

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

**Papel dos receptores adrenérgicos
alfa₂/imidazólicos do núcleo parabraquial
lateral no controle hidrossalino durante a
desidratação extracelular**

KRISS ALVARENGA CABRAL

Alfenas-MG

2012

KRISS ALVARENGA CABRAL

**Papel dos receptores adrenérgicos
alfa₂/imidazólicos do núcleo parabraquial
lateral no controle hidrossalino durante a
desidratação extracelular**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, no Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade Federal de Alfenas – Unifal-MG, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carina Aparecida Fabrício Andrade

Alfenas- MG

2012

KRISS ALVARENGA CABRAL

**Papel dos receptores adrenérgicos
alfa₂/imidazólicos do núcleo parabraquial
lateral no controle hidrossalino durante a
desidratação extracelular**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Fisiologia.

Aprovada em:

Membro:
Instituição:

Assinatura:

Membro:
Instituição:

Assinatura:

Membro:
Instituição:

Assinatura:

DEDICATÓRIA

À minha querida família por todo apoio e em especial ao meu filho Léo Cabral Falcucci, o norte para que eu continuasse sempre.

Aos animais utilizados neste projeto por cederem suas vidas em colaboração a um objetivo maior.

**“A mente que se abre a uma
nova ideia jamais volta ao seu
tamanho original.”**

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar.

À meus pais José Wagner de Oliveira Cabral e Gisele Alcina Gonçalves Alvarenga Cabral por todo amor, suporte e compreensão durante a realização deste trabalho.

Ao meu filho Léo Cabral Falcucci por todas as horas em minha companhia que foram cedidas a esta pesquisa.

Ao meu irmão Krauss Alvarenga Cabral pela paciência, apoio e ajuda durante esta jornada.

Ao meu companheiro Paulo Henrique Pedrosa Fonseca por fazer os dias mais alegres e a rotina mais amena.

À toda minha família que sempre acreditou em meu potencial e me incentivou; mas em especial a meu primo Dyego Alvarenga de Souza, que foi o responsável pela indicação do caminho na carreira acadêmica e científica, propiciando este encontro com minha verdadeira vocação.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Carina Aparecida Fabrício Andrade, pela confiança, incentivo e apoio durante o desenvolvimento de cada passo deste trabalho e ao privilégio de tê-la como mentora e exemplo por toda continuação de minha carreira científica.

Ao Prof. Dr. Alexandre Giusti-Paiva pela colaboração técnica e intelectual durante a execução do trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Roseli Soncini pela confiança e acolhida no Departamento de Ciências Biológicas da Unifal.

Ao Dr. Alexandre Antônio Vieira pelo suporte técnico e intelectual na realização deste trabalho, especialmente durante as análises cardiovasculares.

Aos professores do departamento de Fisiologia e Patologia da Unesp de Araraquara pelo apoio e em especial ao Prof. Dr. José Vanderlei Menani pela colaboração.

Ao Laboratório de Neuroendocrinologia da FMRP-USP, em especial a Lisandra Margatho pelo auxílio durante a realização do radioimunoensaio.

Ao Prof. Dr. José Antunes Rodrigues pelo exemplo e pela visão na formação do programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, do qual tenho o privilégio de fazer parte.

Aos meus colegas do Instituto de Ciências Biológicas que, de maneira direta ou indireta, participaram deste trabalho e tornaram possível a elaboração desta pesquisa.

Aos Professores, técnicos e funcionários do instituto de Ciências Biológicas da Unifal pelo apoio e excelente trabalho.

Aos animais, que foram imprescindíveis à realização desta pesquisa.

À Unifal, por incentivar e proporcionar meu aperfeiçoamento profissional.

À CAPES e à FAPEMIG pelo suporte financeiro.

RESUMO

A ativação de receptores adrenérgicos α_2 do núcleo parabraquial lateral (NPBL) com injeções bilaterais de moxonidina (agonista de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos) induz um potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M e água induzidos pelo protocolo de desidratação extracelular FURO/CAP [diurético furosemida (10 mg/kg) combinado a uma baixa dose do inibidor da enzima conversora de angiotensina captopril (5 mg/Kg)]. Estudos prévios demonstraram também que o NPBL está envolvido na modulação das respostas renais e hormonais em situações de hiperosmolaridade e expansão isotônica de volume. Entretanto, os efeitos da moxonidina no NPBL sobre as respostas renais e hormonais e os parâmetros cardiovasculares ainda não haviam sido estudados em ratos submetidos à desidratação extracelular, com e sem acesso a ingestão de água e de sódio.

Ratos Wistar (290- 320g) com cânulas implantadas bilateralmente em direção ao NPBL foram submetidos ao tratamento FURO/CAP 45 minutos antes da administração de injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol/0,2 μ l) ou veículo no NPBL. Após 15 min iniciou-se a coleta de urina para avaliar a excreção de sódio e volume urinário durante 2 horas. Em outro experimento, os ratos foram mantidos com livre acesso à água e NaCl 0,3 M durante o período de coleta de urina. Outro grupo de ratos tratados com FURO+CAP sc recebeu sobrecargas intragástricas de soluções de concentrações semelhantes a da mistura de água e de NaCl 0,3 M ingerida pelos ratos tratados com moxonidina no NPBL (6 ml de NaCl 0,17 M cada sobrecarga aos 20 e 35 min e 9 ml de NaCl 0,13 M aos 45 min após as injeções no NPBL, respectivamente), ao invés do livre acesso a água e sódio durante a coleta de urina.

Injeções bilaterais de moxonidina no NPBL não alteraram a excreção de sódio (488 ± 135 , vs. veículo: 376 ± 75 μ Eq/1 h) ou o volume urinário ($2,5 \pm 0,7$, vs. veículo: $2,5 \pm 0,3$ ml/1 h) em animais desidratados sem acesso aos líquidos. Quando os ratos tiveram livre acesso à água e sódio, a moxonidina no NPBL promoveu um aumento da ingestão de NaCl 0,3 M ($18,83 \pm 2,69$, vs. veículo $1,68 \pm 0,79$ ml/2 h) e de água ($17,47 \pm 1,33$ vs. veículo $8,63 \pm 1,68$ ml/2 h) e um aumento do volume urinário ($7,38 \pm 1,06$ vs. veículo $3,13 \pm 0,56$ ml/2 h) e excreção urinária de sódio ($1277,3 \pm 237,85$ vs. veículo $462,88 \pm 84,27$ μ Eq/ 2 h). Esse aumento da ingestão de

água e de sódio não foi compensado pelo aumento da diurese e natriurese, resultando assim num balanço positivo de sódio e de água. Contudo, no grupo de animais tratados com FURO+CAP que receberam a reidratação através das sobrecargas intragástricas, moxonidina injetada no NPBL diminuiu a excreção de sódio (462 ± 127 , vs. veículo: $888 \pm 122 \mu\text{Eq}/1 \text{ h}$) e o volume urinário ($2,5 \pm 0,5$ vs. veículo: $4,5 \pm 0,5 \text{ ml}/1 \text{ h}$) em comparação aos ratos que receberam veículo no NPBL.

Para estudar se a moxonidina poderia alterar os níveis plasmáticos de vasopressina (AVP) e ocitocina (OT) durante a desidratação extracelular, ratos Wistar com cânulas implantadas bilateralmente em direção ao NPBL foram submetidos ao tratamento FURO/CAP 45 minutos antes da administração de injeções bilaterais de moxonidina ($0,5 \text{ nmol}/0,2 \mu\text{l}$) ou veículo no NPBL. Após 15 min, foram oferecidos a um grupo de animais água e NaCl 0,3 M por 30 min, enquanto outro grupo permaneceu sem acesso aos mesmos. Os animais foram decapitados 45 min após o tratamento no NPBL. Foi verificado um aumento nos níveis plasmáticos de AVP nos animais tratados com FURO/CAP com injeções de moxonidina no NPBL que não tiveram acesso aos líquidos, enquanto que esse aumento de AVP não foi mais observado quando os ratos tiveram livre acesso ao sódio e água. Não foram observadas alterações nos níveis plasmáticos de OT entre os diferentes tratamentos estudados.

Análise dos parâmetros cardiovasculares em protocolos semelhantes aos realizados nos experimentos anteriores mostrou que a moxonidina não alterou a pressão arterial nos ratos desidratados sem acesso a água e NaCl 0,3 M, enquanto que em ratos com livre acesso a água e sódio ocorreu um aumento da pressão arterial média (PAM) em relação ao basal. Esses resultados sugerem que a grande ingestão de sódio observada pelos ratos desidratados tratados com moxonidina não é devido a grandes alterações na PAM, mas que o comportamento ingestivo aumentado pode influenciar os níveis de PAM.

Em suma, os presentes resultados mostram que a injeção de moxonidina do NPBL promove um aumento da ingestão e diminuição da excreção de água e de sódio, sugerindo que os receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos deste núcleo ativariam mecanismos que facilitarão a retenção de sódio e água e a expansão de volume dos líquidos corporais durante uma desidratação extracelular.

Palavras Chave: Sódio, núcleo parabraquial, receptores adrenérgicos α_2

ABSTRACT

Alpha₂ adrenergic receptor activation with bilateral injections of moxonidine into the lateral parabrachial nucleus (LPBN) strongly increases 0.3 M NaCl intake by rats treated with the diuretic furosemide (FURO, 10 mg/kg b.w.) combined with low dose of the angiotensin converting enzyme inhibitor captopril (CAP, 5 mg/kg b.w.) injected subcutaneously (sc). Previous studies have shown that the LPBN participates in the modulation of renal and hormonal responses during increased plasma osmolarity and isotonic volume expansion. However, the effects of LPBN moxonidine injection on urinary volume and sodium excretion, hormonal responses and cardiovascular changes were not yet evaluated in fluid depleted rats, with or without free access to fluids.

Male Wistar rats (290-310 g) with bilateral stainless steel guide-cannulas implanted into the LPBN were treated with sc FURO + CAP 45 min before bilateral injections of vehicle or moxonidine (0.5 nmol/0.2 µl) into the LPBN. Urine collection started 15 min after LPBN injections and sodium excretion and urinary volume were evaluated for 2 hours, with or without free access to water and sodium during this period. Another group of FURO + CAP-treated rats received intragastric loads of NaCl solutions at concentrations similar to the mix of water and 0.3 M NaCl ingested by rats treated with FURO + CAP and moxonidine into the LPBN (6 ml of 0.17 M NaCl each load at 20 and 35 min and 9 ml of 0.13 M NaCl at 45 min after LPBN injections), instead of free access to water and sodium during urine collection.

Bilateral injections of moxonidine into the LPBN did not change sodium excretion (488 ± 135 , vs. vehicle: 376 ± 75 µEq/1 h) or urinary volume (2.5 ± 0.7 , vs. vehicle: 2.5 ± 0.3 ml/1 h) in fluid depleted rats without access to fluids. When rats had available water and sodium, moxonidine into the LPBN increased sodium (18.83 ± 2.69 , vs. vehicle 1.68 ± 0.79 ml/2 h) and water intake (17.47 ± 1.33 vs. vehicle 8.63 ± 1.68 ml/2 h) and also sodium excretion (1277.3 ± 237.85 vs. vehicle 462.88 ± 84.27 µEq/2 h) and urinary volume (7.38 ± 1.06 vs. vehicle 3.13 ± 0.56 ml/2 h). This increase in ingestion was not counterbalanced by the excretion, thus resulting in a positive sodium and water balance. However, moxonidine injected into the LPBN decreased sodium excretion (462 ± 127 , vs. vehicle: 888 ± 122 µEq/1 h) and urinary

volume (2.5 ± 0.5 , vs. vehicle: 4.5 ± 0.5 ml/1 h) in fluid depleted rats that received fluid loads.

In order to evaluate if moxonidine into the LPBN could change arginine vasopressin (AVP) and oxytocin (OT) plasma levels, male Wistar rats were treated with sc FURO + CAP 45 min before bilateral injections of vehicle or moxonidine (0.5 nmol/ 0.2 μ l) into the LPBN. Fifteen minutes later, some rats had 30 min-period free access to water and 0.3 M NaCl while others were maintained without access to fluids during the same period. Blood samples were collected 45 min after LPBN treatment. The results show that plasma levels of AVP are increased in FURO+CAP- treated rats with moxonidine into LPBN and no access to fluids, but not when the rats had access to fluids. There are no changes in OT plasma levels among the different treatments.

Analysis of the cardiovascular parameters in similar protocols shows that moxonidine did not change mean arterial pressure (MAP) in rats without access to fluids, while in rats with free access to water and sodium, moxonidine increased MAP when compared to basal levels. This result suggests that the increase in water and sodium intake is not due to important changes in MAP in rats treated with moxonidine, but that the increased ingestive behavior may affect MAP.

Therefore, present results suggest that moxonidine injected into the LPBN in fluid depleted rats produces strong 0.3 M NaCl and water intake and decreases renal sodium excretion and urinary volume, suggesting that moxonidine into this area activates mechanisms that facilitate sodium/water retention and body fluid volume expansion during extracellular dehydration.

