

**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - AMPLA ASSOCIAÇÃO UFSCar/UNESP**

**A INFLUÊNCIA DA HIPÓXIA SEVERA NA SENSIBILIDADE
BARORREFLEXA DE TILÁPIA-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

NATALIA MIRIÃ TROIANO

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO / SÃO CARLOS – SP
2019

**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - AMPLA ASSOCIAÇÃO UFSCar/UNESP**

**A INFLUÊNCIA DA HIPÓXIA SEVERA NA SENSIBILIDADE
BARORREFLEXA DE TILÁPIA-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

NATALIA MIRIÃ TROIANO

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Natalia Miriã Troiano, realizada em 15/03/2019:



Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo
UNESP



Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantín
UFSCar



Prof. Dra. Patricia Simone Leite Vilamaior
UNESP

Dedico este trabalho aos meus pais (Maria da Penha dos Santos Troiano e Márcio Antônio Troiano), por todo apoio que me concederam e por serem meus grandes exemplos de amor, dedicação e honestidade.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Luiz Henrique Florindo, pela oportunidade concedida desde a graduação, conhecimento transmitido, exemplo profissional, paciência e confiança.

Ao meu coorientador, Vinicius Araújo Armelin, pelo intenso auxílio concedido desde que entrei no laboratório, ensinamentos, paciência, disposição, exemplo de dedicação e profissionalismo.

À minha amiga Isadora, por ter estado ao meu lado durante todo o mestrado, não medindo esforços para me auxiliar com os experimentos até mesmo nos fins de semana, e por ter tornado esses dois anos mais leves e descontraídos.

Ao meu namorado e amigo Mateus, exemplo de amor e paciência, pelo carinho e incentivo concedidos durante a fase final desse ciclo e por me fazer acreditar em mim.

A todos do Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados, em especial: ao Victor, pelo grande auxílio na realização dos experimentos; Ao Igor e Leonardo, pela prestatividade no cuidado dos animais; e à Gabrielle, Mariana e Ariela, pelo companheirismo durante as tardes no laboratório.

Aos meus amigos, pelo grande apoio e convívio ao longo de toda vida acadêmica: Andreia, Beatriz, Bruna, Gabriela, Guilherme, Juliana, Maxwell e Tatiane.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Aos professores presentes durante todo meu caminho até aqui.

RESUMO

A importância do sistema circulatório na homeostase dos diferentes animais é incontestável. Sabendo-se que um dos fatores básicos que determina o fluxo sanguíneo é a pressão arterial (P_a), a regulação a curto e longo prazo desta variável é imprescindível para que as diversas funções da circulação sejam desempenhadas adequadamente. O reflexo barorreceptor é um dos mais bem conhecidos mecanismos de controle rápido da P_a , fazendo com que qualquer mudança nessa variável resulte em uma alteração inversamente proporcional na frequência cardíaca (f_H) e na resistência vascular sistêmica, visando à normalização pressórica. Porém, outro fator que pode causar mudanças reflexas na f_H é a concentração ambiental de oxigênio, sendo a hipóxia relativamente comum em diversos ambientes aquáticos. A resposta básica à hipóxia, em teleósteos, é a diminuição da f_H por quimiorreflexo; sendo atribuída a esta bradicardia possíveis papéis fisiológicos, como: melhorar a captação de oxigênio e proteção do miocárdio. Assim, sabendo-se que tanto o baro quanto o quimiorreflexo são fisiologicamente importantes para o animal e, em determinadas situações, podem desencadear respostas antagônicas na f_H , o presente trabalho teve como objetivo investigar se a condição de hipóxia severa possui influência sobre a sensibilidade barorreflexa de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Para isso, foram realizadas administrações de fenilefrina e nitroprussiato de sódio em animais na condição de normóxia e hipóxia severa; sendo a f_H e a pressão arterial média na aorta ventral (P_{va}) continuamente registradas. A função barorreflexa de todos os animais foi, então, investigada por meio da análise da curva sigmoide do reflexo barostático e o ganho barorreflexo foi calculado por meio de equações propostas na literatura. O presente estudo, o qual foi o primeiro a analisar o reflexo barostático por meio da curva sigmoidal em peixes, revelou que a hipóxia severa aumenta a sensibilidade barorreflexa de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), o que ocorre devido a um aumento da capacidade regulatória do animal frente à hipotensão.

Palavras-chave: Barorreflexo; Bradicardia hipóxica; Teleósteo; Tilápia, Sistema Nervoso Autônomo.

ABSTRACT

The importance of the circulatory system in homeostasis of different animals is unquestionable. Given that one of the basic factors that determine blood flow is blood pressure, the short- and long-term regulation of this variable is essential for the various functions of the circulation to be performed adequately. The baroreceptor reflex is one of the most known mechanisms of rapid control of blood pressure, causing any change in this variable to result in an inversely proportional change in heart rate and in systemic vascular resistance, aiming at pressure normalization. However, another factor that can cause reflex changes in heart rate is the oxygen environmental concentration, with hypoxia being relatively common in several aquatic environments. The basic response to hypoxia in teleosts is the reduction of heart rate by chemoreflex; being attributed to this bradycardia possible physiological roles, such as improving oxygen uptake and protection of the myocardium. Thus, with the knowledge that both baro and chemoreflex are physiologically important for the animal and, in certain situations, may trigger antagonistic responses in heart rate, the present study aimed to investigate whether the condition of severe hypoxia has an influence on baroreflex sensitivity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Therefore, administrations of phenylephrine and sodium nitroprusside were carried out in animals in the condition of normoxia and severe hypoxia; being heart rate and mean arterial pressure in the ventral aorta continuously recorded. Then, the baroreflex function of all animals was investigated by analysis of the sigmoid curve of the barostatic reflex and the baroreflex gain was calculated by equations proposed in literature. The present study was the first to analyze the barostatic reflex by means of the sigmoidal curve in fish and revealed that severe hypoxia increases the baroreflex sensitivity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), which occurs due to an increase in the animal's regulatory capacity against hypotension.

Key words: Baroreflex; Hypoxic bradycardia; Teleost; Tilapia; Autonomic nervous system.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Pressões sanguíneas normais nas diferentes partes do sistema circulatório de humanos na posição horizontal. Fonte: adaptada de Guyton e Hill (2011).....15
- Figura 2.** Os diversos fatores que influenciam a pressão arterial média, elevando-a (+) ou reduzindo-a (-).....17
- Figura 3.** Solubilidade do oxigênio (O₂) na água em diferentes temperaturas. Fonte: Imagem adaptada de Truesdale (1955).....19
- Figura 4.** Esquema demonstrando as respostas barorreflexas frente às alterações da pressão arterial (A), a resposta quimiorreflexa frente à hipóxia em peixes (B) e possíveis respostas antagônicas (indicadas pelo asterisco) em caso de hipóxia somada à situação de hipotensão. Nota: FC, frequência cardíaca; VS, volume sistólico; RPT, resistência periférica total. Os sinais de “+” indicam estímulo e os sinais de “-” indicam inibição da referida via.....21
- Figura 5.** Exemplar adulto de *Oreochromis niloticus*. Fonte: <<http://fishbase.org/search.php>>. Acesso em Janeiro de 2017.....22
- Figura 6.** Esquema simplificado dos principais componentes vasculares das brânquias de teleósteos (A) e fotografia das brânquias de um exemplar de *Oreochromis niloticus* evidenciando a cânula de polietileno (PE20) inserida na artéria aferente do terceiro arco branquial do mesmo (B). Nota: AB, arco branquial; ABA, artéria branquial aferente; AFA, artéria filamental aferente; ABE, artéria branquial eferente; AFE, artéria filamental eferente; VB, veia branquial; FIL, filamentos branquiais; LAM, lamela branquial. As setas indicam a direção do fluxo sanguíneo. Fonte: (A) adaptado de Nilsson, 1986; (B) elaborada pelo autor.....25
- Figura 7.** Curva sigmoide do reflexo barostático e principais informações para sua análise. Nota: A soma da capacidade regulatória frente à hipotensão e da capacidade regulatória frente à hipertensão constituem a capacidade regulatória total do animal (alcance do barorreflexo ou “range”). Nota: f_H , frequência cardíaca; P_{va} , pressão arterial média na aorta ventral; MÁX, f_H máxima alcançada pelo barorreflexo; MÍN, f_H mínima alcançada pelo barorreflexo; C, P_{va} quando a f_H está no ponto intermediário na curva.....27

Figura 8. Registros originais da pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) de dois *Oreochromis niloticus* representativos: um em normóxia (A e C) e o outro em hipóxia (B e D). As setas indicam o momento da infusão dos fármacos fenilefrina (FE) a $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (A e B) e nitroprussiato de sódio (NPS) a $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (C e D).....29

Figura 9. Efeitos da fenilefrina nas variáveis cardiovasculares de *Oreochromis niloticus*, tanto em normóxia (A e C; $N=8$) quanto em hipóxia (B e D; $N=8$), na situação de não tratados e durante as respostas máximas de cada infusão farmacológica (fenilefrina à 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Nota: P_{VA} , pressão arterial média na aorta ventral; f_H , frequência cardíaca em batimentos por minuto. Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais não tratados.....30

Figura 10. Efeitos do nitroprussiato de sódio nas variáveis cardiovasculares de *Oreochromis niloticus*, tanto em normóxia (A e C; $N=8$) quanto em hipóxia (B e D; $N=8$), na situação de não tratados e durante as respostas máximas de cada infusão farmacológica (nitroprussiato de sódio à 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Nota: P_{VA} , pressão arterial média na aorta ventral; f_H , frequência cardíaca em batimentos por minuto. Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais não tratados.....31

Figura 11. Curvas sigmoidais de todos os animais (A e B) e curvas sigmoidais médias do reflexo barostático (C e D) obtidas utilizando-se a frequência cardíaca (f_H) e a pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais, em normóxia (A e C; $N=8$) e em hipóxia (B e D; $N=8$). Nas curvas sigmoidais médias, os círculos pretos representam os valores basais (animais não tratados) e os círculos cinzas representam as respostas cardiovasculares máximas aos tratamentos com fenilefrina e nitroprussiato de sódio. Os valores estão expressos em Média \pm EPM.....32

Figura 12. Localização da aorta dorsal, aorta ventral e artéria branquial aferente em teleósteos. Nota-se que a cânula de polietileno foi inserida na artéria branquial aferente e avançada até a aorta ventral, para aquisição da P_{VA} . Nota: As setas indicam a direção do fluxo sanguíneo. Imagem modificada de Sandblom e Axelsson (2005).....34

Figura 13. Curvas sigmoidais barorreflexas ilustrativas, demonstrando possível deslocamento da curva sigmoidal referente à aferição da P_{DA} para a esquerda (linhas pontilhadas), caso os fármacos fenilefrina e nitroprussiato de sódio tivessem diferentes efeitos P_a da aorta ventral e da aorta dorsal.....35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variáveis cardiovasculares barorreflexas dos animais em normóxia ($N=8$) e hipóxia ($N=8$). Estes dados foram obtidos a partir de curvas sigmoidais do reflexo barostático, após administrações intra-arteriais seriadas de fenilefrina e nitroprussiato de sódio.....32
- Tabela 2.** Efeito da fenilefrina ($40 \mu\text{g.kg}^{-1}$) e do nitroprussiato de sódio ($80 \mu\text{g.kg}^{-1}$) na frequência cardíaca (f_H) e na pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais ($N=4$) antes e após bloqueio autonômico parassimpático (colinérgico) com atropina.....33
- Tabela 3.** Frequência cardíaca (f_H) e pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais submetidos à normóxia ($N=4$) e hipóxia ($N=4$), antes e após administração de solução salina isotônica.....33
- Tabela 4.** Comparação entre os ganhos barorreflexos, normalizados ou não, de espécies pertencentes a diferentes classes de vertebrados na condição de normóxia.....37

LISTA DE ABREVIATURAS

cmH₂O	Centímetros de água
DC	Débito cardíaco
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EPM	Erro padrão médio
<i>f_H</i>	Frequência cardíaca
G₅₀	Ganho barorreflexo
G_N	Ganho barorreflexo normalizado
kPa	Quilopascal
kg	Quilograma(s)
l	Litro(s)
mg	Miligrama(s)
ml	Mililitro(s)
min	Minuto(s)
bpm	Batimentos por minuto
mmHg	Milímetros de mercúrio
<i>Pa</i>	Pressão arterial
<i>P_{VA}</i>	Pressão arterial média na aorta ventral
<i>P_{DA}</i>	Pressão arterial média na aorta dorsal
PE20	Polietileno calibre 20
RPT	Resistência periférica total
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
µg	Micrograma(s)
VS	Volume sistólico

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	14
1.1 – SISTEMA CIRCULATÓRIO, FLUXO SANGUÍNEO E PRESSÃO ARTERIAL.....	14
1.2 – CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL E O BARORREFLEXO.....	17
1.3 – A CONCENTRAÇÃO AMBIENTAL DE OXIGÊNIO E O QUIMIORREFLEXO.....	19
1.4 – RELEVÂNCIA DO TEMA E MODELO EXPERIMENTAL ESCOLHIDO.....	21
2 – OBJETIVOS.....	23
2.1 – OBJETIVO GERAL.....	23
2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 – OS ANIMAIS.....	24
3.2 – PROCEDIMENTOS PRÉ-EXPERIMENTAIS.....	24
3.3 – PROTOCOLO EXPERIMENTAL: MÉTODO DE OXFORD.....	25
3.4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
4 – RESULTADOS.....	29
5 – DISCUSSÃO.....	34
5.1 – CRÍTICA AOS MÉTODOS.....	34
5.2 – EFEITO DA HIPÓXIA SOBRE O BARORREFLEXO EM TILÁPIA-DO-NILO.....	35
5.3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
6 – CONCLUSÕES.....	40
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – SISTEMA CIRCULATÓRIO, FLUXO SANGUÍNEO E PRESSÃO ARTERIAL

O sistema circulatório é fundamental para manutenção da homeostase nos diferentes animais, considerando que o mesmo tem a função de suprir as necessidades dos tecidos corporais. Ele é utilizado para transportar nutrientes, hormônios, gases (como o oxigênio e o dióxido de carbono) e agentes do sistema imune; bem como promover a remoção de produtos metabólicos prejudiciais. O aporte sanguíneo para cada um dos diferentes tecidos do organismo é controlado, sobretudo, visando suas respectivas necessidades nutricionais. Porém, em alguns órgãos, a função do sistema circulatório está além da manutenção do suprimento nutricional. Nos rins, por exemplo, ele é responsável por fazer com que grandes volumes de sangue percorram as unidades funcionais deste órgão e que a excreção de metabólitos seja mantida (HILL et al., 2012).

