peso corporal – agonista de receptores serotoninérgicos tipo 3 - 5-HT<sub>3</sub>) foi administrada por injeção iv em bolus;
- Cianeto de potássio [KCN] - (40 µg/0,1ml por rato – induz hipóxia citotóxica), foi administrada por injeção iv em bolus;
- Solução fisiológica (NaCl 0,9% - veículo).

Todas as drogas foram obtidas pelo de Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA. As drogas (exceto furosemida) foram dissolvidos em solução salina isotônica estéril. Fenil e NP foram infundidos com uma bomba peristáltica (velocidade 0,011ml/s).

### **3.6 Depleção de sódio por 24 horas**

A ração, a água e a solução de 0,3 M de NaCl foram removidas das gaiolas dos ratos e foram enxaguadas. Depleção de sódio foi induzida por uma injeção sc de diurético furosemida (20 mg/kg de peso corporal) e em seguida os animais tiveram livre acesso à água e ração deficiente em sódio (fubá; 0,001% de sódio e de potássio 0,33%) durante 24 h. Após este período, a água e o fubá foram removidos e os protocolos experimentais foram realizados. Esta depleção de sódio (induzida por tratamento com furosemida sc associado à dieta deficiente de sódio) induz perda de 1,5 a 2,0 mEq de sódio e aumenta a ingestão de soluções de sódio hipertônico (Jalowiec, 1974; Sakai e cols., 1989; De Luca Jr e cols., 1991; Rowland e Fregly, 1992).

Os ratos que foram utilizados para o estudo de depleção de sódio, além da água, tiveram à disposição 0,3 M de NaCl, desde 6 dias antes do início dos experimentos.

### **3.7 Teste de ingestão de NaCl**

Ingestão cumulativa de água e 0,3 M de NaCl foram medidas aos 30, 60, 90 e 120 min. A quantidade de ingestão de água e sódio nos protocolos experimentais foram quantificados utilizando buretas de vidro equipado com um bico de metal graduadas em 0,1 ml. Os animais não tiveram acesso à ração durante os experimentos.

### **3.8 Coleta de sangue**

**a. para a determinação da concentração plasmática de sódio ( $P_{Na^+}$ ), potássio ( $P_{K^+}$ ), proteínas totais ( $P_t$ ), osmolalidade ( $P_{osm}$ ).**

Amostras de sangue foram coletadas nos mesmos animais que foram submetidos aos experimentos. O sangue arterial foi retirado (1,5 ml) a partir da artéria femoral para a determinação da concentração plasmática de proteínas totais ( $P_t$ ), de sódio ( $P_{Na^+}$ ), de potássio ( $P_{K^+}$ ) e osmolalidade ( $P_{osm}$ ) no estado normovolêmico (acesso livre à ração, água e 0,3 M de NaCl), depletados de sódio (24 h após a injeção sc de furosemida seguido por 24 h de dieta deficiente de sódio) e repleto de sódio (duas horas após o acesso livre à água e 0,3 M de NaCl, para restaurar o equilíbrio de água e sódio). Foi realizada reposição do volume (1,5 ml) com salina isotônica. As amostras foram recolhidas em tubos contendo EDTA de sódio (2 mg/ml de sangue) para se obter plasma. Todas as amostras foram centrifugadas durante 10 min. Osmolalidade plasmática foi medida em osmômetro (modelo 3250 Osmometer, Advanced Instruments, Norwood, MA, EUA) pela depressão do ponto de congelamento. A concentração plasmática de sódio e de potássio foram medidas por um eletrodo específico de íons (Nova). A concentração de proteína plasmática foi medida em um refratômetro (ATAGO).

#### **b. para as determinações gasométricas de sangue arterial**

Foi realizada remoção de sangue arterial (0,5 ml) da artéria femoral dos animais. As amostras de sangue retiradas foram colocadas em um cartucho (CG7+, I-Stat) e inseridos num aparelho de gasometria (I-Stat, Abbott Laboratory, NJ, USA) para a análise de potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de gás carbônico ( $PCO_2$ ), pressão parcial de oxigênio ( $PO_2$ ), bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb) e saturação de  $O_2$  ( $sO_2$ ).

### **3.9 Análise do barorreflexo**

Foi feita administração das drogas utilizando um método de infusão com bomba e consiste em uma breve infusão (0,011 ml/s) para aumentar ou reduzir a pressão arterial em cerca de 50 mmHg por 30 s (usando fenil ou NP, respectivamente). A sensibilidade do barorreflexo foi determinada através de uma relação linear entre a PAM e FC durante as mudanças transientes de pressão. Os valores das alterações de FC ( $\Delta$  FC) foram coletados para cada intervalo de 5 mmHg de PAM a partir de 0 mmHg e terminando em (+ ou -) 50 mmHg. Portanto, o ganho do barorreflexo foi determinado por ajuste de uma linha de regressão linear, através de uma vasta gama de pontos. A inclinação desta linha representa sensibilidade do barorreflexo (Farah e cols., 1999).

### **3.10 Análise estatística**

Os resultados de cada animal submetido aos protocolos experimentais foram tabelados e foram expressos pela média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). A análise de variância ANOVA uma via, teste t, e pós-teste de Newman Keuls e Dunn's foram usados para testar a significância estatística. As diferenças foram consideradas significativas para  $p < 0,05$ .

## **4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS**

### **4.1 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP, respectivamente, em ratos não anestesiados.**

Os ratos foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimatação do animal. Todos os ratos (n = 19) foram expostos a três condições diferentes: normovolêmica (livre acesso à ração, água e 0,3 M de NaCl), depletado de sódio (após a injeção sc de furosemida seguido por 24 h de dieta deficiente em sódio) e repleto de sódio (após 2 h de livre acesso à água e 0,3 M de NaCl, para restaurar o equilíbrio de água e sódio).

No primeiro dia de experimentos foram medidas as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores na condição normovolêmica. Posteriormente, esses mesmos ratos receberam injeção sc de furosemida e foram colocados em caixas individualizadas contendo água e fubá (baixo teor de sódio) para que após 24 h, fosse repetido os testes para determinar as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores na condição depletados de sódio. Depois disso, os ratos retornaram às suas gaiolas e foi oferecido aos animais água e 0,3 M de NaCl em buretas de vidro graduadas de 0,1 a 0,1 ml durante 2 h para restaurar o equilíbrio de água e sódio. A ingestão cumulativa de água e 0,3 M de NaCl foram medidas no período de 30, 60, 90 e 120 minutos. Depois disso, as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores foram medidas novamente agora com os ratos repletos de sódio. Antes da realização de cada experimento, foi feita coleta de sangue dos animais para realização das dosagens plasmáticas (de acordo com item 3.8 a) nas condições normovolêmica, depletada e

repleta de sódio. Os experimentos foram realizados em dois dias consecutivos. A ativação dos barorreceptores foi realizada através da infusão iv de fenil (5 µg/kg de peso corporal) e a desativação dos barorreceptores foi realizada através da infusão iv de NP (30 µg/kg de peso corporal). As infusões foram realizadas de forma aleatória e o intervalo mínimo entre elas foi de 15 min.

#### **4.2 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores com ANG II em ratos não anestesiados.**

Os ratos foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimação do animal. Todos os ratos (n = 8) foram expostos a três condições diferentes: normovolêmica (livre acesso à ração, água e 0,3 M de NaCl), depletado de sódio (após a injeção sc de furosemida seguido por 24 h de dieta deficiente em sódio) e repleto de sódio (após 2 h de livre acesso à água e 0,3 M de NaCl, para restaurar o equilíbrio de água e sódio).

No primeiro dia de experimentos foi medida as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo, após injeção iv em bolus de ANG II em condição normovolêmica. Posteriormente, esses mesmos ratos receberam injeção sc de furosemida e foram colocados em caixas individualizadas contendo água e fubá (baixo teor de sódio) para que após 24 h, fosse repetido os testes para determinar as respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após injeção iv em bolus de ANG II em condição de depleção de sódio. Depois disso, os ratos retornaram às suas gaiolas e foi oferecido água e 0,3 M de NaCl em buretas de vidro graduadas de 0,1 à 0,1 ml durante 2 h para restaurar o equilíbrio de água e sódio. A ingestão cumulativa de água e 0,3 M de NaCl foram medidas no período de 30, 60, 90 e 120 minutos. Em seguida, as

respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores foram medidas novamente agora com os ratos em condição repletos de sódio. Os experimentos foram realizados em dois dias consecutivos. A ativação dos barorreceptores foi realizada através da injeção iv em bolus de ANG II (50 ng/0,1ml por rato).

#### **4.3 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP, respectivamente, em ratos não anestesiados com e sem o bloqueio de receptores angiotensinérgicos AT<sub>1</sub>.**

Para este protocolo, os ratos foram divididos em dois grupos: normovolêmicos (n = 18) e depletados (n = 18). O grupo de ratos que foi exposto à condição normovolêmica teve livre acesso à ração, água e 0,3 M de NaCl antes da realização dos experimentos e estes foram subdivididos em dois outros grupos: os que receberam injeção iv em bolus de losartana para bloqueio de receptores AT<sub>1</sub> (n = 9) e os que receberam injeção iv em bolus de veículo (salina, n = 9) antes do teste do barorreflexo. Esses animais foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimação do animal. Em seguida foram realizadas as medidas das respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores na condição normovolêmica.

O outro grupo de ratos, que foi exposto à condição de depletado de sódio, recebeu a injeção sc do diurético e natriurético, furosemida, e permaneceu por 24 h com acesso à dieta deficiente em sódio (fubá) e água. Os animais depletados de sódio também foram subdivididos em dois outros grupos: os que receberam injeção iv em bolus de losartana para bloqueio de receptores AT<sub>1</sub> (n = 9), e os que receberam injeção

iv em bolus de veículo (salina, n = 9) antes do teste do barorreflexo. Esses animais foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimação do animal. Em seguida foram feitas medidas das respostas cardiorrespiratórias e a sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores em condição de depleção de sódio. Antes da realização de cada experimento, foi feita coleta de sangue em uma amostra do grupo de animais (n = 12) para realização das dosagens plasmáticas e análise gasométrica nas condições de normovolêmia ou depletado de sódio (de acordo com item 3.8 a e b).

A ativação dos barorreceptores foi realizada através da infusão iv de fenil e de NP que foram realizadas de forma aleatória com intervalo mínimo entre elas de 15 min.

Para comprovar a eficiência do bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub>, foi feita injeção iv em bolus de ANG II ao final dos experimentos (dados não apresentados).

#### **4.4 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação de receptores cardiopulmonares e de quimiorreceptores periféricos, com fenilbiguanida e KCN, respectivamente, em ratos não anestesiados.**

Para este protocolo, os ratos foram divididos em dois grupos: normovolêmicos (n = 10) e depletados (n = 10). O grupo de ratos que foi exposto à condição normovolêmica teve livre acesso à ração, água e 0,3 M de NaCl antes da realização dos experimentos. Esses animais foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimação do animal. Em seguida foi feita a ativação de receptores cardiopulmonares por injeção iv em bolus de fenilbiguanida, seguida da ativação de quimiorreceptores periféricos por injeção iv em bolus de cianeto de potássio (KCN), para verificar as respostas cardiorrespiratórias nos animais normovolêmicos.

O grupo exposto à condição de depleção de sódio recebeu a injeção sc do diurético e natriurético, furosemida, e permaneceu por 24 h com acesso à dieta deficiente em sódio (fubá) e água. Esses animais também foram colocados individualmente em câmaras de Plexiglas (5 L) com livre movimentação. A câmara foi ventilada com ar ambiente durante cerca de 30 min para aclimatação do animal. Em seguida foi feita ativação de receptores cardiopulmonares por injeção iv em bolus de fenilbiguanida, seguida da ativação de quimiorreceptores periféricos por injeção iv em bolus de KCN, para verificar as respostas cardiorrespiratórias nos animais depletados de sódio.

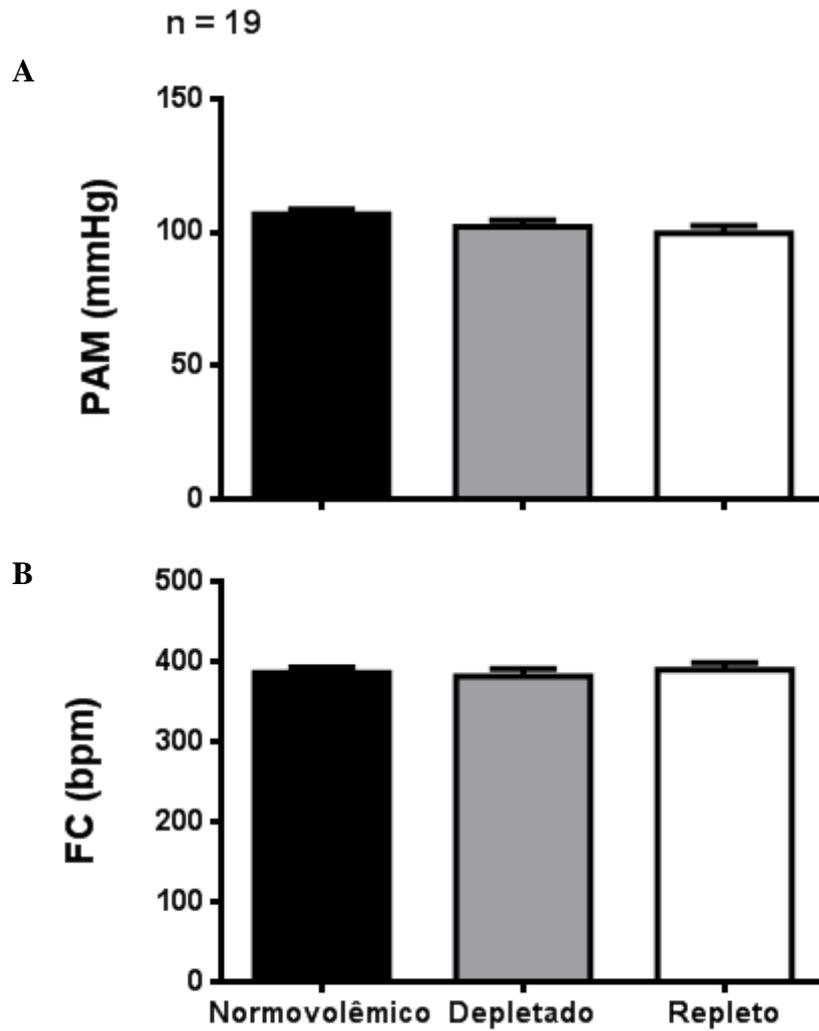
A ativação dos receptores cardiopulmonares foi realizada pela injeção iv em bolus de fenilbiguanida (50 µg/kg) e a ativação de quimiorreceptores periféricos foi realizada pela injeção iv em bolus de KCN (40 µg/0,1ml por rato) e foram realizadas de forma aleatória com intervalo mínimo entre elas de 15 min.

## 5 RESULTADOS

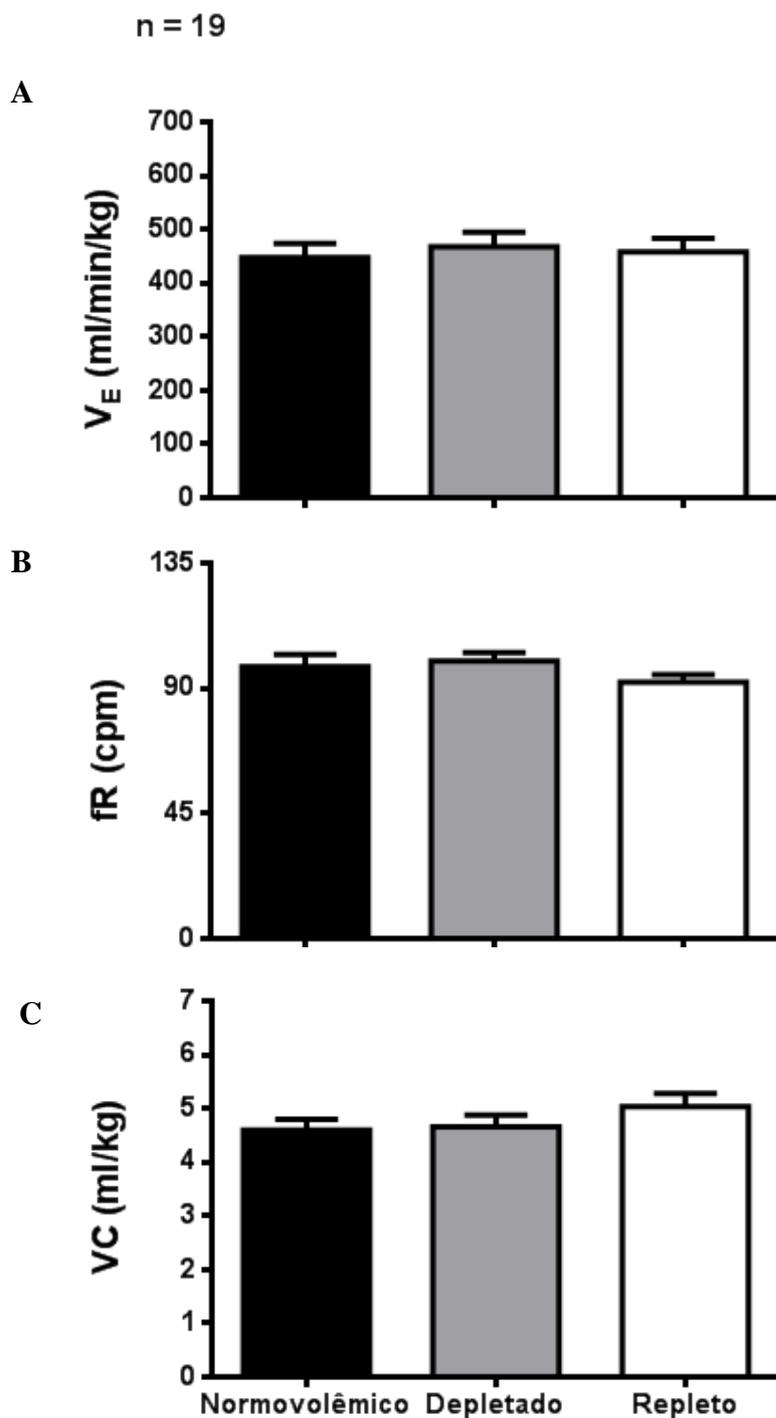
### 5.1 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP, respectivamente, em ratos não anestesiados.

#### a. Alterações cardiorrespiratórias basais

A depleção de sódio não modificou PAM basal ( $102 \pm 2$ , vs. normovolêmicos:  $107 \pm 2$  mmHg, figura 1 A), FC ( $382 \pm 9$ , vs. normovolêmicos:  $385 \pm 7$  bpm, figura 1 B),  $V_E$  ( $468 \pm 27$ , vs. normovolêmicos:  $447 \pm 26$  ml/min/kg, figura 2 A), fR ( $100 \pm 3$ , vs. normovolêmicos:  $98 \pm 4$  cpm, figura 2 B) e VC ( $4,7 \pm 0,2$ , vs. normovolêmicos:  $4,6 \pm 0,2$  ml/kg, figura 2 C). A repleção de sódio também não modificou PAM basal ( $100 \pm 3$  mmHg, figura 1 A), FC ( $389 \pm 9$  bpm, figura 1 B),  $V_E$  ( $458 \pm 25$  ml/min/kg, figura 2 A), fR ( $92 \pm 3$  cpm, a figura 2 B) e VC ( $5 \pm 0,3$  ml/kg, figura 2 C).