Key Words: Sodium, parabrachial nucleus, α_2 adrenergic receptors

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS UTILIZADAS

- ANG I** – angiotensina I
ANG II – angiotensina II
ANP – peptídeo natriurético atrial
AP – área postrema
ASM – área septal medial
AV3V – região anteroventral do terceiro ventrículo
AVP – arginina vasopressina
CAP – captopril
CCK – colecistocinina
DOI – agonista serotoninérgico
ECA – enzima conversora de angiotensina
FC – frequência cardíaca
FURO – furosemida
h – hora(s)
icv – intracerebroventricular
kg – quilograma
M – molar
mEq – miliequivalente
mg – miligrama(s)
min - minutos
ml – mililitro(s)
MnPO – núcleo pre-óptico mediano
NaCl – cloreto de sódio
NPBL – núcleo parabraquial lateral
NTS – núcleo do trato solitário
NTSm – núcleo do trato solitário medial
OCVs – órgãos circunventriculares
OT – ocitocina
OVLT – órgão vascular da lâmina terminal
PAM – pressão arterial média
PBS – salina em tampão fosfato
PVN – núcleo paraventricular

Sal – salina

sc – subcutâneo

SFO – órgão subfornical

SNC – sistema nervoso central

Vei – veículo

VL – ventrículo lateral

% - por cento

β - beta

± - mais ou menos

μg – micrograma(s)

μl – microlitro(s)

μm – micrometro(s)

< - menor

> - maior

5-HT – serotonina

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Localização histológica das injeções bilaterais no NPBL.....	23
FIGURA 2	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos à desidratação extracelular (com e sem acesso a água e NaCl 0,3 M	25
FIGURA 3	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos submetidos à desidratação extracelular	26
FIGURA 4	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre o balanço de água e sódio ingestão de água e NaCl 0,3 M em ratos submetidos à desidratação extracelular	27
FIGURA 5	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a excreção renal de ratos submetidos à desidratação extracelular com reposição hidroeletrólítica por via intragástrica	29
FIGURA 6	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre o balanço de sódio e água em ratos submetidos à desidratação extracelular com reposição hidroeletrólítica por via intragástrica	30
FIGURA 7	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a pressão arterial média em ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso e restrição a água e NaCl 0,3 M	32
FIGURA 8	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a pressão arterial média em ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso e restrição a água e NaCl 0,3 M	34
FIGURA 9	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a frequência cardíaca em ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso e restrição a água e NaCl 0,3 M.....	35
FIGURA 10	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a variação da PAM (Δ PAM) de ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso e restrição a água e NaCl 0,3 M	36
FIGURA 11	Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa2 do NPBL sobre a ingestão de água e NaCl 0,3 M simultaneamente aos registros de PAM e FC em ratos submetidos a desidratação extracelular	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 PAPEL INIBITÓRIO DOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA ₂ /IMIDAZÓLICOS PROSENCEFÁLICOS NO CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA E DE SÓDIO	4
1.2 ENVOLVIMENTO DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL (NPBL) NO CONTROLE DO EQUILÍBRIO HIDROSSALINO: IMPORTÂNCIA DO MECANISMO ADRENÉRGICO ALFA ₂	6
2 OBJETIVOS	12
2.1 GERAIS	12
2.2 ESPECÍFICOS	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 ANIMAIS	13
3.2 CIRURGIA PARA O IMPLANTE DE CÂNULAS NO NPBL	13
3.3 INJEÇÃO DAS DROGAS NO CÉREBRO	13
3.4 DROGAS UTILIZADAS	14
3.5 DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR INDUZIDA PELO TRATAMENTO COM FURO + CAP SC	14
3.6 INDUÇÃO E MEDIDA DA INGESTÃO DE ÁGUA E DE NA ₂ CL	14
3.7 SOBRECARGA INTRAGÁSTRICA	15
3.8 COLETA DE URINA	15
3.9 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AVP E OT	16
3.10 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL E DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	17
3.11 HISTOLOGIA CEREBRAL PARA CONFIRMAÇÃO DOS PONTOS DE INJEÇÃO.	17
3.12 EXPERIMENTOS REALIZADOS	18
3.12.1 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa ₂ /imidazólicos do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos à desidratação extracelular (com e sem acesso a água e NaCl 0,3 M).	18
3.12.2 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa ₂ /imidazólicos do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos à desidratação extracelular com reposição hidroeletrólítica por via intragástrica.	19
3.12.3 Determinação dos níveis plasmáticos de AVP e ocitocina em ratos com desidratação extracelular após ativação de receptores adrenérgicos alfa ₂ /imidazólicos no NPBL.	20

3.12.4 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos do NPBL sobre a pressão arterial média e frequência cardíaca em ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso ou restrição a água e NaCl 0,3 M ...	20
3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4 RESULTADOS	22
4.1 LOCALIZAÇÃO HISTOLÓGICA DAS CÂNULAS NO NPBL	22
4.2 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA ₂ /IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A EXCREÇÃO RENAL EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR (COM E SEM ACESSO A ÁGUA E NaCl 0,3 M)	24
4.3 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA ₂ /IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A EXCREÇÃO RENAL EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR COM REPOSIÇÃO HIDROELETROLÍTICA POR VIA INTRAGÁSTRICA.....	28
4.4 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA ₂ /IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AVP E OT EM RATOS COM DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR	31
4.5 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA ₂ /IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA E FREQUÊNCIA CARDÍACA EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR APÓS LIVRE ACESSO A ÁGUA E NaCl 0,3 M.....	33
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A regulação precisa do volume dos líquidos corporais e da osmolaridade plasmática é fundamental para a sobrevivência das células. A água é responsável por cerca de 60 % do peso corporal. O sódio (Na^+) é um importante constituinte do compartimento extracelular e o maior determinante da osmolaridade, assim como do volume do líquido extracelular. Portanto, a quantidade de sódio nos líquidos corporais deve ser mantida dentro de estreitos limites de variação para assegurar um funcionamento ideal de inúmeros processos fisiológicos. A sede é um mecanismo de defesa do organismo para aumentar o consumo de água em resposta à percepção das deficiências dos líquidos corporais, enquanto o apetite ao sódio contribui para repor as necessidades de sódio do organismo (FITZSIMONS, 1998).

Normalmente, mais água e sódio são ingeridos do que o necessário para a sobrevivência. O excesso é excretado, e a regulação dos líquidos corporais é feita por mecanismos renais. Entretanto, quando as quantidades de água e de sódio no organismo tornam-se muito reduzidas ocorre um quadro de desidratação. Quando a concentração extracelular de sódio aumenta, há um aumento na pressão osmótica efetiva do compartimento extracelular, promovendo uma redução do volume de água das células, caracterizando assim a “desidratação intracelular”. A desidratação pode ser absoluta quando há perda de água dos compartimentos celular e extracelular, como acontece na privação de água, ou relativa se existir apenas uma perda de água celular, que se difunde para o líquido extracelular, como ocorre, por exemplo, na ingestão ou sobrecarga de solutos osmoticamente ativos. Em situações como hemorragia, diarreia, vômito, depleção de sódio, etc., ocorre redução unicamente do volume do líquido extracelular, caracterizando assim a “desidratação extracelular”. É importante destacar que nessa situação há uma perda conjunta de água e de sódio, e por isso ela é geralmente acompanhada de comportamento apetitivo ao sódio. Embora os dois tipos de desidratação sejam experimentalmente e clinicamente separáveis, é comum a ocorrência simultânea de ambas, principalmente durante privação hídrica (DE LUCA JR et al., 2005).

Mecanismos que assegurem a ingestão continuada dessas substâncias são fundamentais para a regulação do equilíbrio hidroeletrólítico. Um aumento na osmolaridade plasmática cerca de 2% e hipovolemia em torno de 10% causam sede em humanos (FITZSIMONS, 1985). Em relação à ingestão de sódio, vários estudos

mostram aumento da preferência ao sódio em humanos submetidos a diversas situações em que o balanço hidromineral está alterado, como por exemplo, administração de diuréticos acompanhada de dieta hipossódica, privação hídrica mais sudorese, hemodiálise e gestação (TAKAMATA et al., 1994; LESHEM e RUDOY, 1997; DUFFY et al., 1998; BEAUCHAMP et al., 1990).

O comportamento de ingestão é a única forma pela qual um animal pode repor suas necessidades de água e sódio. A ingestão de água e sódio é regulada por mecanismos ativados em situações de hipovolemia ou alterações de osmolaridade plasmática e depende de receptores localizados em diferentes partes do corpo (por exemplo, barorreceptores e osmorreceptores) ou hormônios (angiotensina II e aldosterona) que ativam algumas regiões específicas do sistema nervoso central (SNC), desencadeando as respostas comportamentais de busca pela água (sede) e sódio (apetite ao sódio), (JOHNSON & THUNHORST, 1997; 2007).

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um importante sistema hormonal ativado em situações de hipovolemia. A renina, uma enzima proteolítica, atua sobre o substrato plasmático, o angiotensinogênio (uma proteína globular sintetizada no fígado), produzindo um decapeptídeo, a angiotensina I (ANG I). A ANG I sob a ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) produz um octapeptídeo ativo, denominado angiotensina II (ANG II). Sabe-se que a fonte de renina é o aparelho justaglomerular renal, e que as células da mácula densa também exercem importante função no controle da secreção da renina. Fatores como redução da pressão de perfusão arterial renal, redução da concentração do íon sódio para a mácula densa, aumento da atividade do nervo renal, ativação dos receptores do subtipo β_1 adrenérgicos, catecolaminas ou prostaglandinas circulante, ativam a secreção de renina (FITZSIMONS, 1998).

Estudos clássicos de Fitzsimons e colaboradores (para revisão vide FITZSIMONS, 1998) foram os primeiros a demonstrar que a renina e seu peptídeo efetor ANG II eram efetivos como estímulos dipsogênicos. Além de estimular a ingestão de água e de sódio, a ANG II apresenta outras funções fisiológicas, como regulação da pressão arterial, excreção de sódio, e a secreção de vasopressina, podendo ter também importantes funções no aprendizado e memória (FITZSIMONS, 1998). Receptores centrais para ações da ANG II já foram demonstrados em diversas áreas encefálicas como órgão subfornical (SFO), órgão vasculoso da

lâmina terminal (OVLT), núcleo paraventricular (PVN), núcleo pré-óptico mediano (MnPO), área postrema (AP) e núcleo do trato solitário (NTS) (LEWIS et al., 1986; MCKINLEY et al., 1987; ALLEN et al., 1988). Dos vários receptores de ANG II (existem pelo menos quatro) os mais importantes para seu efeito dipsogênico são os receptores AT₁ presentes em órgãos circunventriculares prosencefálicos, tais como SFO e OVLT, podendo haver também alguma participação de receptores AT₂ (FITZSIMONS, 1998).

A aldosterona, um mineralocorticoide, também tem papel fundamental na conservação de sódio no organismo, e é o sinal endócrino final do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A secreção de aldosterona pela zona fasciculada da adrenal é regulada pela ANG II e concentração extracelular de potássio. A aldosterona atua nos ductos coletores renais e cólon para regular a (re)absorção de sódio e secreção de potássio (BOOTH et al., 2002). Atuando no SNC, em áreas como no núcleo central da amígdala, a aldosterona induz aumento do apetite ao sódio (GALAVARNA et al., 1991; SAKAI et al., 1996).

Variações no volume e na osmolaridade plasmática desencadeiam alterações nos níveis plasmáticos de vasopressina (AVP), ocitocina (OT) e peptídeo natriurético atrial (ANP). Os neurônios responsáveis pela síntese e liberação de vasopressina e ocitocina localizam-se no núcleo paraventricular e núcleo supra-óptico (SON), tendo uma predominância de neurônios de ocitocina no PVN e neurônios vasopressinérgicos no SON [para revisão vide (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004)]. A vasopressina, também conhecida como hormônio antidiurético (ADH), desempenha importante função na homeostase hídrica, atuando diretamente nas células renais responsáveis pela reabsorção de água livre, conservando água corporal. Verney (1947) originalmente demonstrou que a liberação de AVP na circulação sanguínea é estimulada pela ativação dos osmorreceptores (VERNEY, 1947). A liberação de AVP também é estimulada pela hipovolemia e redução na pressão arterial.

Em situações de expansão do volume ou aumento da osmolaridade plasmática ocorre a liberação do peptídeo natriurético atrial, um peptídeo de 28 aminoácidos, sintetizado principalmente nos miócitos atriais. O ANP participa da manutenção do volume por produzir diurese, natriurese e vasodilatação (DE BOLD et al., 1981). O ANP também inibe a ação vasoconstritora da ANG II, AVP e noradrenalina (BAXTER et al., 1988). Administração central ou periférica de ANP

reduz a ingestão de água (induzida por privação hídrica) e de sódio (induzida por depleção de sódio), (ANTUNES-RODRIGUES et al., 1985; ANTUNES-RODRIGUES et al., 1986; MCCANN et al., 1996).

A ocitocina (OT) é secretada na circulação sanguínea durante expansão de volume, particularmente durante expansão hipertônica, e tem ação natriurética, um mecanismo importante para compensar ou pelo menos atenuar essa expansão (MCCANN et al., 2003). Complementando a ação renal, esse hormônio também inibe a sede e o apetite ao sódio. A ocitocina plasmática aumenta em resposta a uma carga osmótica e este aumento é revertido em resposta à diluição do líquido extracelular durante a ingestão de água que precede o apetite ao sódio em animais hipovolêmicos (VERBALIS et al., 1995; BLACKBURN et al., 1995). Injeção intracerebroventricular de ocitocina reduz a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio e a injeção de antagonista de ocitocina pela mesma via potencia a ingestão de sódio induzida por angiotensina II (VERBALIS et al., 1995; SATO et al., 1997). Concomitantemente à ativação de mecanismos facilitadores do apetite ao sódio (ANG II, aldosterona, desativação de receptores de volume), a ocitocina central participa dos mecanismos que inibem o apetite ao sódio nas fases iniciais de hipovolemia. Os mecanismos inibitórios seriam desativados durante a redução da osmolaridade extracelular, liberando então a ação dos mecanismos facilitadores (VERBALIS et al., 1995; BLACKBURN et al., 1995).

Assim como os mecanismos excitatórios, que levam a busca pela água e ao apetite ao sódio, os mecanismos inibitórios também são importantes no controle da ingestão de água e sódio.

1.1 PAPEL INIBITÓRIO DOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA₂/IMIDAZÓLICOS PROENCEFÁLICOS NO CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA E DE SÓDIO

Os receptores adrenérgicos alfa₂ são encontrados no sistema nervoso central e periférico, e têm localização tanto pré- quanto pós-sináptica, (FRENCH, 1995). No SNC, esses receptores têm importante papel na regulação da liberação de neurotransmissores através de autorreceptores localizados em terminais nervosos noradrenérgicos e de heteroreceptores localizados em outros tipos de

neurônios, como a serotonina. Os receptores adrenérgicos α_2 estão acoplados a proteína G e suas funções são mediadas pelas proteínas Gi/Go. Todos os subtipos estão negativamente acoplados a adenilato ciclase e o efeito inibitório é mediado por meio da inibição da produção de AMP cíclico, (BYLUND, 1995).

Há mais de três décadas foram demonstradas evidências da participação dos receptores adrenérgicos α_2 centrais na inibição da sede, e mais recentemente do apetite ao sódio. Os agonistas de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos, como a clonidina e a moxonidina, são os mais eficientes para inibir a ingestão de água e sódio induzida por diferentes estímulos (LE DOUAREC et al., 1971; FREGLY et al., 1981; FREGLY et al., 1984a; FREGLY et al., 1984b; FERRARI et al., 1990; CALLERA et al., 1993; DE PAULA et al., 1996; DE LUCA JR & MENANI, 1997; MENANI et al., 1999).

A inibição da ingestão de água ou sódio hipertônico foi demonstrada com injeções de moxonidina no ventrículo lateral (VL) e área septal medial (MENANI et al., 1999; DE OLIVEIRA et al., 2003; ANDRADE et al., 2003). O pré-tratamento com injeções intracerebroventriculares (icv) de RX 821002 (antagonista de receptores adrenérgicos α_2) aboliu os efeitos inibitórios da moxonidina sobre a ingestão de água induzida por ANG II (MENANI et al., 1999). Injeções de RX 821002 e ioimbina (antagonista de receptores adrenérgicos α_2) aboliram o efeito inibitório da moxonidina sobre a ingestão de sódio induzida por depleção de sódio (DE OLIVEIRA et al., 2003). Esses resultados sugerem a participação dos receptores adrenérgicos α_2 nos efeitos inibitórios da moxonidina sobre a ingestão de água e sódio.