Os componentes básicos da circulação são (1) as artérias, as quais apresentam uma forte parede vascular, visto que recebem o sangue bombeado pelo coração sob alta pressão; (2) as arteríolas e metarteríolas, as quais possuem, também, forte parede vascular (são os ramos finais do sistema arterial) e que, com sua capacidade de contração e relaxamento podem controlar o fluxo sanguíneo tecidual de acordo com suas necessidades; (3) os capilares, cujas paredes são finas e bastante permeáveis, visto que são neles que ocorrem as trocas de nutrientes e metabólitos entre o sangue, o interstício e, conseqüentemente, o tecido; (4) as vênulas, as quais recebem o sangue proveniente dos capilares e, progressivamente, juntam-se para formarem o próximo e último componente do sistema: (5) as veias, que possuem paredes vasculares finas e, além de conduzirem de volta para o coração todo o sangue, atuam como um reservatório do mesmo (RANDALL et al., 2000).

O fluxo sanguíneo, o qual é a quantidade de sangue que circula em um determinado ponto da circulação durante um intervalo de tempo, é determinado pela resistência vascular e pelo gradiente de pressão entre as extremidades do vaso. Tal gradiente de pressão, responsável por impulsionar o sangue no interior dos diferentes vasos sanguíneos, é gerado por um órgão contrátil, o coração. Já a resistência vascular representa um impedimento ao fluxo sanguíneo e ocorre devido ao atrito entre a parede do vaso e o sangue circulante. Assim, a diminuição do diâmetro do vaso aumenta a resistência ao fluxo sanguíneo; sendo este, portanto, inversamente proporcional à resistência do vaso, porém diretamente proporcional ao gradiente de pressão presente no mesmo. A pressão é alta na aorta, artéria que recebe diretamente o sangue bombeado pelo coração, e cai progressivamente ao passar por toda circulação sistêmica, até

chegar próxima de zero ao final do sistema venoso (Fig. 1); dessa maneira, o fluxo sanguíneo consegue ser mantido (GUYTON; HALL, 2011).

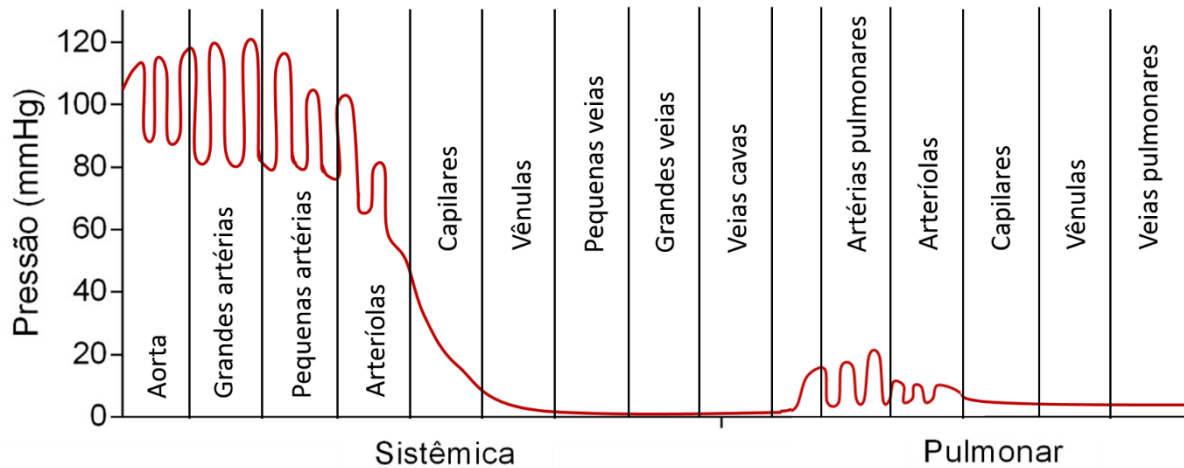


Figura 1. Pressões sanguíneas normais nas diferentes partes do sistema circulatório de humanos na posição horizontal. Fonte: adaptada de Guyton e Hill (2011).

Dada a importância do gradiente de pressão na determinação do fluxo sanguíneo, é necessária a manutenção da pressão arterial (P_a) em níveis adequados para que todas as funções da circulação, incluindo a perfusão adequada dos diferentes tecidos, sejam desempenhadas de maneira apropriada. Tal P_a deve, portanto, ser suficiente para superar a resistência vascular sem, contudo, se elevar demasiadamente, o que provocaria edemas, rompimento de vasos sanguíneos e outros danos ao organismo (LILLYWHITE, 1988; LILLYWHITE, 1996; MAGDER, 2018).

Um dos principais fatores que influenciam a P_a é a resistência periférica total (RPT) que, por sua vez, é determinada pelas vasoconstricções e vasodilatações locais dos diferentes tecidos e, em menor grau, pela viscosidade do sangue. Como já mencionado, um dos princípios básicos do sistema circulatório é a capacidade que cada tecido tem de controlar seu próprio fluxo sanguíneo de acordo com suas necessidades - o chamado controle local do fluxo sanguíneo. Tal controle pode ser agudo (caracterizado por vasoconstricções ou vasodilatações das arteríolas, metarteríolas e esfíncteres pré-capilares e ocorrendo dentro de segundos ou minutos) ou de longo prazo (angiogênese; ocorrendo dentro de dias, semanas ou meses) (RANDALL, 2000).

As alterações no diâmetro e conseqüentemente na resistência dos vasos sanguíneos teciduais, características do controle agudo do fluxo sanguíneo, podem ser ocasionadas: (1) pelo próprio metabolismo tecidual, (2) por substâncias vasoativas derivadas das células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos, (3) por substâncias circulantes secretadas ou absorvidas

pelos líquidos corporais, como hormônios, e (4) pelo sistema nervoso autônomo (SNA). Seja qual for o fator envolvido, tais alterações podem influenciar diretamente a P_a do indivíduo (MAGDER, 2018).

A influência do metabolismo local no fluxo sanguíneo tecidual pode ser explicada por duas teorias principais: a da vasodilatação e a da falta de oxigênio. Na primeira, quanto maior a intensidade do metabolismo dos tecidos, maior a formação de substâncias vasodilatadoras (dióxido de carbono, adenosina, histamina e outras) pelas células dos mesmos. Já na segunda, a falta de oxigênio *per se* causaria vasodilatação, visto que este é necessário para a manutenção da contração do músculo liso vascular (MAGDER, 2018; GUYTON; HALL, 2011).

As próprias células endoteliais também produzem diversas substâncias que, em respostas a estímulos químicos e/ou físicos, são liberadas e afetam o diâmetro vascular. O óxido nítrico e a endotelina são exemplos importantes de um vasodilatador e um vasoconstritor, respectivamente, sintetizados pelas células endoteliais (PALMER et al., 1987; IGNARRO et al., 1987; YANAGISAWA et al., 1988).

Além das substâncias produzidas pelas células teciduais, fatores humorais podem causar alterações na resistência vascular, controlando o fluxo sanguíneo tecidual e, dependendo da magnitude, levando a alterações na P_a . A noradrenalina e a adrenalina (circulantes ou derivadas das terminações do SNA simpático), a angiotensina II e a vasopressina são exemplos de substâncias circulantes vasoconstritoras; enquanto a bradicinina e a histamina, liberadas em processos inflamatórios, alérgicos ou de danos teciduais, são importantes vasodilatadores (GUYTON; HALL, 2011).

Outro fator, além da RPT, influencia diretamente a P_a de um indivíduo: o débito cardíaco (DC). O DC é o produto da frequência cardíaca (f_H) pelo volume sistólico (VS), sendo este último a quantidade de sangue que deixa o coração a cada batimento cardíaco. Podemos dizer, portanto, que o DC é a quantidade de sangue bombeada pelo coração a cada minuto (HILL, 2012). Sabe-se que a soma das regulações locais do fluxo sanguíneo de todos os tecidos compõem o retorno venoso (quantidade de sangue que flui das veias para o coração a cada minuto) e que este influencia diretamente o DC (MAGDER, 2016).

Assim, a P_a é uma variável influenciada por diversos fatores, os quais encontram-se sintetizados na Figura 2. Aumentos da volemia (e conseqüentemente do retorno venoso e VS), da RPT e da f_H resultam em uma elevação inicial da P_a , enquanto uma diminuição nesses fatores tem resultado contrário. Dessa maneira, mecanismos finos de controle dessa variável - atuando em cada um dos fatores que a influenciam - devem existir para que o fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, o equilíbrio interno do organismo sejam mantidos (MAGDER, 2018).

1.2 – CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL E O BARORREFLEXO

Dada a importância da manutenção da Pa em níveis adequados para que as inúmeras funções do sistema circulatório sejam mantidas, existem mecanismos de controle de curto e longo prazo dessa variável, os quais atuam de diferentes maneiras. Estes visam à estabilidade da Pa frente a possíveis adversidades enfrentadas pelo indivíduo (RANDALL et al., 2000).

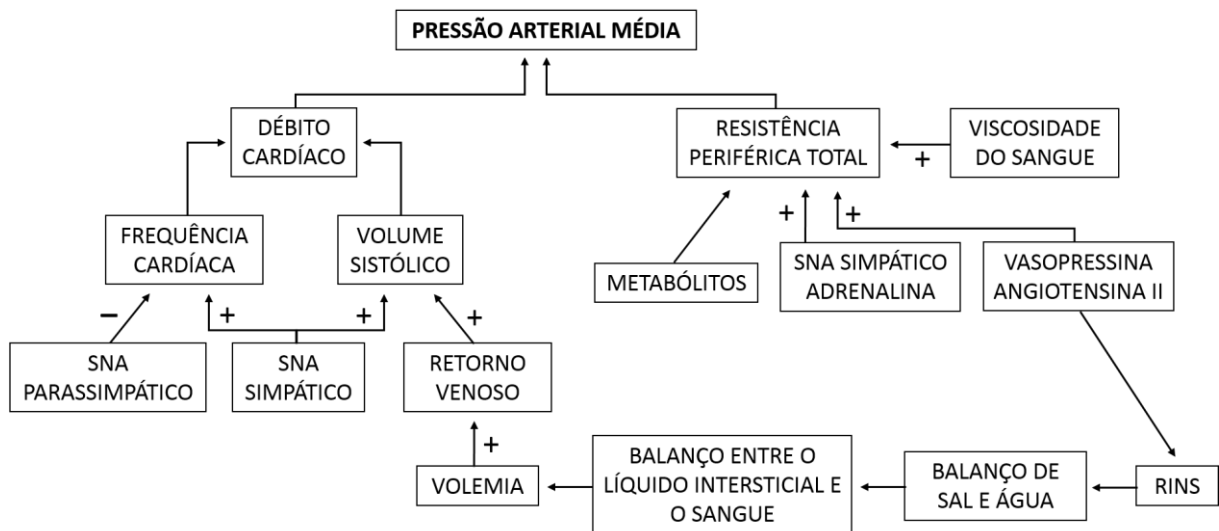


Figura 2. Os diversos fatores que influenciam a pressão arterial média, elevando-a (+) ou reduzindo-a (-). Fonte: Adaptado de Moyes, 2010.

Os mecanismos de controle a longo prazo da Pa estão intimamente relacionados com a volemia, visto que para a sobrevivência a longo prazo, é necessário que a ingestão e a eliminação de líquidos e de sais pelos organismos sejam balanceadas. Esta tarefa é desempenhada por controles nervosos (como o da sede e apetite por sal), hormonais e pelos rins (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004; GUYTON; HALL, 2011).

O aumento da Pa *per se* já aumenta o débito urinário de água e de sódio pelo rim (o que é chamado de diurese e natriurese de pressão, respectivamente). Além disso, existe outro potente mecanismo pelo qual esse órgão consegue regular a Pa : o sistema renina-angiotensina-aldosterona. A renina é uma enzima proteolítica sintetizada pelas células justaglomerulares renais em resposta a três estímulos principais: elevação da atividade simpática, hipotensão e hiponatremia (VANDER, 1967; WEINBERGER et al., 1975). Por sua vez, ela é liberada na corrente sanguínea e age sobre um substrato plasmático – o angiotensinogênio –, levando à formação de angiotensina I. Esta, porém, não é considerada um peptídeo biologicamente ativo e rapidamente é convertida em angiotensina II pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (GRIENDLING et al., 1993).