**Figura 1:** Valores basais da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

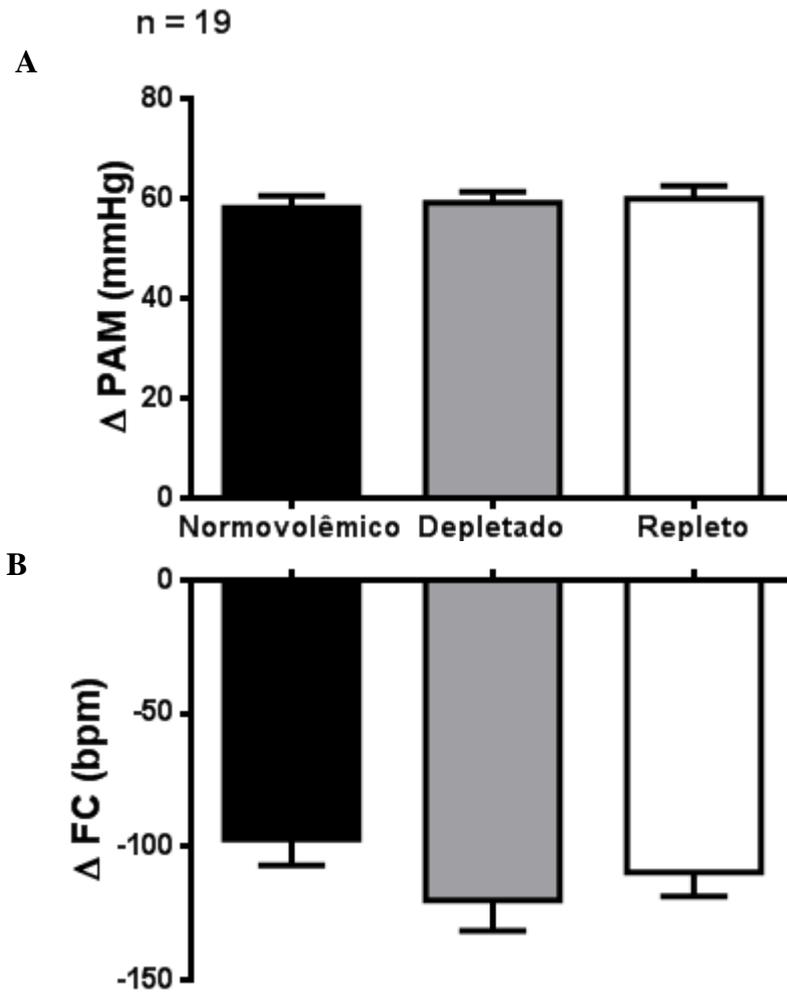


**Figura 2:** Valores basais da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória (fR, B), e volume corrente (VC, C), em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

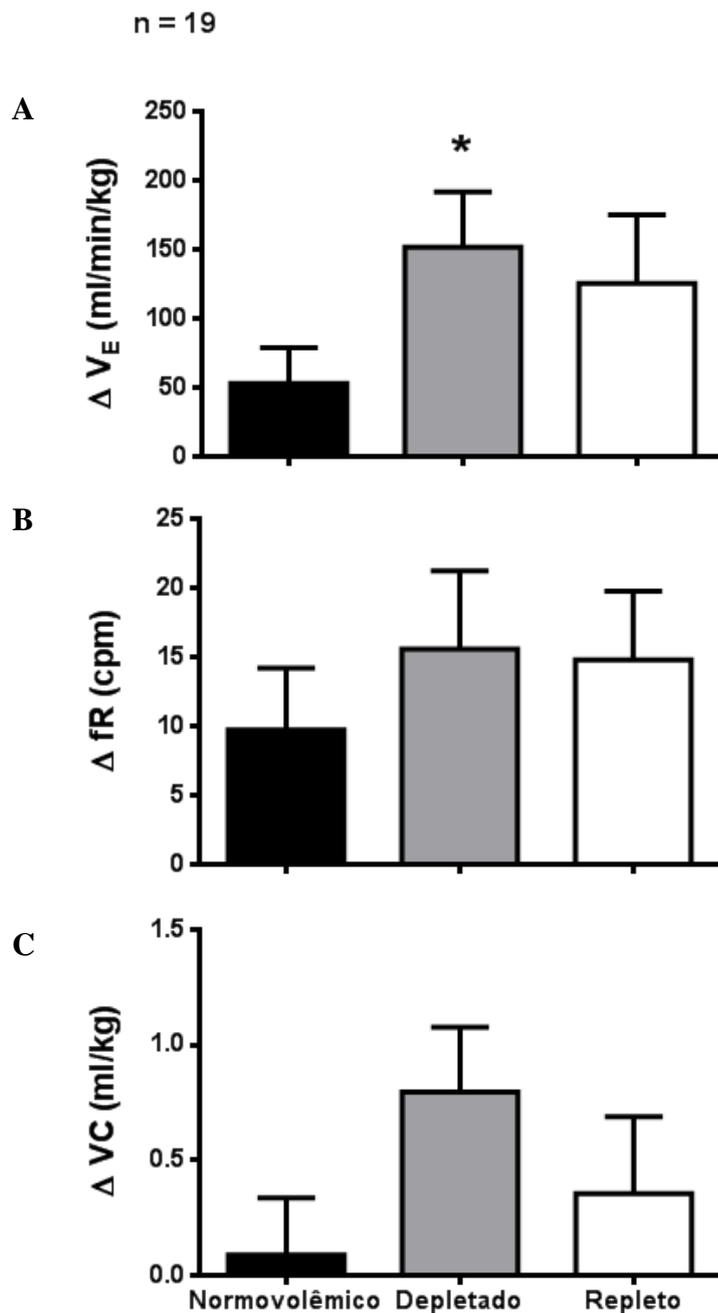
## **b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de fenilefrina**

A figura 3 mostra respostas pressoras e bradicárdicas semelhantes após infusão iv de fenil (5 µg/kg) nos ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio, respectivamente ( $\Delta + 58 \pm 2$ ,  $+ 59 \pm 2$  e  $+60 \pm 3$  mmHg, figura 3 A, e  $\Delta -97 \pm 10$ ,  $-120 \pm 11$  e  $-110 \pm 9$  bpm, figura 3 B, respectivamente). No entanto, os ratos depletados de sódio apresentaram um aumento na  $V_E$  em comparação aos ratos normovolêmicos ( $\Delta +152 \pm 40$ , vs. normovolêmicos:  $+53 \pm 26$  ml/min/kg,  $p < 0,05$ , figura 4 A), sem alterar a fR ( $15 \pm 6$ , vs. normovolêmicos:  $10 \pm 4$  cpm, figura 4 B) e VC ( $0,8 \pm 0,3$ , vs. normovolêmicos:  $0,1 \pm 0,3$  ml/kg, figura 4 C). Após a repleção de sódio a  $V_E$  retornou ao valor próximo aos ratos normovolêmicos ( $\Delta +125 \pm 50$  ml/min/kg, figura 4 A). A fR e o VC não foram alterados ( $+15 \pm 5$  cpm, figura 4 B e  $+0,3 \pm 0,3$  ml/kg, figura 4 C, respectivamente).

Os ratos normovolêmicos apresentaram um discreto, porém significativo, aumento da  $V_E$  após a infusão iv de fenil (ventilação de ratos normovolêmicos antes:  $453 \pm 23$  ml/kg/min e após a infusão iv de fenil:  $500 \pm 29$  ml/kg/min,  $p < 0,05$  – gráfico não apresentado).



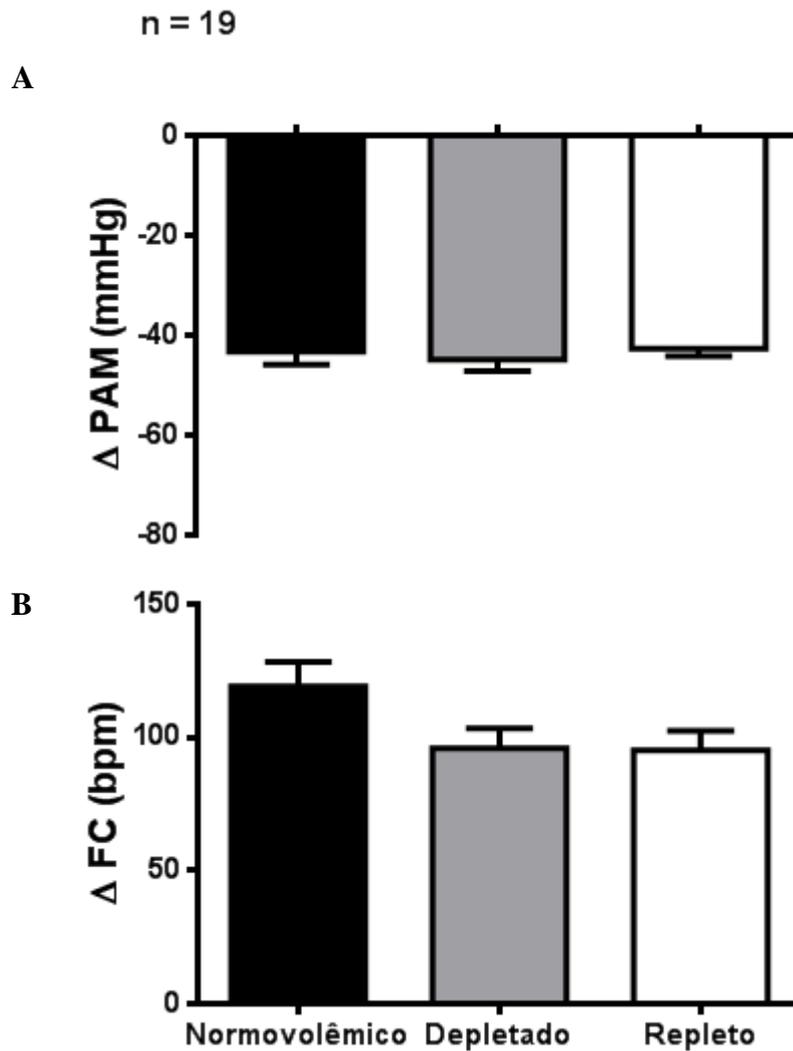
**Figura 3:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após infusão intravenosa de fenilefrina ( $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e  $0,3 \text{ M}$  de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.



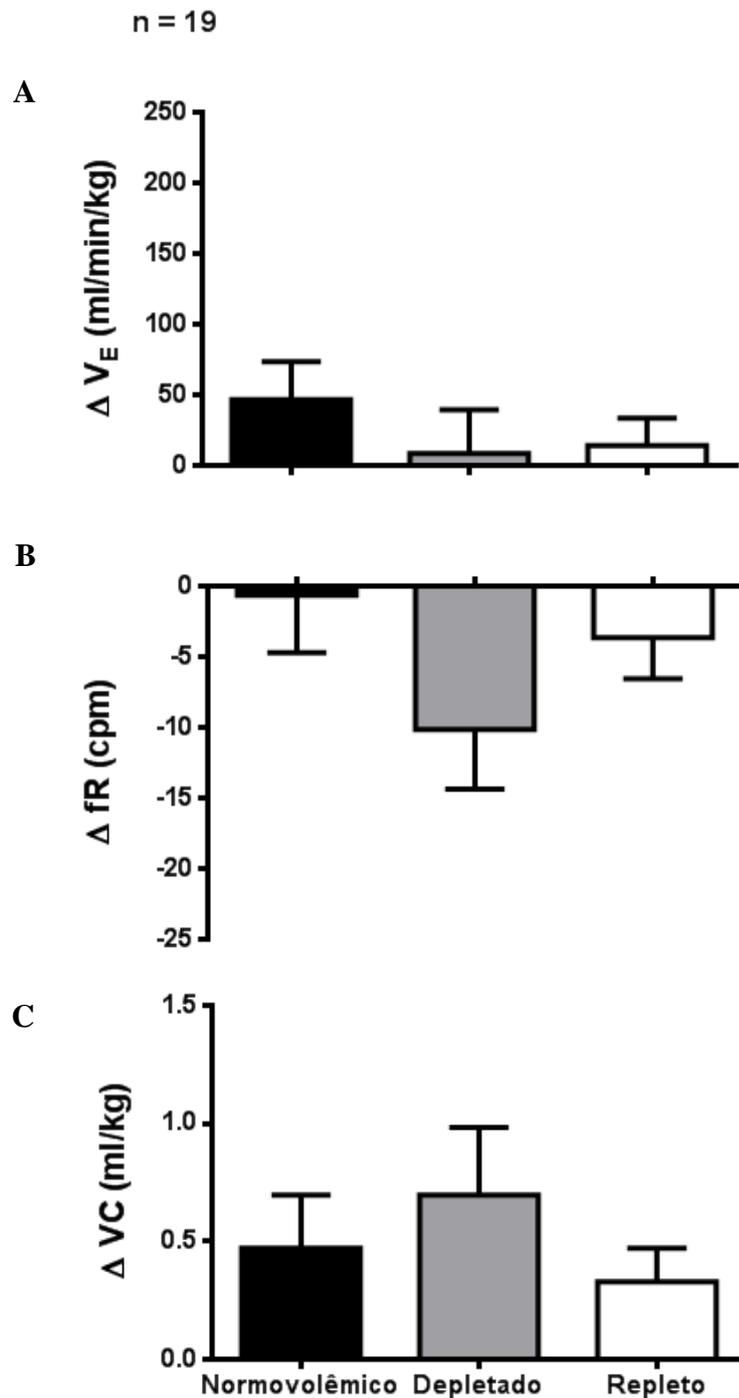
**Figura 4:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).

**c. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de nitroprussiato de sódio**

A Figura 5 A e 5 B mostram respostas hipotensoras e taquicárdicas semelhantes após infusão iv de NP (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) nos ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio ( $\Delta -43 \pm 3$ ,  $-45 \pm 2$ ,  $-43 \pm 1$  mmHg, e  $\Delta +119 \pm 9$ ,  $+96 \pm 7$ ,  $+95 \pm 7$  bpm, respectivamente). Nos estados normovolêmicos, depletados e repletos de sódio, não houve diferença significativa na  $V_E$  ( $\Delta +46 \pm 27$ ,  $+9 \pm 31$  e  $+14 \pm 20$  ml/min/kg, respectivamente, figura 6 A), fR ( $\Delta -1 \pm 4$ ,  $-10 \pm 4$  e  $-4 \pm 3$  cpm respectivamente, figura 6 B) e VC ( $\Delta 0,5 \pm 0,2$ ,  $0,7 \pm 0,3$  e  $0,3 \pm 0,1$  ml/kg, respectivamente, figura 6 C).



**Figura 5:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média E.P.M.; n = número de ratos.



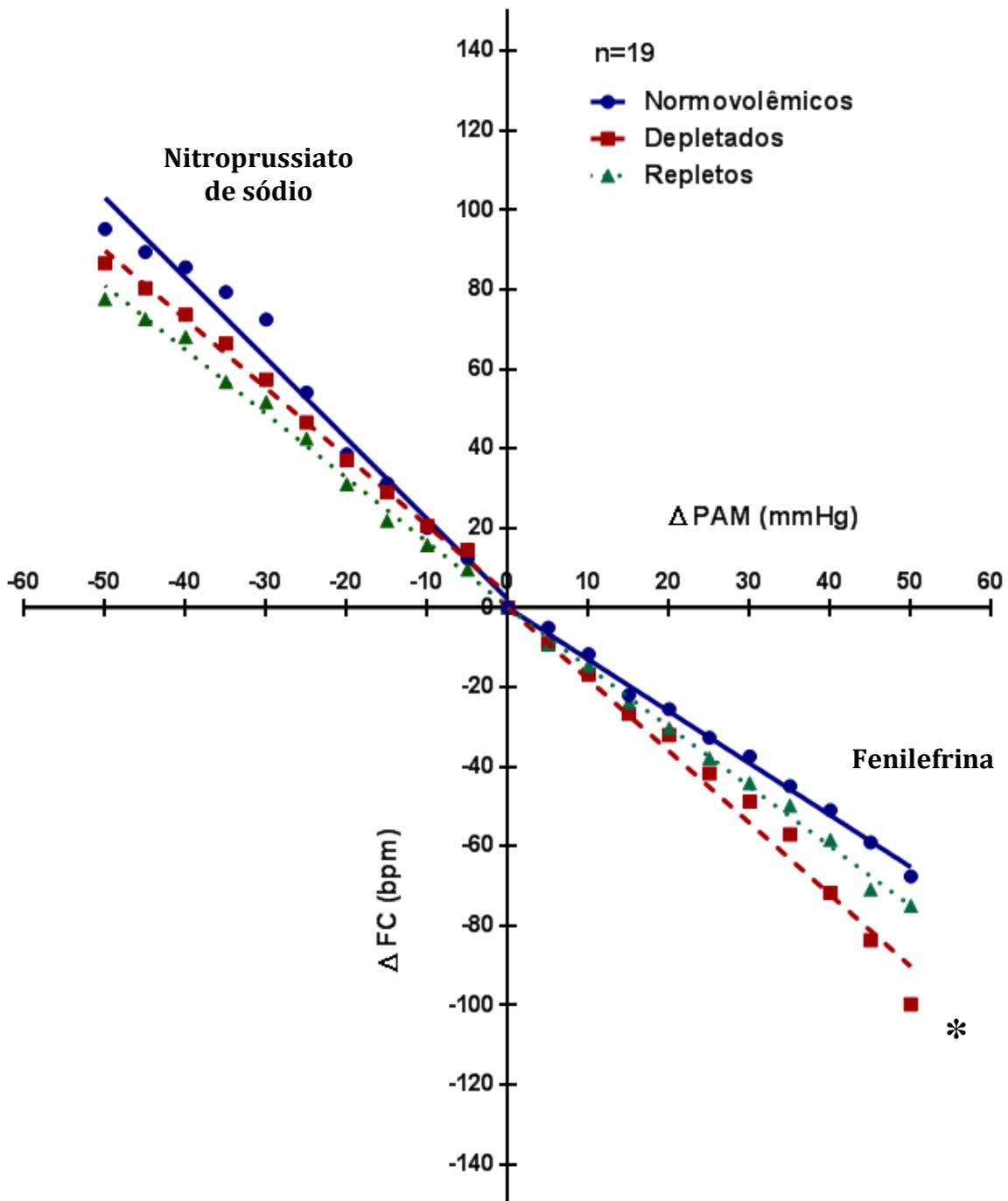
**Figura 6:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

**d. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenilefrina e nitroprussiato de sódio respectivamente, em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.**

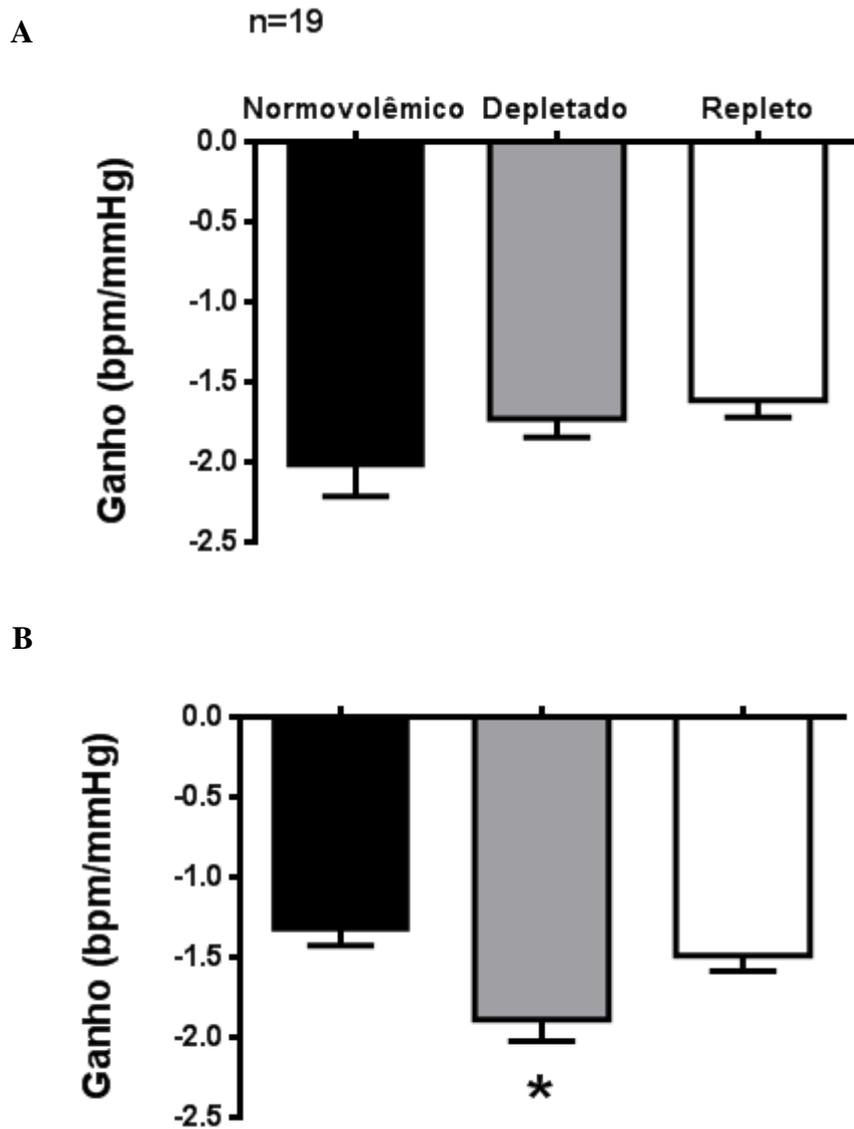
A Figura 7 mostra a sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão iv de NP (30  $\mu$ g/kg) e fenil (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio. A infusão iv de NP promoveu diminuição da PAM, sem alterações significativas na taquicardia reflexa entre os animais. No entanto, a infusão iv de fenil promoveu aumento da PAM, com uma maior bradicardia reflexa em ratos depletados de sódio em comparação com ratos normovolêmicos. Após a repleção de sódio a bradicardia reflexa retornou a valores similares aos ratos normovolêmicos.