O efeito anti-hipertensivo dos agonistas de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos, como a clonidina e moxonidina, é atribuído a uma redução da atividade simpática produzida pela ação central em receptores imidazólicos do bulbo ventrolateral rostral (ERNSBERGER et al., 1993; HAXHIU et al., 1994; ERNSBERGER & HAXHIU, 1997). Além da inibição da atividade simpática, esses agonistas apresentam efeitos diurético e natriurético, (PENNER & SMYTH, 1994a; PENNER & SMYTH, 1994b; PENNER & SMYTH, 1995). Embora a moxonidina quando injetada no VL induz a diurese e natriurese e inibe a ingestão de água e de sódio, ela não altera a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), (PENNER & SMYTH, 1994a; PENNER & SMYTH, 1994b; PENNER & SMYTH, 1995; NURMINEN et al., 1998; MENANI et al., 1999; SUGAWARA et al., 1999; DE

OLIVEIRA et al., 2003; ANDRADE et al., 2003; MOREIRA et al., 2004). Mas quando injetada em áreas posteriores, como no 4º ventrículo, o único efeito conhecido da moxonidina é a redução da PAM e FC, (NURMINEN et al., 1998; MOREIRA et al., 2004).

1.2 ENVOLVIMENTO DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL (NPBL) NO CONTROLE DO EQUILÍBRIO HIDROSSALINO: IMPORTÂNCIA DO MECANISMO ADRENÉRGICO ALFA₂

No tronco encefálico, um importante mecanismo inibitório para o controle da ingestão de água e especialmente de sódio foi descrito para o núcleo parabraquial lateral (NPBL), (COLOMBARI et al., 1996; EDWARDS & JOHNSON, 1991; MENANI et al., 2000; MENANI & JOHNSON, 1995; MENANI et al., 1996; MENANI et al., 1998A; MENANI et al., 1998B).

O núcleo parabraquial, uma estrutura pontina que se situa dorsolateralmente ao pedúnculo cerebelar superior, é composto por múltiplos subnúcleos de pequena magnitude que convencionalmente foram identificados por sua localização mais medial ou lateral ao pedúnculo cerebelar. Neurônios gustatórios se localizam predominantemente na porção mais posterior e medial do núcleo enquanto aferências viscerosensoriais tem seus neurônios localizados na porção mais lateral, tornando esta região uma importante área de convergência de sinais gustatórios e viscerais e extremamente relevante em estudos envolvendo comportamentos ingestivos (FULWILER et al., 1984; HALSELL et al., 1991; KOLESAROVA et al., 1987).

O NPBL possui conexões recíprocas com áreas prosencefálicas, tais como o núcleo paraventricular do hipotálamo, núcleo central da amígdala e núcleo pré-óptico mediano, e também com áreas bulbares, como a área postrema (AP) e a porção medial do núcleo do trato solitário (NTSm), (NORGREN, 1981; CIRIELLO et al., 1984; FULWILER & SAPER, 1984; LANÇA & VAN DER KOOY, 1985; HERBERT et al., 1990; KRUKOFF et al., 1993; JHAMANDAS et al., 1996).

A região AP/NTSm recebe projeções aferentes dos receptores de volume (barorreceptores arteriais, cardiopulmonares), receptores gustatórios e outros receptores viscerais (NORGREN, 1981) e estes receptores podem influenciar a

ingestão de água e sódio (JOHNSON & THUNHORST, 1997; JOHNSON & THUNHORST, 2007). O NPBL recebe muitas fibras provenientes da área postrema e porção adjacente do núcleo do trato solitário medial (AP/NTSm), (NORGREN, 1981; SHAPIRO & MISELIS, 1985) e a lesão da AP/NTSm também produz efeitos semelhantes aos da lesão do NPBL na ingestão de água (OHMAN & JOHNSON, 1989). Esses estudos mostraram que lesão eletrolítica ou a lesão neurotóxica (com injeção de ácido ibotênico) no NPBL em ratos leva a um aumento da ingestão de água induzida pela administração central ou periférica de ANG II ou injeção periférica de isoproterenol (OHMAN & JOHNSON, 1986; OHMAN & JOHNSON, 1989; JOHNSON & EDWARDS, 1990; EDWARDS & JOHNSON, 1991).

As células do NPBL são ativadas após a ingestão de soluções de sódio em animais desidratados ou em ratos que receberam sobrecarga intragástrica de NaCl hipertônico, (KOBASHI et al., 1993; YAMAMOTO et al., 1993; FRANCHINI & VIVAS, 1999), sugerindo que as células do NPBL possam receber sinais inibitórios viscerais e de sabor. O NPBL também envia projeções para as áreas anteriores do cérebro envolvidas no controle hidroeletrolítico, tais como órgão subfornical, núcleo pré-óptico mediano, núcleo paraventricular hipotalâmico e amígdala (CIRIELLO et al., 1984; JHAMANDAS et al., 1992; KRUKOFF et al., 1993). Portanto, o NPBL pode receber e integrar sinais viscerais e de sabor que ascendem da AP/NTSm em direção às áreas prosencefálicas envolvidas no controle do equilíbrio hidroeletrolítico.

Os mecanismos inibitórios do NPBL para a ingestão de sódio são modulados por diferentes neurotransmissores como a serotonina, colecistocinina, glutamato, GABA, fator liberador de corticotrofina, opióides e noradrenalina (ANDRADE et al., 2004; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010b; CALLERA et al., 2005; DE CASTRO E SILVA et al., 2005; DE GOBBI et al., 2000; DE GOBBI et al., 2008; DE GOBBI et al., 2009; DE OLIVEIRA et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2008; GASPARINI et al., 2009; MENANI et al., 1996; MENANI et al., 1998a; MENANI et al., 1998b; MENANI et al., 2000).

A ativação de receptores adrenérgicos α_2 com injeções bilaterais de moxonidina (agonista de receptores adrenérgicos α_2 e imidazólicos) ou noradrenalina produz um potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M induzido pelo tratamento subcutâneo do diurético furosemida (FURO) combinado com baixa dose

do inibidor da enzima conversora de angiotensina, captopril (CAP) (ANDRADE et al., 2004; GASPARINI et al., 2009; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a).

O tratamento com o diurético furosemida (10 mg/kg de peso corporal) + o inibidor da enzima conversora de angiotensina II captopril (5 mg/kg de peso corporal) sc induz uma significativa ingestão de NaCl 0,3 M que se inicia num curto período de tempo (uma hora após o tratamento) devido à hipotensão associada a um aumento da formação de ANG II no cérebro (FITTS & MASSON, 1989; THUNHORST & JOHNSON, 1994; MENANI et al., 1996). O tratamento com furosemida (FURO) + captopril (CAP) sc induz a expressão da proteína c-fos em estruturas como o órgão subfornical, órgão vasculoso da lâmina terminal, núcleo pré-óptico mediano, núcleo supra-óptico, núcleo paraventricular, AP, NPBL, e NTS rostral e caudal (THUNHORST et al., 1998).

Os efeitos das injeções de moxonidina no NPBL sobre a ingestão de NaCl 0,3 M em ratos tratados com FURO+CAP são semelhantes aos efeitos das injeções de noradrenalina e α -metilnoradrenalina nesse mesmo núcleo. A ingestão de NaCl 0,3 M induzida por FURO+CAP s.c. é fortemente aumentada pelas injeções bilaterais de noradrenalina no NPBL, sendo que as prévias injeções de RX 821002 (um antagonista de receptores adrenérgicos α_2) aboliram esses efeitos da noradrenalina (GASPARINI et al., 2009). Além disso, injeções bilaterais de α -metilnoradrenalina, um agonista específico de receptores adrenérgicos α_2 , aumentaram a ingestão de NaCl 0,3 M e de água induzida pelo tratamento com FURO+CAP s.c. (MENANI et al., 2006). Injeções prévias de RX 821002 no NPBL reduziram os efeitos da α -metilnoradrenalina sobre a ingestão de NaCl 0,3 M e de água (MENANI et al., 2006).

Além disso, o potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M produzido pela administração de moxonidina no NPBL (mais do que dez vezes a quantia ingerida pelos controles tratados com FURO + CAP sc e veículo no NPBL) foi completamente abolido pelo RX 821002, um antagonista de receptores adrenérgicos α_2 , indicando que a moxonidina produz um potente, seletivo e específico aumento da ingestão de NaCl hipertônico pela ação em receptores adrenérgicos α_2 , (ANDRADE et al., 2004). Em conjunto esses resultados sugerem que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 do NPBL podem reduzir os efeitos dos mecanismos inibitórios que limitam a ingestão de sódio (ANDRADE et al., 2004; MENANI et al., 2006;

GASPARINI et al., 2009; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a). Como já anteriormente demonstrado, os efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 no NPBL sobre a ingestão de sódio não são devido a uma facilitação não específica de todos os comportamentos ingestivos, uma vez que a ingestão de solução de sacarose ou a ingestão de alimento não são alteradas pelas injeções bilaterais de moxonidina no NPBL (ANDRADE et al., 2004, 2007).

Vale ressaltar que agudamente, apenas um pequeno aumento da ingestão de sódio é produzido por tratamentos como ANG II central ou furosemida sc (MENANI et al., 1996; MENANI et al., 2000). Os resultados com moxonidina no NPBL e os resultados prévios com o bloqueio dos mecanismos inibitórios serotoninérgico e colecistocinérgico do NPBL (MENANI & JOHNSON, 1998; MENANI et al., 2000) sugerem que a ingestão de NaCl é extremamente facilitada se a ativação de mecanismos excitatórios ocorrerem simultaneamente com a desativação dos mecanismos inibitórios do NPBL. Em outras palavras, uma ingestão de NaCl significativa depende da combinação de dois fatores: a presença de um estímulo dipsogênico/natriorexigênico e a desativação de mecanismos inibitórios. Na presença de apenas um fator, a ingestão de NaCl é pequena ou inexistente.

Já foi verificado também que bloqueio serotoninérgico no NPBL combinado com o aumento da osmolaridade plasmática produzido por sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M induz um aumento paradoxal da ingestão de NaCl hipertônico ao invés da ingestão de água normal (DE LUCA JR et al., 2003). A sobrecarga intragástrica de salina hipertônica 2 M (2 ml/rato) induz uma desidratação intracelular, e portanto ingestão de líquidos (FITZSIMONS, 1985), devido a uma elevação de cerca de 4 % da osmolaridade e concentração de sódio plasmática (PEREIRA et al., 2002). A redução da atividade da renina plasmática e nenhuma alteração no volume plasmático indicam que esse procedimento não induz desidratação extracelular, (PEREIRA et al., 2002). Recentes resultados mostraram que a moxonidina injetada no NPBL combinada com o aumento da osmolaridade plasmática produzido por sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M também induz um surpreendente aumento da ingestão de NaCl hipertônico, (ANDRADE et al., 2007). O pré-tratamento com RX 821002 no NPBL praticamente aboliu esses efeitos da moxonidina sobre a ingestão de NaCl 0,3 M em ratos submetidos a hiperosmolaridade plasmática, confirmando que esses efeitos da moxonidina são devido a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 .

Segundo modelo proposto por De Luca Jr e colaboradores (2003), os osmorreceptores ou receptores de sódio ativam circuitos que desencadeiam a sede e o apetite ao sódio, havendo uma inibição paralela do apetite ao sódio por mecanismos serotoninérgicos presentes no NPBL. Os resultados mostrando um aumento da ingestão de sódio com injeções de moxonidina combinado com o aumento da osmolaridade plasmática sugerem que os receptores adrenérgicos α_2 também participam desse mecanismo de controle do apetite ao sódio presente no NPBL.

Recentes resultados (MARGATHO et al., 2007) mostram que o bloqueio serotoninérgico no NPBL também modifica a excreção renal e os níveis plasmáticos de ANP, OT e AVP induzidos pela expansão com solução salina isotônica do volume do líquido extracelular. Após a expansão do volume do líquido extracelular, mecanismos neurais, comportamentais e hormonais atuam de forma coordenada para inibir a ingestão de sódio e de água e para aumentar a diurese e o fluxo urinário. Com o objetivo de restabelecer o equilíbrio hidrossalino, a sede e o apetite ao sódio são inibidos, a atividade simpática renal e a liberação de AVP diminuídas, e a secreção de ocitocina e ANP são estimuladas, (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). O bloqueio serotoninérgico no NPBL com metisergida (antagonista de receptores serotoninérgicos) atenuou o aumento da excreção de sódio, potássio e volume urinário, e também impediu o aumento de ANP e OT plasmáticos induzidos pela expansão com solução salina isotônica do volume do líquido extracelular, enquanto a injeção de DOI (agonista de receptores 5-HT_{2A/2C}) promoveu efeitos opostos (MARGATHO et al., 2007).

Em relação aos receptores adrenérgicos alfa₂ do NPBL, foi verificado que durante uma hiperosmolaridade plasmática (induzida pela sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M) em ratos sem acesso à água e sódio, a natriurese e a diurese normalmente observadas nessa situação são diminuídas pela administração bilateral de moxonidina no NPBL (ANDRADE et al., 2012). Esse efeito da moxonidina foi revertido pelo prévio tratamento com o antagonista de receptores adrenérgicos alfa₂, RX 821002, confirmando assim que os efeitos renais da moxonidina são devido a um ativação específica nesses receptores (ANDRADE et al, 2012). Esses resultados sugerem que a moxonidina no NPBL prejudica as respostas renais ativadas pelo aumento da osmolaridade plasmática, importantes para aumentar a excreção renal de água e de sódio. Além disso, quando injetada no NPBL, a moxonidina reduziu o

aumento dos níveis de OT e de AVP produzidos pela desidratação celular (aumento da osmolaridade plasmática), mas não modificaram os níveis de ANP (ANDRADE et al., 2012).

Como a moxonidina no NPBL também aumenta a ingestão de sódio e água (ANDRADE et al., 2006) além de reduzir a excreção renal de sódio e água (ANDRADE et al., 2012) em animais com desidratação intracelular, é possível que os receptores adrenérgicos α_2 dessa área possam estar envolvidos em mecanismos ativados para aumentar o volume plasmático. Esses resultados sugerem que o aumento da ingestão de sódio e a redução da excreção urinária de sódio em ratos submetidos a desidratação celular podem estar correlacionados com a diminuição dos níveis plasmáticos de OT produzidos pela administração bilateral de moxonidina no NPBL. No entanto, a diminuição dos níveis plasmáticos de AVP não apresentou aparentemente uma correlação com a antidiurese induzida pela moxonidina nessa mesma situação experimental.