Além de vasoconstrição, a angiotensina II tem importante influência nos rins (estimulando diretamente a reabsorção de sódio nos túbulos renais), nas células da zona glomerulosa da glândula adrenal (fazendo com as mesmas secretem aldosterona) e no sistema nervoso central (SNC) (estimulando a sede e apetite ao sódio e a liberação de vasopressina pela hipófise posterior). A aldosterona aumenta a reabsorção de sódio, nos túbulos distais e ductos coletores renais; já a vasopressina possui, basicamente, a função de aumentar a reabsorção de água nessas mesmas regiões. Dessa maneira, a ação geral do sistema renina-angiotensina-aldosterona, em uma situação de hipotensão, é fazer com que os rins retenham sódio e água (PEACH, 1977; GUYTON & HALL, 2011); elevando-se, assim, a P_a novamente até seus valores fisiológicos. Em uma situação de aumento dessa variável, a liberação de renina torna-se reduzida, reduzindo a ação de toda a cascata acima mencionada (GUYTON & HALL, 2011).

Enquanto os rins são os principais responsáveis pelo controle a longo prazo da P_a , o controle rápido dessa variável é desempenhado majoritariamente pelo SNA, sendo o barorreflexo um dos mecanismos mais bem conhecidos (RANDALL et al., 2000). Tal reflexo é desencadeado por receptores de estiramento - os barorreceptores -, localizados, no caso de *Colossoma macropomum*, e muito provavelmente nos demais teleósteos, nos arcos branquiais (SANDBLOM; AXELSSON, 2005; ARMELIN et al., 2016). Estes respondem com rapidez às alterações da P_a , aumentando ou diminuindo sua frequência de disparo (em casos de elevação ou queda, respectivamente, dessa variável) e enviando constantemente tais informações ao SNC. Assim, quaisquer alterações na P_a produzem respostas extremamente rápidas visando a normalização dessa variável. Tais respostas incluem: alterações da frequência e força de contração cardíacas e vasodilatação ou vasoconstrição sistêmica; alterando-se, respectivamente, o DC e a RPT (BAGSHAW, 1985; SANDBLOM; AXELSSON, 2005; ARMELIN et al., 2014; ARMELIN et al., 2016).

Todas as alterações supramencionadas produzidas pelo barorreflexo são desencadeadas pelas duas vias antagônicas do SNA: a simpática e a parassimpática. A primeira opera principalmente com a liberação de noradrenalina pelas suas terminações nervosas e interação desta catecolamina com receptores adrenérgicos do tipo α ou β ; já a atuação da segunda está associada à liberação de acetilcolina e interação desta com receptores muscarínicos. Os receptores α_1 -adrenérgicos estão presentes nos vasos sanguíneos e sua ativação resulta em vasoconstrição sistêmica. Já os receptores β_1 -adrenérgicos e os receptores muscarínicos colinérgicos localizam-se no coração e quando estimulados promovem aumento e diminuição da f_H , respectivamente (LANDS et al., 1967; RUFFOLO et al., 1991; CAULFIELD, 1993).

Tanto a via simpática quanto a parassimpática possuem uma atividade basal, estando continuamente ativas para a manutenção das diversas funções fisiológicas do indivíduo. A intensidade desta atividade basal é conhecida como tônus simpático e tônus parassimpático, respectivamente. Sendo assim, um aumento do tônus simpático e/ou uma queda do tônus parassimpático acarretará em elevação da atividade cardíaca e vasoconstrição periférica, elevando-se a Pa ; já a queda desta variável resulta dos efeitos contrários (GUYTON; HALL, 2011).

1.3 – A CONCENTRAÇÃO AMBIENTAL DE OXIGÊNIO E O QUIMIORREFLEXO

Outro fator capaz de causar alterações na f_H de diversos animais é a concentração ambiental de oxigênio, sendo a solubilidade desse gás na água inversamente proporcional à temperatura (Fig. 3) (TRUESDALE et al, 1955; KRAMER et al., 1978; DIAZ; BREITBURG, 2009); sendo assim, determinados ambientes estão sujeitos à variações sazonais na concentração de oxigênio. Tal situação é bem representada em corpos d'água localizados em regiões tropicais do globo; visto que, nesses locais, a temperatura ambiental é bastante elevada durante algumas estações do ano, especialmente durante o dia (HUTCHINS, 1947).

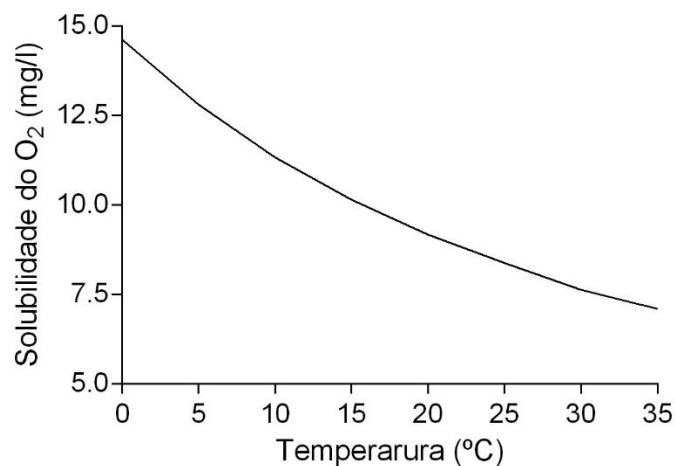


Figura 3. Solubilidade do oxigênio (O₂) na água em diferentes temperaturas. Fonte: Imagem adaptada de Truesdale (1955).

Além das alterações climáticas supracitadas, ações antrópicas têm contribuído para o desenvolvimento de ambientes aquáticos hipóxicos. A entrada exacerbada de nutrientes – provenientes da agricultura, por exemplo – e a eutrofização têm se tornado um problema, tanto para ambientes marinhos quanto para os de água-doce (DIAZ, 2001). A eutrofização – causada devido ao aumento, principalmente, de suprimentos de fósforo e nitrogênio em corpos d'água – é caracterizada por um crescimento exacerbado de algas e plantas aquáticas; fazendo com que

maiores quantidades de oxigênio sejam consumidas, tanto no desenvolvimento quanto na decomposição destes indivíduos e, conseqüentemente, menor quantidade desse gás fique disponível para animais aquáticos, como os peixes (CORRELL, 1998; DIAZ, 2001). Assim, a degradação de ambientes aquáticos causada pela eutrofização pode resultar em grandes perdas de espécies componentes, bem como no comprometimento de diversos serviços ambientais e recreativos que esses ecossistemas promovem (CARPENTER et al., 1998).

Em teleósteos, a resposta inicial à hipóxia é, basicamente, a diminuição da f_H (RANDALL; SHELTON, 1963; RANDALL, 1982; SUNDIN et al., 2000). A baixa concentração de oxigênio estimula quimiorreceptores, localizados predominantemente nos arcos branquiais, o que resulta em bradicardia reflexa (SUNDIN et al., 2000). O nível de diminuição da f_H varia de acordo com o grau de hipóxia que o ambiente apresenta, a temperatura do mesmo e entre as espécies (TAYLOR et al., 1977; WOOD et al., 1979). Acredita-se que esta bradicardia reflexa exerça importantes funções fisiológicas para o animal em situação de hipóxia. A primeira delas seria a de melhorar a captação de oxigênio, devido à diminuição da velocidade com que o fluxo sanguíneo passaria pelas brânquias, resultando em um longo período de difusão para que as trocas gasosas pudessem ocorrer (SATCHELL, 1960); ou, segundo Randall (1982), devido ao aumento da pressão de pulso que ocorre durante a bradicardia hipóxica. Tal aumento, o qual ocorre por meio do mecanismo de Frank-Starling no coração, elevaria o número de lamelas branquiais perfundidas (recrutamento lamelar), aumentando assim a área para as trocas gasosas (FARRELL, 2007).

Recentemente, outra função fisiológica tem sido atribuída para a bradicardia hipóxica: a proteção do miocárdio; visto que a manutenção de uma f_H elevada requisitaria um maior consumo de oxigênio pelo mesmo. Além disso, com a f_H reduzida, o período em que o sangue permanece no lúmen do coração – durante a diástole – é maior, o que aumentaria o tempo para que a difusão do oxigênio para o miocárdio ocorresse (FARRELL, 2007).

1.4 – RELEVÂNCIA DO TEMA E MODELO EXPERIMENTAL ESCOLHIDO

Considerando que tanto o barorreflexo quanto o quimiorreflexo apresentam funções fisiológicas importantes para o animal e que em determinadas condições tais reflexos podem levar a respostas antagônicas – visto que se em uma situação de hipotensão arterial o animal também for exposto à hipóxia ambiental, o reflexo barostático poderá gerar uma taquicardia barorreflexa em oposição à bradicardia quimiorreflexa (Fig. 4) - o presente trabalho visa investigar se a condição de hipóxia ambiental possui influência sobre a sensibilidade barorreflexa de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Fig. 5).

O presente estudo torna-se especialmente importante quando consideramos que o aumento da temperatura global e dos corpos d'água geram, além da hipóxia aquática, uma vasodilatação nos animais (BURTON; TAYLOR, 1940; SMITH et al., 1978) – a qual pode gerar uma hipotensão arterial que, por sua vez, desencadeia a ocorrência das respostas barorreflexas e quimiorreflexas antagônicas supramencionadas (Fig. 4). Portanto, os resultados provenientes desta proposta de pesquisa podem auxiliar na compreensão de mecanismos fisiológicos fundamentais para entender a suscetibilidade de animais aquáticos ao aquecimento global, devido à hipóxia que pode ser gerada em consequência do mesmo. Além disso, existem poucos estudos acerca da sensibilidade barorreflexa em peixes; o que torna os resultados provenientes deste estudo importantes para um maior conhecimento acerca da fisiologia cardiovascular desse grupo.

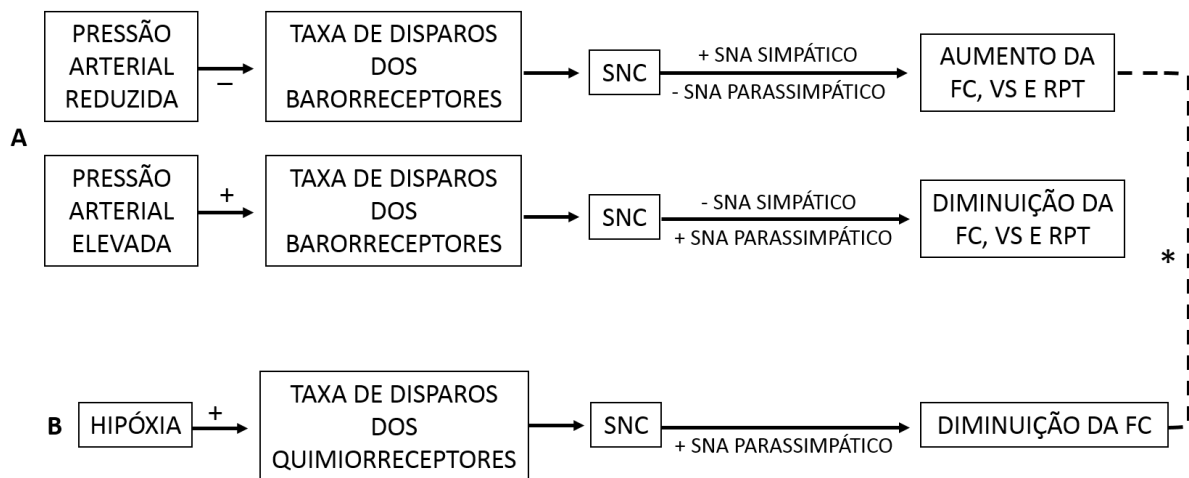


Figura 4. Esquema demonstrando as respostas barorreflexas frente às alterações da pressão arterial (A), a resposta quimiorreflexa frente à hipóxia em peixes (B) e possíveis respostas antagônicas (indicadas pelo asterisco) em caso de hipóxia somada à situação de hipotensão. Nota: FC, frequência cardíaca; VS, volume sistólico; RPT, resistência periférica total. Os sinais de “+” indicam estímulo e os sinais de “-” indicam inibição da referida via.

As espécies do gênero *Oreochromis* são tolerantes a variações de diversos fatores ambientais. A tilápia-do-Nilo, em especial, consegue viver em ambientes cuja temperatura é elevada (FERNANDES; RANTIN, 1989) e a solubilidade de oxigênio reduzida (FERNANDES; RANTIN, 1989; VERHEYEN et al., 1994). Estas características, juntamente com o fato de *O. niloticus* possuir grande importância comercial, torna-o um excelente modelo experimental, especialmente em estudos que avaliem a fisiologia destes animais quando submetidos à hipóxia severa.



Figura 5. Exemplar adulto de *Oreochromis niloticus*. Fonte: <<http://fishbase.org/search.php>>. Acesso em Janeiro de 2017.