Após a infusão de NP houve uma resposta hipotensora e uma taquicardia reflexa e o ganho de componente taquicárdico foi semelhante nos animais normovolêmicos, depletados e repletos de sódio ( $2 \pm 0,2$ ,  $1,7 \pm 0,1$  e  $1,6 \pm 0,1$  bpm/mmHg, respectivamente, figura 8 A), e a taquicardia máxima também foi semelhante ( $95 \pm 8$ ,  $87 \pm 6$  e  $78 \pm 5$  bpm, respectivamente, figura 9 A).

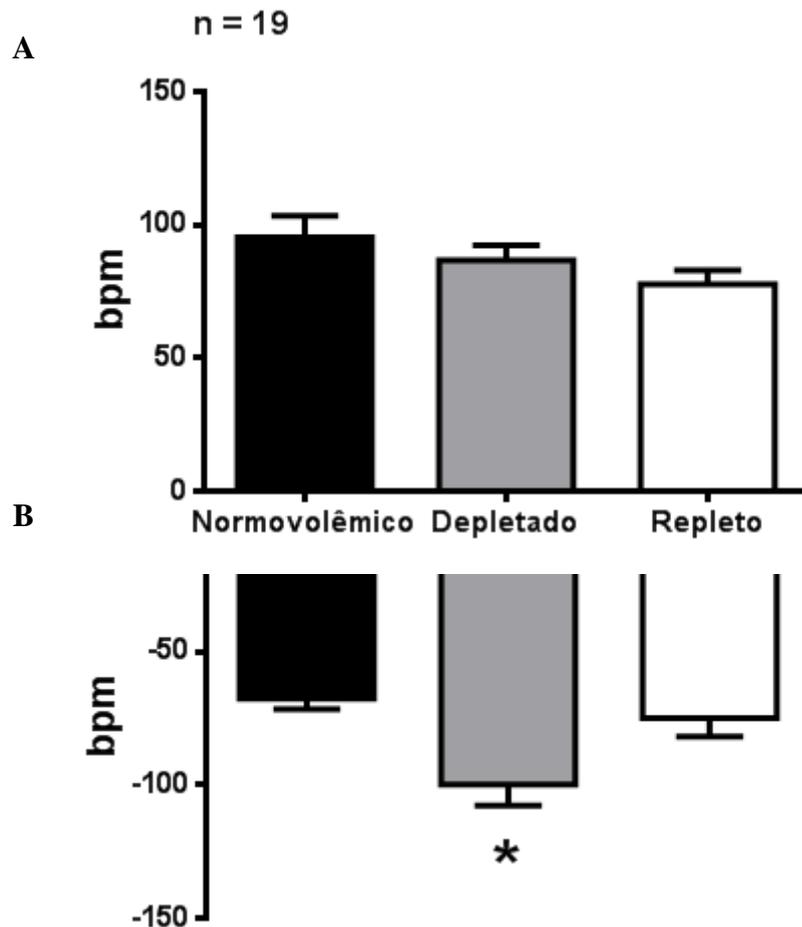
Após a infusão iv de fenil houve uma resposta pressora e uma bradicardia reflexa e o ganho do componente bradicárdico foi maior nos ratos depletados de sódio ( $-1,9 \pm 0,1$ , vs. normovolêmicos:  $-1,3 \pm 0,1$  bpm/mmHg,  $p < 0,05$ , figura 8 B) e nos ratos repletos de sódio o ganho do componente bradicárdico retornou a valores semelhantes aos normovolêmicos ( $-1,5 \pm 0,1$  bpm/mmHg, figura 8 B). A Figura 9 B mostra um aumento na bradicardia máxima em ratos depletados ( $-100 \pm 8$ , vs. normovolêmicos:  $-67 \pm 4$  bpm) que retorna a valores semelhantes aos normovolêmicos após a repleção de sódio ( $-75 \pm 7$  bpm).



**Figura 7:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) e fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (círculos), depletados de sódio (quadrados) e repletos de sódio (triângulo). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 8:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada da regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) (A) e de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) (B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



**Figura 9:** Taquicardia reflexa máxima (A) em resposta a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e bradicardia reflexa máxima (B) em resposta a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).

**e. Ingestão cumulativa de água e sódio após a depleção de sódio**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi realizada para restabelecer o equilíbrio hidroeletrolítico após a depleção de sódio com o diurético/natriurético furosemida (tabela 01)

**Tabela 1.** Ingestão cumulativa de água e NaCl 0,3 M por 2 h, para restabelecer equilíbrio hidroeletrolítico após a depleção de sódio com furosemida.

	Tempo			
	30	60	90	120 (min)
NaCl 0,3M	5,7 ± 0,9	8,2 ± 0,9	9,7 ± 0,7	11,7 ± 0,9
Água	3,4 ± 0,7	5,7 ± 0,9	6,9 ± 0,9	8,4 ± 0,9

Valores expressos pela média ± E.P.M., n = 19 ratos.

**f. Concentrações plasmáticas de sódio, potássio, proteínas totais e osmolaridade nos animais normovolêmicos, depletados e repletos de sódio**

A Tabela 02 mostra que a depleção de sódio diminuiu a concentração de sódio e de potássio plasmático ( $127 \pm 2$  e  $3,5 \pm 0,2$  meq/l, vs. normovolêmicos:  $133 \pm 3$  e  $5 \pm 0,3$  meq/l, respectivamente), e aumentou a concentração de proteína totais plasmática ( $6,4 \pm 0,1$ , vs. normovolêmicos:  $5,9 \pm 0,2$  g/100 ml). Sódio e proteínas totais plasmáticas ( $134 \pm 1,2$  meq/l e  $4,9 \pm 0,1$  g/100 ml, respectivamente), mas não potássio plasmático ( $3,6 \pm 0,1$  meq/l) retornaram para níveis próximos aos normovolêmicos após restaurar o equilíbrio hidroeletrolítico com 2 h de ingestão de água e 0,3 M de NaCl. Não houve diferença na osmolalidade em qualquer estado do animal (normovolêmico:  $321 \pm 4$ , depletado de sódio:  $317 \pm 2$ , e repleto de sódio:  $318 \pm 2$  mOsm/kg).

**Tabela 2.** Concentração plasmática de sódio ( $P_{Na^+}$ ), potássio ( $P_{K^+}$ ), proteínas totais ( $P_t$ ), osmolalidade ( $P_{osm}$ ) em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.

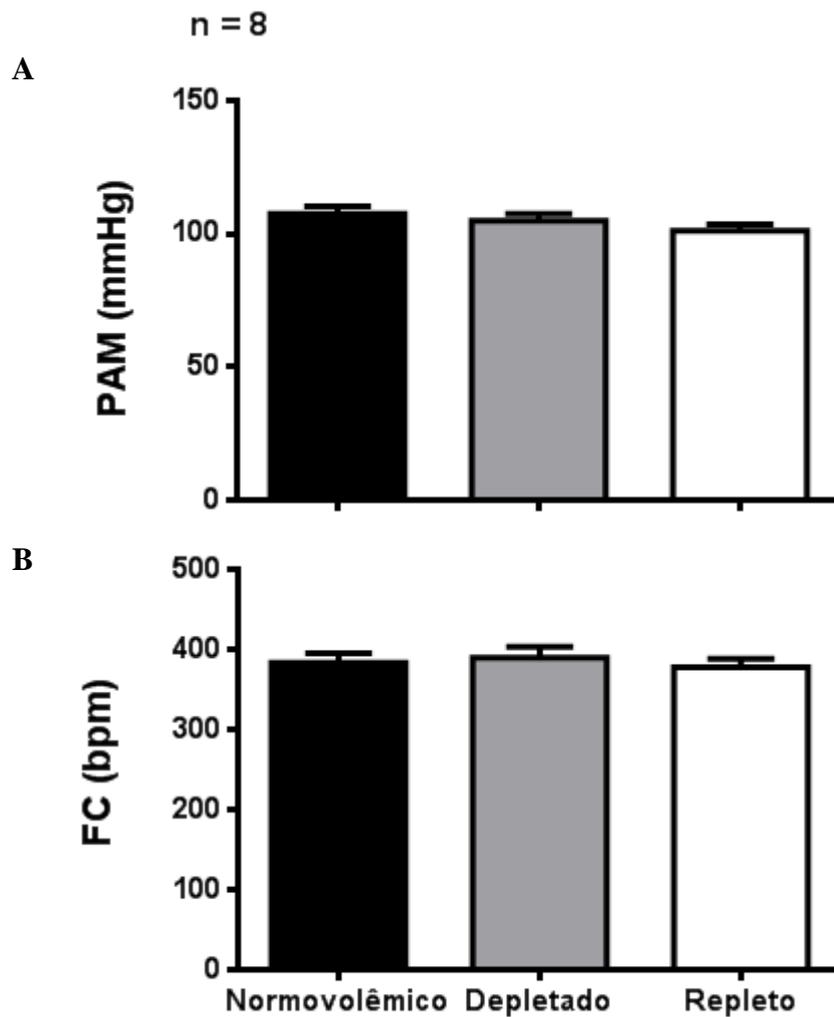
	<b>Normovolêmicos</b>	<b>Depletados</b>	<b>Repletos</b>
$P_{Na^+}$ (meq/l)	133 ± 3	127 ± 2 *	134 ± 1
$P_{K^+}$ (meq/l)	4,6 ± 0,3	3,5 ± 0,2 *	3,6 ± 0,1 *
$P_t$ (g/100 ml)	5,9 ± 0,2	6,4 ± 0,1 *	4,9 ± 0,1 * #
$P_{osm}$ (mOsm/kg)	321 ± 4	317 ± 2	318 ± 2

Valores expressos pela média ± E.P.M., n = 19 ratos; \*diferente de normovolêmico, # diferente de depletado.

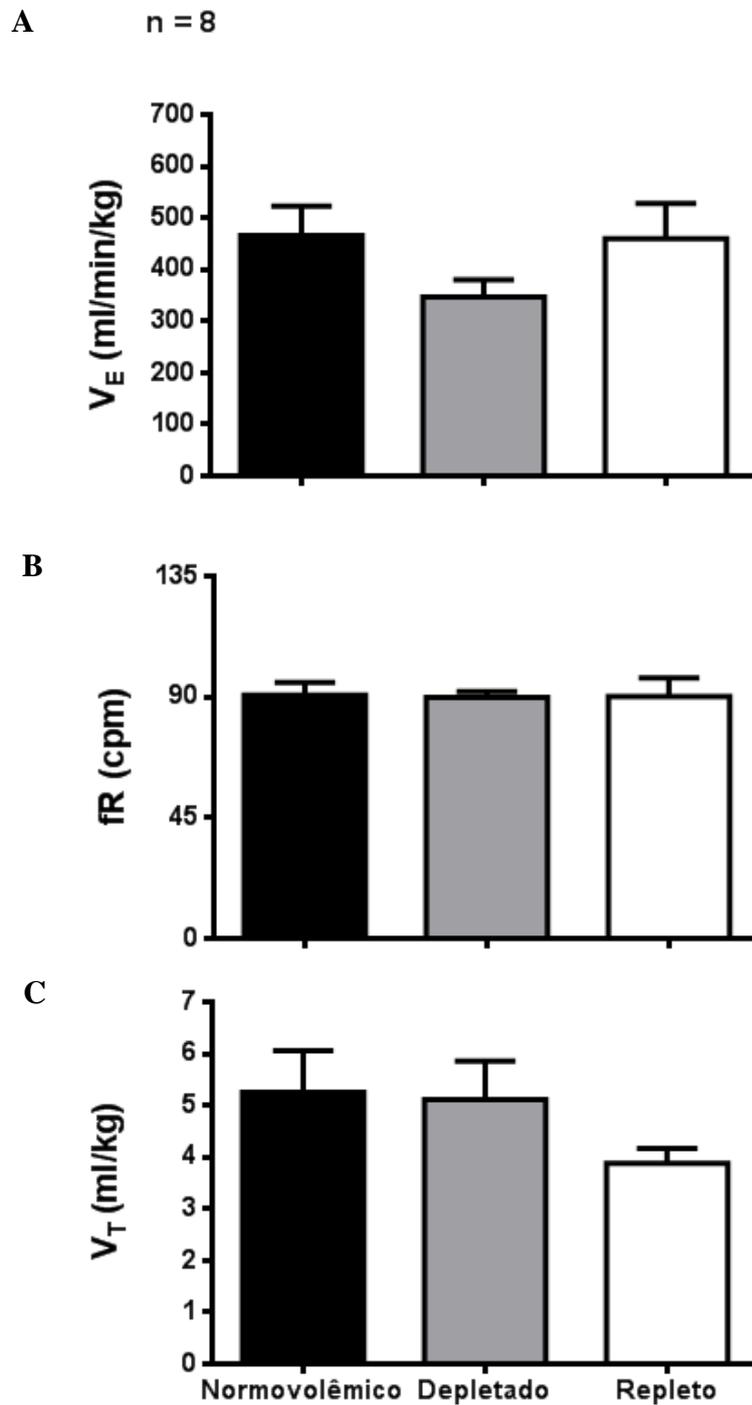
## **5.2 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação dos barorreceptores com ANG II em ratos não anestesiados.**

### **a. Alterações cardiorrespiratórias basais**

A depleção de sódio não modificou PAM basal ( $105 \pm 3$ , vs. normovolêmicos:  $107 \pm 3$  mmHg, figura 10 A), FC ( $390 \pm 14$ , vs. normovolêmicos:  $393 \pm 12$  bpm, figura 10 B),  $V_E$  ( $347 \pm 33$ , vs. normovolêmicos:  $456 \pm 57$  ml/min/kg, figura 11 A), fR ( $90 \pm 2$ , vs. normovolêmicos:  $91 \pm 5$  cpm, figura 11 B), e VC ( $5,1 \pm 0,7$ , vs. normovolêmicos:  $5,2 \pm 0,8$  ml/kg, figura 11 C). A repleção de sódio também não modificou PAM basal ( $101 \pm 2$  mmHg, figura 10 A), FC ( $378 \pm 11$ , figura 10 B),  $V_E$  ( $460 \pm 68$  ml/min/kg, figura 11 A), fR ( $90 \pm 7$  cpm, figura 11 B) e VC ( $3,9 \pm 0,3$  ml/kg, figura 11 C).



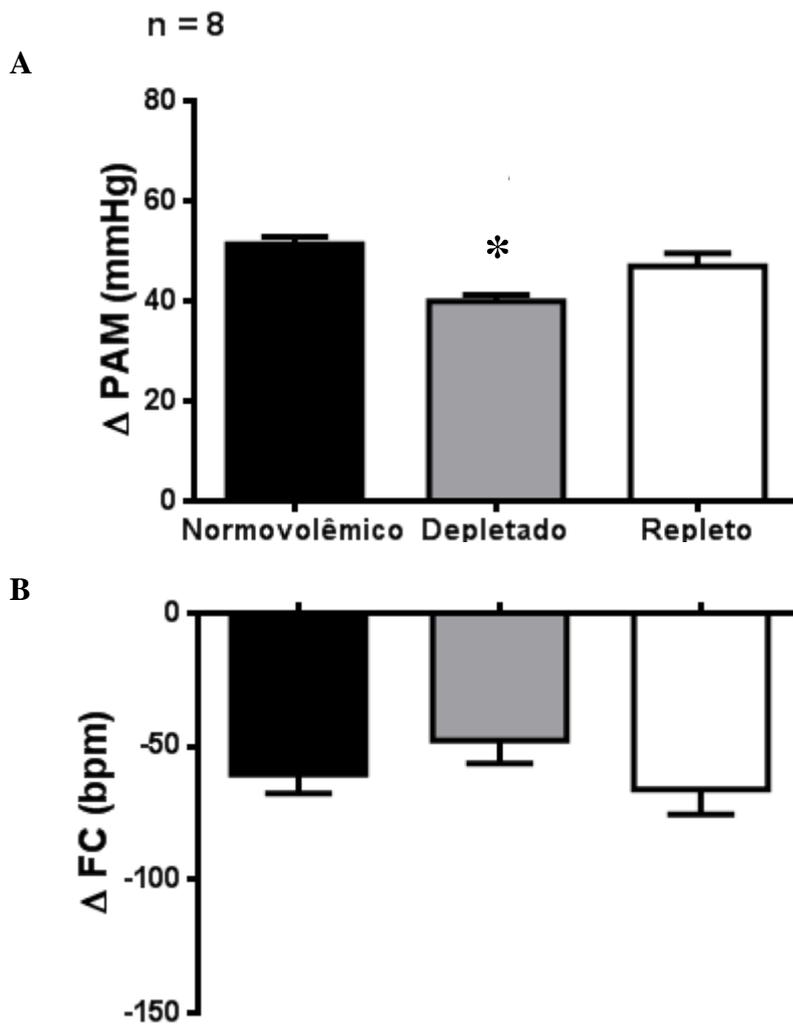
**Figura 10:** Valores basais da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.