Em suma, a participação de receptores adrenérgicos α_2 e serotoninérgicos do NPBL sobre o controle da excreção renal e liberação de hormônios foram estudados em situações de expansão de volume do líquido extracelular com solução salina isotônica (MARGATHO et al., 2007) e durante uma desidratação intracelular (hiperosmolaridade plasmática) (ANDRADE et al., 2012), respectivamente, mas não durante uma desidratação extracelular. Em outras palavras, até o presente momento não há relatos sobre a possível participação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL sobre as respostas renais e hormonais durante uma hipovolemia e sem alterações de osmolaridade plasmática. Considerando que a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL durante a desidratação extracelular induzida pelo tratamento furosemida (FURO) + captopril (CAP) sc promove um potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M (ANDRADE et al., 2004), o objetivo do presente estudo foi estudar os efeitos da ativação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL sobre as respostas renais, hormonais e parâmetros cardiovasculares durante uma situação de desidratação extracelular, em situações de livre acesso ou restrição a água e NaCl 0,3 M.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAIS

Com o desenvolvimento desse projeto pretendeu-se elucidar o papel do núcleo parabraquial lateral, analisando os efeitos da ativação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL na modulação de diferentes parâmetros para promover ajustes do balanço hidroeletrolítico. Foi estudado se a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos do NPBL (com injeções bilaterais de moxonidina) modificam as respostas renais, hormonais e parâmetros cardiovasculares durante uma situação de desidratação extracelular em situações de livre acesso ou restrição a água e NaCl 0,3 M.

2.2 ESPECÍFICOS

Para se estudar o papel dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL no controle do equilíbrio hidrossalino durante a desidratação extracelular, em suma os objetivos do presente projeto foram:

- Investigar os efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos ao tratamento FURO+CAP sc, com e sem acesso a água e NaCl 0,3 M.
- Determinar dos níveis plasmáticos de AVP e OT em ratos submetidos ao tratamento FURO+CAP sc após ativação de receptores adrenérgicos α_2 no NPBL.
- Verificar os efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 do NPBL sobre a pressão arterial média e frequência cardíaca em ratos submetidos ao tratamento FURO+CAP sc, após livre acesso a água e NaCl 0,3 M.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar com peso de 290 a 320 g provenientes do Biotério da Universidade Federal de Alfenas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com livre acesso a ração comercial, água e solução de NaCl 0,3 M. Os ratos foram mantidos em salas climatizadas com ciclo claro-escuro 12-12 h (luz 7:00 – 19:00 h). Os protocolos experimentais aos quais os animais foram submetidos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alfenas– UNIFAL (Protocolo nº: 289/2010).

3.2 CIRURGIA PARA O IMPLANTE DE CÂNULAS NO NPBL

Os ratos foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg de peso corporal) combinada com xilazina (7 mg/kg de peso corporal) e adaptados a um aparelho estereotáxico (modelo Kopf 900). O lambda e bregma foram utilizados como referência para nivelar a cabeça dos ratos. Utilizando-se o bregma foram determinados os pontos de introdução das cânulas de aço inoxidável nas cabeças dos ratos. Para o NPBL, foram utilizadas as coordenadas: 9,3 mm caudal ao bregma, 2,1 mm lateral à linha mediana e 4,3 mm abaixo da dura-máter bilateralmente. As cânulas foram fixadas nas cabeças dos ratos com parafusos e resina acrílica. Imediatamente após o término do procedimento cirúrgico, foi administrado por via subcutânea o analgésico cetoprofeno 1% (0,03 ml/rato) e antibiótico (Pentabiótico para animais de pequeno porte, Fort Dodge, 0,2 ml/rato) por via intramuscular.

3.3 INJEÇÃO DAS DROGAS NO CÉREBRO

As injeções no NPBL foram feitas utilizando-se uma seringa Hamilton (5 µl), conectada com um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora que foi introduzida no cérebro pela cânula guia previamente fixada no cérebro. A cânula injetora (0,3 mm diâmetro) foi 2 mm mais longa do que a cânula guia.

3.4 DROGAS UTILIZADAS

Cloridrato de moxonidina, agonista de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos, (Sigma), foi administrada no NPBL na dose de 0,5 nmol/0,2 μ l. Moxonidina foi dissolvida em uma mistura de propilenoglicol e água 2:1 (veículo). Essa dose de moxonidina foi baseada em prévios estudos (ANDRADE et al., 2004; 2006; 2011 e 2012).

Furosemida (FURO), diurético salurético, (10 mg/kg de peso corporal, administração subcutânea) foi dissolvida em salina isotônica com pH próximo a 9,0 ajustado com solução de hidróxido de sódio 0,1 N. Captopril (CAP), inibidor da enzima conversora de angiotensina, (5 mg/kg de peso corporal, administração subcutânea) foi dissolvido em salina isotônica. O tratamento com FURO + CAP foi utilizado como descrito previamente (FITTS e MASSON, 1989; MENANI et al., 1996).

Moxonidina, furosemida e captopril foram comprados da Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA.

3.5 DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR INDUZIDA PELO TRATAMENTO COM FURO + CAP SC

Cada rato recebeu injeções subcutâneas do diurético furosemida (FURO, 10 mg/kg) e do inibidor da enzima conversora da angiotensina captopril (CAP, 5 mg/kg). Ração, água e solução de sódio 0,3 M foram removidos das gaiolas, então após 1 hora do tratamento foram iniciados os testes de acordo com o protocolo destinado a cada grupo experimental.

3.6 INDUÇÃO E MEDIDA DA INGESTÃO DE ÁGUA E DE NaCl

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição buretas com NaCl 1,8% (0,3 M), desde pelo menos 4 dias antes do início dos experimentos.

A ingestão de água e NaCl 0,3 M foi induzida pelo tratamento combinado de FURO (10 mg/kg) + CAP (5 mg/kg). Para o registro da ingestão de água e NaCl 0,3 M foram utilizadas buretas graduadas com divisão de 0,1 ml. Foi aguardado sempre

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

3.7 SOBRECARGA INTRAGÁSTRICA

Além de água e ração, os ratos tiveram à disposição buretas com NaCl 0,3 M, desde pelo menos 4 dias antes do início dos experimentos. Os animais foram submetidos a uma privação de alimento por 10 h previamente às sobrecargas intragástricas.

A sobrecarga intragástrica foi realizada por meio de uma sonda oro-gástrica (feita de material plástico e flexível). Imediatamente antes do início do experimento, água e NaCl 0,3 M também foram removidos e os animais foram submetidos ao tratamento FURO+CAP s.c. 60 min antes do início da coleta de urina. Quinze minutos antes do início da coleta de urina, moxonidina ou veículo foram injetados no NPBL. Em seguida, três sobrecargas intragástricas de mistura de água e NaCl 0,3 M foram realizadas aos 5, 15 e 30 min após o início da coleta de urina.

De acordo com os resultados descritos no item 4.2, figuras 3A e 3B (vide a seguir), os animais tratados com FURO+CAP após injeções de moxonidina no NPBL ingeriram cerca de 11 ml de NaCl 0,3 M e 10 ml de água ao longo dos primeiros 30 minutos do experimento. Esse volume de água e de NaCl 0,3 foi fracionado da seguinte forma: 6 ml de solução de NaCl 0,17 M cada sobrecarga aos 5 e 15 min, e 9 ml de solução de NaCl 0,13 M aos 30 min após o início da coleta de urina.

3.8 COLETA DE URINA

Os ratos foram mantidos em gaiolas metabólicas pelo menos 4 dias antes dos experimentos. No momento do experimento a água e o sódio foram removidos e os animais foram submetidos ao tratamento FURO + CAP sc. Após um período de 45 min, moxonidina ou veículo foram injetados no NPBL, e aguardados mais 15 min, foi iniciada a coleta da urina espontaneamente eliminada. A urina foi coletada pelo período de 2 horas. As amostras de urina coletadas foram analisadas em um analisador de sódio e potássio eletrodo sensitivo (Cobas b121).

3.9 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AVP E OT

Para as dosagens de AVP e OT os animais foram sacrificados por decapitação e, logo em seguida, o sangue trunca coletado em tubos de polipropileno, mantidos sob gelo, contendo heparina (10 µl/ml de sangue). O plasma foi separado por centrifugação a 4°C, durante 20 min, e em seguida estocado a -20°C, em alíquotas de 1 ml, apropriadas para a extração dos hormônios.

A extração dos hormônios AVP e OT foi realizada utilizando-se 1 ml de plasma adicionados a 2 ml de acetona gelada seguido de agitação contínua (20 s) e centrifugação (3000 rpm por 25 min a 4°C), sendo o sobrenadante decantado em um tubo contendo 2 ml de éter de petróleo e, em seguida, agitado e mantido em repouso por 5 min para a separação das fases. A fase superior foi aspirada com o auxílio de uma bomba de vácuo e a fase inferior foi liofilizada em aparelho SpeedVac. As amostras foram estocadas a -20°C até a determinação da concentração plasmática através de radioimunoensaio (RIE) específico.

O radioimunoensaio foi realizado no laboratório de Neuroendocrinologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Todas as amostras de um determinado experimento foram dosadas em um mesmo ensaio. No primeiro dia da realização do RIE as amostras de AVP e OT que estavam estocadas a -20°C foram ressuspensas em 250 µl de tampão AVP ou OT (tampão TRIS 0,05 M com albumina humana 0,25%), sendo que, 100 µl do ressuspensão foi utilizado para o ensaio, em duplicata. No RIE, foram utilizados peptídeos marcados com ¹²⁵I, sendo utilizadas, 4000 cpm/100 µl para a OT e 2000 cpm/100 µl para o AVP. Os anti-soros utilizados (primeiro anticorpo de coelho anti-AVP, anti-OT e anti-ANP) foram específicos para os hormônios analisados sem reação cruzada com outros peptídeos. Foi adicionado 100 µl do primeiro anticorpo nas amostras desconhecidas e os tubos foram agitados e incubados a 4°C por 24 h. O hormônio marcado (100 µl) foi adicionado aos tubos e estes foram agitados e reincubados novamente por 24 h a 4°C. O hormônio marcado foi separado do não marcado com o auxílio da técnica de anticorpo secundário (anticorpo anti-gamaglobulina de coelho produzido em cabra) específico para cada hormônio analisado. Após a adição de 100 µl do segundo anticorpo os tubos foram reincubados por 24 h a 4°C. No dia seguinte, após a adição de 1 ml de polietilenoglicol (PEG 6,25%) aos tubos, estes foram centrifugados a 3000 rpm por 25 min a 4°C e o sobrenadante aspirado. A radioatividade no precipitado foi

determinada com o auxílio de um contador gama (Packard). Os dados foram expressos em pg/ml de plasma.

As porcentagens de recuperação após a extração foram 83%, 85% para AVP e OT, respectivamente. Os coeficientes de sensibilidade e os coeficientes de variação intra- e inter-ensaio foram 0,9 pg/ml, 7,7% e 11,9% para AVP; 0,9 pg/ml, 7,0% e 12,6% para OT.

3.10 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL E DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram registradas em ratos não anestesiados.

Sob a anestesia com ketamina (80 mg/kg de peso corporal) combinada com xilazina (7 mg/kg de peso corporal), um tubo de polietileno (PE-10 conectado ao PE-50) foi inserido na aorta abdominal através da artéria femoral do rato um dia antes dos experimentos. A cânula foi conduzida subcutaneamente e exteriorizada pelo dorso do animal. Para o registro da pressão arterial pulsátil, PAM e FC, a cânula arterial foi conectada ao transdutor de pressão Stathan Gould (P23 Db) acoplado a um pré amplificador (modelo ETH-200 Bridge Bio Amplifier) que foi conectado ao sistema de aquisição de dados Powerlab (modelo Powerlab 16SP, ADInstruments) que fornece os sinais para um computador.

3.11 HISTOLOGIA CEREBRAL PARA CONFIRMAÇÃO DOS PONTOS DE INJEÇÃO.

Terminados os experimentos, os ratos com implantes de cânulas no NPBL foram profundamente anestesiados e submetidos a uma perfusão encefálica por meio de injeção no coração de solução de formalina 10% (20 ml). A seguir, os encéfalos foram retirados e fixados em formalina 10% por alguns dias. Cortes transversais (60 μ m de espessura) foram feitos nos pontos de injeção com auxílio de um criostato. Os cortes histológicos, montados em lâmina foram corados pelo

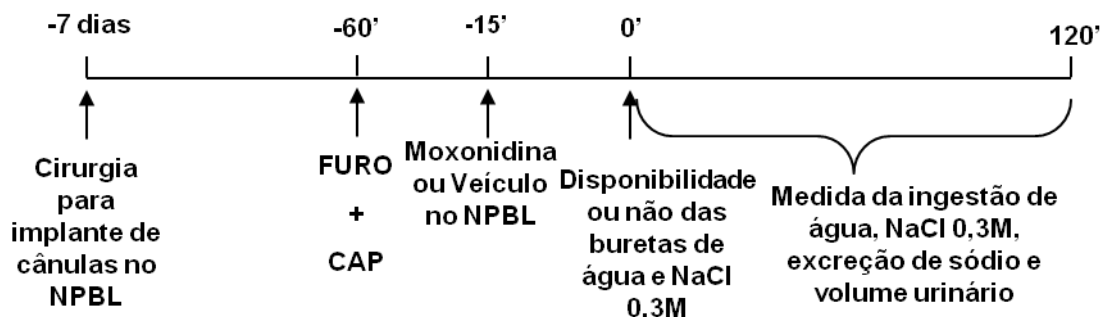
método Giemsa e analisados para se localizar os pontos das injeções de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson, (PAXINOS E WATSON, 2007).

3.12 EXPERIMENTOS REALIZADOS

3.12.1 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos à desidratação extracelular (com e sem acesso a água e NaCl 0,3 M)

No momento do experimento, água, NaCl 0,3 M e ração foram removidos. Os animais com cânulas bilaterais implantadas no NPBL foram submetidos ao tratamento combinado com FURO + CAP. Após 45 min do tratamento periférico, cada rato recebeu injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol/0,2 μ l) ou veículo no NPBL. Quinze minutos após as injeções no NPBL, água e NaCl 0,3 M em buretas graduadas foram oferecidos aos animais e foi iniciada a coleta de urina espontaneamente eliminada. A medida da ingestão de água e de sódio, assim como a coleta de urina foi feita pelo período de 2 horas. As amostras de urina coletadas foram analisadas em um analisador de sódio e potássio eletrodo sensível (Cobas b 121). Durante o período de experimento, os ratos não tiveram acesso à ração.