2 – OBJETIVOS

2.1 – OBJETIVO GERAL

Avaliar se a condição de hipóxia severa tem influência sobre a sensibilidade barorreflexa em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as alterações da f_H frente a modificações pressóricas induzidas por fármacos vasoconstritor e vasodilatador.
- Analisar se o barorreflexo, em *Oreochromis niloticus*, tem origem autonômica colinérgica.
- Determinar a sensibilidade barorreflexa de *Oreochromis niloticus*, nas condições de normóxia e hipóxia severa, e compará-las.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – OS ANIMAIS

Foram utilizados vinte espécimes de *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1758), ambos os sexos, com massa de aproximadamente $231 \pm 9,04$ gramas (Média \pm EPM). Os animais foram mantidos em tanques de 500 litros sob fotoperíodo natural e abastecidos com água sem cloro, normóxica e temperatura que oscilava entre 20°C e 30°C. A água dos tanques era substituída a cada 72 horas e a densidade populacional máxima por tanque de criação foi de 10 indivíduos. Os mesmos eram alimentados em dias alternados até a saciedade, com ração comercial para peixes (30% de proteína), exceto nas 72 horas que precediam a realização dos experimentos – evitando, assim, possíveis alterações metabólicas induzidas pelo processo de digestão, bem como o acúmulo de fezes nas câmaras experimentais.

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados, localizado na UNESP de São José do Rio Preto - SP, o qual possuía toda infraestrutura necessária; e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais dessa mesma instituição (Protocolo 168/2017).

3.2 – PROCEDIMENTOS PRÉ-EXPERIMENTAIS

Para indução anestésica, os animais foram mantidos em solução aquosa de benzocaína (100 mg.l^{-1}) até apresentarem perda de equilíbrio e ausência dos movimentos operculares. Após, os mesmos foram transferidos para uma mesa cirúrgica contendo um sistema de recirculação de solução de benzocaína (50 mg.l^{-1}) aerada; mantendo, assim, a constante irrigação das brânquias e manutenção da anestesia, sem prejuízo das trocas gasosas dos indivíduos. Uma cânula de polietileno (PE20) foi inserida na artéria aferente do terceiro arco branquial dos mesmos (Fig. 6) e avançada até a aorta ventral, conforme descrito por Sundin et al. (2000). Tal cânula encontrava-se preenchida com solução salina isotônica heparinizada (100 IU.ml^{-1}) e foi suturada à pele dos indivíduos para evitar sua possível remoção. Tal instrumentalização possibilitou tanto a realização de administrações farmacológicas quanto a aquisição da pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais.

Após a realização dos procedimentos supracitados, houve irrigação das brânquias dos animais utilizando-se água livre de anestésico até que os reflexos operculares reaparecessem. Os mesmos foram, então, transferidos para câmaras experimentais individuais com volume de aproximadamente 25 litros ($20 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$), as quais continham água normóxica com

temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,125$ e não possibilitavam o acesso dos peixes à superfície aquática, a qual é mais oxigenada.

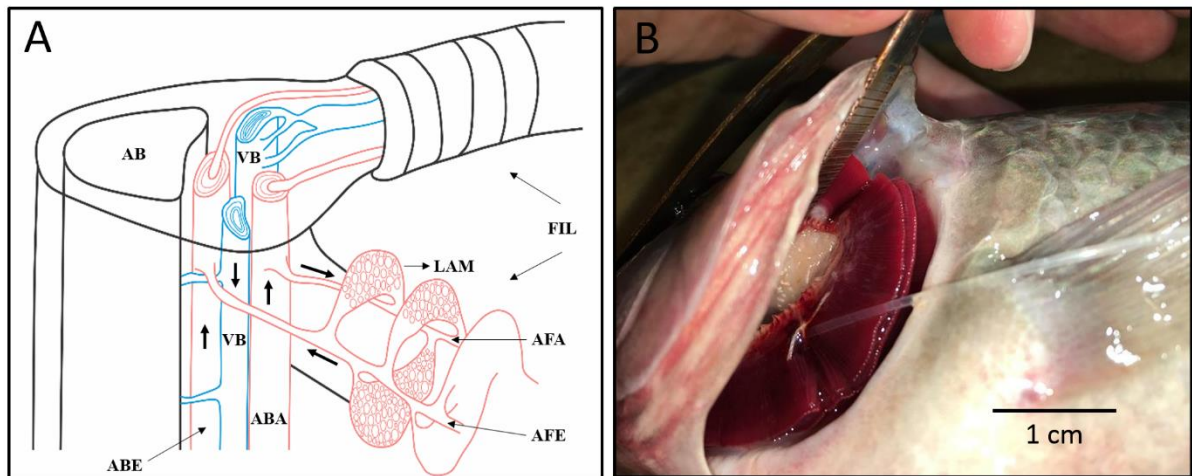


Figura 6. Esquema simplificado dos principais componentes vasculares das brânquias de teleosteos (A) e fotografia das brânquias de um exemplar de *Oreochromis niloticus* evidenciando a cânula de polietileno (PE20) inserida na artéria aferente do terceiro arco branquial do mesmo (B). Nota: AB, arco branquial; ABA, artéria branquial aferente; AFA, artéria filamental aferente; ABE, artéria branquial eferente; AFE, artéria filamental eferente; VB, veia branquial; FIL, filamentos branquiais; LAM, lamela branquial. As setas indicam a direção do fluxo sanguíneo. Fonte: (A) adaptado de Nilsson, 1986; (B) elaborada pelo autor.

Em seguida, a cânula arterial inserida nos peixes foi conectada a um transdutor de pressão (PX600, Baxter Edwards, Irvine, CA, EUA), o qual era calibrado anteriormente a coleta dos dados e ligado ao sistema de aquisição de dados BIOPAC MP100 (BIOPAC Systems, Goleta, CA, EUA), permitindo assim registro contínuo da P_{VA} dos mesmos. A partir do sinal pulsátil de tal P_{VA} , houve também aquisição da f_H . Ao findar dos procedimentos pré-experimentais, os quais foram realizados em aproximadamente 30 minutos, foi aguardado um período de 24 horas (recuperação pós-cirúrgica) anterior ao início dos experimentos.

3.3 – PROTOCOLO EXPERIMENTAL: MÉTODO DE OXFORD

Posteriormente à recuperação cirúrgica, os dados (P_{VA} e f_H) de 08 animais (Grupo Normóxia) foram monitorados até que permanecessem estáveis por 30 minutos, afim de se estabelecer os valores controle de P_{VA} e f_H para determinação da sensibilidade barorreflexa pelo método farmacológico de Oxford. Nesse período, os animais não foram perturbados por barulhos, vibrações, contato visual com o experimentador ou qualquer outro fator que resulte em estresse; além disso, não houve alteração nas características da água ou da câmara experimental.

Após a aquisição dos dados controle, foram realizadas administrações seriadas de cloridrato de fenilefrina (10, 20, 40, 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), o qual é um agonista α_1 -adrenérgico, e de nitroprussiato de sódio (20, 40, 80, 160 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), o qual é um doador de óxido nítrico, via cânula arterial, seguidas de um “flush” de

0,2 ml de solução salina isotônica para que os fármacos não ficassem retidos no interior da cânula. Os fármacos eram preparados pouco antes da infusão a uma diluição de $100 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de solução salina isotônica. Antes de cada nova administração, tempo suficiente era aguardado para que a P_{VA} e a f_H dos animais retornem aos valores dos dados controle. É importante ressaltar que a aquisição dos parâmetros considerados não foi interrompida em nenhum momento.

Por último, outro grupo de *O. niloticus* ($N=8$; Grupo Hipóxia) foi instrumentalizado, como descrito nos procedimentos pré-experimentais, e submetido ao mesmo período de 24 horas de recuperação pós-cirúrgica. Porém, anteriormente à estabilização dos parâmetros cardiovasculares, coleta dos dados controle e realização das administrações farmacológicas, os animais foram submetidos à hipóxia severa (com pressão parcial de oxigênio de aproximadamente 30 mmHg) – o que foi alcançado borbulhando-se N_2 por meio do sistema de aeração. Tal pressão parcial de oxigênio é baixa suficiente para as respostas desencadeadas pelo quimiorreflexo ser observadas, porém não desencadeia prejuízos metabólicos aos animais, visto que a pressão crítica de oxigênio encontrada para *Oreochromis niloticus* é de 18 mmHg (FERNANDES; RANTIN, 1989). A pressão parcial de O_2 foi continuamente monitorada por meio de um analisador (FAC 001- O_2 ; FAC Instruments, São Carlos, São Paulo, Brazil).

Outro grupo de animais ($N=4$) teve seu SNA parassimpático bloqueado antes das variáveis barorreflexas serem coletadas. Dessa maneira, após a recuperação pós-cirúrgica destes animais, houve infusão de $1,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de atropina, o qual é um antagonista dos receptores muscarínicos colinérgicos, e 40 minutos foram aguardados para que o fármaco exercesse seus efeitos. Houve, então, coleta dos dados por 20 minutos a fim de se estabelecer os valores controle para os animais atropinizados e, após, infusão de fenilefrina ($40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) e de nitroprussiato de sódio ($80 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); sendo que este último só foi administrado após as variáveis cardiovasculares retornarem aos valores controle.

Teste para a verificação dos efeitos do veículo dos fármacos (solução salina isotônica) foi realizado em 04 animais do grupo Normóxia e em 04 animais do grupo Hipóxia, escolhidos de maneira aleatória, cerca de dez minutos antes da aplicação do cloridrato de fenilefrina e do nitroprussiato de sódio. Neste teste, após a recuperação pós-cirúrgica e coleta dos dados controle por 30 minutos, houve infusão de $1,6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ de solução salina isotônica – maior volume utilizado para aplicação de um dos fármacos – também seguida de um “saline flush” de 0,2 ml. Este teste teve como objetivo comprovar que as alterações nos parâmetros cardiovasculares obtidas durante a aquisição dos dados não foram desencadeadas pelo veículo de infusão dos fármacos, nem pelo estresse causado durante a administração dos mesmos.

Após coleta dos dados, a função barorreflexa dos animais do grupo Normóxia ($N=8$) e dos animais do grupo Hipóxia ($N=8$) foi investigada por meio da análise da curva sigmoide do reflexo barostático (Fig. 7) – como realizado por Hedrick et al. (2015). Com o uso do software GraphPad Prism v6.0, foi construído um gráfico, onde a P_{VA} (contida no eixo das abscissas) foi representada em relação à sua respectiva f_H (contida no eixo das ordenadas) – utilizando-se os valores controle e as respostas máximas de cada administração farmacológica. Estes dados foram ajustados a uma função logística sigmoide de quatro variáveis, de acordo com a equação abaixo (KENT et al., 1972; REID, 1996).

$$f_H = \frac{(MÁX - MÍN)}{(1 + (Pva/C)^B)} + MÍN$$

f_H – Frequência cardíaca representada no eixo das ordenadas.

MÁX – f_H máxima alcançada pelo barorreflexo.

MÍN – f_H mínima alcançada pelo barorreflexo.

Pva – Pressão arterial média na aorta ventral representada no eixo das abscissas.

C – Pva quando a f_H está no ponto intermediário na curva.

B – Coeficiente de inclinação da porção linear da curva.

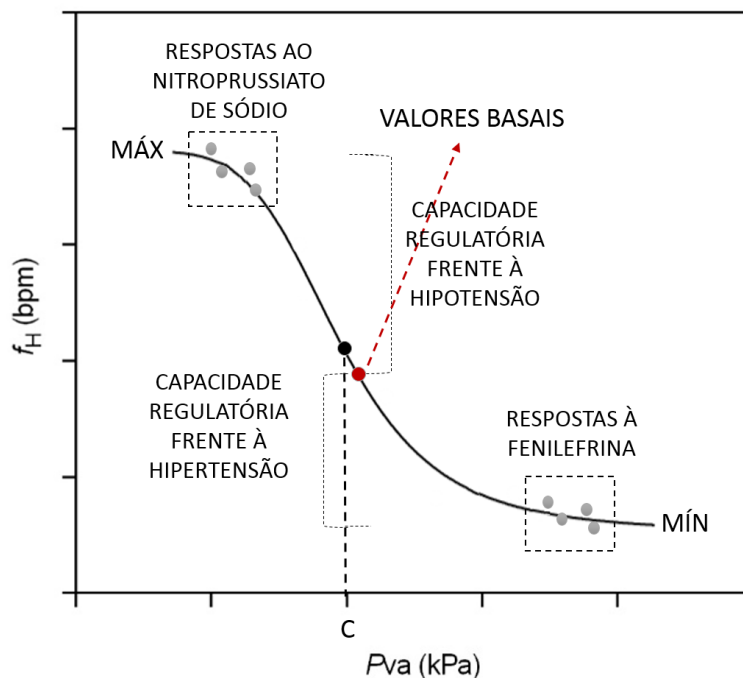


Figura 7. Curva sigmoide do reflexo barostático e principais informações para sua análise. Nota: A soma da capacidade regulatória frente à hipotensão e da capacidade regulatória frente à hipertensão constituem a capacidade regulatória total do animal (alcanço do barorreflexo ou “range”). Nota: f_H , frequência cardíaca em batimentos por minuto; Pva , pressão arterial média na aorta ventral em kPa; MÁX, f_H máxima alcançada pelo barorreflexo; MÍN, f_H mínima alcançada pelo barorreflexo; C , Pva quando a f_H está no ponto intermediário na curva.