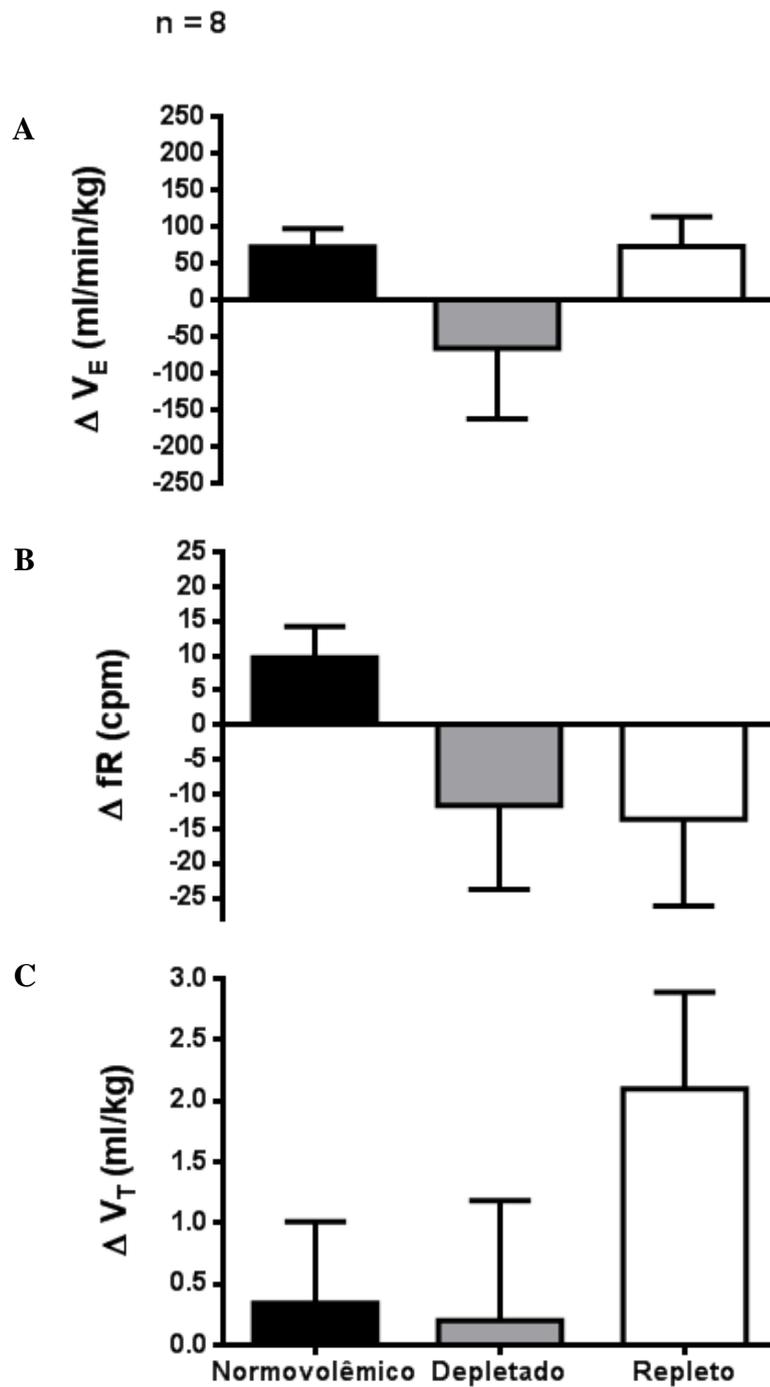
**Figura 11:** Valores basais da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória ( $fR$ , B), e volume corrente ( $V_C$ , C), em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

## **b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por injeção iv em bolus de ANG II**

A injeção iv em bolus de ANG II (50ng/0,1ml por rato) promoveu respostas pressoras e bradicárdicas nos ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio (figura 12). A resposta pressora foi menor em ratos depletados de sódio ( $\Delta +40 \pm 1$ , vs. normovolêmicos:  $+51 \pm 1$  mmHg, figura 12 A) e retorna nos animais repletos de sódio ( $\Delta +47 \pm 3$  mmHg, figura 12 A). As respostas bradicárdicas ( $\Delta -61 \pm 7$ ,  $-48 \pm 9$ ,  $-66 \pm 9$  bpm, respectivamente, figura 12 B),  $V_E$  ( $\Delta +71 \pm 26$ ,  $-66 \pm 96$  e  $+73 \pm 41$  ml/min/kg, respectivamente, figura 13 A), fR ( $\Delta +9,7 \pm 4$ ,  $-11,6 \pm 12$  e  $-13,6 \pm 12$  cpm respectivamente, figura 13 B) e VC ( $\Delta +0,3 \pm 0,7$ ,  $+0,2 \pm 1,0$  e  $+2,1 \pm 0,8$  ml/kg respectivamente, figura 13 C) foram semelhantes nos ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.



**Figura 12:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



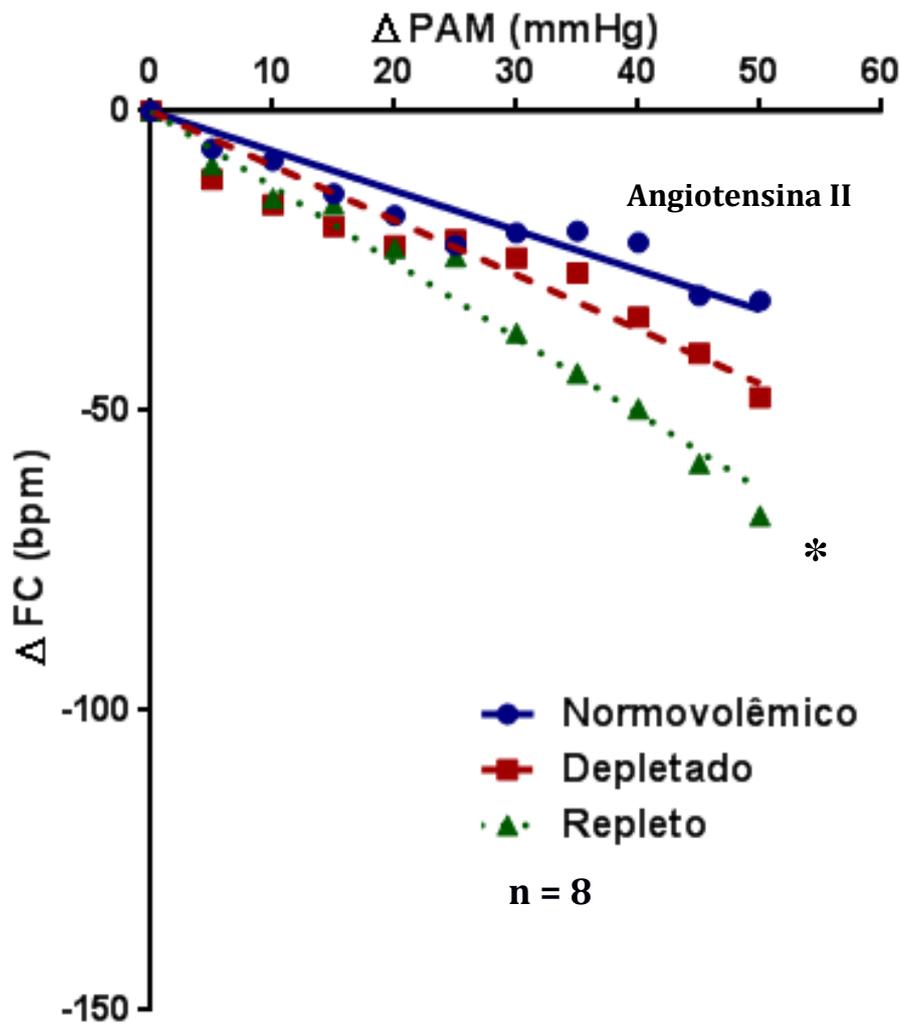
**Figura 13:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta V_C$ , C) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

**c. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação barorreceptores com ANG II em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio.**

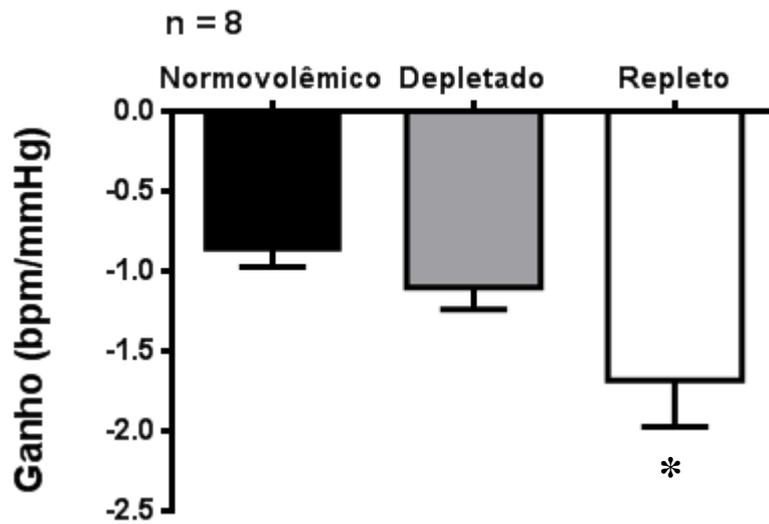
A Figura 14 mostra a sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após injeção iv em bolus de ANG II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos, depletados de sódio e repletos de sódio. A injeção iv em bolus de ANG II promoveu aumento da PAM, sem alterações significativas na bradicardia reflexa entre os ratos depletados e normovolêmicos. No entanto, os ratos repletos de sódio apresentaram uma maior bradicardia reflexa em comparação com os ratos normovolêmicos.

A injeção iv em bolus de ANG II promoveu uma resposta pressora e bradicardia reflexa e o ganho do componente bradicárdico não foi alterado entre os ratos depletados de sódio e normovolêmicos ( $-1,2 \pm 0,1$  bpm/mmHg, vs. normovolêmicos:  $-0,9 \pm 0,1$  bpm/mmHg). No entanto, o ganho do componente bradicárdico foi maior nos ratos repletos de sódio ( $-1,6 \pm 0,2$  bpm/mmHg,  $p < 0,05$ , figura 15).

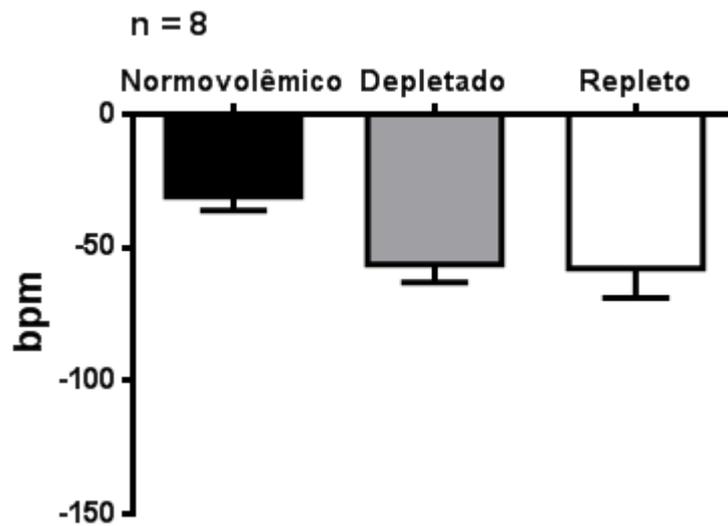
A Figura 16 mostra a bradicardia máxima nas três diferentes condições dos animais: normovolêmicos, depletados e repletos de sódio após a injeção iv em bolus de ANG II e não houve diferença na magnitude dos platôs inferiores ( $-31 \pm 5,2$ ,  $-56,5 \pm 6,7$  e  $-58 \pm 10,9$  bpm, respectivamente).



**Figura 14:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (círculos), depletados de sódio (quadrados) e repletos de sódio (triângulo). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada da regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



**Figura 16:** Bradicardia reflexa máxima em resposta a injeção intravenosa em bolus de angiotensina II (50ng/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) e repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

#### **d. Ingestão cumulativa de água e sódio após a depleção de sódio**

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi realizada para restabelecer o equilíbrio hidroeletrolítico após a depleção de sódio com o diurético/natriurético furosemida (tabela 3)

**Tabela 3.** Ingestão cumulativa de água e NaCl 0,3 M por 2 h, para restabelecer equilíbrio hidroeletrólítico após a depleção de sódio com furosemida.

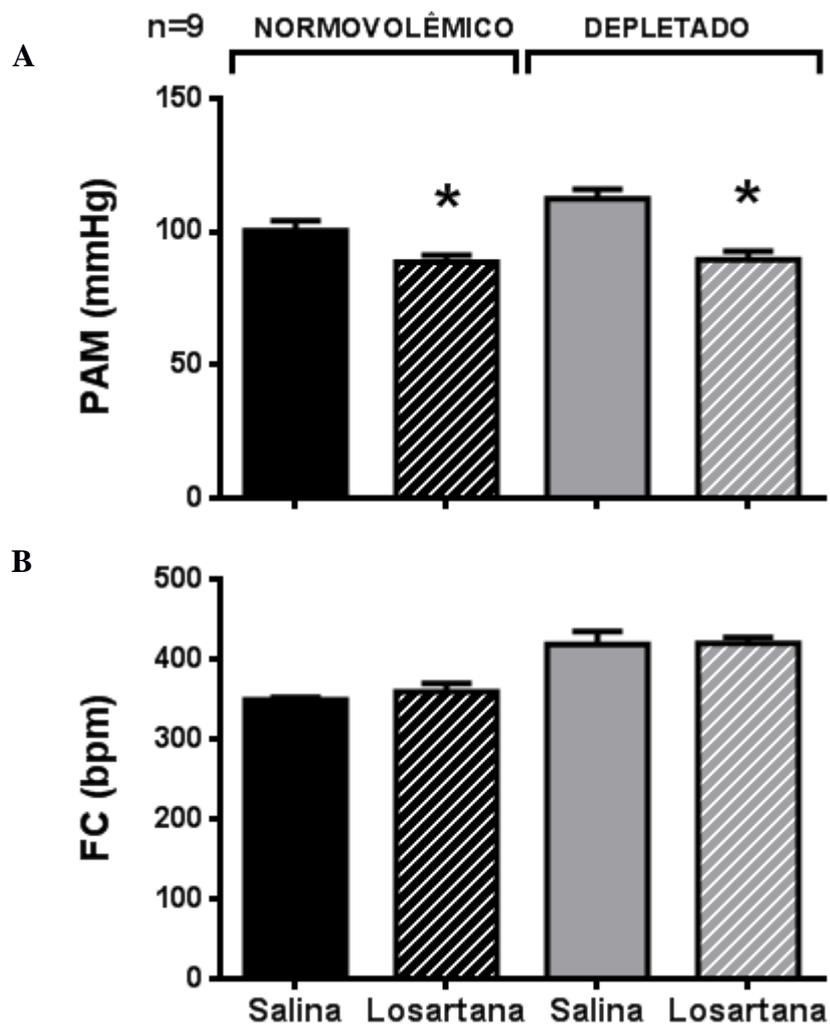
	Tempo			
	30	60	90	120 (min)
NaCl 0,3M	6,3 ± 1	10,5 ± 1,4	11,2 ± 1,2	11,7 ± 1,3
Água	3,1 ± 0,9	5,2 ± 1,2	5,8 ± 1,2	6,6 ± 1,3

Valores expressos pela média ± E.P.M., n = 8 ratos.

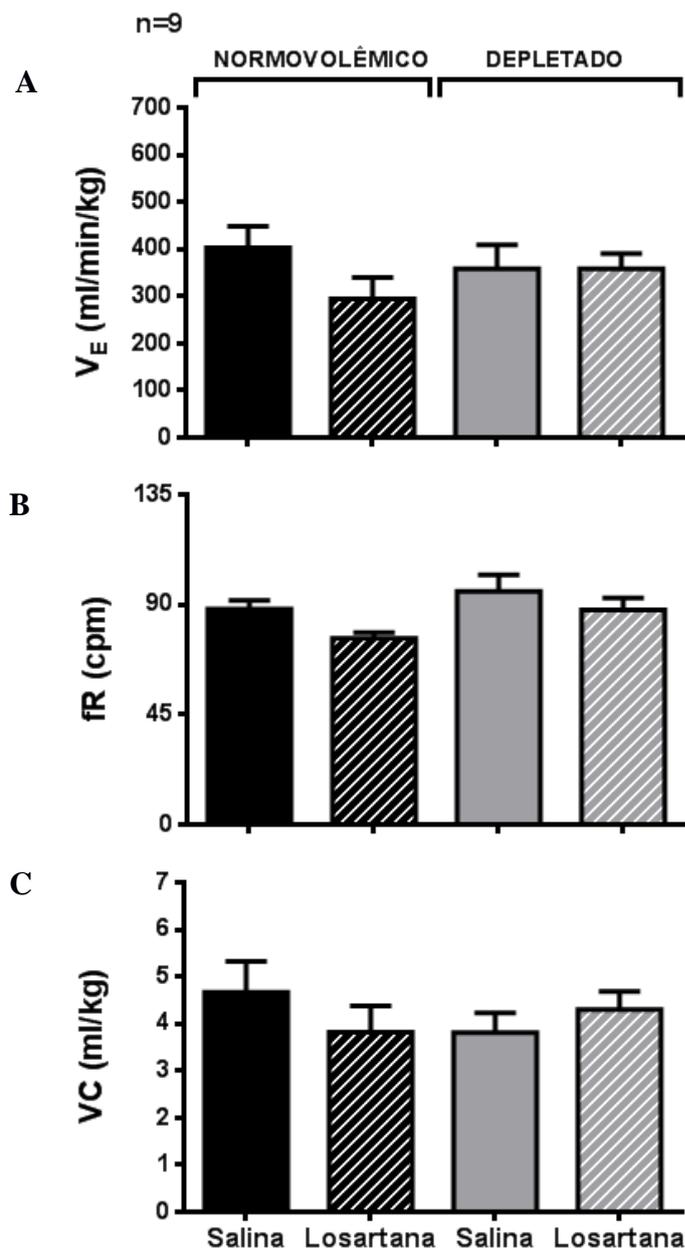
**5.3 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias e sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente, em ratos não anestesiados com e sem o bloqueio de receptores AT<sub>1</sub>.**

**a. Alterações cardiorrespiratórias basais após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT<sub>1</sub>.**

A injeção iv em bolus de losartana (10 mg/kg, antagonista dos receptores angiotensinérgicos AT<sub>1</sub>) promoveu uma queda na PAM nos animais normovolêmicos ( $88 \pm 3$ , vs. salina:  $100 \pm 4$  mmHg,  $p < 0,05$ , figura 17 A), porém não houve alteração na FC ( $359 \pm 10$ , vs. salina:  $349 \pm 3$  bpm, figura 17 B) e na V<sub>E</sub> ( $294 \pm 45$ , vs. salina:  $402 \pm 45$  ml/min/kg, figura 18 A). A injeção iv em bolus de losartana também promoveu uma queda da PAM em animais depletados de sódio ( $89 \pm 3$ , vs. salina:  $112 \pm 4$  mmHg,  $p < 0,05$ , figura 17 A) sem alterar a FC ( $419 \pm 7$ , vs. salina:  $418 \pm 16$  bpm, figura 17 B) e a V<sub>E</sub> ( $372 \pm 32$ , vs. salina  $358 \pm 50$  ml/min/kg, figura 18 A). A figura 13 B e C mostra que também não houve alteração na fR e VC após a injeção iv em bolus de losartana ou salina nos animais normovolêmicos e depletados de sódio.



**Figura 17:** Valores da pressão arterial média (PAM, A) e frequência cardíaca (FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n = 9/\text{grupo}$ . \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



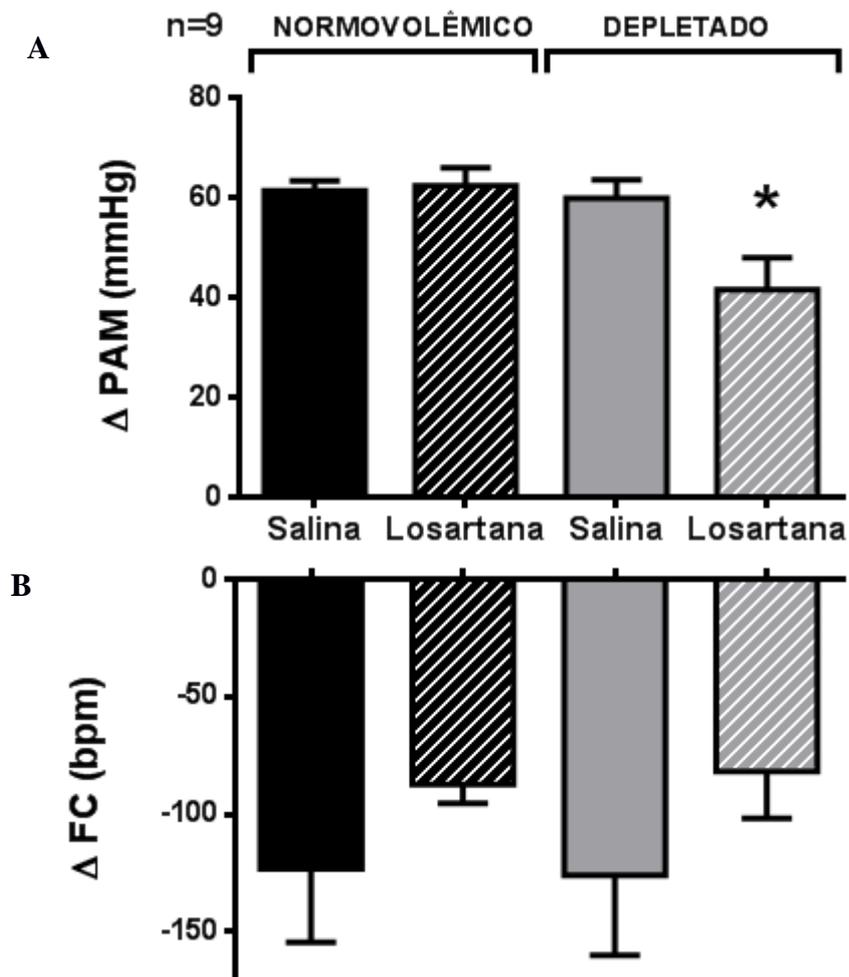
**Figura 18:** Valores da ventilação ( $V_E$ , A), frequência respiratória (fR, B), e volume corrente (VC, C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n = 9$ /grupo.