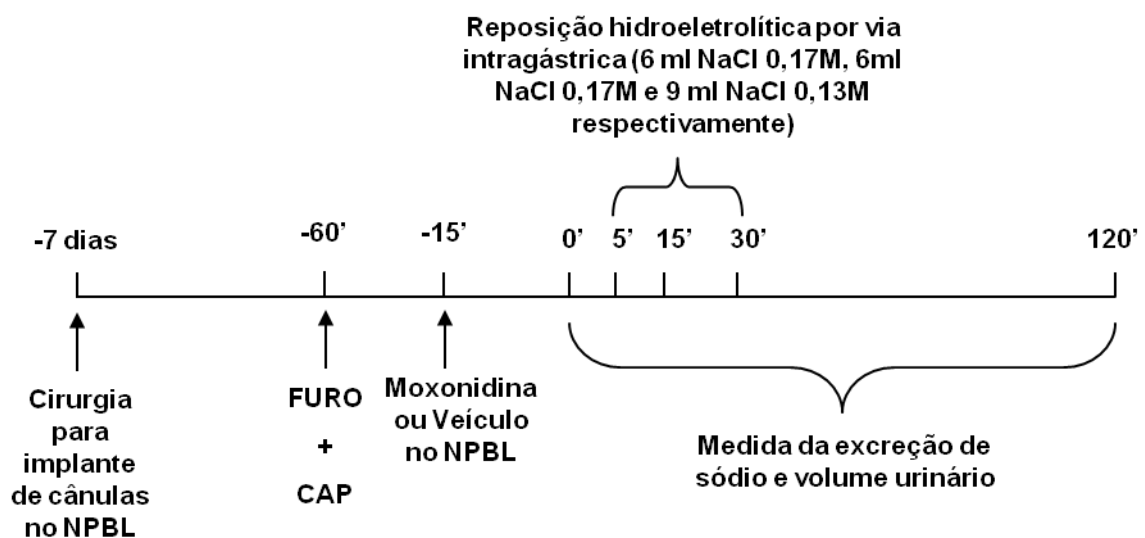
Esse mesmo protocolo foi realizado na ausência de água e de NaCl 0,3 M para os mesmos animais.



3.12.2 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos do NPBL sobre a excreção renal em ratos submetidos à desidratação extracelular com reposição hidroeletrólítica por via intragástrica

Imediatamente antes do início do experimento, água e NaCl 0,3 M também foram removidos e os animais foram submetidos ao tratamento FURO+CAP s.c. 60 min antes do início da coleta de urina. Quinze minutos antes do início da coleta de urina, moxonidina ou veículo foram injetados no NPBL. Em seguida, os ratos receberam a primeira sobrecarga intragástrica de 6 ml de NaCl 0,17 M aos 5 min, a segunda sobrecarga intragástrica também de 6 ml de NaCl 0,17 M aos 15 min e por fim, a terceira sobrecarga de 9 ml de NaCl 0,13 M aos 30 min após o início da coleta de urina, respectivamente.

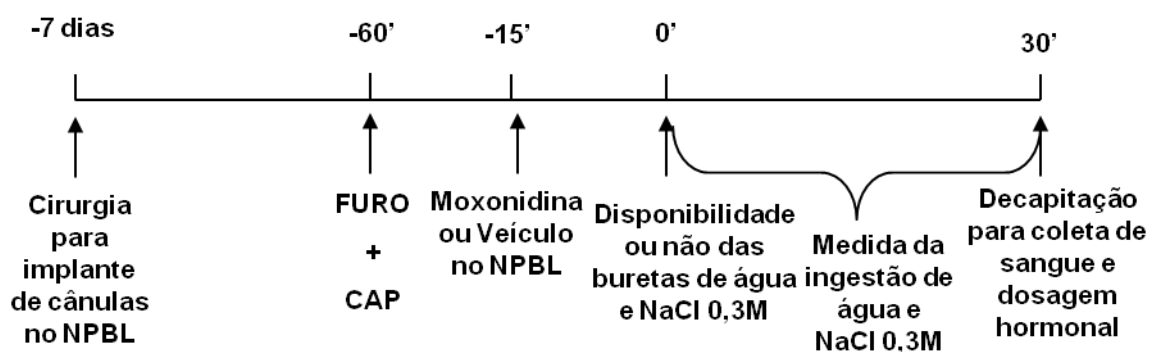
A coleta de urina foi feita por um período de 2 horas. Foi aguardado sempre um intervalo de no mínimo 48 horas entre dois experimentos nos mesmos animais. Durante o período de experimento, os ratos não tiveram acesso à ração.



3.12.3 Determinação dos níveis plasmáticos de AVP e ocitocina em ratos com desidratação extracelular após ativação de receptores adrenérgicos alfa₂/imidazólicos no NPBL

No momento do experimento, água, NaCl 0,3 M e ração foram removidos. Os animais então foram submetidos ao tratamento FURO + CAP s.c. 45 min antes da administração bilateral de moxonidina (0,5 nmol/0,2 ml) ou veículo no NPBL. Após 15 min, foram oferecidos água e NaCl 0,3 M para os animais, permitindo-se 30 min de livre acesso à água e sódio. Após esse período, os animais foram decapitados e amostras de sangue foram coletadas para posterior realização do radioimunensaio específico para dosagem dos hormônios.

O mesmo procedimento acima descrito foi realizado respeitando-se os intervalos de tempo entre os tratamentos, porém os animais não tiveram acesso a água e sódio.

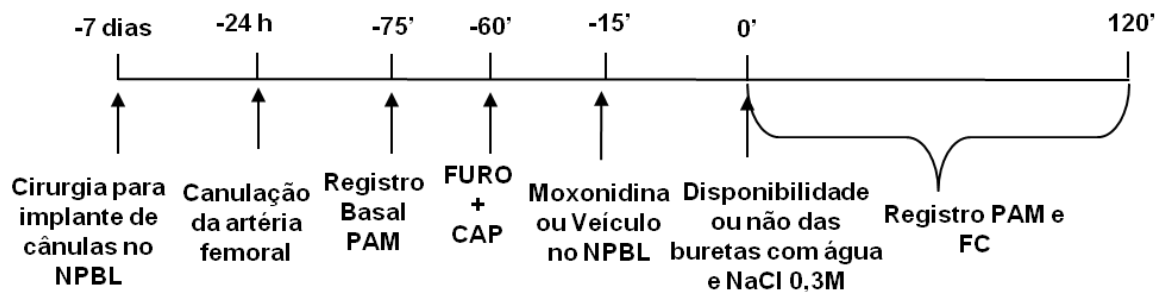


3.12.4 Efeitos da ativação de receptores adrenérgicos alfa₂/imidazólicos do NPBL sobre a pressão arterial média e frequência cardíaca em ratos submetidos à desidratação extracelular após livre acesso ou restrição a água e NaCl 0,3 M

No dia seguinte ao procedimento de canulação da artéria femoral, essa cânula foi conectada ao transdutor de pressão para se iniciar a coleta dos dados. Nesse momento água NaCl 0,3M e ração foram removidos. Foram então feitos os

registros de frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA) basais por 15 minutos. Os ratos foram então submetidos ao tratamento FURO + CAP e após 45 minutos foram feitas as injeções no NPBL. Após 15 min, buretas de água e NaCl 0,3 M foram disponibilizadas e então durante 120 min foram registradas a pressão arterial média e a frequência cardíaca desses animais simultaneamente ao registro do volume ingerido de água e de sódio.

Esse mesmo procedimento foi realizado em ratos sem acesso as buretas de água e de sódio durante o registro da PA e FC.



3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram tabelados. A média e o erro padrão da média estão representados em gráficos. Análise de variância (um ou dois fatores) e o pós-teste de Student Newman Keuls (ou teste de Fischer) foram utilizados para as comparações entre diferentes tratamentos. A análise estatística foi realizada utilizando o Software SigmaStat 4, e as diferenças foram consideradas significantes para $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 LOCALIZAÇÃO HISTOLÓGICA DAS CÂNULAS NO NPBL

A Figura 1 mostra injeções bilaterais típicas no NPBL. Os pontos de injeção foram localizados principalmente nas porções centro lateral e dorso lateral do NPBL. Os pontos de injeção do presente estudo são similares àqueles em que estudos anteriores mostraram os efeitos de moxonidina sobre a ingestão de água e sódio (ANDRADE et al., 2004, 2006 e 2007). Injeções que atingiram as porções ventro lateral e lateral externa, assim como o núcleo Kölliker-Fuse, foram observadas apenas em alguns ratos e os resultados desses animais foram incluídos na análise.

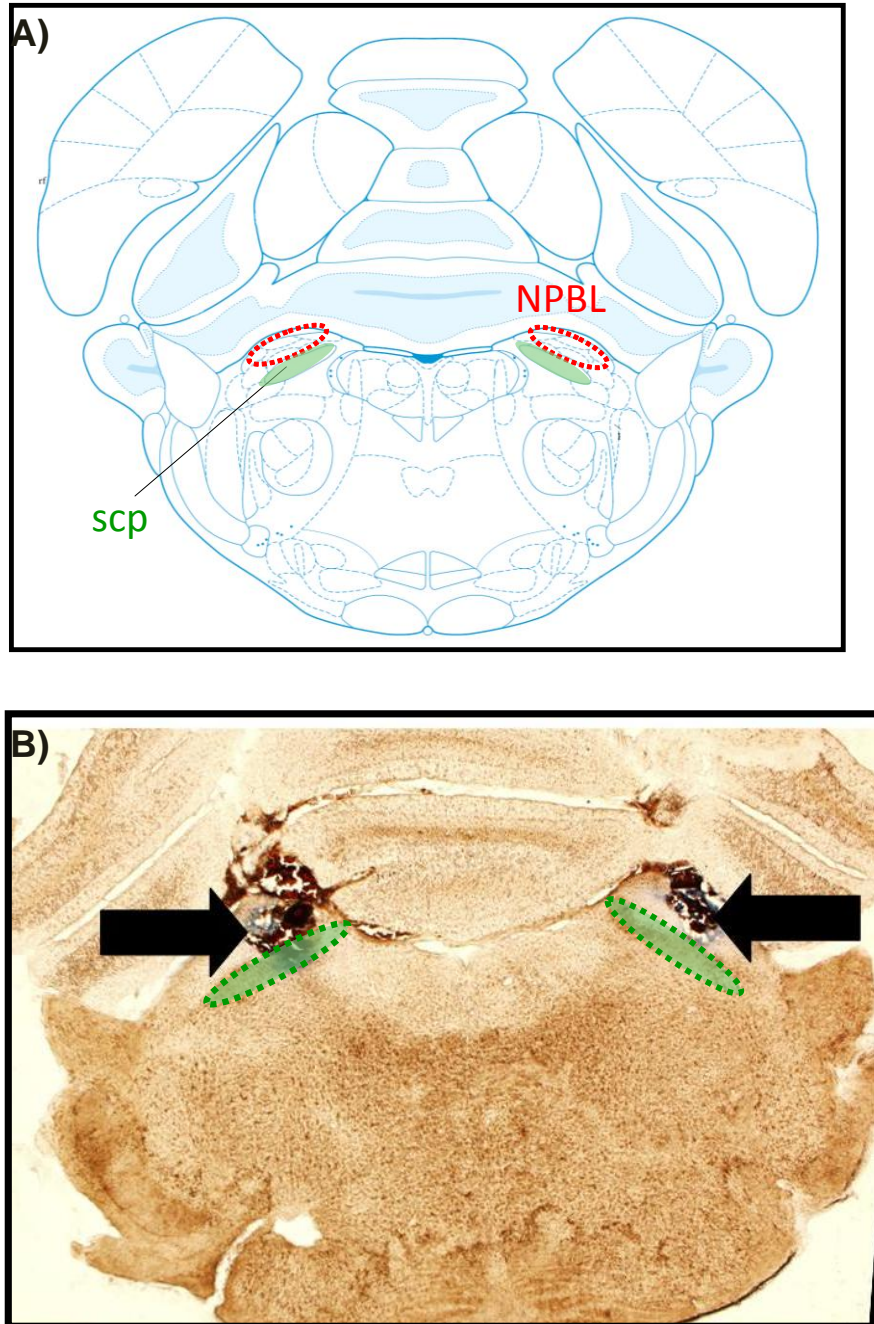


Figura 1

FIGURA 1: A) Diagrama com demarcação da região do NPBL, destacado em vermelho (adaptado de Paxinos e Watson, 2007), e **B)** Corte histológico mostrando os pontos de injeção típico no NPBL e o trajeto das cânulas em ratos representativos dos animais estudados. scp, pedúnculo cerebelar superior (área destacada).

4.2 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA₂/IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A EXCREÇÃO RENAL EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR (COM E SEM ACESSO A ÁGUA E NaCl 0,3 M)

As injeções bilaterais de moxonidina no NPBL não modificaram a excreção urinária de sódio, potássio e volume urinário quando comparado a injeção de veículo no NPBL em ratos que não tiveram acesso ao NaCl 0,3 M e água. Por outro lado, foi verificado que os animais tratados com moxonidina que tiveram acesso a água e NaCl 0,3 M apresentaram um aumento da excreção urinária de sódio [$F(3,110) = 34,4$; $p < 0,05$] e de potássio [$F(3,100) = 14,5$; $p < 0,05$], assim como o aumento do volume urinário [$F(3,115) = 27,0$; $p < 0,05$] a partir dos 60 minutos de experimento em comparação com os animais tratados com veículo (figuras 2A, 2B e 2C respectivamente).

Nos animais que tiveram livre acesso à água e NaCl 0,3 M, a administração bilateral de moxonidina aumentou a ingestão de sódio 0,3 M a partir dos 15 min de experimento, [$F(1,6) = 42,4$; $p < 0,05$], figura 3A, assim como a ingestão de água a partir dos 60 minutos, figura 3B, [$F(1,60) = 39,7$; $p < 0,05$].

Para avaliar se o aumento da excreção renal observado era suficiente para contrabalancear a grande quantidade ingerida, foi calculado o balanço de sódio e de água por meio da diferença entre o total ingerido e o excretado. Além disso, para esse cálculo foi considerada uma coleta de urina adicional, correspondente ao período de 60 min entre o momento do tratamento FURO+CAP até imediatamente antes do oferecimento das buretas de água e de NaCl 0,3 M.

Assim, notou-se que uma hora após o tratamento FURO + CAP, o volume urinário e a concentração de sódio eram semelhantes entre os grupos, sendo que os animais encontravam-se em balanço negativo de sódio. A partir desse momento, os animais com livre acesso a água e NaCl 0,3 M tratados com moxonidina passaram a ingerir mais sódio do que o excretado na urina, evidenciado pelo balanço positivo de sódio aumentado, observado ao longo de todo o experimento em comparação aos animais com tratamento controle, [$F(1,72) = 65,2$; $p < 0,05$], figura 4A. De modo semelhante, o balanço de água (figura 4B) também se mostrou aumentado após a injeção de moxonidina em relação ao grupo veículo, [$F(1,72) = 117,1$; $p < 0,05$].