O valor absoluto do ganho barorreflexo (G_{50}), quando a P_{VA} é igual a C , foi calculado, para cada animal, por meio da seguinte equação:

$$Ganho_{50} = \left| \frac{-B (MÁX - MÍN)}{4C} \right|$$

Tal ganho foi, então, normalizado, possibilitando comparações entre os tratamentos, de acordo com as equações abaixo. A primeira (1), proposta por Crossley II et al. (2003), onde foram utilizadas a f_H e P_{VA} basais dos animais; e a segunda (2), proposta por Altimiras et al. (1998).

$$(1) \text{ Ganho}_{50N} = \text{Ganho}_{50} \frac{P_{VA}}{f_H} \qquad (2) \text{ Ganho}_{50N} = 100 \frac{B}{MÍN}$$

3.4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis associadas à função barorreflexa adquiridas no presente estudo (f_H máxima, f_H mínima, P_{VA} quando a f_H está no ponto intermediário na curva, f_H basal, P_{VA} basal, coeficiente de inclinação da porção linear da curva, G_{50} e ganho barorreflexo normalizado) foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para verificar se as mesmas apresentavam distribuição gaussiana. Diferenças significativas existentes entre essas variáveis adquiridas nos animais em condições de normóxia ($N=8$) e nos animais em condições de hipóxia ($N=8$) severa foram identificadas por meio de um Teste t Não-pareado Bicaudal.

Os animais atropinizados ($N=4$) foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (resultando em dados paramétricos) e, após, diferenças significativas na f_H e na P_{VA} destes animais foram verificadas por meio de um ANOVA one-way para medidas repetidas seguido de um *post-hoc* de Dunnet.

Para verificar possíveis influências do veículo dos fármacos (solução salina isotônica) nas variáveis fisiológicas estudadas, a f_H e a P_{VA} dos animais submetidos à infusão intra-arterial de solução salina isotônica ($N=4$, Normóxia; $N=4$, Hipóxia), anteriormente e posteriormente à administração desta solução, também tiveram sua parametricidade verificada por um teste de Shapiro-Wilk, e foram comparadas por meio de um Teste t Pareado Bicaudal.

4 – RESULTADOS

Como observado na figura 8, após a infusão de fenilefrina houve aumento na P_{VA} , no animal em normóxia (Fig. 8A) e no animal em hipóxia (Fig. 8B). Já a infusão do nitroprussiato de sódio fez com que a P_{VA} dos animais diminuísse, tanto em normóxia (Fig. 8C) quanto em hipóxia (Fig. 8D).

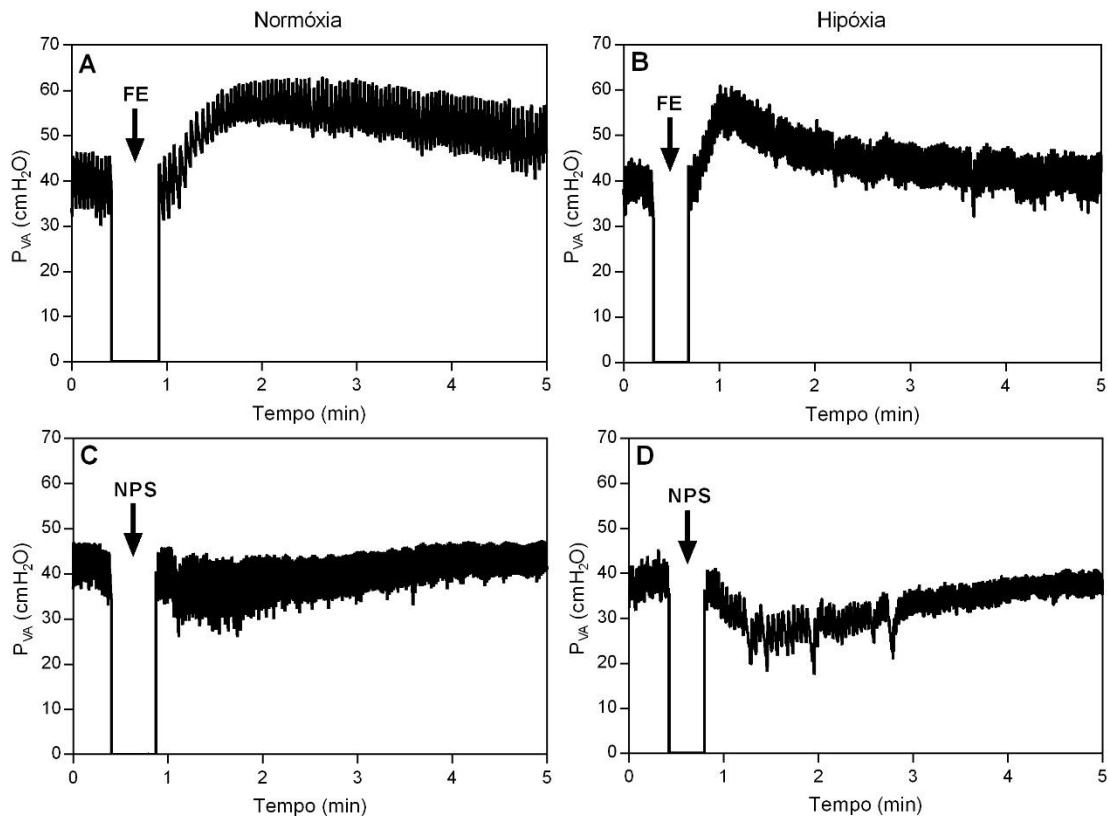


Figura 8. Registros originais da pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) de dois *Oreochromis niloticus* representativos: um em normóxia (A e C) e o outro em hipóxia (B e D). As setas indicam o momento da infusão dos fármacos fenilefrina (FE) a $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (A e B) e nitroprussiato de sódio (NPS) a $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (C e D).

Os efeitos da fenilefrina nas variáveis cardiovasculares dos *Oreochromis niloticus* estão expressos na Figura 9. A P_{VA} dos animais não tratados foi de $3,66 \pm 0,21$ em normóxia (Fig. 9A) e de $3,56 \pm 0,22$ em hipóxia (Fig. 9B). Após infusão de fenilefrina nos animais em normóxia, tal variável elevou-se para $5,15 \pm 0,27$, $5,66 \pm 0,31$, $6,05 \pm 0,42$ e $6,45 \pm 0,41$; na primeira, segunda, terceira e quarta doses, respectivamente (Fig. 9A); enquanto nos animais submetidos à hipóxia tais aumentos levaram a P_{VA} para $4,13 \pm 0,29$, $4,67 \pm 0,34$, $5,27 \pm 0,42$ e $5,78 \pm 0,45$ (Fig. 9B). Todas as infusões de fenilefrina desencadearam aumentos significativos na P_{VA} dos animais em relação à condição de não tratados, tanto em normóxia quanto em hipóxia (Fig. 9A, B).

A f_H dos animais não tratados foi de $44,17 \pm 6,10$ em normóxia (Fig. 9C) e de $25,09 \pm 1,50$ em hipóxia (Fig. 9D). Após infusão de fenilefrina nos animais em normóxia, tal variável

reduziu-se para $25,33 \pm 3,78$, $27,95 \pm 4,20$, $27,43 \pm 3,41$ e $31,09 \pm 3,42$; na primeira, segunda, terceira e quarta doses, respectivamente (Fig. 9C); enquanto nos animais submetidos à hipóxia tais quedas levaram a f_H para $19,88 \pm 1,94$, $21,48 \pm 2,59$, $20,28 \pm 2,70$ e $24,87 \pm 2,28$ (Fig. 9D). Todas as infusões de fenilefrina desencadearam quedas significativas na f_H dos animais em normóxia em relação à condição de não tratados (Fig. 9C). Contudo, tais quedas não foram significativas nos animais submetidos à hipóxia (Fig. 9D).

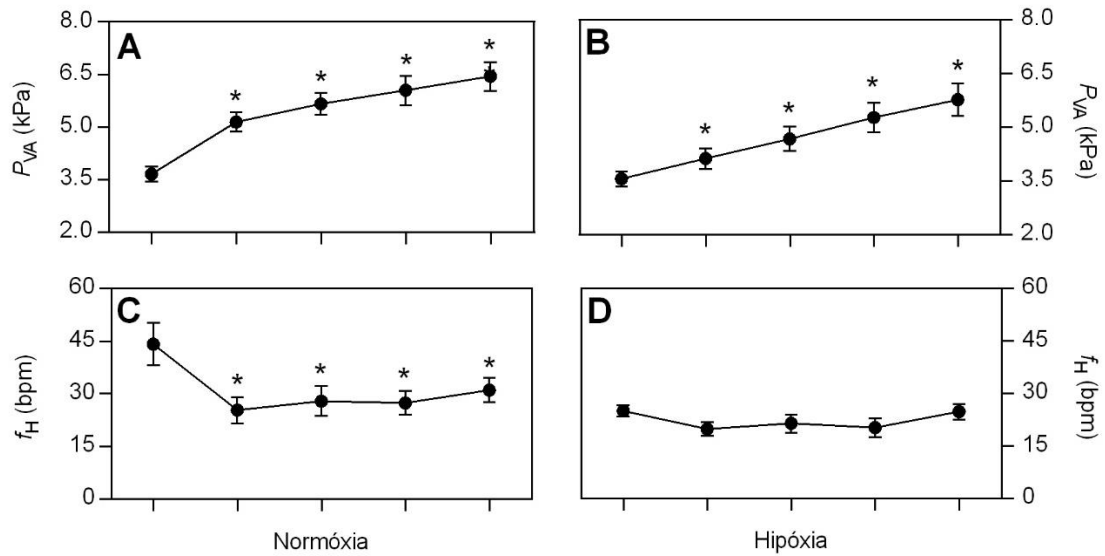


Figura 9. Efeitos da fenilefrina nas variáveis cardiovasculares de *Oreochromis niloticus*, tanto em normóxia (A e C; $N=8$) quanto em hipóxia (B e D; $N=8$), na situação de não tratados e durante as respostas máximas de cada infusão farmacológica (fenilefrina à 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Nota: P_{VA} , pressão arterial média na aorta ventral; f_H , frequência cardíaca em bpm. Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais não tratados.

Já os efeitos do nitroprussiato de sódio estão expressos na Figura 10. A aplicação deste fármaco causou reduções na P_{VA} para $3,12 \pm 0,25$, $3,01 \pm 0,26$, $2,89 \pm 0,21$ e $2,75 \pm 0,25$ nos animais em normóxia (Fig. 10A) e $2,75 \pm 0,13$, $2,47 \pm 0,14$, $2,20 \pm 0,08$ e $2,01 \pm 0,08$ nos animais submetidos à hipóxia (Fig. 10B); na primeira, segunda, terceira e quarta doses, respectivamente. Todas as infusões de nitroprussiato de sódio desencadearam quedas significativas na P_{VA} dos animais em relação à condição de não tratados, com exceção da primeira dose em animais submetidos à normóxia (Fig. 10A, B).

Após infusão de nitroprussiato de sódio nos animais em normóxia, a f_H dos animais elevou-se para $64,47 \pm 5,54$, $67,31 \pm 5,14$, $70,55 \pm 5,18$ e $71,45 \pm 5,05$; na primeira, segunda, terceira e quarta doses, respectivamente (Fig. 10C); enquanto nos animais submetidos à hipóxia tais aumentos levaram a f_H para $59,65 \pm 6,51$, $67,84 \pm 5,53$, $70,85 \pm 5,91$ e $64,65 \pm 6,18$ (Fig. 10D). Todas as infusões de nitroprussiato de sódio desencadearam aumento significativo na f_H dos animais, tanto em normóxia quanto em hipóxia, em relação à condição de não tratados (Fig. 10C, D).

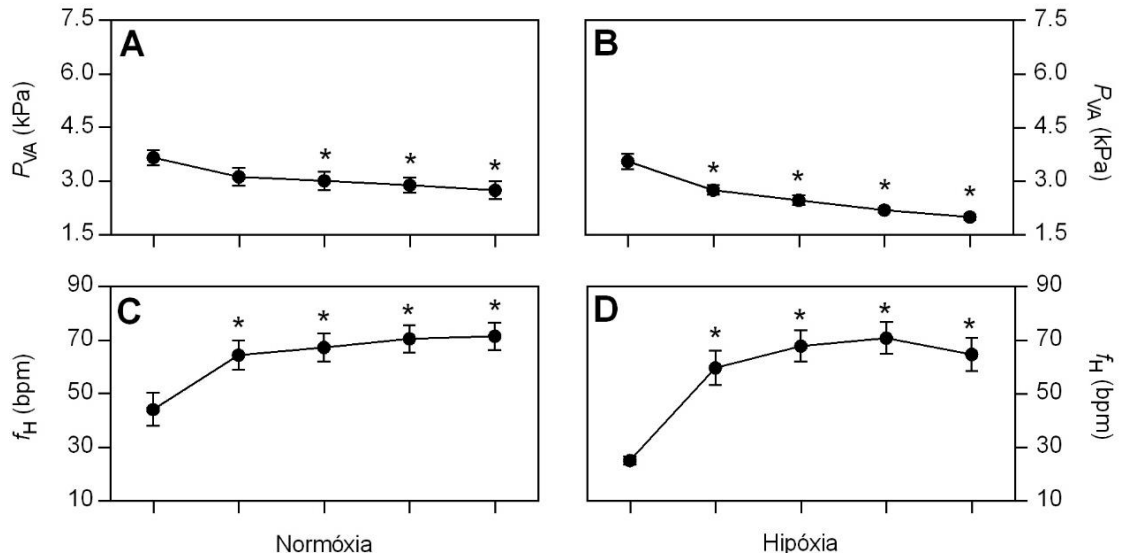


Figura 10. Efeitos do nitroprussiato de sódio nas variáveis cardiovasculares de *Oreochromis niloticus*, tanto em normóxia (A e C; $N=8$) quanto em hipóxia (B e D; $N=8$), na situação de não tratados e durante as respostas máximas de cada infusão farmacológica (nitroprussiato de sódio à 20, 40, 80, 160 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Nota: P_{VA} , pressão arterial média na aorta ventral; f_H , frequência cardíaca em batimentos por minuto. Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais não tratados.