**b. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de fenilefrina após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT<sub>1</sub>.**

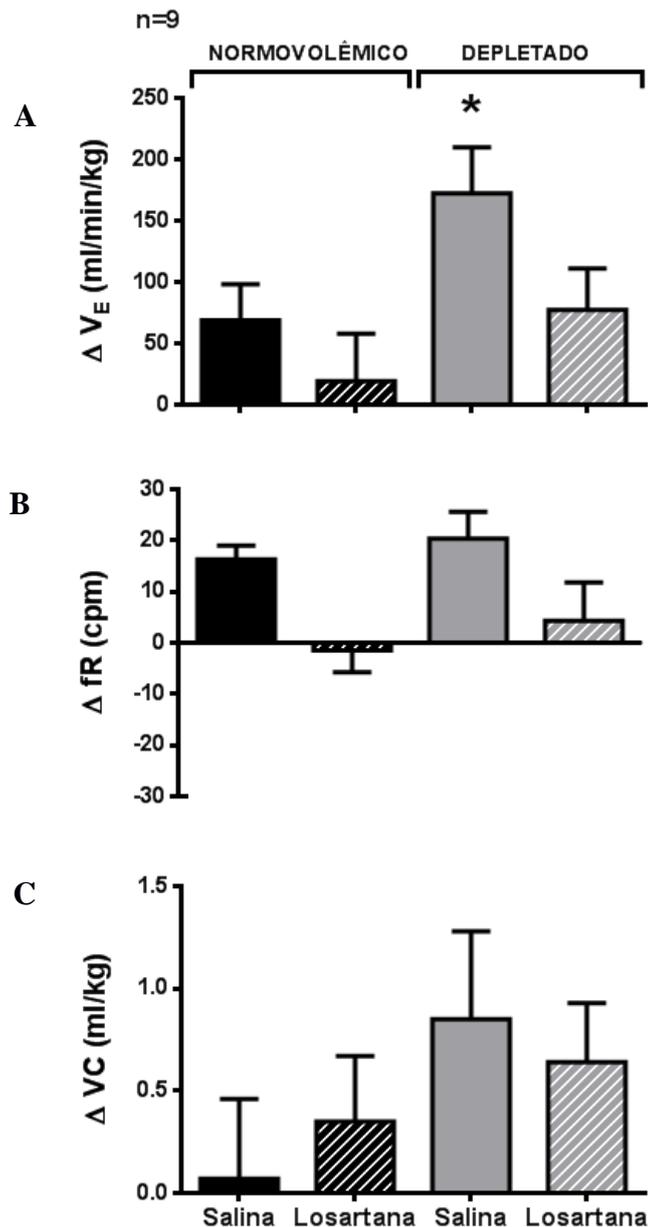
A injeção iv em bolus de losartana (10 mg/kg) não promoveu alterações na resposta pressora e bradicárdica produzidas pela infusão iv de fenil (5 µg/kg) nos ratos normovolêmicos ( $\Delta +62 \pm 4$  mmHg e  $\Delta -87 \pm 8$  bpm, respectivamente, vs. salina:  $+61 \pm 2$  mmHg e  $\Delta -123 \pm 31$  bpm, respectivamente, figura 19 A e B). Nos animais depletados de sódio, a injeção iv em bolus de losartana promoveu uma diminuição da resposta pressora produzida pela infusão iv de fenil ( $\Delta +41 \pm 6$ , vs. salina:  $+60 \pm 4$  mmHg) sem alterações na FC ( $\Delta -82 \pm 20$ , vs. salina:  $-126 \pm 34$  bpm).

A injeção iv em bolus de losartana não promoveu alterações na  $V_E$  após a infusão iv de fenil nos ratos normovolêmicos ( $\Delta +19 \pm 39$  ml/min/kg, vs. salina:  $+69 \pm 29$  ml/min/kg, figura 20 A). No entanto, os animais depletados de sódio apresentaram um aumento da  $V_E$  ( $\Delta +172 \pm 37$  ml/min/kg, vs. normovolêmicos:  $\Delta +69 \pm 29$  ml/min/kg) que foi atenuado pela injeção iv em bolus de losartana ( $\Delta +77 \pm 32$  ml/min/kg). O aumento da  $V_E$  observado nos animais depletados de sódio foi devido a um aumento não significativo da fR e VC observado na figura 20 B e C.

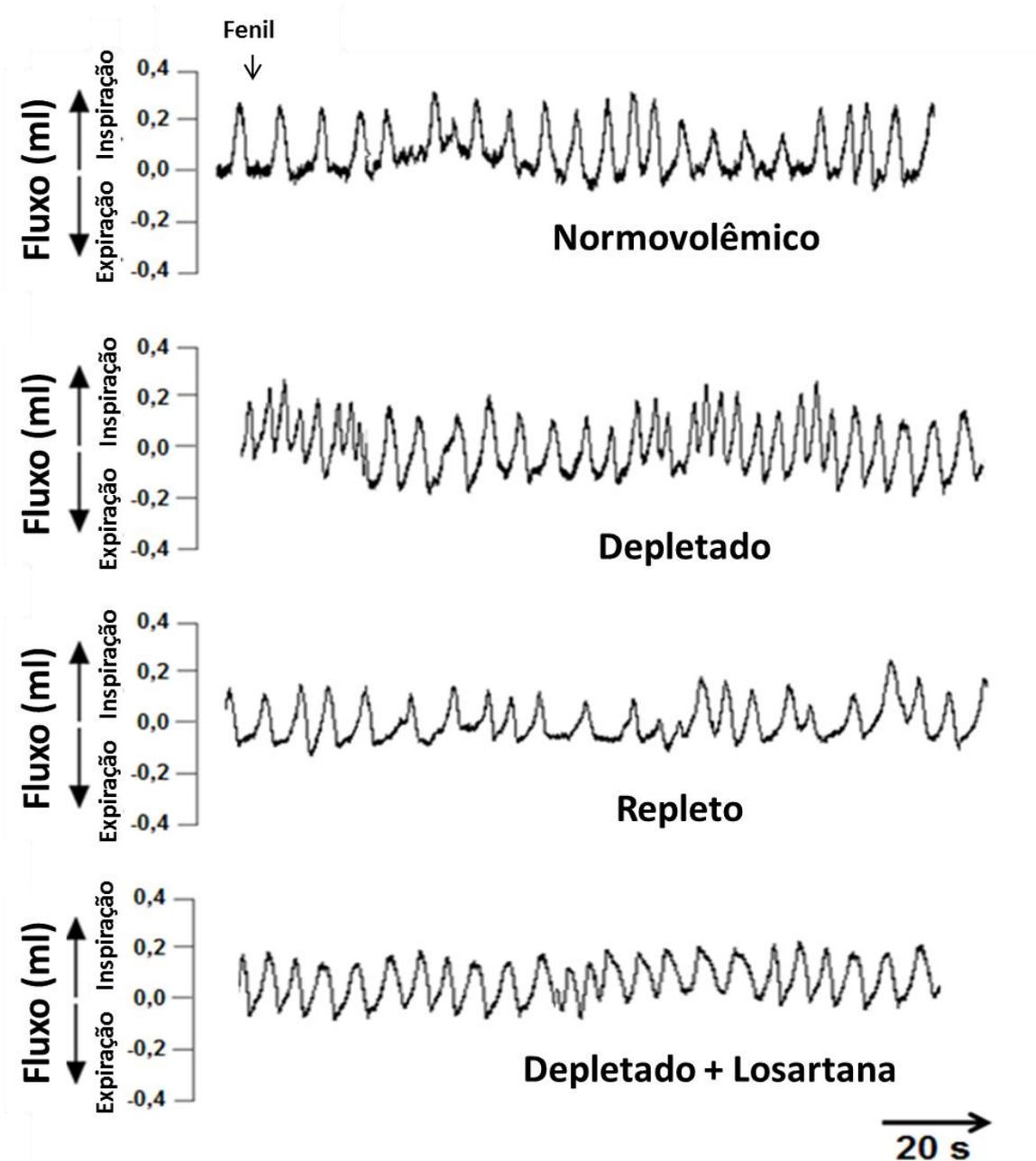
Os ratos normovolêmicos apresentaram um discreto, porém significativo, aumento da  $V_E$  após a infusão iv de fenil (ventilação de ratos normovolêmicos antes:  $328 \pm 36$  ml/kg/min e após a infusão iv de fenil:  $403 \pm 18$  ml/kg/min,  $p < 0,05$  – gráfico não apresentado).



**Figura 19:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



**Figura 20:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).

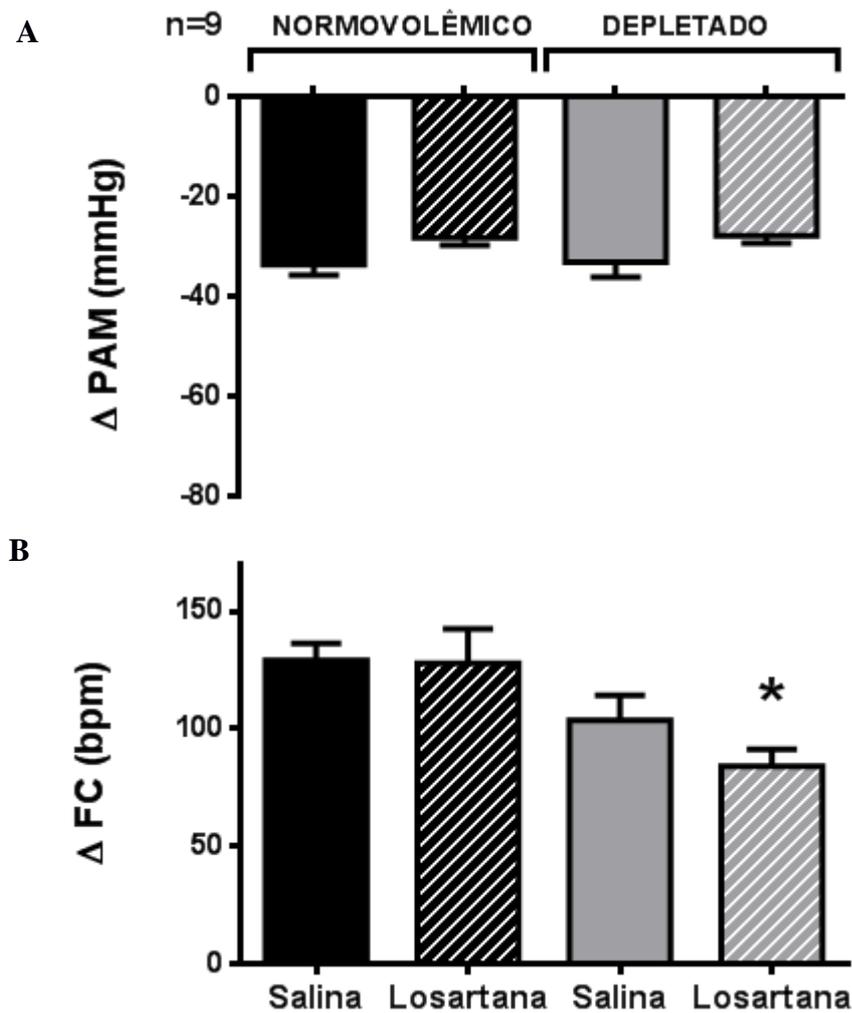


**Figura 20b:** Registro do fluxo inspiratório e expiratório (ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio), depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), repletos de sódio (após 2 h de ingestão cumulativa de água e 0,3 M de sódio), e animais depletados de sódio que tiveram bloqueio dos receptores  $AT_1$  após injeção intravenosa de losartana (10 mg/kg de peso corporal).

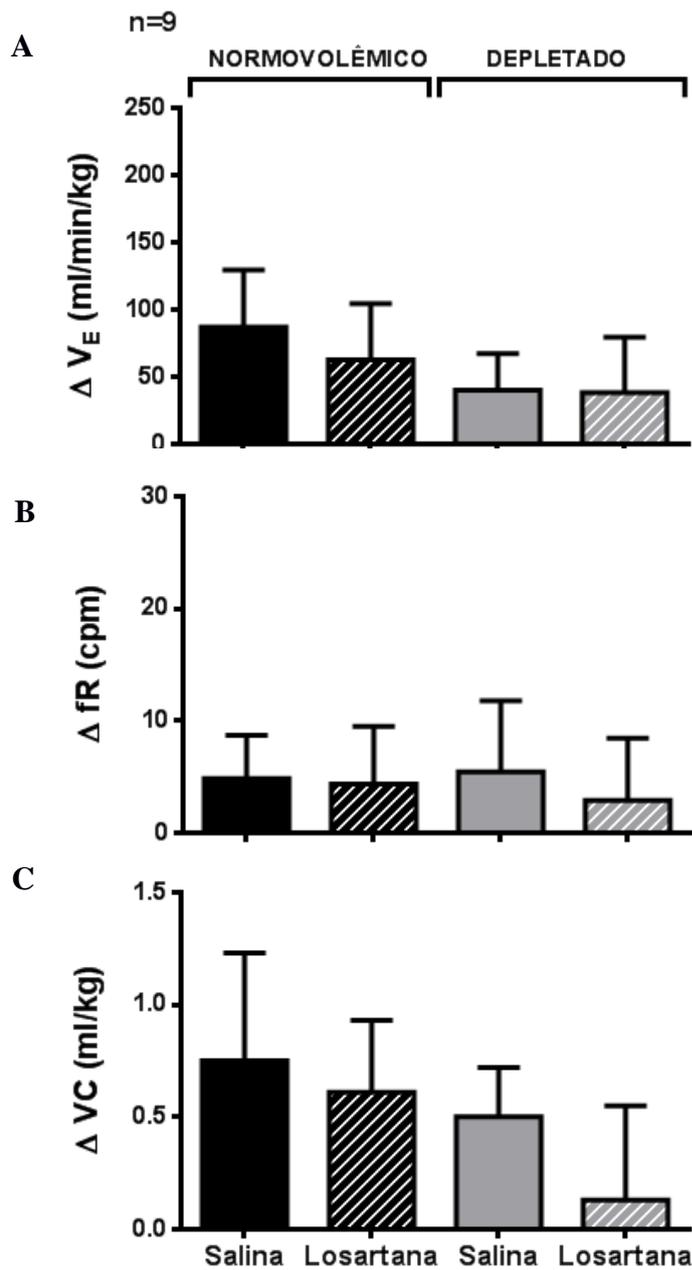
**c. Alterações cardiorrespiratórias produzidas por infusão iv de nitroprussiato de sódio após injeção iv de salina ou de losartana para o bloqueio de receptores AT<sub>1</sub>.**

A injeção iv em bolus de losartana (10 mg/kg) não promoveu alterações na resposta hipotensora e taquicárdica produzidas pela infusão iv de NP (30 µg/kg/ml, 0,011ml/s) nos ratos normovolêmicos ( $\Delta -28 \pm 2$  mmHg e  $\Delta +128 \pm 15$  bpm, respectivamente, vs. salina:  $\Delta -33 \pm 2$  mmHg e  $\Delta +129 \pm 7$  bpm, respectivamente, figura 21 A e B). Nos animais depletados de sódio, a injeção iv em bolus de losartana não alterou a resposta hipotensora produzida pela infusão iv de NP ( $\Delta -28 \pm 1$ , vs. salina:  $-33 \pm 3$  mmHg, figura 21 A), mas reduziu a resposta taquicárdica ( $\Delta +84 \pm 7$ , vs. salina:  $+103 \pm 11$  bpm, figura 21 B).

A injeção iv em bolus de losartana (10 mg/kg) não promoveu alterações na  $V_E$  pós a infusão iv de NP (30 µg/kg) nos ratos normovolêmicos ( $\Delta +63 \pm 42$ , vs. salina:  $+87 \pm 43$  ml/min/kg, figura 22 A). A injeção iv em bolus de losartana (10 mg/kg) também não promoveu alterações na  $V_E$  após a infusão iv de NP (30 µg/kg) nos ratos depletados de sódio ( $\Delta +38 \pm 41$ , vs. salina:  $+40 \pm 27$  ml/min/kg, figura 22 A). A figura 22 B e C mostra que também não houve alteração na fR e VC.



**Figura 21:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina. (ANOVA uma via e pós teste de Dunn's,  $p < 0,05$ ).



**Figura 22:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após injeção intravenosa em bolus de salina (barras lisas) ou losartana (barras hachuradas) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio) durante a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n = 9/\text{grupo}$ .

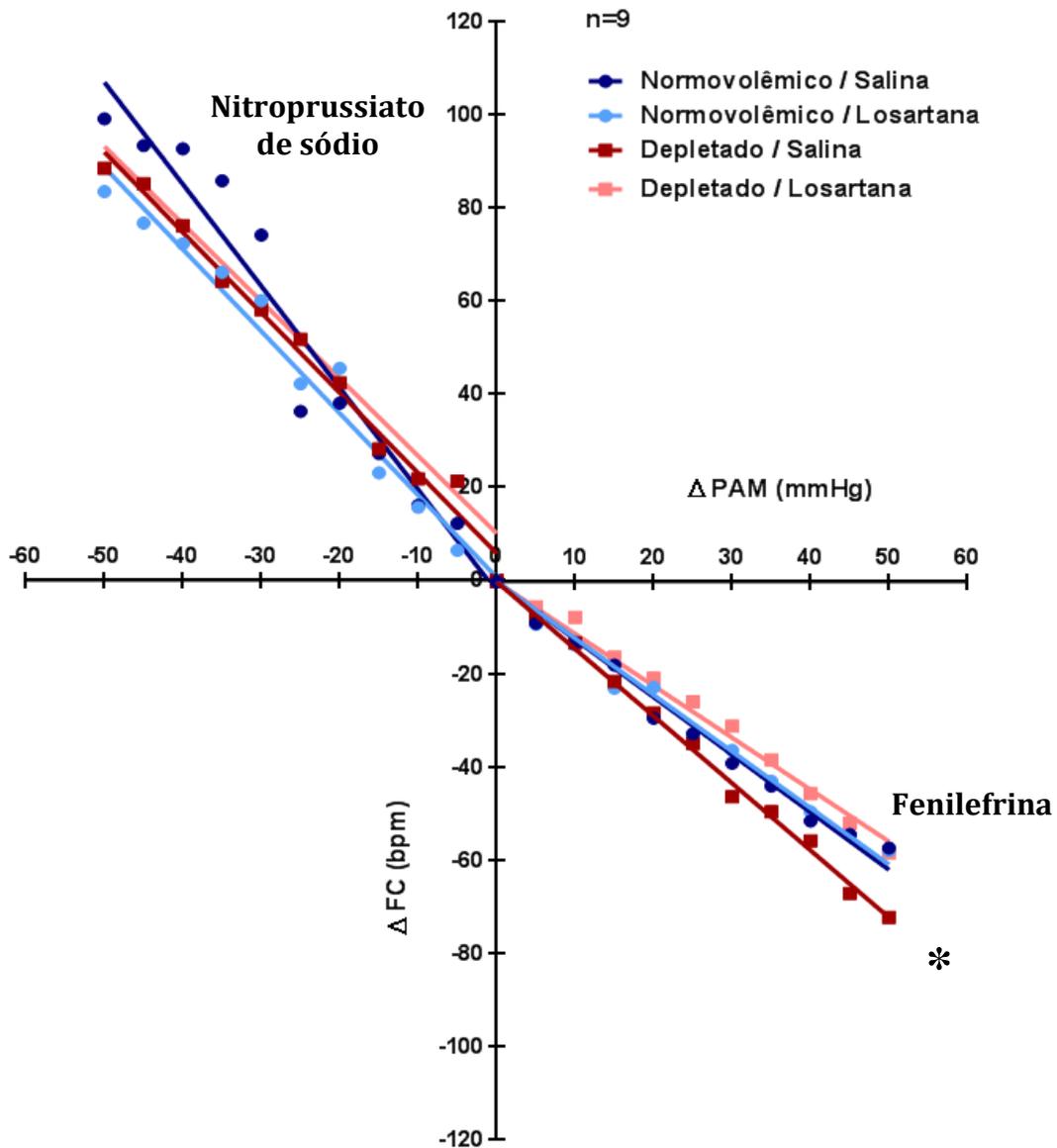
**d. Alterações na sensibilidade do barorreflexo após a ativação e desativação dos barorreceptores com fenil e NP respectivamente, em ratos normovolêmicos ou depletados com e sem o bloqueio dos receptores AT<sub>1</sub>.**

A Figura 23 mostra a sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão iv de NP (30  $\mu$ g/kg) e fenil (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio que receberam injeção iv em bolus de salina ou losartana. A infusão iv de NP produziu diminuição da PAM, sem alterações significativas na taquicardia reflexa em todos os grupos de animais (normovolêmicos / salina; normovolêmicos / losartana; depletados / salina e depletados / losartana). No entanto, a infusão iv de fenil promoveu aumento da PAM, com uma maior bradicardia reflexa em ratos depletados de sódio que receberam injeção iv de salina comparados com ratos normovolêmicos que receberam injeção iv de salina. A injeção iv de losartana nos ratos depletados de sódio atenuou o aumento da bradicardia reflexa, sendo que a bradicardia reflexa retornou a valores similares aos animais normovolêmicos ( $p < 0,05$ ).