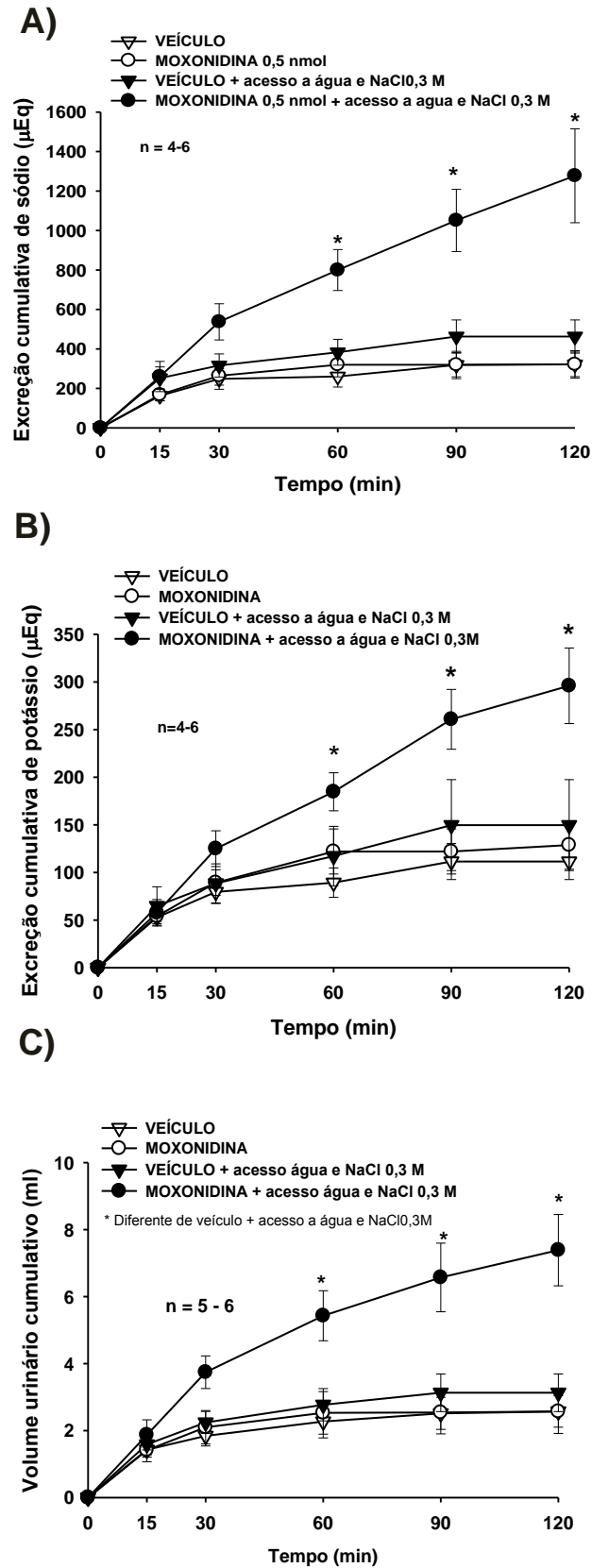
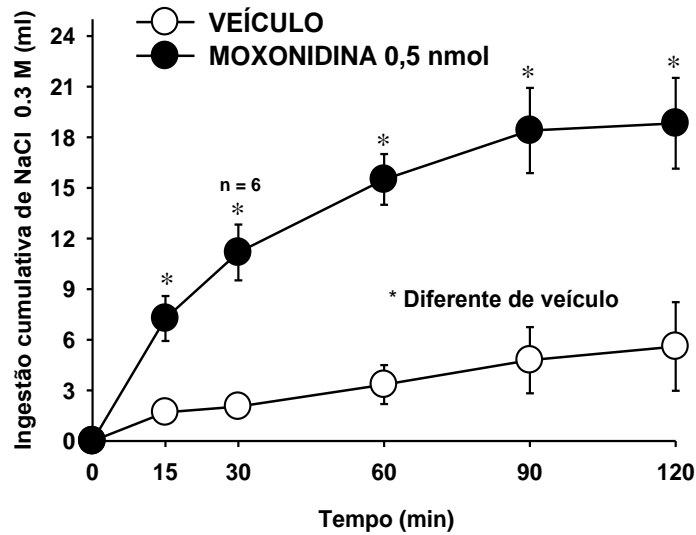


Figura 2

Figura 2: A) Excreção urinária cumulativa de sódio, **B)** excreção urinária cumulativa de potássio e **C)** volume urinário cumulativo em ratos submetidos a FURO + CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

A)



B)

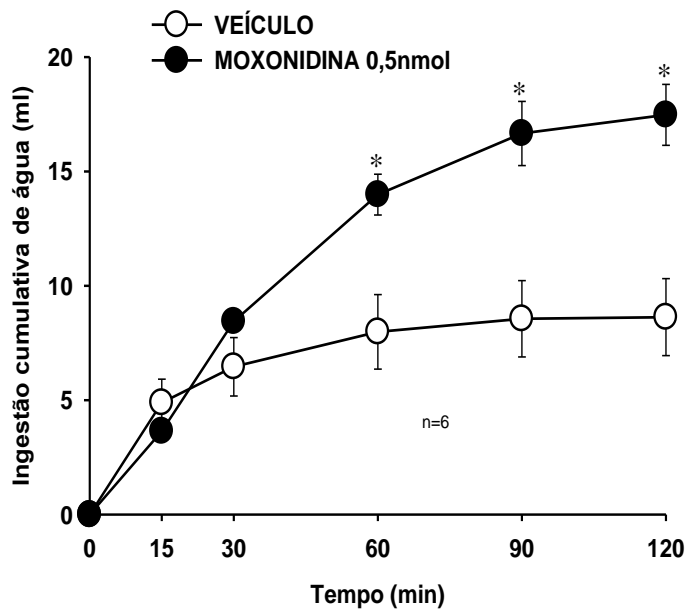


Figura 3

Figura 3: A) Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M (ml) e **B)** ingestão cumulativa de água (ml) em ratos submetidos a FURO+CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (moxo, 0,5 nmol) ou veículo no NPBL. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

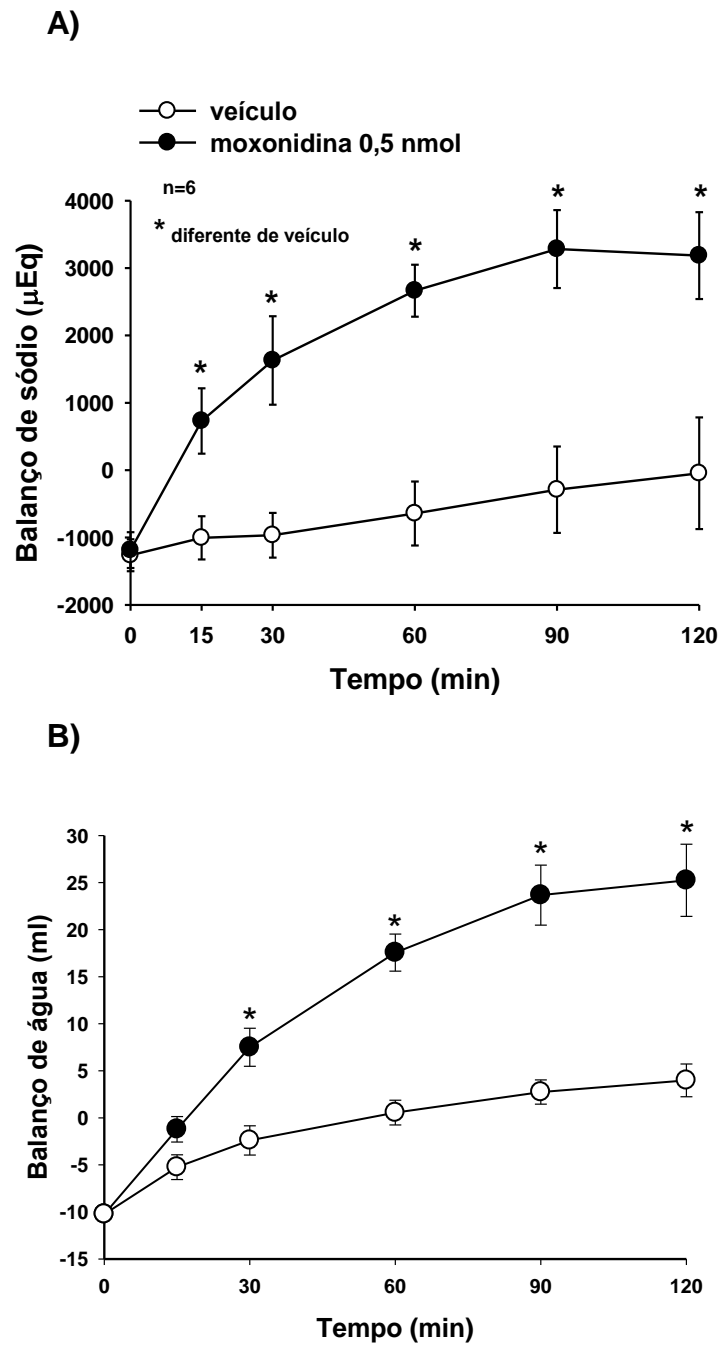


Figura 4

Figura 4: A) Balanço de sódio (μEq) e **B)** Balanço de água (ml) em ratos submetidos a FURO + CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (moxo, 0,5 nmol) ou veículo (vei) no NPBL. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

4.3 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA₂/IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A EXCREÇÃO RENAL EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR COM REPOSIÇÃO HIDROELETROLÍTICA POR VIA INTRAGÁSTRICA

O objetivo destas sobrecargas intragástricas foi uniformizar as condições experimentais dos animais e observar se a moxonidina no NPBL poderia modificar a excreção renal de Na, K e o volume urinário em ratos com desidratação extracelular. De acordo com dados observados pelos animais que receberam moxonidina no NPBL, obtidos no 1º experimento, 15 min após o oferecimento das buretas de água e de sódio, a média aproximada de ingestão de água foi 5 ml e a média da ingestão de NaCl 0,3 M foi 7 ml. Já aos 30 min, os animais ingeriram um adicional de cerca de 4 ml de NaCl 0,3 M além de 5 ml de água. Ou seja, aos 30 min os animais apresentaram uma ingestão cumulativa de 11 ml de NaCl 0,3 M e 10 ml de água enquanto os animais tratados com veículo ingerem volumes de ambos significativamente menores. Essa quantidade (11 ml de NaCl 0,3 M e 10 ml de água) foi misturada e fracionada para ser administrada por via intragástrica em 3 momentos: 6 ml de 0,17 M NaCl cada sobrecarga aos 5 e 15 min e 9 ml de 0,13 M NaCl aos 30 min após o início da coleta de urina. A coleta de urina teve início 1 h após o tratamento com FURO+CAP, e teve a duração de 2 h. Durante esse experimento os animais não tiveram acesso as buretas de água e de sódio, sendo a reposição hidroeletrólítica controlada igual para ambos os tratamentos (moxonidina e veículo no NPBL).

Como se pode observar na figura 5, a administração de moxonidina no NPBL diminuiu a excreção urinária de sódio [$F(3,126) = 12,81$; $p < 0,05$] e volume urinário [$F(3,132) = 12,249$; $p < 0,05$] aos 60 e 120 minutos de experimento. A excreção de potássio também se mostrou menor no grupo tratado com moxonidina ($203,89 \pm 25$, vs. veículo: $292,02 \pm 31,81 \mu\text{Eq}/120 \text{ min}$), [$F(3,132) = 20,6$; $p < 0,05$].

Após a realização das reposições hidroeletrólíticas (administração intragástrica), ambos os grupos encontravam-se em balanços positivos de água e sódio. Os animais tratados com moxonidina continuam a exibir um balanço de sódio ([$F(1,66) = 16,003$; $p < 0,05$], figura 6A) e de água ([$F(1,72) = 8,336$; $p < 0,05$], figura 6B) mais elevado em relação com grupo tratado com veículo.

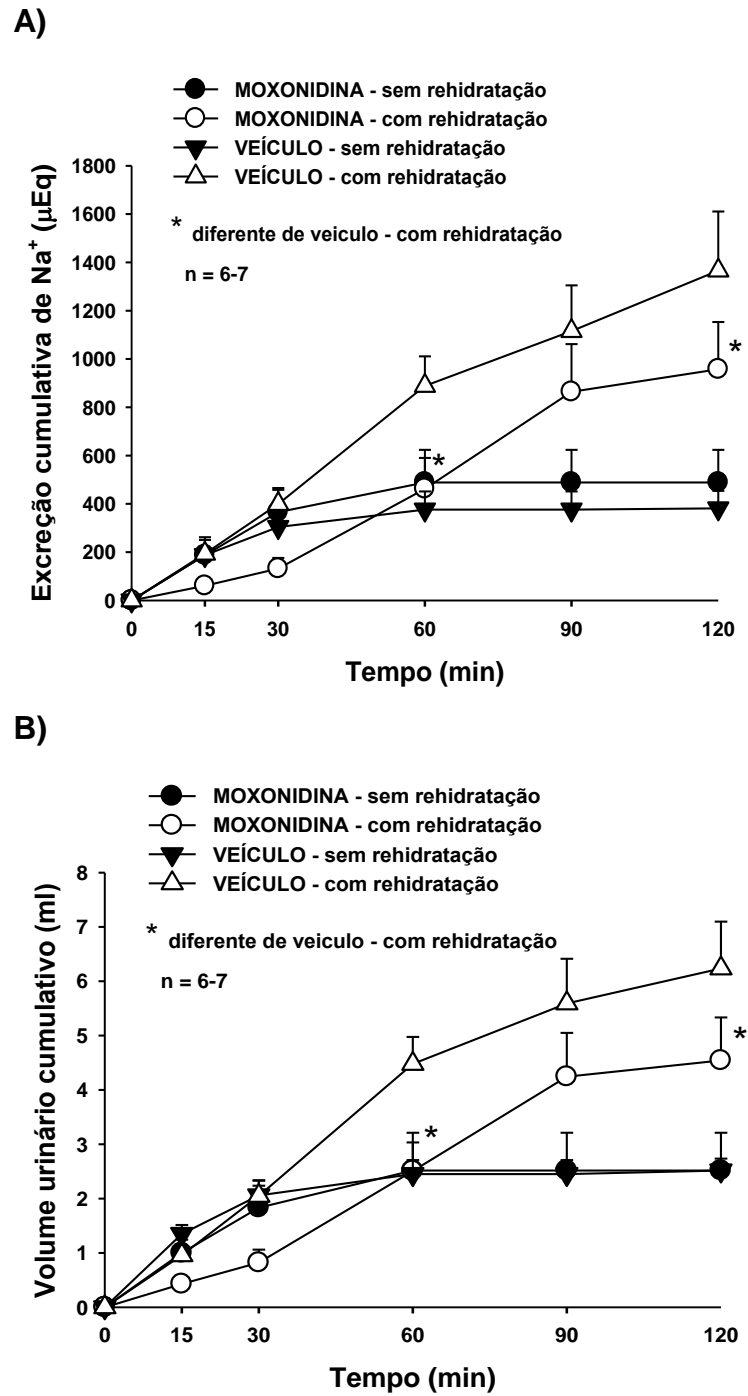


Figura 5

Figura 5: **A)** Excreção urinária cumulativa de sódio (μEq) e **B)** volume urinário cumulativo (ml) em ratos que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL submetidos ou não às sobrecargas intragástricas. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