As curvas sigmoidais do reflexo barostático estão expressas na Figura 11. Nota-se que, além da curva sigmoidal média dos animais em hipóxia possuir inclinação maior, a mesma apresenta f_H basal reduzida. Os valores de cada variável barorreflexa obtida a partir das curvas sigmoidais geradas encontram-se na Tabela 1.

As variáveis adquiridas nos animais atropinizados estão expressas na tabela 2. Nota-se que apenas a P_{VA} após infusão de fenilefrina apresentou diferença significativa em relação aos dados controle; não houve alterações significativas da f_H frente às modificações pressóricas ocasionadas pelos fármacos após a infusão de atropina. Já os resultados dos testes para verificação dos efeitos do veículo dos fármacos (solução salina isotônica) estão expressos na Tabela 3. Não houve diferença significativa entre os tratamentos (controle e salina) tanto nos animais submetidos à normóxia quanto nos animais submetidos à hipóxia.

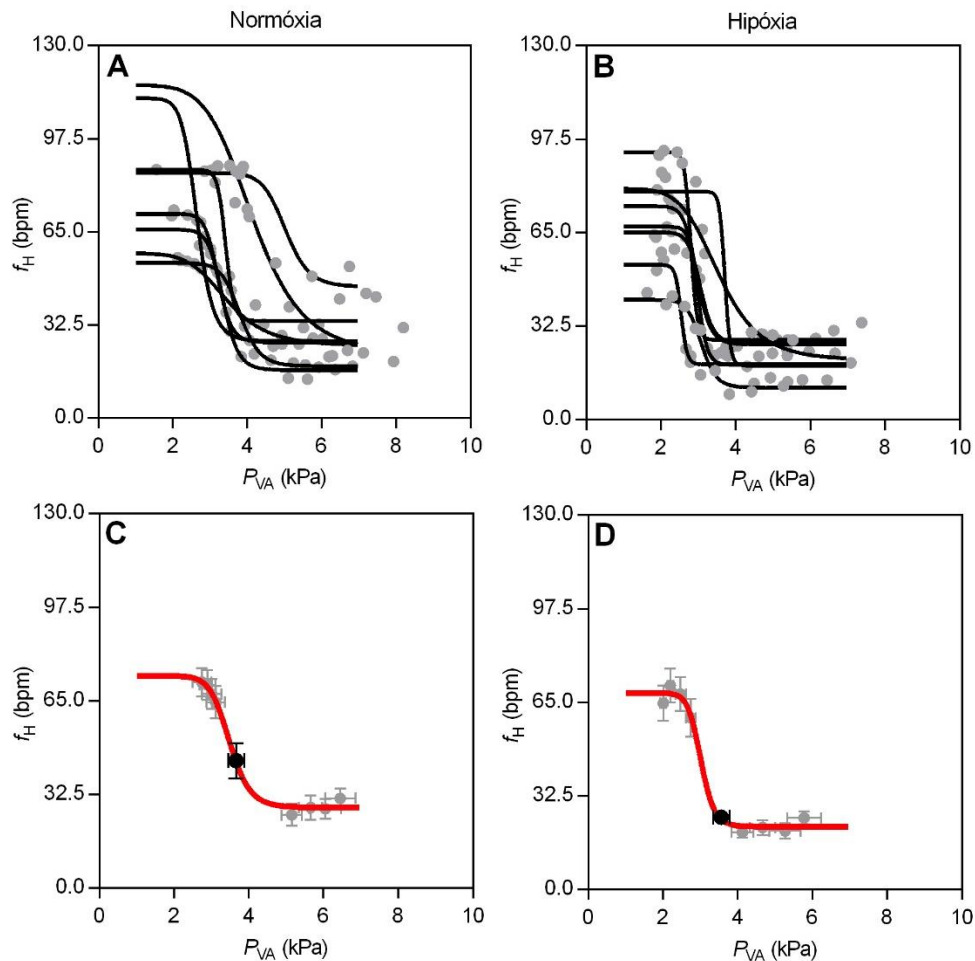


Figura 11. Curvas sigmóides de todos os animais (A e B) e curvas sigmóides médias do reflexo barostático (C e D) obtidas utilizando-se a frequência cardíaca (f_H) e a pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais, em normóxia (A e C; $N=8$) e em hipóxia (B e D; $N=8$). Nas curvas sigmóides médias, os círculos pretos representam os valores basais (animais não tratados) e os círculos cinzas representam as respostas cardiovasculares máximas aos tratamentos com fenilefrina e nitroprussiato de sódio. Os valores estão expressos em Média \pm EPM.

Tabela 1. Variáveis cardiovasculares barorreflexas dos animais em normóxia ($N=8$) e hipóxia ($N=8$). Estes dados foram obtidos a partir de curvas sigmóides do reflexo barostático, após administrações intra-arteriais seriadas de fenilefrina e nitroprussiato de sódio.

	Normóxia	Hipóxia
P_{VA} (kPa) controle	$3,66 \pm 0,21$	$3,55 \pm 0,22$
f_H (bpm) controle	$44,25 \pm 6,17$	$25,09 \pm 1,50^*$
f_H máxima (bpm) (MAX)	$81,04 \pm 8,26$	$69,79 \pm 5,39$
f_H mínima (bpm) (MIN)	$26,88 \pm 3,32$	$21,14 \pm 1,95$
Alcance do barorreflexo (bpm)	$54,16 \pm 8,08$	$48,65 \pm 4,31$
R^2	$0,97 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,01$
Coefficiente de inclinação (bpm kPa $^{-1}$) (B)	$15,17 \pm 2,81$	$24,96 \pm 4,95$
P_{VA-50} (kPa) (C)	$3,64 \pm 0,25$	$3,09 \pm 0,13$
G_{50} (bpm kPa $^{-1}$)	$57,35 \pm 12,90$	$100,80 \pm 24,23$
G_N (Crossley II et al., 2003)	$5,76 \pm 1,45$	$13,62 \pm 3,14^*$
G_N (Altimiras et al., 1998)	$59,29 \pm 10,44$	$125,30 \pm 26,83^*$

Nota: P_{VA} , pressão arterial média na aorta ventral; f_H , frequência cardíaca; R^2 , Coeficiente de correlação; P_{VA-50} , pressão arterial quando a frequência cardíaca está no ponto intermediário da curva; G_{50} , ganho barorreflexo bruto; G_N , ganho barorreflexo normalizado. Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais em normóxia.

Tabela 2. Efeito da fenilefrina ($40 \mu\text{g.kg}^{-1}$) e do nitroprussiato de sódio ($80 \mu\text{g.kg}^{-1}$) na frequência cardíaca (f_H) e na pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais ($N=4$) antes e após bloqueio autonômico parassimpático (colinérgico) com atropina.

	Controle	Pós Fenilefrina	Pós Nitroprussiato de Sódio
f_H (bpm)	$70,30 \pm 4,07$	$70,19 \pm 4,23$	$73,54 \pm 3,82$
P_{VA} (kPa)	$3,83 \pm 0,21$	$5,49 \pm 0,33^*$	$3,41 \pm 0,21$

Nota: Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Um asterisco indica diferença significativa em relação à mesma variável observada nos animais não tratados.

Tabela 3. Frequência cardíaca (f_H) e pressão arterial média na aorta ventral (P_{VA}) dos animais submetidos à normóxia ($N=4$) e hipóxia ($N=4$), antes e após administração de solução salina isotônica.

	Pré Salina	Pós Salina
f_H (bpm) (Normóxia)	$43,83 \pm 6,04$	$41,22 \pm 6,68$
P_{VA} (kPa) (Normóxia)	$3,58 \pm 0,45$	$3,91 \pm 0,47$
f_H (bpm) (Hipóxia)	$24,26 \pm 2,65$	$27,61 \pm 2,29$
P_{VA} (kPa) (Hipóxia)	$3,79 \pm 0,32$	$3,98 \pm 0,24$

Nota: Os valores estão expressos em Média \pm EPM. Não houve diferença significativa entre os valores antes e após administração de solução salina isotônica, tanto em animais em normóxia quanto naqueles submetidos à hipóxia.

5 – DISCUSSÃO

5.1 – CRÍTICA AOS MÉTODOS

Em diversos estudos com peixes envolvendo mensurações pressóricas costuma-se aferir a pressão arterial média na aorta dorsal (P_{DA}) ou a P_{VA} dos mesmos, como demonstrado no trabalho de Axelsson e Fritsche (1994). No presente estudo optou-se pela aquisição da P_{VA} (Fig. 12), pois para obtenção da P_{DA} realiza-se uma perfuração no palato mole dos animais e, visto que a tilápia-do-Nilo possui um corpo achatado lateralmente, o acesso a esta região e posterior inserção de uma cânula não foi possível. Além disso, a escolha sobre qual aorta ter sua Pa aferida não influenciou os objetivos do presente trabalho, como explicado adiante.

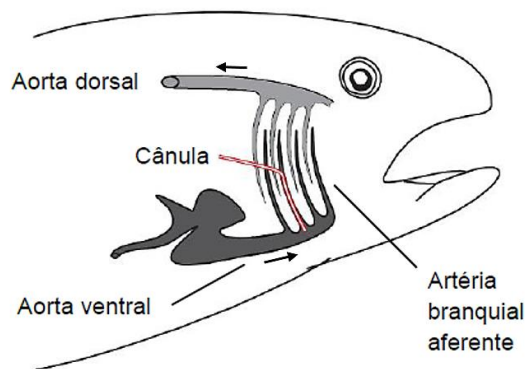


Figura 12. Localização da aorta dorsal, aorta ventral e artéria branquial aferente em teleósteos. Nota-se que a cânula de polietileno foi inserida na artéria branquial aferente e avançada até a aorta ventral, para aquisição da P_{VA} . Nota: As setas indicam a direção do fluxo sanguíneo. Imagem modificada de Sandblom e Axelsson (2005).

Em truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) demonstrou-se que a P_{VA} é cerca de 25% maior que a P_{DA} (OLSON et al., 1997); o que é compreensível, pois além de receber diretamente o sangue bombeado pelo coração do animal, o fluxo sanguíneo na aorta ventral enfrenta posterior resistência branquial, o que não ocorre com o fluxo sanguíneo na aorta dorsal (Fig. 12). Sendo assim, poderia se especular que a infusão de nitroprussiato de sódio causaria uma redução menor na P_{VA} em relação à P_{DA} (SANDBLOM, 2016); já a fenilefrina causaria um aumento de pressão maior na primeira. Se isso ocorresse, haveria apenas um deslocamento da curva sigmoideal referente à P_{DA} para a esquerda (Fig. 13), sem alteração da sensibilidade barorreflexa; visto que, para a determinação desta última, o relevante não é a mensuração da Pa absoluta, mas sim sua variação e a influência desta sobre a f_H . Além disso, trabalho realizado Olson et al. (1997) demonstrou que apesar da P_{DA} ser maior que a P_{VA} , a infusão de nitroprussiato de sódio desencadeou quedas de mesma proporção na pressão sanguínea em ambas as aortas.

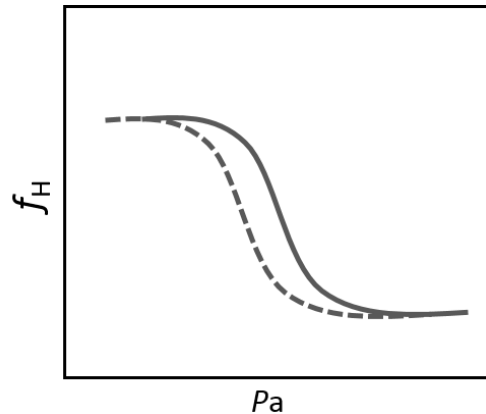


Figura 13. Curvas sigmoidais barorreflexas ilustrativas, demonstrando possível deslocamento da curva sigmoidal referente à aferição da P_{DA} para a esquerda (linhas pontilhadas), caso os fármacos fenilefrina e nitroprussiato de sódio tivessem diferentes efeitos na P_a da aorta ventral e da aorta dorsal.