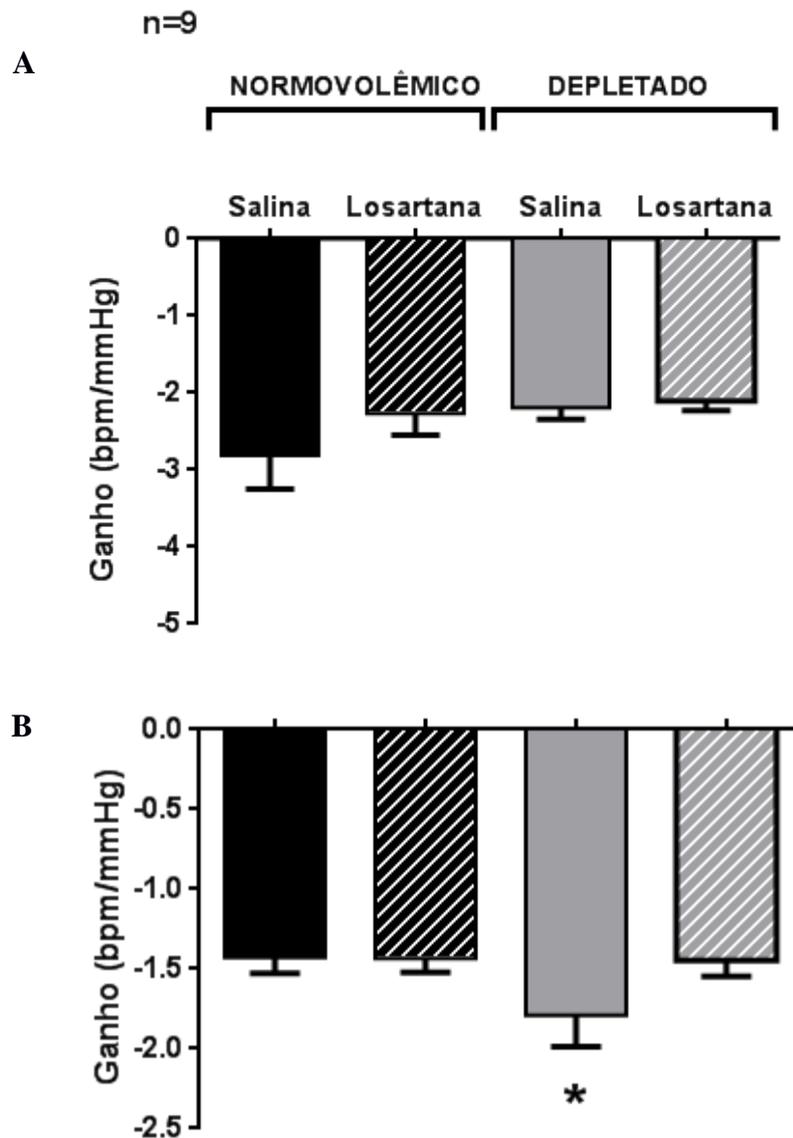
A figura 24 A mostra que não houve diferença no ganho do componente taquicárdico nos animais normovolêmicos que receberam injeção iv de losartana comparados aos que receberam injeção iv de salina ( $2,3 \pm 0,3$ , vs. salina:  $2,8 \pm 0,4$  bpm/mmHg.), assim como não houve diferença nos animais depletados de sódio que receberam injeção iv de losartana ou salina ( $2,1 \pm 0,1$ , vs. salina:  $2,2 \pm 0,1$  bpm/mmHg). Não houve diferença no ganho do componente bradicárdico nos animais normovolêmicos que receberam injeção iv de losartana ou salina ( $-1,4 \pm 0,1$ , vs. salina:  $-1,4 \pm 0,1$  bpm/mmHg, Figura 24 B), porém os animais depletados de sódio que receberam injeção iv de salina tiveram um aumento no ganho do componente bradicárdico ( $-1,8 \pm 0,2$ , vs. normovolêmico:  $-1,4 \pm 0,1$  bpm/mmHg, Figura 24 B) e este

aumento foi atenuado com a injeção iv de losartana ( $-1,4 \pm 0,1$ , vs. salina:  $-1,8 \pm 0,2$  bpm/mmHg, Figura 24B).

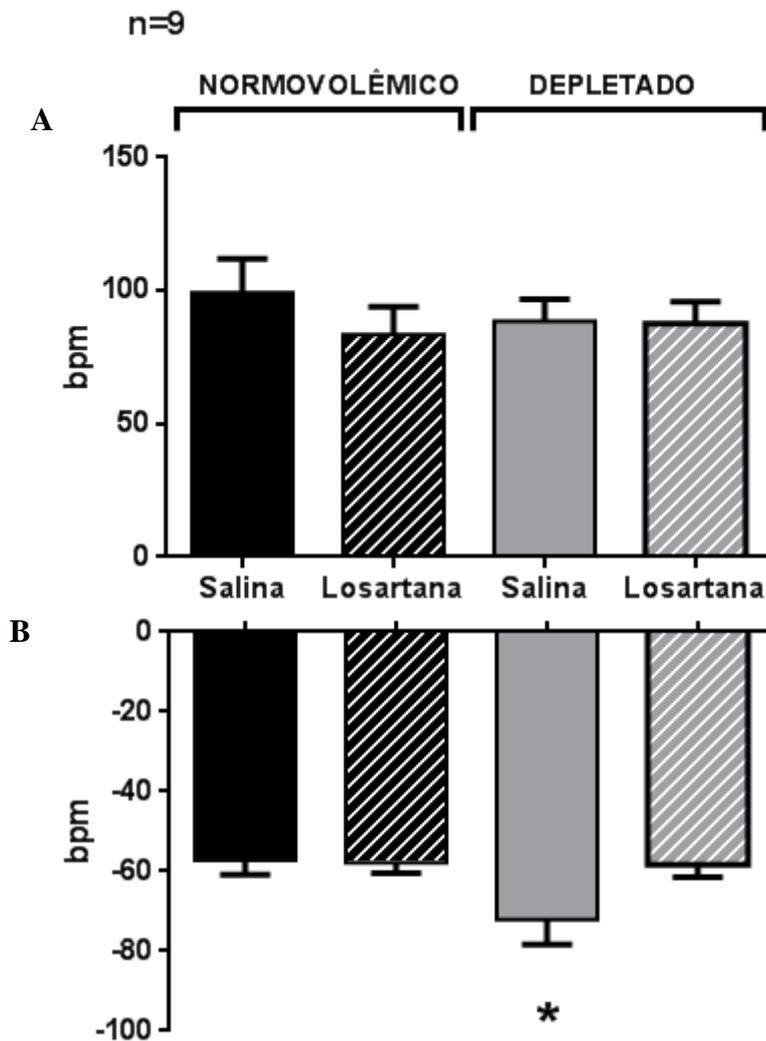
A figura 25 A mostra que não houve diferença na taquicardia máxima nos animais normovolêmicos que receberam injeção iv de losartana ou salina ( $83,5 \pm 10,4$ , vs. salina:  $99,2 \pm 12,7$  bpm), assim como não houve diferença nos animais depletados de sódio que receberam injeção iv de losartana ou salina ( $87,5 \pm 8,3$ , vs. salina:  $88,5 \pm 8,3$  bpm). A figura 25 B mostra que não houve diferença na bradicardia máxima nos animais normovolêmicos que receberam injeção iv de losartana comparados aos que receberam injeção iv de salina ( $-55,8 \pm 2,6$ , vs. salina:  $-57,2 \pm 3,5$  bpm), porém os animais depletados de sódio que receberam injeção iv de salina tiveram um aumento na bradicardia máxima comparados aos normovolêmicos que receberam injeção iv de salina ( $-72 \pm 6$ , vs. normovolêmico:  $-55,8 \pm 2,6$  bpm) e este aumento foi atenuado com a injeção iv de losartana ( $-58,3 \pm 3,1$ , vs. salina:  $-72 \pm 6$  bpm).



**Figura 23:** Sensibilidade do barorreflexo determinada pela regressão linear mostrando as variações reflexas na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em respostas às variações na pressão arterial ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu$ g/kg) e fenilefrina (5  $\mu$ g/kg) em ratos normovolêmicos (círculos) ou depletados de sódio (quadrados), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou bloqueador de receptores AT<sub>1</sub> (losartana). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos/salina (p<0,05).



**Figura 24:** Variações no ganho do barorreflexo (primeira derivada regressão linear) mostrando a resposta reflexa da variação da frequência cardíaca ( $\Delta$  FC) em resposta à variação da pressão arterial média ( $\Delta$  PAM) após a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (A) e fenilefrina ( $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (B) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou losartana. Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.;  $n = 9/\text{grupo}$ . \*diferente ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).



**Figura 25:** Taquicardia reflexa máxima (A) em resposta a infusão intravenosa de nitroprussiato de sódio (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e bradicardia reflexa máxima (B) em resposta a infusão intravenosa de fenilefrina (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio), que receberam injeção intravenosa em bolus do veículo (salina) ou losartana. Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = 9/grupo. \*diferente dos ratos normovolêmicos que receberam injeção iv em bolus de salina (ANOVA uma via e pós teste de student Newman – Keuls,  $p < 0,05$ ).

**e. Concentrações plasmáticas de sódio, potássio, proteínas totais e osmolaridade nos animais normovolêmicos ou depletados de sódio**

A tabela 4 mostra que a depleção de sódio diminuiu a concentração de sódio e de potássio plasmático ( $142 \pm 3$  e  $3,8 \pm 0,2$  meq/l, vs. normovolêmicos:  $147 \pm 3$  e  $4,1 \pm 0,1$  meq/l, respectivamente) e aumentou a concentração de proteína totais plasmática ( $6,8 \pm 0,1$ , vs. normovolêmicos:  $5,8 \pm 0,2$  g/100 ml). Não houve diferença na osmolalidade nos animais depletados de sódio ( $298 \pm 3$ , vs. normovolêmicos:  $303 \pm 4$  mOsm/kg).

**Tabela 4:** Concentração plasmática de sódio ( $P_{Na^+}$ ), potássio ( $P_{K^+}$ ), proteínas totais ( $P_t$ ), osmolalidade ( $P_{Osm}$ ) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio.

	<b>Normovolêmicos</b>	<b>Depletados</b>
$P_{Na^+}$ (meq/l)	147 ± 3	142 ± 3 *
$P_{K^+}$ (meq/l)	4,1 ± 0,1	3,8 ± 0,2 *
$P_t$ (g/100 ml)	5,8 ± 0,2	6,8 ± 0,1 *
$P_{Osm}$ (mOsm/kg)	303 ± 4	298 ± 3

Valores expressos pela média ± E.P.M., n = 12 ratos;  
\*diferente de normovolêmico.

**f. Análise gasométrica de sangue arterial nos ratos normovolêmicos ou depletados de sódio**

A Tabela 5 mostra que a depleção de sódio aumentou o potencial hidrogeniônico (pH), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), hematócrito (Hct) e hemoglobinas (Hb) - ( $7,56 \pm 0,012$ ;  $36,46 \pm 0,99$  mmol/l;  $40,36 \pm 1,03$  %,  $13,68 \pm 0,33$  g/dl, vs. normovolêmicos:  $7,50 \pm 0,008$ ;  $30,9 \pm 0,80$  mmol/l;  $34,17 \pm 0,88$  %,  $11,59 \pm 0,3$  g/dl, respectivamente). Não houve diferença na pressão parcial de gás carbônico ( $\text{PCO}_2$ ), pressão parcial de oxigênio ( $\text{PO}_2$ ) e saturação de oxigênio ( $\text{sO}_2$ ) em ratos normovolêmicos:  $39,71 \pm 0,85$  e  $74 \pm 1,85$  mmHg e  $95,72 \pm 0,29$  %, respectivamente, e em ratos depletados de sódio:  $40,46 \pm 0,65$  e  $71,18 \pm 1,08$  mmHg e  $96 \pm 0,19$ %, respectivamente.

**Tabela 5:** Potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de gás carbônico (PCO<sub>2</sub>), pressão parcial de oxigênio (PO<sub>2</sub>), bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), saturação de oxigênio (sO<sub>2</sub>), hematócrito (Hct) e hemoglobina (Hb) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio.

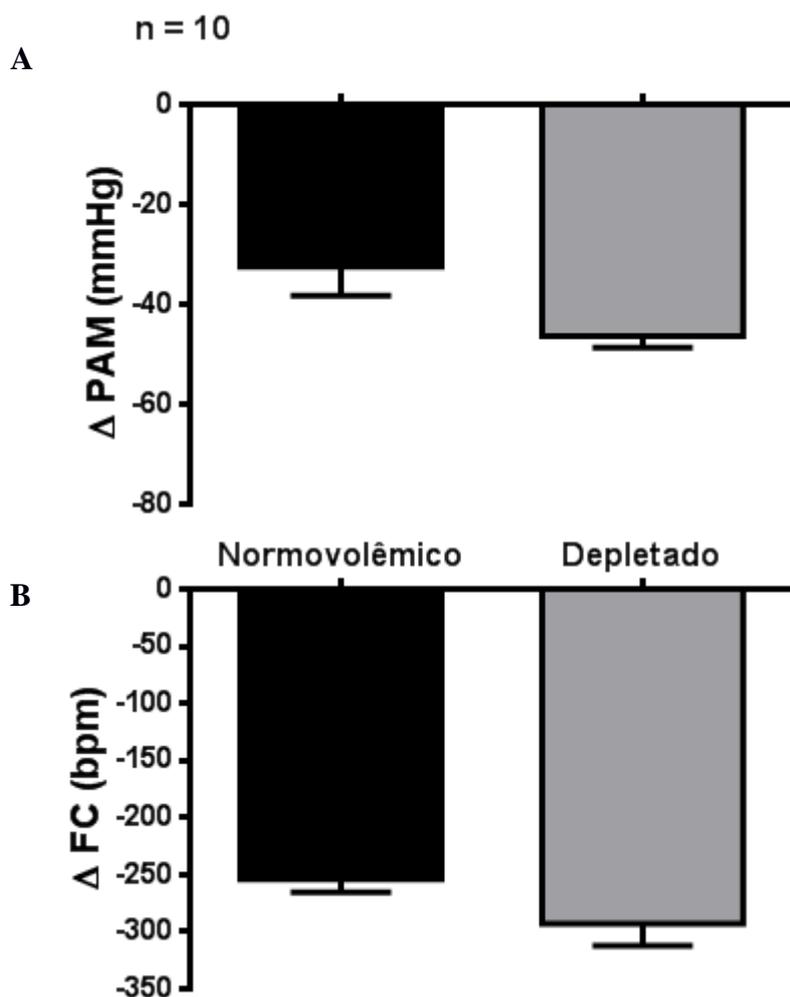
	<b>Normovolêmicos</b>	<b>Depletados</b>
pH	7,49 ± 0,008	7,56 ± 0,011 *
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	39,70 ± 0,85	40,45 ± 0,65
PO <sub>2</sub> (mmHg)	74 ± 1,85	71,18 ± 1,07
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	30,9 ± 0,80	36,46 ± 0,98 *
Hct (%)	34,16 ± 0,87	40,36 ± 1,02 *
Hb (g/dl)	11,59 ± 0,29	13,68 ± 0,32 *
sO <sub>2</sub> (%)	95,72 ± 0,29	96 ± 0,19

Valores expressos pela média ± E.P.M., n = 12 ratos;

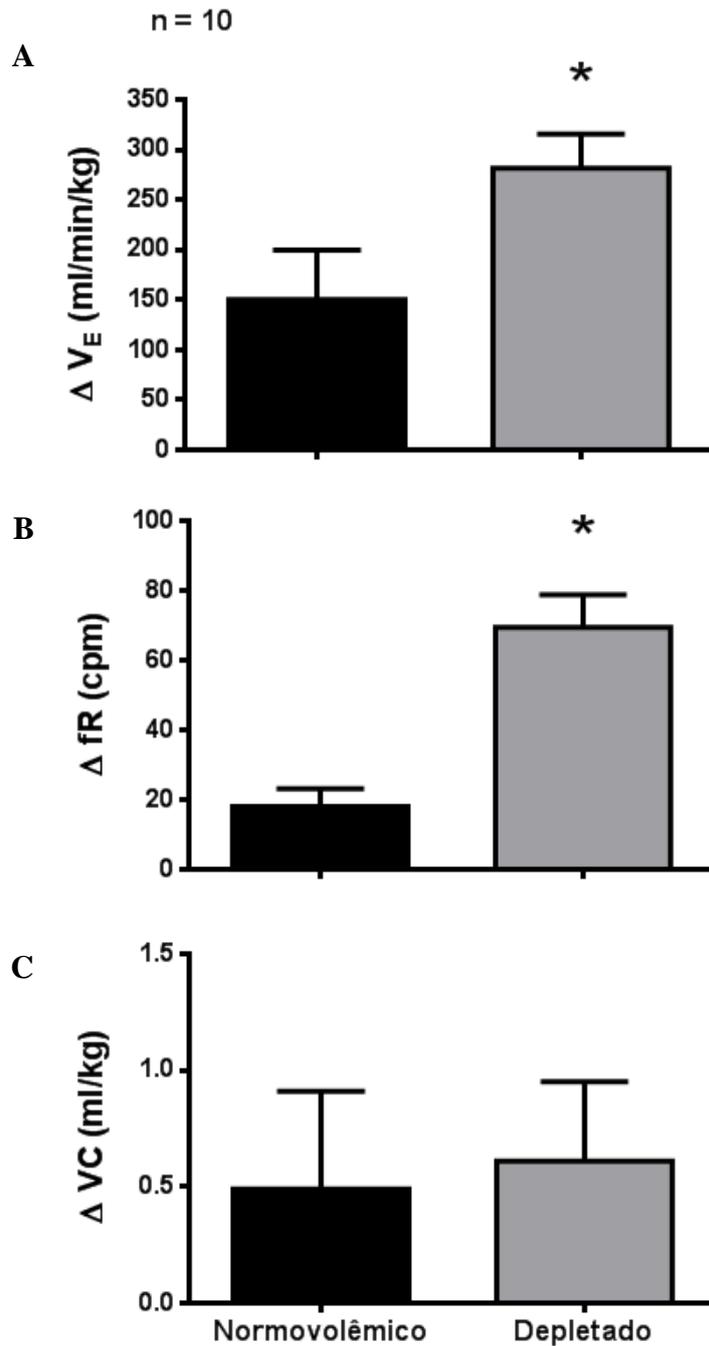
\*diferente de normovolêmico.