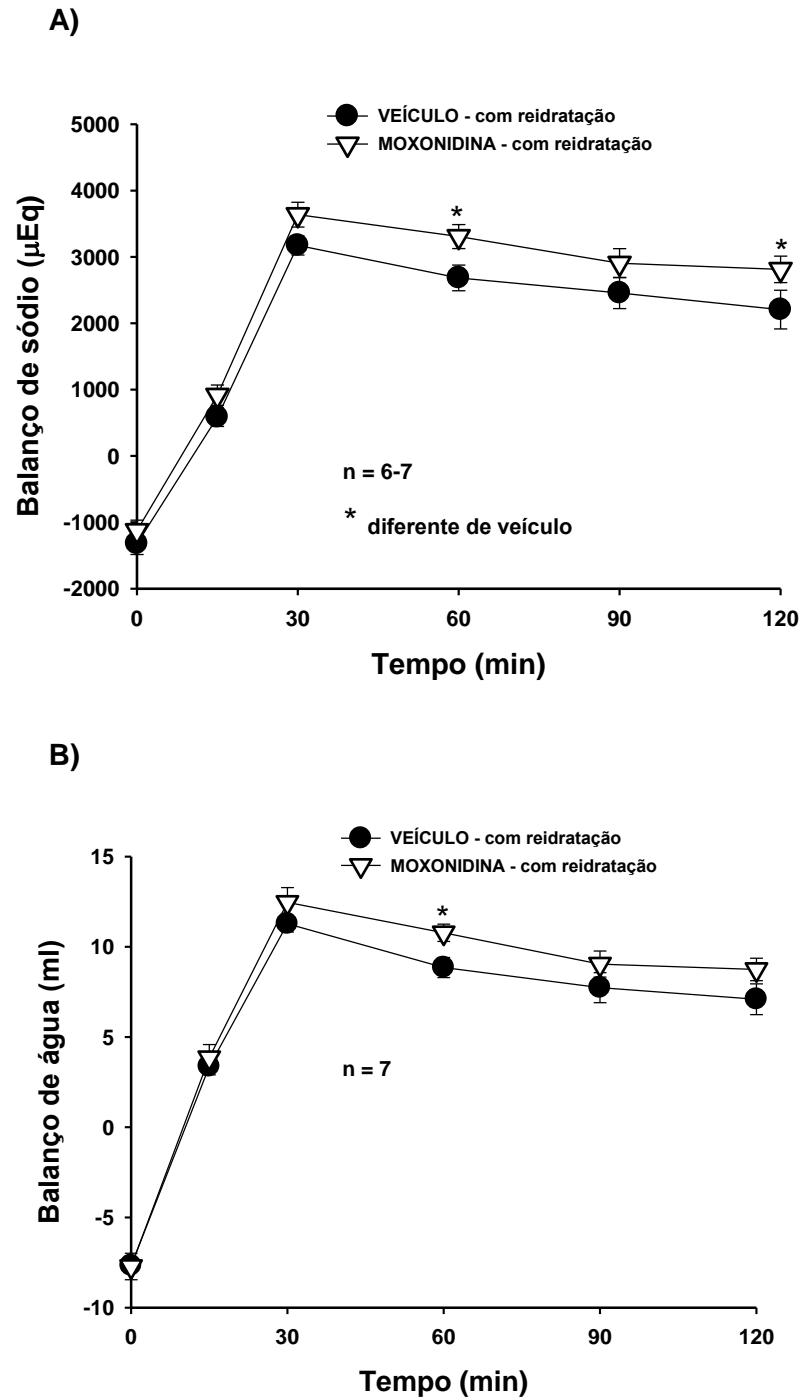


Figura 6

Figura 6: **A)** Balanço de sódio (μEq) e **B)** Balanço de água (ml) em ratos que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL submetidos ou não às sobrecargas intragástricas. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

4.4 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA₂/IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AVP E OT EM RATOS COM DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR

Em ratos saciados (controles tratados com salina + salina sc), a administração de moxonidina no NPBL não alterou os níveis basais de AVP. O tratamento FURO+CAP sc não promoveu alteração das concentrações plasmáticas de vasopressina tanto em ratos sem e com acesso aos líquidos. Contudo, houve um aumento significativo de AVP plasmática após a injeção de moxonidina em ratos submetidos ao tratamento FURO+CAP sc sem acesso ao sódio e água, [F(5,40)= 6,23; p<0,05]. Esse aumento de AVP plasmático não mais foi observado no grupo de animais com moxonidina no NPBL que teve livre acesso a água e NaCl 0,3 M. Vide figura 7A.

Não foram observadas diferenças nos níveis plasmáticos de OT entre os grupos experimentais [F(5,40)= 0,56 p>0,05], figura 7B.

Para os grupos de animais que tiveram 30 minutos de livre acesso a água e NaCl 0,3 M, verificou-se uma maior ingestão de NaCl 0,3 M pelos animais tratados com moxonidina no NPBL ($2,2 \pm 0,57$, vs. veículo $0,9 \pm 0,3$) [F(1,13)= 6,3 p<0,05], sem alterar a ingestão de água, ($6,9 \pm 1,3$ vs. veículo $8,2 \pm 1,2$) [F(1,13)= 0,4 p>0,05].

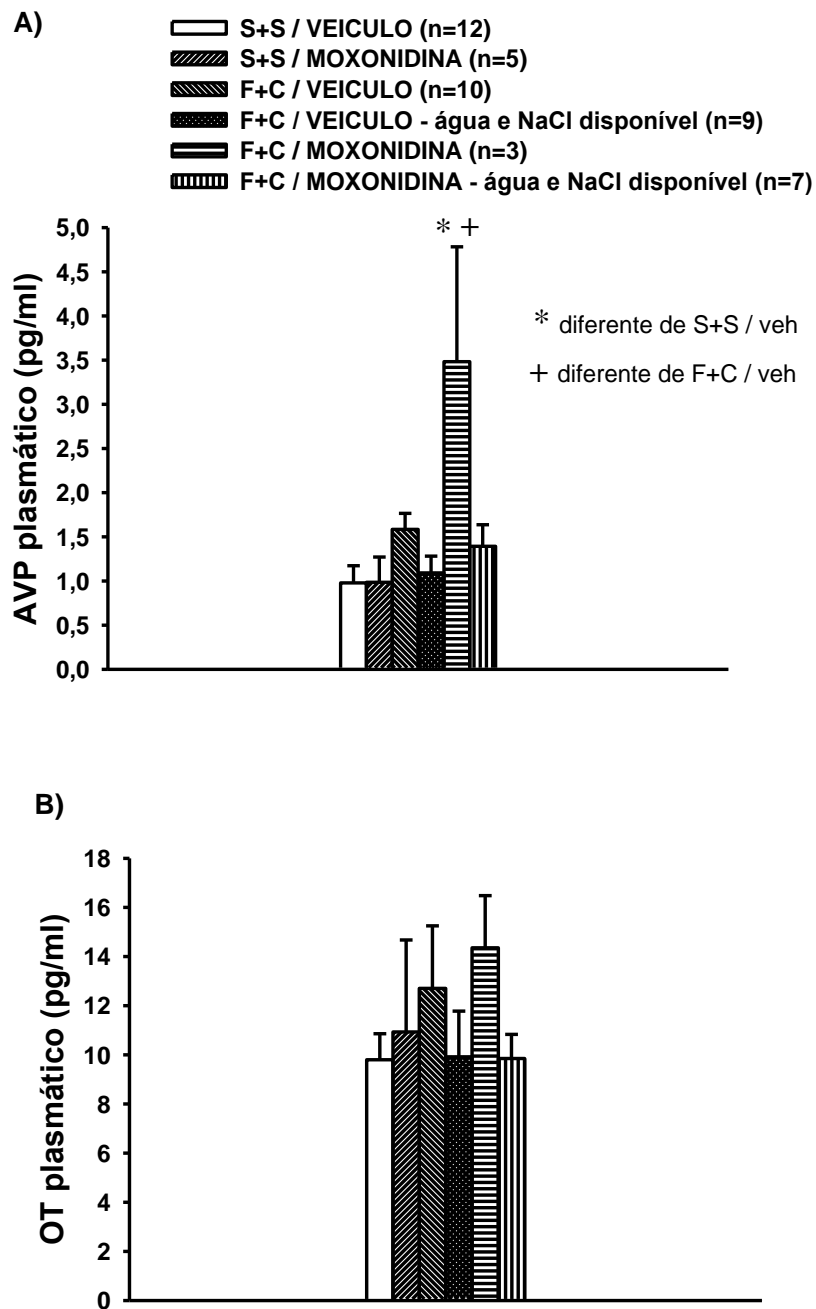


Figura 7

Figura 7: Níveis plasmáticos de: **A)** vasopressina (AVP) e **B)** ocitocina (OT) em ratos normovolêmicos ou submetidos ao tratamento FURO+CAP sc, que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL e que foram mantidos em restrição ou livre acesso a água e NaCl 0,3 M. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

4.5 EFEITOS DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS ALFA₂/IMIDAZÓLICOS DO NPBL SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA E FREQUÊNCIA CARDÍACA EM RATOS SUBMETIDOS À DESIDRATAÇÃO EXTRACELULAR APÓS LIVRE ACESSO A ÁGUA E NaCl 0,3 M.

ANOVA mostrou diferença entre os tratamentos, $[F(3,153)= 11,14; p<0,05]$, e o pós-teste de Fisher LSD indicou que a PAM dos ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções de moxonidina no NPBL, com ou sem acesso ao sódio e água, foi maior do que a PAM dos ratos FURO+CAP que receberam injeções de veículo no NPBL sem acesso ao sódio e água (Figura 8).

Em relação à frequência cardíaca também foram observadas diferenças entre os tratamentos $[F(3,133)= 23,7; p<0,05]$. Os ratos que receberam injeções de moxonidina no NPBL com e sem acesso ao sódio e água apresentaram uma FC elevada em relação aos ratos FURO+CAP que receberam injeções de veículo no NPBL sem acesso ao sódio e água, (vide figura 9).

Foi calculada também a variação da PAM em relação ao registro basal para os diferentes tratamentos, conforme figura 10. ANOVA mostrou diferença entre os tratamentos, $[F(3,136)= 5,5; p<0,05]$, e o pós-teste de Fisher LSD indicou que os ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções de moxonidina no NPBL e com livre acesso ao sódio e água apresentaram um aumento da PAM aos 60 min em relação ao período basal. Além disso, verificou-se que a variação da PAM nesse mesmo grupo foi maior em relação ao grupo tratado com FURO+CAP s.c. e veículo no NPBL sem acesso aos líquidos aos 30 e 60 min de experimento.

A figura 11 mostra a ingestão cumulativa de NaCl 0,3M e de água pelos ratos tratados com FURO+CAP que receberam veículo ou moxonidina no NPBL que tiveram livre acesso aos mesmos durante registro dos parâmetros cardiovasculares. Verificou-se um grande aumento da ingestão de NaCl 0,3M $[F(1,72)= 72,267; p<0,05]$, sem alteração da ingestão de água $[F(1,72)= 0,06; p>0,05]$, pelo grupo tratado com moxonidina em relação ao veículo no NPBL.

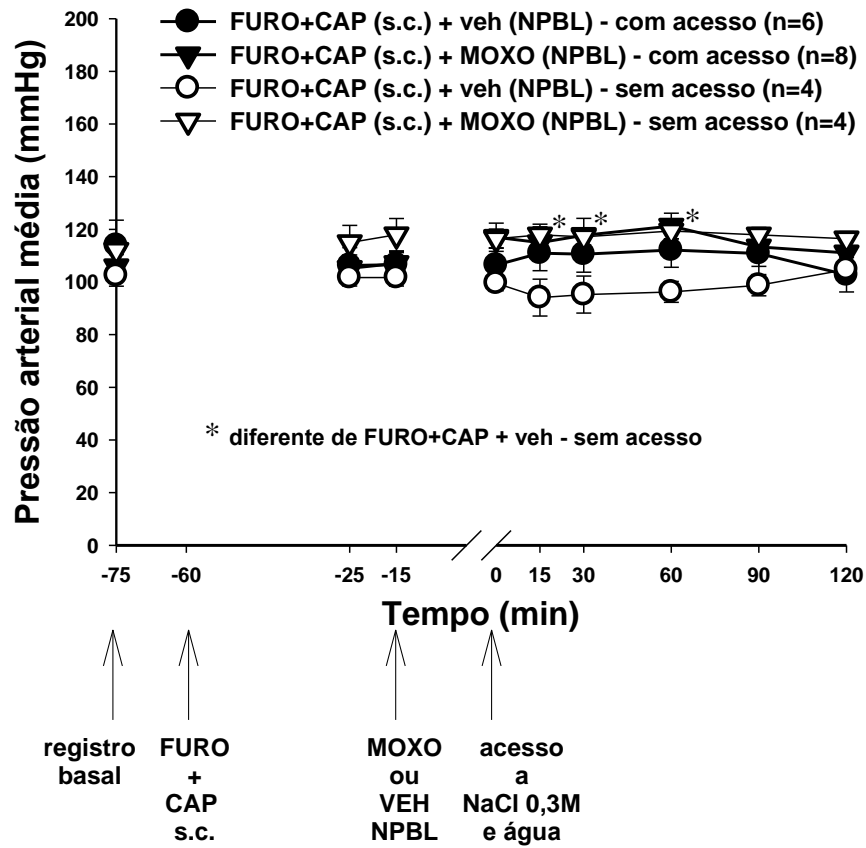


Figura 8

Figura 8: Pressão arterial média (mmHg) em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL e que foram mantidos em restrição ou livre acesso a água e NaCl 0,3 M. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

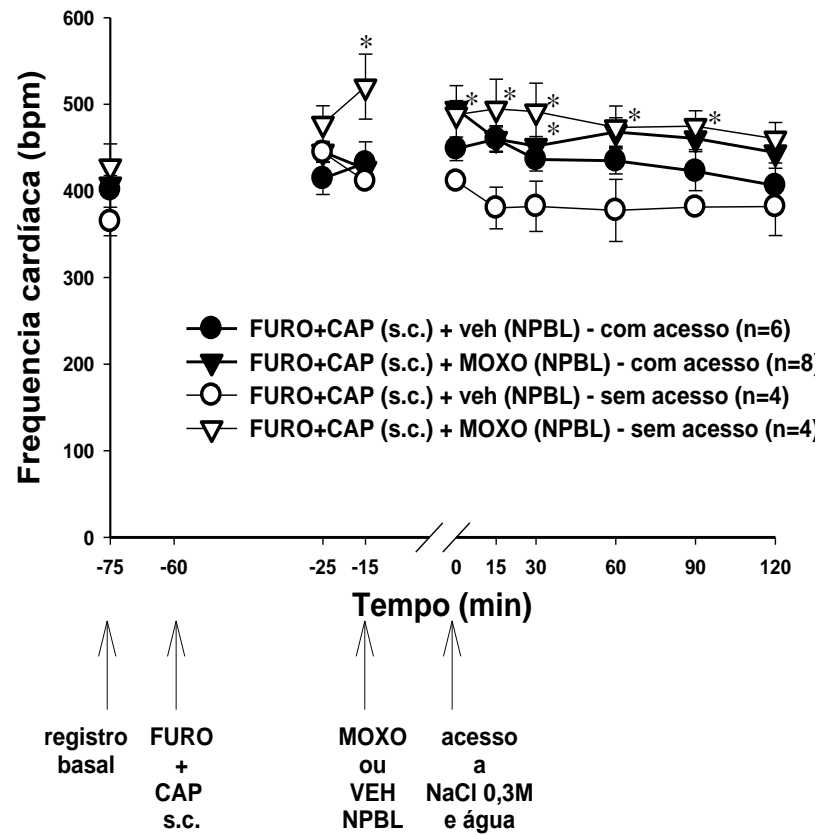


Figura 9

Figura 9: Frequência cardíaca (bpm) em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL e que foram mantidos em restrição ou livre acesso a água e NaCl 0,3 M. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