5.2 – EFEITO DA HIPÓXIA SOBRE O BARORREFLEXO EM TILÁPIA-DO-NILO

O aumento e diminuição da P_{VA} , causados pela administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (Fig. 8), respectivamente, já eram esperados e ocorreram devido à ação fisiológica destes fármacos: a fenilefrina é um agonista α_1 -adrenérgico que, ao interagir com estes receptores nos vasos sanguíneos, leva à uma vasoconstrição sistêmica e consequente aumento da P_{VA} (DOCHERTY; STARKE, 1981; RUFFOLO et al., 1991). Já o nitroprussiato de sódio é um doador de óxido nítrico (potente vasodilatador), explicando-se a queda da P_{VA} após infusão do mesmo (KOWALUK et al., 1992). Tais modificações na P_{VA} induzidas pelos fármacos foram significativas (Figs. 9A; B e 10A; B), com exceção da primeira infusão de nitroprussiato de sódio ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$) no grupo Normóxia (Fig. 10A). Como o nitroprussiato de sódio desencadeia alterações menos intensas na P_a , é justificável que a menor concentração desse fármaco não tenha causado alteração significativa na P_{VA} destes animais. Entretanto, a taquicardia ocasionada por tal infusão foi significativa (Fig. 10C), não comprometendo, assim, a investigação acerca da sensibilidade barorreflexa dos mesmos.

A f_H do grupo Normóxia, de aproximadamente 45 bpm (Tabela 1), é semelhante à encontrada em trabalho desenvolvido por Zeraik et al. (2013), também com *O. niloticus*. Contudo, neste último estudo, quando os animais foram submetidos à hipóxia severa, não houve bradicardia significativa; o que pode ter ocorrido devido à instrumentalização dos mesmos, a qual foi mais extensa (inserção de cânulas bucal, venosa e operculares; e eletrodos de eletrocardiograma), o que pode ter interferido no nível de estresse, e consequentemente na f_H , dos mesmos.

As alterações pressóricas ocasionadas pelo fármacos desencadearam respostas barorreflexas, havendo bradicardia após a hipertensão induzida pela fenilefrina e taquicardia

após hipotensão induzida pelo nitroprussiato de sódio (Figs. 9 e 10). Tais modificações na f_H foram significativas, com exceção da bradicardia barorreflexa após a infusão de fenilefrina no grupo Hipóxia (Fig. 9D), o que é justificado pela baixa f_H observada nos animais deste grupo mesmo na condição de não tratados. Esta f_H basal reduzida nos animais submetidos à hipóxia está de acordo com outros diversos estudos realizados em teleósteos, onde a diminuição da concentração de O_2 leva à uma bradicardia quimiorreflexa, a qual ocorre devido a uma redução do tônus parassimpático (FARREL, 2007; LEITE et al., 2009; ZERAIK et al., 2013). É importante ressaltar que não houve alteração significativa dos parâmetros cardiovasculares (f_H e P_{VA}) após infusão de solução salina isotônica (Tabela 3), comprovando que estas não foram desencadeadas pelo veículo de infusão dos fármacos, nem pelo estresse causado durante a administração dos mesmos.

As alterações da f_H observadas após infusão dos fármacos vasoconstritor (fenilefrina) e vasodilatador (nitroprussiato de sódio) foram completamente abolidas com a administração de atropina (Tabela 2), demonstrando que as respostas barorreflexas em *O. niloticus* são desempenhadas exclusivamente pelo SNA parassimpático. Tais resultados também podem ser observados em trabalho realizado por Sandblom et al. (2016) com perca (*Perca fluviatilis*). Além disso, estudos envolvendo outros teleósteos já haviam demonstrado que a administração de adrenalina causa aumento da Pa dos mesmos e bradicardia reflexa, a qual é inibida em animais atropinizados (STEVENS et al., 1972; HELGASON; NILSSON, 1973). Estudo de Sandblom e Axelsson (2005) em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) demonstrou que alterações pressóricas induzidas pela oclusão da aorta dorsal e da aorta ventral, separadamente, resultavam em alterações reflexas da f_H , as quais não ocorriam com a administração de atropina. Até mesmo no elasmobrânquio *Squalus acanthias* observou-se que o aumento da pressão nos vasos branquiais teve efeito cardioinibitório, o qual desapareceu após estes animais serem vagotomizados (LUTZ; WYMAN, 1932).

No presente estudo, é possível observar que a hipotensão arterial engatilha alterações na f_H mais intensas que a hipertensão arterial (Fig. 11C, D). Essa maior sensibilidade barorreflexa frente à hipotensão foi também encontrada no trabalho de Sandblom et al. (2016) com o teleósteo *Perca fluviatilis*, bem como em estudos envolvendo o anuro *Rhinella schneideri* (ZENA et al., 2015), o jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) (HAGENSEN et al., 2010) e a tartaruga-da-orelha-vermelha (*Trachemys scripta*) (CROSSLEY II et al, 2015). Tais estudos mencionados demonstraram também que o aumento da temperatura fez com que a sensibilidade barorreflexa aumentasse nestes animais. Com exceção do trabalho de Sandblom (2016), os demais obtiveram os valores do G_{50} dos animais, normalizados (G_N) ou não (Tabela 4).

Percebe-se que os valores dos ganhos barorreflexos, mesmo que normalizados, diferem demasiadamente entre os animais estudados (Tabela 4). Isso ocorre devido à distância filogenética entre os mesmos, já que pertencem a diferentes classes, e dificulta uma comparação fisiológica e comportamental acerca da sensibilidade barorreflexa entre essas espécies. Contudo, o elevado G_{50} em *O. niloticus* pode ser explicado devido a uma possível predominância do controle cardíaco do reflexo barostático em peixes. Embora o barorreflexo atue na f_H e na vasculatura periférica, em peixes as respostas vasomotoras parecem ser menos eficientes. Estudos demonstraram que inclinações de 60° da serpente *Notechis scutatus* causam queda inicial da P_a seguida de taquicardia e vasoconstrição periférica; esta última atua na elevação reflexa da P_a até os valores pré-inclinatorios (LILLYWHITE; SEYMOUR, 1978) mesmo após estabilização da f_H ; já quando o teleósteo *Pomatomus saltatrix* é submetido à mesma inclinação, a P_a não é restaurada completamente (OGILVY; DUBOIS, 1982). Dessa maneira, se um teleósteo é submetido a uma situação que cause modificações da P_a , provavelmente o barorreflexo atuará de maneira mais intensa desencadeando alterações inversamente proporcionais na f_H , ao invés de ajustes vasomotores.

Tabela 4. Comparação entre os ganhos barorreflexos, normalizados ou não, de espécies pertencentes a diferentes classes de vertebrados na condição de normóxia.

Espécie	T (°C)	G_{50}	G_N (1)	G_N (2)	Fonte
<i>O. niloticus</i>	25	$57,35 \pm 12,90$	$5,76 \pm 1,45$	$59,29 \pm 10,44$	Presente trabalho
<i>R. schneideri</i>	15	$7,27 \pm 1,44$	$1,33 \pm 0,30$	-	Zena et al. (2015)
<i>R. schneideri</i>	25	$19,6 \pm 3,27$	$2,90 \pm 0,58$	-	Zena et al. (2015)
<i>R. schneideri</i>	30	$24,4 \pm 4,15$	$3,45 \pm 0,84$	-	Zena et al. (2015)
<i>T. scripta</i>	3	$14,99 \pm 2,33$	-	$226,86 \pm 35,90$	Crossley et al. (2015)
<i>T. scripta</i>	13	$19,47 \pm 5,19$	-	$279,67 \pm 60,1A$	Crossley et al. (2015)
<i>C. latirostris</i>	15	-0.11	-	-	Hagensen et al. (2010)
<i>C. latirostris</i>	30	-0.19	-	-	Hagensen et al. (2010)

Nota: T, temperatura em graus Celsius; G_{50} , ganho barorreflexo; G_N , ganho barorreflexo normalizado - por equações propostas por Crossley et al. 2003 (1) e Altimiras et al., 1998 (2).

Embora comparação da sensibilidade barorreflexa entre as diferentes espécies não seja possível, é importante notar a influência da temperatura nessa variável. Em *R. schneideri*, *T. scripta* e *C. latirostris*, o G_{50} e o G_N aumentaram com a elevação da temperatura (HAGENSEN et al., 2010; CROSSLEY II et al, 2015; ZENA et al., 2015); o que é compreensível, visto que a elevação da temperatura causa um aumento do metabolismo dos animais e uma perfusão adequada dos tecidos torna-se especialmente importante nessa situação, onde o consumo de O_2 encontra-se elevado (GOLLOCK et al., 2006; CLARK et al., 2008; FARREL et al., 2009).

No presente trabalho, o G_N , tanto por equação proposta por Altimiras et al. (1998) quanto por Crossley II et al. (2003), mostrou-se significativamente elevado nos animais submetidos à hipóxia. Como visto anteriormente, a bradicardia quimiorreflexa é controlada pelo SNA

parassimpático e, assim, pelo tônus vagal (colinérgico). Ao ser submetido à hipóxia, o tônus colinérgico do animal aumenta, o que causa uma diminuição da f_H (RANDALL; SMITH, 1967; LEITE et al., 2009; TAYLOR et al., 2014). Quando ocorre a infusão de um vasoconstritor (nesse caso, fenilefrina), a P_{VA} deste mesmo animal aumenta e, por barorreflexo, o tônus colinérgico aumenta ainda mais, o que causa redução da f_H (GUYTON; HALL, 2011). Portanto, neste momento, há uma bradicardia quimio e barorreflexa e o tônus colinérgico encontra-se bastante elevado. Quando o nitroprussiato de sódio é administrado, a P_{VA} do animal cai e, por barorreflexo, o tônus colinérgico torna-se reduzido, o que causa aumento da f_H . Tendo em vista que, em um animal submetido à hipóxia, o tônus colinérgico já esteja demasiadamente elevado, este possui uma ampla faixa para redução quando há infusão do vasodilatador (o nitroprussiato de sódio), ampliando a capacidade de produzir uma taquicardia barorreflexa.

Para que se compreenda o motivo do G_N em animais submetidos à hipóxia ser mais elevado que nos animais em normóxia, é necessária a abordagem do conceito de capacidade regulatória. Esta é representada pelo alcance do barorreflexo (ou “Range”), o qual é a diferença entre a f_H mínima e a f_H máxima alcançadas durante o reflexo barostático. Como demonstrado na Tabela 1, não houve diferença significativa no alcance barorreflexo, ou capacidade regulatória, entre os animais dos dois grupos (hipóxia e normóxia). Porém, observando-se as curvas sigmoidais médias dos mesmos (Fig. 11B; D), nota-se que a capacidade regulatória do animal frente à hipotensão é maior no grupo Hipóxia (pelo fato da f_H basal destes animais estar reduzida) que no grupo Normóxia.

Considerando-se que no presente estudo é possível observar que a hipotensão arterial engatilha alterações na f_H mais intensas que a hipertensão arterial, é concebível que o aumento do G_N dos animais durante a hipóxia ocorra por dois fatores em conjunto:

- Maior sensibilidade barorreflexa dos animais frente à hipotensão arterial.
- Aumento da capacidade regulatória frente à hipotensão, devido ao tônus colinérgico encontrar-se mais elevado na condição de hipóxia ambiental e ter ampla capacidade de redução para gerar taquicardia barorreflexa.

Sabe-se que as mudanças da f_H frente a alterações pressóricas desempenham diferentes funções fisiológicas. Em caso de hipertensão, a bradicardia barorreflexa faz com a sobrecarga de pressão nos vasos sanguíneos e possíveis rupturas e edemas sejam evitados, especialmente em vasos de menor calibre (WEST; VAN VLIET, 1983). Já a taquicardia associada à queda da P_a tem como objetivo elevar esta variável até seus níveis adequados para que a perfusão tecidual seja mantida (HEDRICK, 2015). Uma possível função fisiológica dessa maior sensibilidade barorreflexa aliada à maior capacidade de produzir taquicardia frente à hipotensão,

em animais submetidos à hipóxia, estaria na manutenção do suprimento nutricional dos diferentes tecidos, especialmente em uma situação onde a quantidade de O_2 é limitada e uma isquemia pode ocorrer.

5.3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em hipóxia, o G_N no teleósteo *O. niloticus* aumenta significativamente e, após hipotensão induzida pelo nitroprussiato de sódio, a taquicardia barorreflexa supera a bradicardia quimiorreflexa; com isso, poderia se questionar as possíveis funções fisiológicas da bradicardia hipóxica e contestar sua importância. Porém, possivelmente as infusões farmacológicas desencadeiam hipo e hipertensão mais intensas do que ocorreria em situações de adversidades pressóricas encontradas no meio em que o animal vive. Dessa maneira, o barorreflexo, sem influência dos fármacos, atuaria nos valores de P_{VA} e f_H mais próximos aos basais e, apesar de uma hipotensão gerar taquicardia, esta não levaria a uma f_H demasiadamente superior à que o animal apresenta na situação de hipóxia. Com isso, pode depreender-se que nessa condição ambiental, a tilápia-do-Nilo tem a capacidade de manter os dois ajustes (baro e quimiorreflexo) operando de maneira eficiente.

Além de fornecer informações fundamentais para a suscetibilidade desse animal à hipóxia (a qual pode ser causada como consequência de um aumento da temperatura global), o presente trabalho foi o primeiro a analisar o reflexo barostático por meio da curva sigmoidal em peixes; obtendo-se, assim, a f_H máxima e mínima alcançadas pelo barorreflexo (representada pelos platôs de tais curvas) e tornando o valor calculado para o G_{50} mais confiável.

6- CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- O barorreflexo, em tilápia-do-Nilo, tem origem autonômica colinérgica.
- A hipóxia severa causa aumento da sensibilidade barorreflexa nestes animais, o que ocorre devido ao aumento da capacidade regulatória dos mesmos frente à hipotensão nessa condição ambiental.
- A possível função fisiológica da sensibilidade barorreflexa ser maior em animais submetidos à hipóxia é a manutenção do suprimento nutricional para os diferentes tecidos em uma condição onde o suprimento de O₂ é limitado.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTIMIRAS, J.; FRANKLIN, C. E.; AXELSSON, M. Relationships between blood pressure and heart rate in the saltwater crocodile *Crododylus porosus*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 201, p. 2235-2242, 1998.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; DE CASTRO, M.; ELIAS, L. L. K.; VALENÇA, M. M.; MCCANN, S. M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiological Reviews**, v. 84, p. 169-208, 2004.
- ARMELIN, V. A.; BRAGA, V. H. S.; ABE, A. S.; RANTIN, F. T.; FLORINDO, L. H. Autonomic control of heart rate during orthostasis and the importance of orthostatic-tachycardia in the snake *Python molurus*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 184, p. 903-912, 2014.
- ARMELIN, V. A.; BRAGA, V. H. S.; TEIXEIRA, M. T.; RANTIN, F. T.; FLORINDO, L. H.; KALININ, A. L. Gill denervation eliminates the barostatic reflex in a neotropical teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 1213 – 1224, 2016.
- AXELSSON, M.; FRITSCHKE, R. Cannulation techniques. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Eds.). **Biochemistry and molecular biology of fishes: Analytical techniques**. Amsterdam: Elsevier, 1994. v. 3, p. 17 – 36.
- BAGSHAW, R. J. Evolution of cardiovascular baroreceptor control. **Biological Reviews**, v. 60, p. 903-912, 1985.
- BURTON, A. C.; TAYLOR, R. M. A study of the adjustment of peripheral vascular tone to the requirements of the regulation of body temperature. **The American Journal of Physiology**, v. 129, p. 565 – 577, 1940.
- CARPENTER, S. R.; CARACO, N. F.; CORRELL, D. L.; HOWARTH, R. W.; SHARPLEY, A. N.; SMITH, V. H. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. **Ecological Applications**, v. 8, p. 559 – 568, 1998.
- CAULFIELD, M. P. Muscarinic receptors - characterization, coupling and function. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 58, p. 319-379, 1993.
- CLARK, T. D., SANDBLOM, E., COX, G. K., HINCH, S. G.; FARRELL, A. P. Circulatory limits to oxygen supply during an acute temperature increase in the Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **American Journal of Physiology**, v. 295, p. 1631-1639, 2008.
- CORRELL, D. L. The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: a review. **The Journal of Environmental Quality**, v. 27, n. 2, p. 261 – 266, 1998.
- CROSSLEY II, D. A.; HICKS, J. W.; ALTIMIRAS, J. Ontogeny of baroreflex control in the American alligator *mississippiensis*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 2895 – 2902, 2003.

CROSSLEY, D. A., WEARING, O. H., PLATZACK, B., HARTZLER, L. K. AND HICKS, J. W. Acute and chronic temperature effects on cardiovascular regulation in the red-eared slider (*Trachemys scripta*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 185, p. 401-411, 2015.

DIAZ, R. J. Overview of hypoxia around the world. **Journal of Environmental Quality**, v. 30, n. 2, p. 275 – 281, 2001.

DIAZ, R. J.; BREITBURG, D. L. The hypoxic environment. **Fish Physiology**, v. 27, p. 1 – 23, 2009.

DOCHERTY, J. R.; STARKE, K. Postsynaptic alpha-adrenoceptor subtypes in rabbit blood vessels and rat anococcygeus muscle studied in vitro. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 3, p. 854-866, 1981.

FARRELL, A. P. Tribute to P. L. Lutz: a message from the heart – why hypoxic bradycardia in fishes? **The Journal of Experimental Biology**, v. 210, 1715 – 1725, 2007.

FARRELL, A. P., ELIASON, E. J., SANDBLOM, E. AND CLARK, T. D. Fish cardiorespiratory physiology in an era of climate change. **Canadian Journal of Zoology**, v. 87, p. 835-851, 2009.

FERNANDES, M. N.; RANTIN, F. T. Respiratory responses of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) to environmental hypoxia under different thermal conditions. **Journal of Fish Biology**, v. 35, p. 509 – 519, 1989.

GOLLOCK, M. J., CURRIE, S., PETERSEN, L. H. AND GAMPERL, A. K. Cardiovascular and haematological responses of Atlantic cod (*Gadus morhua*) to acute temperature increase. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 2961-2970, 2006.

GRIENDLING, K. K.; MURPHY, T. J.; ALEXANDER, R. W. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation*, v. 87, p. 1816-1828, 1993.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. A Circulação. In: _____. (Eds.). **Tratado de Fisiologia Médica**. Décima Segunda Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 165 – 297.

HEDRICK, M. S.; MCNEW, K. D.; CROSSLEY II, D. A. Baroreflex function in anurans from different environments. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 179, p. 144 – 148, 2015.

HAGENSEN, M. K., ABE, A. S. AND WANG, T. Baroreflex control of heart rate in the broad-nosed *Caiman latirostris* is temperature dependent. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 156, p. 458-462, 2010.

HELGASON, S. S., NILSSON, S. Drug effects on pre-and post-branchial blood pressure and heart rate in a free-swimming marine teleost, *Gadus morhua*. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 88, p. 533–540, 1973.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. Circulação. In: _____. (Eds.). **Fisiologia Animal**. Segunda Edição. Porto Alegre: Artmed Editora, 2012. p. 611-642.

HUTCHINS, L. W. The bases for temperature zonation in geographical distribution. **Ecological Monographs**, v. 17, n. 3, p. 325 – 335, 1947.

IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNS, R. E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 84, p. 9265-9269, 1987.

KENT, B. B.; DRANE, J. W.; BLUMENSTEIN, B. B.; MANNING, J. W. Mathematical model to assess changes in baroreceptor reflex. **Cardiology**, v. 57, p. 295 – 310, 1972.

KOWALUK, E. A.; SETH, P.; FUNG, H. L. Metabolic activation of sodium nitroprusside to nitric oxide in vascular smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 262, p. 916-922, 1992.

KRAMER, D. L.; LINDSEY, C. C.; STEVENS, E. D. The fishes and the aquatic environment of the central Amazon basin, with particular reference to respiratory patterns. **Canadian Journal of Zoology**, v. 56, p. 717 – 729, 1978.

LANDS, A. M.; ARNOLD, A.; MCAULIFF J. P.; LUDUENA, F. P.; BEOWN, T. G. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. **Nature**, v. 2014, p. 597-598, 1967.

LEITE, C. A. C., TAYLOR, E. W., GUERRA, C. D. R., FLORINDO, L. H., BELÃO, T.; RANTIN, F. T. The role of the vagus nerve in the generation of cardiorespiratory interactions in a neotropical fish, the pacu, *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 195, p. 721-731, 2009.

LILLYWHITE, H. B.; R. S. SEYMOUR. Regulation of arterial blood pressure in Australian tiger snakes. **Journal of Experimental Biology**, v. 75, p. 65-79, 1978.

LILLYWHITE, H. B. Snakes, blood circulation and gravity. **Scientific American**, v. 256, p. 72-78, 1988.

LILLYWHITE, H. B. Gravity, blood circulation and the adaptation of form and function in lower vertebrates. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 275, p. 217 – 225, 1996.

LUTZ, B. R., WYMAN, L. C. Reflex cardiac inhibition of branchio-vascular origin in the elasmobranch, *Squalus acanthias*. **The Biological bulletin: Marine Biological Laboratory**, v. 62, p. 10–16, 1932.

MAGDER, S. Volume and its relationship to cardiac output and venous return. **Critical Care**, v. 20, p. 271-281, 2016.

MAGDER, S. The meaning of blood pressure. **Critical care**, v, 22, p. 257-266, 2018.

MOYES, C. D; SCHULTE, P. M. Regulação da pressão e do fluxo. In: _____. (Eds.). **Princípios de fisiologia animal**. Segunda Edição. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 384-396.

NILSSON, S. Control of gill blood flow. In: **Fish physiology: Recent advances**, editado por S. Nilsson e S. Holmgren. London, Croom Helm, 1986, p. 87-101.

OGILVY, C. S., DUBOIS, A. B. Effects of tilting on blood pressure and fluid pressures of bluefish and smooth dogfish. **American Journal of Physiology**, v. 242, p. 70-76, 1982.

OLSON, K. R., CONKLIN, D. J., FARRELL, A. P., KEEN, J. E., TAKEI, Y., WEAVER, L., JR., SMITH, M. P.; ZHANG, Y. Effects of natriuretic peptides and nitroprusside on venous function in trout. **American Journal of Physiology**, v. 273, p. 527-39, 1997.

PALMER, R. M.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, p. 524-526, 1987.

PEACH, M. J. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. **Physiological Reviews**, v. 57, p. 333-370, 1977.

RANDALL, D. J.; SHELTON, G. The effects of changes in environmental gas concentrations on the breathing and heart rate of a teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 9, p. 229 – 239, 1963.

RANDALL, D. J.; SMITH, J. C. The regulation of cardiac activity in fish in a hypoxic environment. **Physiological Zoology**, v. 40, p. 104-113, 1967.

RANDALL, D. J. The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. **The Journal of Experimental Biology**, v. 100, p. 275 – 288, 1982.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Comportamento: Iniciação, Padrões e Controle. In: __. (Eds.). **Eckert - Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações**. Quarta Edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2000. p. 374-430.

REID, I. A. Angiotensin II and baroreflex control of heart rate. **Physiology**, v. 11, p. 270 – 274, 1996.

RUFFOLO, R. R.; NICHOLS, A. J.; STADEL, J. M.; HIEBLE, J. P. Structure and function of alpha-adrenoceptors. **Pharmacological Reviews**, v. 43, p. 475-505, 1991.

SANDBLOM, E.; AXELSSON, M. Baroreflex mediated control of heart rate and vascular capacitance in trout. **Journal of Experimental Biology**, v. 208, p. 821-829, 2005.

SANDBLOM, E.; EKSTRÖM, A.; BRIJS, J.; SUNDSTRÖM, L. F.; JUTFELT, F.; CLARK, T. D.; ADILL, A.; AHO, T.; GRÄNS, A. Cardiac reflexes in a warming world: thermal plasticity of barostatic control and autonomic tones in a temperate fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, p. 2880-2887, 2016.

SATCHELL, G. H. The reflex co-ordination of the heart beat with respiration in the dogfish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 37, p. 719 – 731, 1960.

SMITH, E. N.; ROBERTSON, S.; DAVIES, D. G. Cutaneous blood flow during heating and cooling in the American alligator. **American Journal of Physiology**, v. 235, n. 3, p.160 – 167, 1978.

STEVENS, E. D., BENNION, G. R., RANDALL, D. J., SHELTON, G. Factors affecting arterial pressure and blood flow from the heart in intact, unrestrained lingcod, *Ophiodon elongatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 43, p. 681–695, 1972.

SUNDIN, L.; REID, S. G.; RANTIN, F. T.; MILSOM, W. K. Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **The Journal of Experimental Biology**, v. 203, n. 7, p. 1225 – 1239, 2000.

TAYLOR, E. W.; SHORT, S.; BUTLER, P. J. The role of the cardiac vagus in the response of the dogfish *Scyliorhinus canicula* to hypoxia. **The Journal of Experimental Biology**, v. 70, p. 57 – 75, 1977.

TAYLOR, E. W., LEITE, C. A., SARTORI, M. R., WANG, T., ABE, A. S.; CROSSLEY II, D. A. The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 690-703, 2014.

TRUESDALE, G. A.; DOWNING, A. L.; LOWDEN, G. F. The solubility of the oxygen in pure water and sea-water. **Journal of applied Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 53 – 62, 1955.

WEST, N.H., VAN VLIET, B.N. Open-loop analysis of the pulmocutaneous baroreflex in the toad *Bufo marinus*. *American Journal of Physiology*, 245, p. 642–650, 1983.

VANDER, A. J. Control of renin release. **Physiological Reviews**, v. 47, p. 359-382, 1967.

VERHEYEN, E.; BLUST, R.; DECLEIR, W. Metabolic rate, hypoxia tolerance and aquatic surface respiration of some lacustrine and riverine African cichlid fishes (Pisces: Cichlidae). **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 107, n. 2, p 403 – 411, 1994.

WEINBERGER, M. H.; AOI, W.; HENRY, D. P. Direct effect of beta-adrenergic stimulation on renin release by the rat kidney slice in vitro. **Circulation Research**, v. 37, p. 318–324, 1975.

WOOD, C. M.; MCMAHON, B. R.; MCDONALD, D. G. The influence of temperature and anemia on the adrenergic and cholinergic mechanisms controlling heart rate in the rainbow trout. **Canadian Journal of Zoology**, v. 57, p. 2440 – 2447, 1979.

YANAGISAWA, M.; KURIHARA, S.; KIMURA, Y.; TOMOBE, M.; KOBAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YAZAKI, Y.; GOTO, K.; MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, v. 332, p. 411-415, 1988.

ZENA, L. A., GARGAGLIONI, L. H.; BCEGO, K. C. Temperature effects on baroreflex control of heart rate in the toad, *Rhinella schneideri*. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, 179, p. 81–88, 2015.

ZERAIK, V. M.; BELÃO, T. C.; FLORINDO, L. H.; KALININ, A. L.; RANTIN, F. T. Branchial O₂ chemoreceptors in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Control of cardiorespiratory function in response to hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 166, p. 17 – 25, 2013.