#### **5.4 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação de receptores cardiopulmonares em ratos não anestesiados.**

A figura 26 mostra as respostas hipotensoras e bradicárdicas semelhantes após injeção iv em bolus de fenilbiguanida (50  $\mu\text{g/kg/ml}$ ) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio ( $\Delta -32 \pm 6$  e  $-46 \pm 2$  mmHg e  $\Delta -254 \pm 11$  e  $-293 \pm 19$  bpm, respectivamente). Porém, os ratos depletados de sódio apresentaram um aumento na  $V_E$  ( $\Delta +281 \pm 34$ , vs. normovolêmicos:  $+150 \pm 50$  ml/min/kg, figura 27 A,  $p < 0,05$ ) e na fR ( $\Delta +69 \pm 5$ , vs. normovolêmicos:  $18 \pm 5$  cpm, figura 27B,  $p < 0,05$ ), sem alterar o VC ( $\Delta +0,5 \pm 4$ , vs. normovolêmicos:  $0,6 \pm 0,3$  ml/kg, figura 27 C) em comparação aos ratos normovolêmicos.



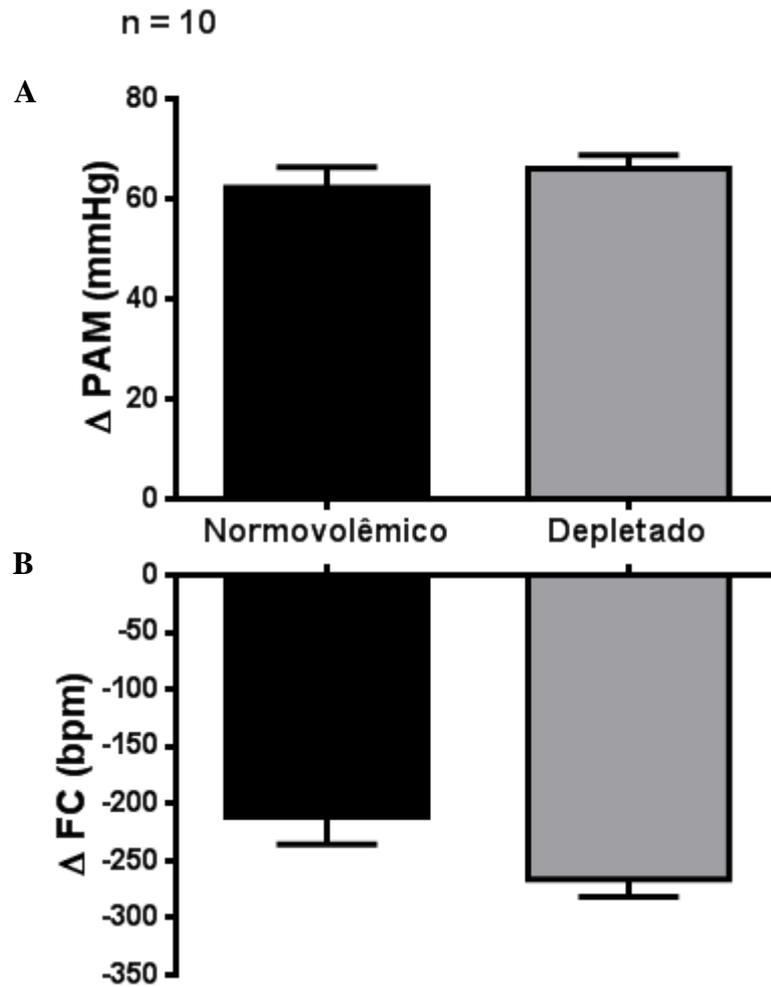
**Figura 26:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de fenilbiguanida ( $50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{ml}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.



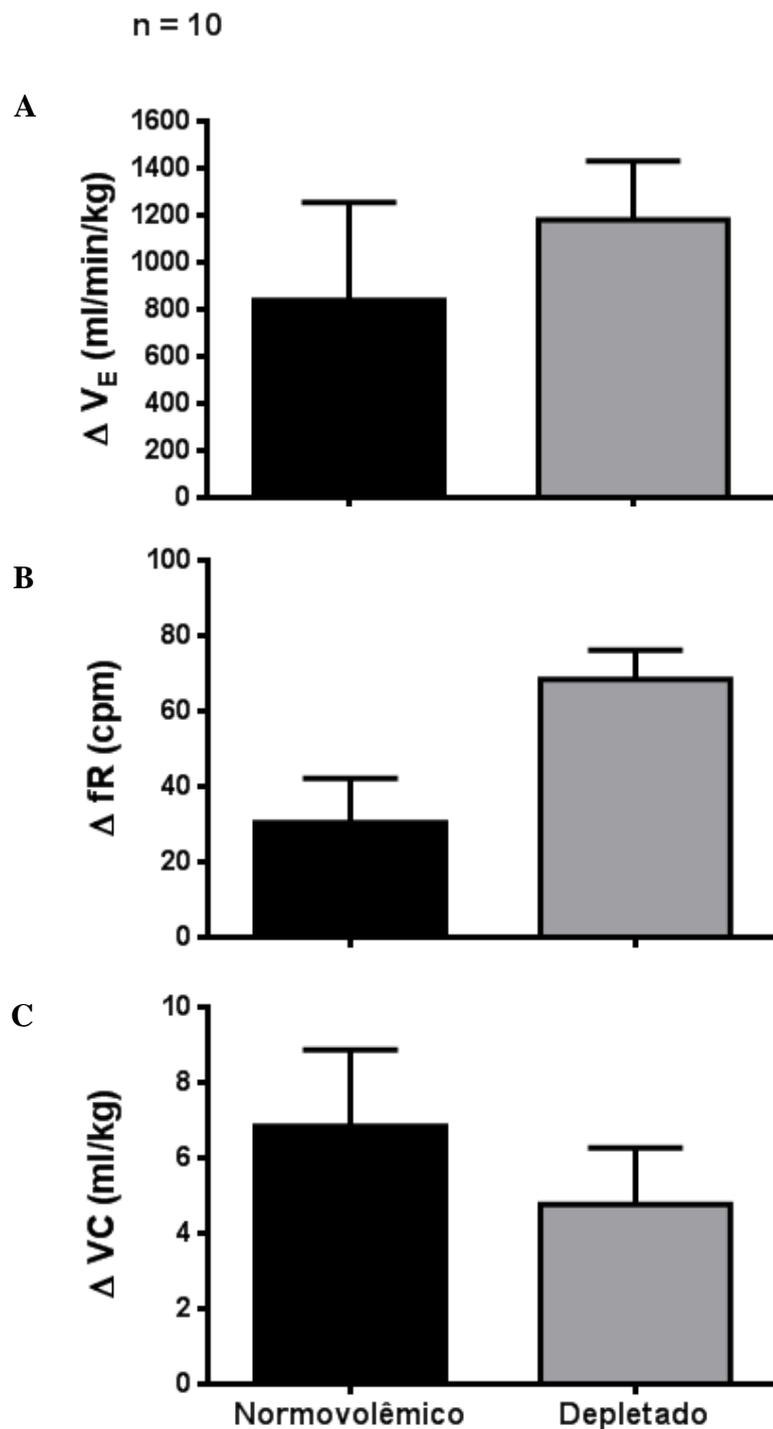
**Figura 27:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após injeção intravenosa em bolus de fenilbiguanida (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos. \*diferente dos ratos normovolêmicos (teste t de student,  $p < 0,05$ ).

### **5.5 Efeito da depleção de sódio sobre as respostas cardiorrespiratórias após a ativação dos quimiorreceptores periféricos em ratos não anestesiados.**

A figura 28 mostra respostas pressoras e bradicárdicas semelhantes após injeção iv in bolus de KCN (40  $\mu$ g/0,1ml) em ratos normovolêmicos e depletados de sódio ( $\Delta$  +62  $\pm$  4 e +66  $\pm$  3 mmHg e  $\Delta$  -211  $\pm$  24 e -266  $\pm$  15 bpm, respectivamente). A figura 29 mostra que a  $V_E$ , fR e VC também foram semelhantes entre os ratos normovolêmicos e depletados de sódio ( $\Delta V_E$  + 838  $\pm$  417 e +1181  $\pm$  248 ml/min/kg, figura 29 A,  $\Delta$  fR: +30,4  $\pm$  12 e +68,5  $\pm$  8 cpm, figura 29 B e  $\Delta$  VC: +6,8  $\pm$  2,0 e +4,8  $\pm$  1,5 ml/kg, figura 29 C, respectivamente).



**Figura 28:** Variações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM, A) e frequência cardíaca ( $\Delta$  FC, B) após injeção intravenosa em bolus de cianeto de potássio (KCN, - (40  $\mu$ g/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.



**Figura 29:** Variações na ventilação ( $\Delta V_E$ , A), frequência respiratória ( $\Delta fR$ , B), e volume corrente ( $\Delta VC$ , C) após injeção intravenosa em bolus de cianeto de potássio (KCN, 40  $\mu$ g/0,1ml) em ratos normovolêmicos (antes da depleção de sódio) ou depletados de sódio (após injeção subcutânea de furosemida associada a 24 h de dieta deficiente em sódio). Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  E.P.M.; n = número de ratos.

## 6 DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que a ativação dos barorreceptores por infusão iv do agente vasoconstritor fenil produziu um aumento da  $V_E$  em ratos depletados de sódio e este aumento retornou aos valores normais em ratos repletos de sódio (após 2 h de ingestão de água e 0,3 M de sódio, figura 4). Além disso, nossos resultados também mostraram que a administração do bloqueador de receptores angiotensinérgicos  $AT_1$ , losartana, reduziu o aumento da  $V_E$  que ocorre durante ativação do barorreflexo em animais depletados de sódio (figura 20). O ganho do componente bradicárdico também aumentou nos animais depletados de sódio e também voltou aos valores normais em ratos repletos de sódio (figura 7 e 8). Da mesma forma, o bloqueio de receptores angiotensinérgicos  $AT_1$  reduziu o aumento do ganho do componente bradicárdico nos animais depletados de sódio durante ativação do barorreflexo (figura 23 e 24). Nossos resultados ainda mostraram que a ativação do barorreflexo com infusão iv de fenil produziu respostas pressoras e bradicárdicas semelhantes em ratos normovolêmicos, depletados e repletos de sódio (figura 3), porém animais depletados de sódio com bloqueio de receptores angiotensinérgicos  $AT_1$  tiveram uma redução da resposta pressora após a fenil, sem alterações na bradicardia reflexa (figura 19).

Por outro lado, a desativação do barorreflexo por infusão iv do vasodilatador NP não alterou as respostas hipotensoras, taquicárdicas e ventilatórias (figuras 5 e 6), bem como o ganho do componente taquicárdico nos animais normovolêmicos, depletados e repletos de sódio (figura 7 e 8), sugerindo que o aumento da  $V_E$  e o aumento no ganho do componente bradicárdico durante a depleção de sódio são mecanismos específicos que ocorrem durante a ativação do barorreflexo, mas não durante a desativação desse reflexo. Também vimos que o bloqueio dos receptores angiotensinérgicos  $AT_1$  reduziu a taquicardia reflexa em animais depletados de sódio comparado com os animais normovolêmicos (figura 21).

Nossos resultados também demonstraram que a injeção iv em bolus de outro agente vasopressor, a ANG II, promoveu resposta pressora, bradicardia reflexa (figura 12), sem alterações nos parâmetros ventilatórios (figura 13). Também foi observado que nos animais depletados de sódio houve uma menor resposta pressora quando comparado com os animais normovolêmicos sem alterações na bradicardia reflexa (figura 12) e no ganho do componente bradicárdico do barorreflexo (figura 14 e 15). Nossos resultados também mostraram que nos animais repletos de sódio não ocorreu alterações na resposta pressora, bradicardia reflexa (figura 12) e  $V_E$  (figura 13), porém ocorreu um aumento no ganho do componente bradicárdico do barorreflexo (figuras 14 e 15).

Nossos resultados também mostraram que após ativação dos receptores cardiopulmonares com injeção iv em bolus de fenilbiguanida não foram observadas alterações na hipotensão e bradicardia entre os animais normovolêmicos e depletados de sódio (figura 26), porém ocorreu um aumento da  $V_E$  pulmonar nos animais depletados de sódio, devido a um aumento na fR (figura 27). Com relação à ativação dos quimiorreceptores periféricos com injeção iv de KCN, não foram observadas alterações na resposta pressora, bradicárdica (figura 28) e  $V_E$  (figura 29) em animais depletados de sódio quando comparados aos animais normovolêmicos.

O diurético/natriurético, furosemida, age na alça Henle do néfron e seu mecanismo de ação ocorre pelo bloqueio do co-transportador tri-iônico de íons  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $2 Cl^-$  prejudicando a reabsorção destes íons que então serão excretados (natriurese). Além disso, esta porção do néfron é impermeável à água, que também será excretada em maior quantidade (diurese) levando ao aumento do volume urinário excretado (Weiner, 1990). Alterações no equilíbrio de água e sódio no organismo modifica a atividade de vários hormônios (angiotensina, aldosterona, peptídeo natriurético atrial, vasopressina) e sistemas neurais (atividade simpática) com o objetivo de reestabelecer o balanço hidroeletrolítico (Menani e cols., 2004). Desta forma, nossos resultados

sugerem que a depleção de sódio com furosemida seguido por 24 horas de dieta deficiente de sódio aumentou o componente bradicárdico do baroreflexo através das alterações neuroendócrinas que ocorrem durante depleção de sódio, como o aumento da ANG II (Haber, 1976; Speilman e Davis, 1974) uma vez que o bloqueio dos receptores angiotensinérgicos AT<sub>1</sub> promoveu a redução do componente bradicárdico aumentado pela depleção de sódio. Além disso, o aumento da ANG II durante a depleção de sódio parece facilitar as respostas ventilatórias durante a ativação do barorreceptor com infusão iv do vasoconstritor fenil, visto que a losartana também reduziu o aumento da ventilação observado nos animais depletados de sódio. Por outro lado, a desativação do barorreflexo por infusão iv do vasodilatador NP não alterou as respostas hipotensoras, taquicárdicas reflexas e ventilatórias, bem como o ganho componente taquicárdico nos animais normovolêmicos, depletados e repletos de sódio, sugerindo que o aumento da V<sub>E</sub> durante a depleção de sódio são mecanismos específicos que ocorrem durante a ativação do barorreflexo com infusão iv de fenil, mas não durante a desativação do barorreflexo com infusão iv de NP.

Nossos resultados também mostraram que a depleção de sódio não modificou os valores basais da PAM, FC e V<sub>E</sub> e a repleção de sódio também não modificou esses parâmetros. Esses resultados estão de acordo com resultados prévios de nosso laboratório (Favero, 2012 e dos Santos, 2014, resultados não publicados) onde foi demonstrado que mesmo que os animais depletados de sódio apresentem hipovolemia, a PAM e FC permanecem em valores semelhantes aos dos animais normovolêmicos e que a manutenção desses parâmetros em níveis normais acontece devido às altas concentrações de ANG II plasmática circulante.

Nossos resultados também mostram que animais normovolêmicos e depletados de sódio tiveram uma redução da PAM basal após injeção iv em bolus de losartana, sugerindo que tanto os animais normovolêmicos como animais depletados de sódio

possuem uma elevada concentração de ANG II plasmática circulante e esses resultados também estão de acordo com resultados prévios de nosso laboratório, onde foi observado que a losartana reduz a PAM basal de animais normovolêmicos e depletados de sódio (dos Santos, 2014, resultados não publicados). Vale destacar, que a queda na PAM basal, após injeção iv em bolus de losartana, foi maior nos animais depletados de sódio do que nos animais normovolêmicos, sugerindo que os níveis plasmáticos de ANG II circulante é maior nesses animais (dos Santos, 2014).

Além dos efeitos neuroendócrinos, a depleção de sódio produzida pela injeção sc de furosemida pode levar a uma alcalose metabólica devido a uma retenção de bicarbonato (Weiner, 1990). Esta alcalose metabólica resultaria em uma compensação respiratória, ocasionando uma hipoventilação nos ratos (Weiner, 1990). Nossos resultados estão de acordo com esse trabalho, pois os animais depletados de sódio também apresentaram uma alcalose metabólica devido um aumento do  $\text{HCO}_3^-$  sanguíneo (tabela 5), porém, a ventilação basal desses animais não se alterou (figura 2), talvez devido a uma pequena redução (não significativa) na  $\text{PO}_2$ , o que poderia estar mascarando a hipoventilação observada no trabalho de Weiner, 1990.

Nossos resultados também mostraram que as concentrações plasmáticas dos íons sódio e potássio foram diminuídas em ratos depletados de sódio quando comparados com os ratos normovolêmicos (tabela 2 e 4). Estes resultados eram esperados, pois o diurético furosemida causa um bloqueio da reabsorção destes íons no ramo grosso ascendente da alça de Henle, fazendo com que estes íons permaneçam na luz tubular, sendo posteriormente excretados (diurese e natriurese, Weiner, 1990) e assim haverá uma menor concentração dos íons sódio e potássio no plasma sanguíneo. Após a ingestão de NaCl 0,3 M e água, ou seja, nos ratos repletos de sódio a concentração plasmática de sódio retorna ao valor do estado de normovolemia porém a concentração plasmática de potássio não retorna, pois não foi oferecido nenhum meio de obtenção de

potássio. Nossos resultados também mostraram um aumento na concentração plasmática das proteínas totais, no hematócrito e nas hemoglobinas nos ratos depletados de sódio quando comparados com os ratos normovolêmicos, demonstrando que estes animais depletados possuem um menor volume circulante (hipovolêmicos) sem alteração da osmolaridade. Estes resultados estão de acordo com dados de Jalowiec (1974), onde 24 h após a injeção de furosemida foi possível verificar uma diminuição dos níveis plasmáticos de sódio e aumento das proteínas totais o que caracteriza o estado de hipovolemia, sem alterações significativas na osmolaridade em ratos depletados de sódio. Nossos resultados mostraram também que nos ratos repletos de sódio a concentração plasmática de proteínas totais foi menor que os valores controle (rato normovolêmico, tabela 2), mostrando que estes animais estão hipervolêmicos. Este resultado pode ser devido a retirada de 4,5 ml de sangue dos animais repletos (retirada de 1,5 ml de sangue antes de cada um dos três experimentos) associado à reposição do mesmo volume de salina isotônica, além de 2 h de ingestão de NaCl 0,3 M e água para restabelecer a hipovolemia. Porém, este resultado onde os animais se apresentam hipervolêmicos (animais repletos de sódio) não impossibilitou o reestabelecimento do aumento da ventilação e ganho do componente bradicárdico que ocorreu durante a depleção de sódio.

Estudos da literatura mostram que a ativação de barorreceptores tem efeitos bastante variáveis sobre a respiração (Sapru e cols., 1981; Miserocchi e Quinn, 1980; Dove e Katona, 1985; Hayashi e cols., 1993; McMullan e cols., 2007 e 2009) e ganho do barorreflexo (Echtenkamp e Anderson, 1988; Szilagyi e cols., 1981; Ferrario e cols., 1981; Huang e Leenen, 1992) que parecem estar relacionados com a espécie, cepa, preparação e anestesia utilizados nos trabalhos. Sapru e cols., (1981) investigaram que em ratos descerebrado e não vagotomizados, a estimulação do nervo depressor aórtico (NDA) diminui a fR. Estudo de Dove e Katona (1985) mostrou que a ativação dos

barorreceptores promoveu um aumento no tempo de inspiração (TI) e no tempo de expiração (TE). Além disso, Miserocchi e Quinn (1980) mostraram que a fR não se alterou durante hipotensão hemorrágica em gatos e Hayashi e cols., (1993) não observaram mudanças na fR durante a estimulação do NDA em ratos anestesiados. Estudo de McMullan e cols., 2009, demonstrou que a ativação do barorreflexo tanto por estimulação elétrica do NDA ou por injeção iv de fenil (mas não de ANG II) reduziu a frequência de disparos do nervo frênico pelo prolongamento do tempo expiratório (TE) e não alterou amplitude dos disparos do nervo frênico. Ao contrário desses resultados, o presente estudo mostrou que a ativação do barorreflexo pela infusão iv de fenil em ratos normovolêmicos produziu aumento da  $V_E$ , devido ao aumento da fR, sem mudanças no VC (figura 4). Por outro lado, a desativação do barorreflexo por infusão iv de NP em ratos normovolêmicos também produziu o mesmo aumento da  $V_E$ , mas devido ao aumento do VC, sem alterações em fR (figura 6). Portanto, o conjunto desses resultados sugerem que a ativação ou desativação do barorreflexo podem contribuir para o aumento da  $V_E$  por diferentes mecanismos, seja modulando a fR durante a ativação do barorreflexo ou modulando o VC durante a desativação do barorreflexo. É importante notar que essas mudanças na  $V_E$  em ratos normovolêmicos após infusão iv de fenil foram bastante discretas (ventilação de ratos normovolêmicos antes:  $328 \pm 36$  ml/kg/min e após a infusão iv de fenil:  $403 \pm 18$  ml/kg/min; variação de 75 ml/kg/min) e estes resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que em eupnéia, a influência exercida na  $V_E$  por aferências barorreceptoras é mínima (Chenuel e cols., 2006). No entanto, durante esforço físico ou durante períodos de baixa demanda ventilatória [sono profundo, desidratação, hipovolemia e depleção de sódio (presente estudo)] parece que as aferências dos barorreceptores podem ter uma modulação respiratória mais acentuada (Chenuel e cols., 2006). Assim, os nossos resultados mostraram que a ativação dos barorreceptores por infusão iv de fenil produziu um maior aumento da  $V_E$  em ratos

depletados de sódio e esta hiperventilação volta aos valores normais após 2 h de repleção dos fluidos através do acesso à água e 0,3 M de NaCl (ratos repletos de sódio) ou após o bloqueio dos receptores angiotensinégicos AT<sub>1</sub> com losartana. Assim, estes dados sugerem que durante a hipovolemia devido à depleção de sódio ocorreu aumento da atividade respiratória provavelmente para sincronizar a ventilação com o fluxo de sangue dentro dos pulmões para otimizar as trocas gasosas (Bishop, 1968 e 1974; Fregosi, 1994). Assim, nosso estudo fornece os primeiros resultados da ativação e desativação do barorreflexo e seus efeitos sobre a ventilação e o ganho do barorreflexo em animais intactos e livre de anestesia.

O aumento da ventilação observado após a ativação do barorreflexo com fenil poderia estar ocorrendo devido a alterações cardiovasculares (aumento da pressão e bradicardia reflexa) promovidas por esse agente vasopressor. Desta forma, um outro agente vasopressor que também ativa o barorreflexo e produz aumento da pressão e bradicardia reflexa foi utilizado, a ANG II. Nossos resultados mostraram que a injeção iv em bolus de ANG II promoveu respostas pressoras e bradicárdicas semelhantes às produzidas pela infusão iv de fenil, porém sem alterações nos parâmetros ventilatórios. Desta forma, nossos resultados sugerem que a ativação do barorreflexo com fenil, mas não com ANG II, promove aumento da ventilação em animais depletados de sódio.

Ainda com relação aos resultados relativos à injeção iv de ANG II, nos animais depletados de sódio a resposta pressora da ANG II foi menor em relação aos animais normovolêmicos. Este resultado está de acordo com estudos de nosso laboratório, onde as respostas pressoras da ANG II e NOR foram diminuídas em animais depletados de sódio (Colombari e cols., 1992), sugerindo que a reatividade vascular periférica está alterada nesses animais. Nossos resultados também mostraram que a injeção de ANG II também promoveu um aumento do ganho do componente bradicárdico nos animais repletos de sódio, diferente do que foi observado com a infusão iv de fenil. Estas

diferenças observadas nas respostas da ANG II comparadas com as respostas observadas pela fenil podem ser devidas as diferenças nas metodologias utilizadas, ou seja, a administração da ANG II foi através de injeção iv em bolus e a administração da fenil foi através da infusão iv com bomba de perfusão. Desta forma, mais estudos serão necessários para esclarecer o aumento do ganho do componente bradicárdico nos animais repletos de sódio que receberam injeção iv em bolus de ANG II.

Com relação ao ganho ou sensibilidade do barorreflexo, nossos resultados mostraram que o ganho do componente bradicárdico foi aumentado em ratos depletados de sódio. Porém, o ganho do componente taquicárdico não foi alterado nos animais depletados de sódio. Vários estudos da literatura demonstraram que a depleção de sódio reduz o ganho do barorreflexo em cães anestesiados (Echtenkamp e Anderson, 1988; Szilagyi e cols., 1981; Ferrario e cols., 1981) e em ratos não anestesiados (Huang e Leenen, 1992). Echtenkamp e Anderson, 1988, demonstraram que a depleção de sódio com furosemida 40 mg por via intramuscular, durante 3 dias associado a 10 dias de dieta pobre em sódio, reduziu o ganho do componente taquicárdico do barorreflexo em cães anestesiados após a ativação do barorreflexo com a oclusão das carótidas, sugerindo que esta diminuição do ganho do barorreflexo poderia estar relacionado a uma ativação de receptores cardiopulmonares. Ferrario e cols., 1981, também sugeriram que durante uma desativação dos barorreflexo, o reflexo cardiopulmonar estaria mais ativo, pois a diminuição de volume que ocorre durante a depleção de sódio promove uma diminuição no fluxo sanguíneo da circulação periférica para elevar a circulação cardiopulmonar, aumentando a pressão de enchimento cardíaco levando a ativação de receptores cardiopulmonares (Ferrario e cols., 1981). Szilagyi e cols., 1981 também observaram uma diminuição no ganho do componente taquicárdico do barorreflexo após a oclusão das carótidas, em cães que tiveram acesso a uma dieta pobre em sódio por 21 dias associada à 3 injeções de furosemida. Huang e Leenen, 1992, demonstraram que a

depleção de sódio por dieta hipossódica diminuiu o ganho do componente bradicárdico e taquicárdico do barorreflexo em ratos jovens (4 semanas, 80 g) não anestesiados, mas esta depleção de sódio não alterou o ganho do barorreflexo em ratos adultos (10 semanas, 300 g) e velhos (50 semanas, 500 g) não anestesiados. Os autores sugeriram uma possível desensibilização dos barorreceptores arteriais pela baixa quantidade de sódio na dieta, visto que o sódio é um importante íon para a despolarização das terminações dos barorreceptores arteriais. Portanto, o uso de animais anestesiados, o modelo para indução da depleção de sódio e as diferentes formas de ativar o barorreflexo podem ser uma possível explicação para as diferenças entre os nossos resultados e os resultados apresentados na literatura. Além disso, diferentes espécies, cepa, idade também poderiam explicar esta diferença.

Os nossos resultados também demonstraram que a ativação de receptores cardiopulmonares com injeção iv em bolus de fenilbiguanida promove um aumento da  $V_E$  nos animais depletados de sódio comparados aos normovolêmicos, e este aumento está relacionado ao aumento da fR, sem alteração do VC. Esses resultados estão de acordo com Ferrario e cols., 1981, que mostra que a diminuição de volume que ocorre durante a depleção de sódio promove uma diminuição no fluxo sanguíneo da circulação periférica para elevar a circulação cardiopulmonar, aumentando a pressão de enchimento cardíaco levando a ativação de receptores cardiopulmonares. Além disso, segundo Veelken e cols., 1994 e DiBona & Sawin, 1995, o reflexo cardiopulmonar pode ser ainda mais importante que o barorreflexo, pois possui um grande envolvimento com alterações de volume. Desta forma, esse aumento na  $V_E$  durante a ativação do reflexo cardiopulmonar em animais depletados de sódio poderia estar ocorrendo devido a um redirecionamento do fluxo sanguíneo para a circulação cardiopulmonar causado pela hipovolemia e/ou aumento da ANG II produzidos pela depleção de sódio e isso poderia melhorar as trocas gasosas nos pulmões e tecidos. Porém, nesse grupo de animais não

foi realizado a repleção de sódio e nem o bloqueio de receptores angiotensinérgicos AT1 para confirmar essa hipótese.

Os nossos resultados mostraram que a ativação do quimiorreflexo com injeção iv em bolus de KCN não promoveu alterações cardiorrespiratórias nos animais depletados de sódio em comparação com os animais normovolêmicos. Diferentemente do que é visto na literatura (Lahiri e cols., 1980) onde em condições de hipovolemia, ocorre uma diminuição do fluxo sanguíneo para o corpo carotídeo, o que leva à ativação dos quimiorreceptores periféricos. Esses dados foram confirmados através da gasometria sanguínea que não mostrou diferenças significativas tanto na  $PO_2$ , como na  $PCO_2$  e  $sO_2$  entre animais normovolêmicos e depletados de sódio (tabela 5). Apesar do quimiorreflexo ser um importante mecanismo periférico para o controle cardiorrespiratório (Fung, 2014), os nossos resultados mostraram que esse mecanismo não está envolvido com os ajustes cardiorrespiratórios durante a depleção de sódio.

## **7 CONCLUSÃO**

Nossos resultados sugerem que as alterações neuroendócrinas, como o aumento da angiotensina II, produzida pela depleção de sódio (furosemida associado a uma dieta deficiente em sódio) aumenta o ganho do componente bradicárdico e facilita a resposta ventilatória durante ativação dos barorreceptores com fenilefrina iv.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albaghdadi M (2007) Baroreflex control of long-term arterial pressure. *Rev Bras Hipertens* vol.14(4): 212-225.
2. Anderson B (1977) Regulation of body fluids. *Ann. Rev. Physiol.* :19:185-200.
3. Armsworth SJ, Gerkens JF, Smith AJ (1986) Furosemide inhibition of sympathetic vasoconstriction in the rat in situ blood perfused mesentery. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 13:495-503.
4. Bartlett D Jr, Tenney SM (1970) Control of breathing in experimental anemia. *Respiratory Physiol. Out*;10(3):384-95.
5. Bishop B (1968) Diaphragm and abdominal muscle activity during induced hypotension. *J. Appl. Physiol.* 25, 73–79.
6. Bishop B (1974) Carotid baroreceptor modulation of diaphragm and abdominal muscle activity in the cat. *J. Appl. Physiol.* 36, 12–19.
7. Bogue JY, Stella G (1935) Afferent impulses in the carotid sinus nerve (nerve of heering) during asphyxia and anoxaemia. *J Physiol.* Mar 15;83(4):459-65.
8. Brosnihan KB, Szilagyí JE, Ferrario CM (1981) Effect of chronic sodium depletion on cerebrospinal fluid and plasma catecholamines. *Hypertension.* 3:233-239.
9. Campagnole-Santos MJ, Haibara AS (2001) Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens* 8: 30-40.
10. Chenuel BJ, Smith CA, Skatrud JB, Henderson KS, Dempsey, JA (2006) Increased propensity for apnea in response to acute elevations in left atrial pressure during sleep in the dog. *J. Appl. Physiol.* 101, 76–83.
11. Colombari DSA, Colombari C, Saad WA, Camargo LAA, Renzi A, De Luca Jr LA, Menani JV (1992) Effect of furosemida treatment on the central and peripheral pressor responses to cholinergic and adrenergic agonists, angiotensin II, hypertonic solution and vasopressina. *Neuroscience letters* 143:255-258.
12. De Luca LA Jr, Galaverna O, Schulkin J, Yao SZ, Epstein NA (1991) The anteroventral wall of the third ventricle and the angiotensinergic component of need-induced sodium intake in the rat. *Brain Res Bull* 28:73-87.

13. De Luca LA Jr, Sugawara AM, Menani JV (2000) Brain versus peripheral angiotensin II receptors in hypovolaemia: behavioural and cardiovascular implications. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27:437-42.
14. de Oliveira LB, Callera JC, De Luca LA Jr, Colombari DS, Menani JV (2007) GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite. *Brain Res Bull* 73:238-47.
15. de Oliveira LB, De Luca LA Jr, Menani JV (2003) Moxonidine and central alpha2 adrenergic receptors in sodium intake. *Brain Research* 993:177-82.
16. Dibona GF, Sawin LL (1995) Increased renal nerve activity in cardiac failure: arterial vs. cardiac baroreflex impairment. *Am. J. Physiol.*, 268, R112 - R116.
17. dos Santos, NV (2014) Participação da angiotensina na manutenção da pressão arterial em ratos depletados de sódio. Trabalho de conclusão de curso.
18. Dove EL, Katona, PG (1985) Respiratory effects of brief baroreceptor stimuli in the anesthetized dog. *J. Appl. Physiol.* 59, 1258–1265.
19. Echtenkamp SF, Anderson AC (1988) Baroreflex modulation by cardiopulmonary receptors during chronic sodium depletion. *Am J Physiol* 254:H905-11.
20. Évora PRB, Reis CL, Ferez MA, Conte DA, Garcia LV (1999) Distúrbios do equilíbrio hidroeletrólítico e do equilíbrio ácido-básico – uma revisão prática. *Medicina*, v. 32, p. 451-469, out./dez.
21. Farah VM, Moreira ED, Pires MD, Irigoyen MC, Kriger EM (1999) Comparison of three methods of the determination of baroreflex sensitivity in conscious rat. *Circ Res* 32:361-369.
22. Favero MT (2012) Respostas cardiorrespiratórias promovidas pela ativação de receptores glutamatérgicos e purinérgicos no núcleo do trato solitário. Dissertação de mestrado.
23. Ferrario, CM, Takishita S, Lynn MP, Szilagyi JE, Brosjihan KB (1981) Effect of dietary sodium depletion on central and peripheral nervous system mechanisms regulating arterial pressure in the dog. In: *Disturbances in Neurogenic Control of the Circulation*, edited by F. M. Abboud, H. A. Fozzard, J. P. Gilmore, and D. J. Reis. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc, p. 119-131.

24. Fregosi, RF (1994). Changes in the neural drive to abdominal expiratory muscles in hemorrhagic hypotension. *Am. J. Physiol.* 266, H2423–H2429.
25. Fung ML (2014) The role local renin-angiotensin system in arterial chemoreceptors in sleep-breathing disorders. *Frontiers in Physiology Rev* 2014 Set 10.3389/fphys.2014.00336
26. Gerkens JF, Armsworth SJ, Smith AJ (1987) Inhibition of sympathetic constriction of the ex vivo tail artery perfused with blood from rats given furosemide. *Clin Exp Hypertens A* 9:51-79.
27. Guyton AC e Hall JE (2002) *Tratado de Fisiologia Médica*, 10ª edição.
28. Haber E (1976) The role of renin in normal and pathological cardiovascular homeostasis. *Circulation* 54:849-961.
29. Hayashi F, Coles SK, Bach KB, Mitchell GS, McCrimmon DR, (1993) Time-dependent phrenic nerve responses to carotid afferent activation: intact vs. decerebellate rats. *Am. J. Physiol.* 265, R811–R819.
30. Heesch CM (1999) Reflexes that control cardiovascular function. *Am. J. Physiol.* 277 (ADV. PHYSIOL. EDUC. 22): S234–S243.
31. Huang BS, Leenen FHH (1992) Dietary Na, age, and baroreflex control of heart rate and renal nerve activity in rats. *Am. J. Physiol.* 262 (Heart Circ. Physiol. 31): H1441-H1448.
32. Irigoyen MC, Consolim-Colombo FM, Krieger EM (2001) Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Rev Bras Hipertens* 8: 55-62.
33. Jalowiec JE (1974) Sodium appetite elicited by furosemide: effects of differential dietary maintenance. *Behavioral Biology* 10:313-327.
34. Kirchheim HR (1976) Systemic arterial baroreceptor reflexes. *Physiol Rev.* Jan;56(1):100-77.
35. Lahiri S, Nishino T, Mokashi A, Mulligan E (1980) Relative responses of aortic body and carotid body chemoreceptors to hypotension. *J. Appl. Physiol.* 48, 781–788.
36. Landgren S (1952) On the excitation mechanism of the carotid baroreceptors. *Acta Physiol Scand.* Jul 17;26(1):1-34.

37. Malan A (1973) Ventilation measured by body plethysmography in hibernating mammals and in poikilotherms. *Respir Physiol.* 17:32-44.
38. McMullan S, Dick TE, Farnham MM, Pilowsky PM (2009) Effects of baroreceptor activation on respiratory variability in rat. *Respir Physiol Neurobiol.* 30;166(2):80-6.
39. McMullan S, Goodchild AK, Pilowsky PM, (2007) Circulating angiotensin II attenuates the sympathetic baroreflex by reducing the barosensitivity of medullary cardiovascular neurones. *J. Physiol. (Lond.)* 582, 711–722.
40. Menani JV, De Luca LA Jr, Johnson AK (1998) Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. *Am J Physiol* 274:R555-60.
41. Menani JV, Silveira JEN, Colombari DAS, De Luca LA Jr (2004) Mecanismos fisiológicos de controle da excreção de sódio: Aspectos fisiológicos. *Hipertensão* 7:2.
42. Menezes MF, Barbosa SP, De Andrade CA, Menani JV, De Paula PM (2011) Purinergic mechanisms of lateral parabrachial nucleus facilitate sodium depletion-induced NaCl intake. *Brain Research* 1372:49-58.
43. Miserocchi G, Quinn B (1980) Control of breathing during acute hemorrhage in anesthetized cats. *Respir. Physiol.* 41, 289–305.
44. Nozaki PN, Pereira DT, Moura FV, Menani JV, De Luca LA (2002) Ingestion of hypertonic NaCl vs. palatable drinks by sodium-depleted rats. *Physiol Behav* 75:443-8.
45. Reis DJ, Ledoux JE (1987) Some central mechanism governing resting and behaviorally coupled control of blood pressure. *Circulation*, 76 (supp11):S2-9.
46. Rocchini AP, Cant JR, Barger AC (1977) Carotid sinus reflex in dogs with low-to-high-sodium intake. *Am J Physiol* 233:H196-H202.
47. Rowland NE, Fregly MJ (1992) Repletion of acute sodium deficit in rats drinking either low or high concentrations of sodium chloride solution. *Am J Physiol* 262: R419–R425.
48. Sakai RR, Frankmann SP, Fine W, Epstein AN (1989) Prior episodes of sodium depletion increase the need-free sodium intake of the rat. *Behav Neurosci* 103:186-92.
49. Salgado HC, Salgado MC, Krieger EM (1986) Cardiovascular reflexes in conscious sodium-depleted rats. *Braz J Med Biol Res* 19:319-25.

50. Sapru, HN, Gonzalez E, Krieger AJ, (1981) Aortic nerve stimulation in the rat: cardiovascular and respiratory responses. *Brain Res. Bull.* 6, 393–398.
51. Sato MA, Yada MM, Renzi A, Camargo LA, Saad WA, Menani JV, De Luca Júnior LA (1996) Antagonism of clonidine injected intracerebroventricularly in different models of salt intake. *Braz J Med Biol Res* 29:1663-6.
52. Souza MHL, Elias DE (2006) *Fisiologia da Água e dos Eletrólitos. Fundamentos da Circulação Extracorpórea - Cirurgia Cardíaca Pediátrica* 2ed.
53. Speilman WS, Davis JO (1974) The renin-angiotensin system and aldosterone secretion during sodium depletion in the rat. *Circulation Research.* 35:615-624.
54. Szilagyí JE, Masaki Z, Brosnihan KB, Ferrario CM (1981) Neurogenic suppression of carotid sinus reflexes by vagal afferents in sodium depleted dogs. *Am J Physiol* 241:H255-H262.
55. Veelken R, Hilgers KF, Ditting T, Leonard ME, Mann JFE, Geiger H, Luft FC (1994) Impairment of cardiovascular reflexes precedes the onset of DOCA-salt hypertension in rats. *Hypertension*, 24, 564 – 570.
56. Verbalis JG (2003) Disorders of body water homeostasis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol. 17, No. 4, pp. 471–503.
57. Weiner IM (1990) Diuretics and other agents employed in the mobilization of edema fluid. In: Goodman and Gilman's the pharmacological basics of therapeutics. (Gilman AG, Rall TW, Nies AS and Taylor P, eds), pp 696-722. Pergamon Press.
58. Zardetto-Smith AM, Thunhorst RL, Cicha MZ, Johnson AK (1993) Afferent signaling and forebrain mechanisms in the behavioral control of extracellular fluid volume. *Ann N Y Acad Sci* 689:161-76.
59. Zimmerman BG (1973) Blockade of adrenergic potentiating effect of angiotensin by 1-Sar-8-Ala-angiotensin II. *Journal of Phamacology and Experimental Therapeutics* 85:486-492.
60. Zimmerman BG, Sybertz EJ, Wrong PC (1984) Interaction between sympathetic and renin-angiotensin system. *Journal of Hypertension* 2:581-587.