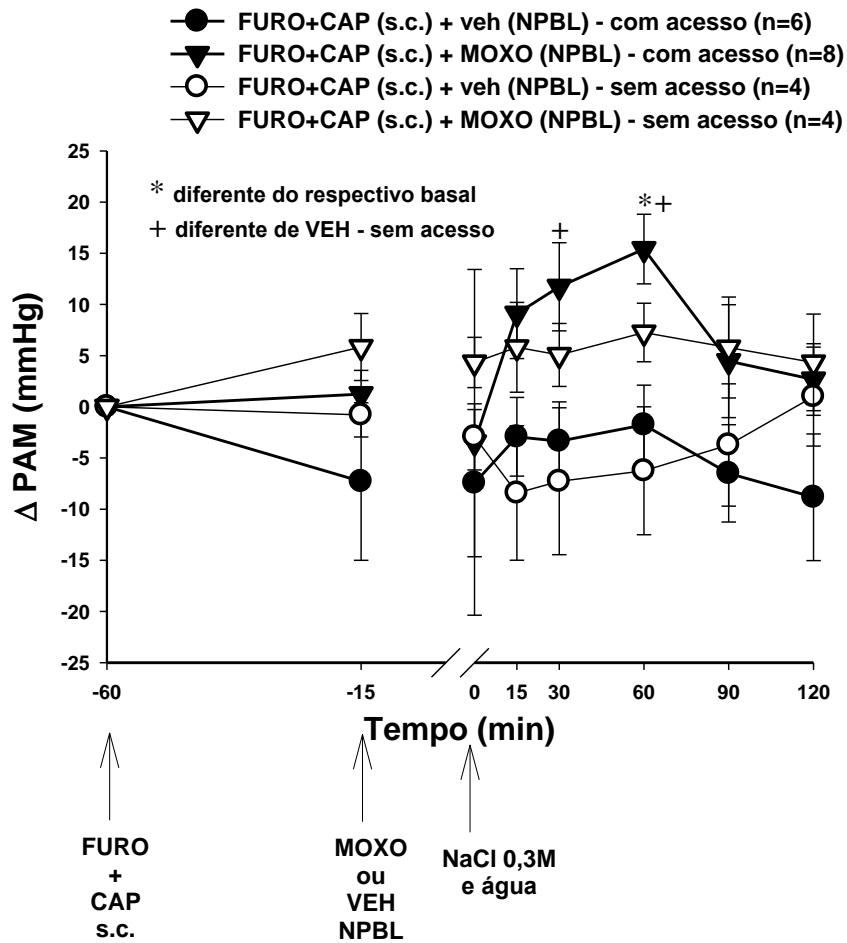
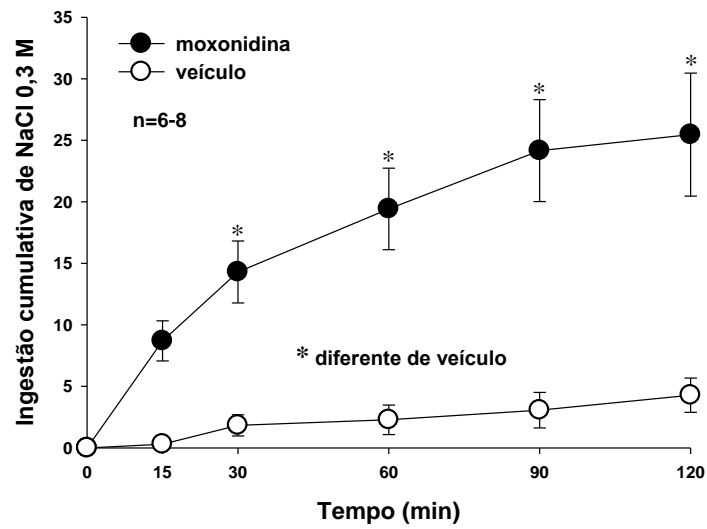


Figura 10

Figura 10: Variação da pressão arterial média (Δ mmHg) em relação ao tempo basal em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL e que foram mantidos em restrição ou livre acesso a água e NaCl 0,3 M. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

A)



B)

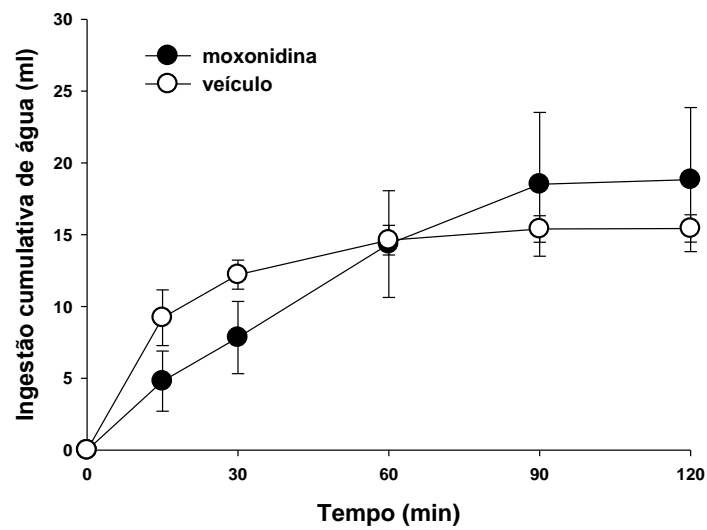


Figura 11

Figura 11: A) Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M e **B)** Ingestão cumulativa de água em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções bilaterais de moxonidina (0,5 nmol) ou veículo no NPBL e que tiveram livre acesso a água e NaCl 0,3 M durante o registro dos parâmetros cardiovasculares. Resultado expresso como média \pm EPM. n = número de animais.

5 DISCUSSÃO

Os presentes resultados mostram que em ratos submetidos ao tratamento com furosemida e captopril (FURO+CAP) sc, injeções de moxonidina no NPBL aumentam o balanço de sódio durante situação de livre acesso à água e NaCl 0,3 M. A moxonidina no NPBL não modificou a excreção de sódio e volume urinário em ratos tratados com FURO+CAP sem acesso a água e sódio. Por outro lado, a administração de moxonidina no NPBL diminuiu o volume urinário e a excreção urinária de sódio em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam sobrecargas intragástricas de mistura de água e de NaCl 0,3 M.

Em relação às respostas hormonais, moxonidina promoveu aumento dos níveis plasmáticos de AVP em ratos sem acesso ao sódio e água, o que não foi observado quando os ratos com esse tratamento tiveram livre acesso a água e NaCl 0,3 M para ingestão. Em relação aos parâmetros cardiovasculares, a moxonidina promoveu aumento dos níveis de PAM nos ratos tratados com FURO+CAP com livre acesso ao sódio e água em relação ao período controle basal. Em conjunto, esses resultados sugerem que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 do NPBL exercem um papel importante na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico durante a desidratação extracelular.

O modelo experimental usado para induzir a desidratação extracelular no presente estudo o foi mesmo utilizado em estudos anteriores para produzir apetite ao sódio em curto período de tempo (1 hora) (FITTS & MASSON, 1989; THUNHORST & JOHNSON, 1994; MENANI et al., 1996; ANDRADE et al., 2004). O tratamento com o diurético/saliurético furosemida + o inibidor da ECA captopril sc induz uma rápida e significativa ingestão de NaCl 0,3 M devido a leve hipovolemia associada a um aumento da formação de ANG II central (FITTS & MASSON, 1989; THUNHORST & JOHNSON, 1994; MENANI et al., 1996). O tratamento FURO+CAP promove uma hipovolemia sem alterar a osmolaridade plasmática, com aumento dos níveis plasmáticos de AVP, mas nenhuma alteração dos níveis de OT, conforme parâmetros avaliados 90 min após a administração do FURO+CAP, (THUNHORST et al., 1994a ;1994b). Como nesse modelo experimental ocorre hipovolemia acompanhado do aumento da formação de ANG II central, esses dois fatores juntos explicam o aumento do AVP plasmático observado durante esse tratamento.

Em ratos com apetite ao sódio induzido pelo tratamento com FURO+CAP sc, a ativação de receptores adrenérgicos α_2 com injeções bilaterais de moxonidina ou noradrenalina no NPBL produzem um potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M (ANDRADE et al., 2004; GASPARINI et al., 2009; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a). O potente aumento da ingestão de NaCl 0,3 M produzido pela administração de moxonidina no NPBL (várias vezes a quantia ingerida pelos controles tratados com FURO + CAP sc e veículo no NPBL) foi completamente abolido pelo RX 821002, indicando que a moxonidina produz um potente, seletivo e específico aumento da ingestão de NaCl hipertônico atuando em receptores adrenérgicos α_2 , (ANDRADE et al., 2004). Em conjunto esses resultados anteriores sugerem que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 do NPBL podem reduzir os efeitos dos mecanismos inibitórios que limitam a ingestão de sódio (ANDRADE et al., 2004; GASPARINI et al., 2009; ANDRADE-FRANZÉ et al., 2010a). Esses estudos, porém, não avaliaram os efeitos da ativação de receptores adrenérgicos α_2 sobre as respostas renais, hormonais e parâmetros cardiovasculares durante a desidratação extracelular induzida pelo tratamento FURO+CAP em situação de livre acesso a água e NaCl 0,3 M.

Em relação aos parâmetros renais, os presentes resultados mostram que injeções de moxonidina no NPBL não alteram a excreção de sódio e volume urinário em ratos tratados com FURO+CAP sem acesso a água e NaCl 0,3 M. Por outro lado, moxonidina no NPBL aumentou a diurese e natriurese em ratos submetidos ao tratamento FURO+CAP que tiveram livre acesso ao NaCl 0,3 M e água para ingestão.

Para verificar se esse aumento na diurese e na natriurese poderia compensar a grande quantia de água e de sódio ingerida após a administração de moxonidina no NPBL, foi calculado o balanço de água e de sódio (ingestão menos a excreção renal nos mesmos animais). No momento em que foram oferecidos água e sódio para os animais (1 h após a injeção de FURO+CAP), estes apresentavam um balanço negativo de sódio devido aos efeitos diurético e natriurético da furosemida. Os animais que receberam injeções bilaterais de moxonidina apresentaram um grande aumento da ingestão de sódio e de água em relação aos animais que receberam veículo no NPBL. Essa grande ingestão de sódio e de água não foi compensada pelo aumento da excreção renal de sódio e aumento do volume

urinário, caracterizando assim um balanço positivo de sódio ao final das duas horas de experimento.

Esse aumento da excreção de sódio e água após o acesso aos líquidos é provavelmente secundário à grande ingestão de sódio e de água que normalmente ocorre após a ativação de receptores adrenérgicos α_2 . Note que o aumento da excreção de sódio nesses ratos inicia-se após ocorrer uma ingestão significativa de água e de sódio. Mediante esses resultados, persistiu a dúvida se a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL modificaria as respostas renais durante a desidratação extracelular. Considerando que o grupo controle tratado com veículo não ingere sódio e água na mesma quantidade e proporção que o grupo tratado com moxonidina, caracterizando assim situações experimentais diferentes, esses resultados não esclareceram se a ativação dos receptores adrenérgicos α_2 do NPBL poderiam alterar as respostas renais.

Para responder essa questão, foi elaborado um novo protocolo experimental com o objetivo de submeter os ratos tratados com veículo à mesma sobrecarga de água e de sódio que é observada normalmente após a moxonidina no NPBL quando os ratos têm livre acesso à água e sódio. Assim, foram realizadas sobrecargas intragástricas para uniformizar as condições experimentais dos animais e observar se a moxonidina no NPBL poderia modificar a excreção renal de sódio e o volume urinário em ratos com desidratação extracelular. De acordo com dados de ingestão de água e sódio obtidos no 1º experimento (aproximadamente 11 ml de NaCl 0,3 M e 10 ml de água aos 30 min), foram administradas 3 sobrecargas intragástricas (6 ml de NaCl 0,17 M em cada sobrecarga aos 5 e 15 min e 9 ml de NaCl 0,13 M aos 30 min após o início da coleta de urina). Dessa forma, foi feita uma reposição hidroeletrólítica por via intragástrica igual para ambos os tratamentos (moxonidina e veículo no NPBL).

A moxonidina injetada no NPBL não alterou a excreção renal em ratos tratados com FURO+CAP sc que não receberam as sobrecargas intragástricas. Contudo, nos animais tratados com FURO+CAP que receberam as sobrecargas intragástricas a administração de moxonidina no NPBL diminuiu a excreção urinária de sódio e volume urinário quando comparado à injeção de veículo no NPBL. Com a realização das sobrecargas intragástricas, ambos os grupos encontravam-se em balanço positivo de água e sódio. No entanto, os animais tratados com moxonidina continuam a exibir um balanço de sódio e de água mais elevado em relação ao

grupo tratado com veículo, devido à diminuição das respostas renais. Assim sendo, os presentes resultados demonstram que moxonidina no NPBL diminui a excreção de sódio e volume urinário em ratos com tratamento FURO+CAP que receberam as sobrecargas, sugerindo que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 nessa área ativa mecanismos renais que facilitam a retenção de água e de sódio.

Apesar de seu efeito anti-hipertensivo atribuído a uma redução da atividade simpática produzida pela ação central em receptores imidazólicos do bulbo ventrolateral rostral (ERNSBERGER et al., 1993; HAXHIU et al., 1994; ERNSBERGER et al., 1997), a moxonidina injetada no NPBL não altera a PAM e FC tanto em ratos tratados com FURO + CAP quanto em ratos sem prévio tratamento (ANDRADE et al., 2004). Porém, esse estudo avaliou a PAM e FC apenas por um curto período (30 min após as injeções de moxonidina ou veículo no NPBL) e sem acesso a água e NaCl 0,3 M. Dessa forma, no presente estudo foi realizado um registro dos parâmetros cardiovasculares de mesma duração do protocolo de estudo do comportamento ingestivo, ou seja, simultaneamente à ingestão de água e de sódio por 120 min.

A PAM dos ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções de moxonidina no NPBL, com ou sem acesso ao sódio e água, foi maior do que a PAM dos ratos FURO+CAP que receberam injeções de veículo no NPBL sem acesso ao sódio e água. A variação da PAM nos ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam injeções de moxonidina no NPBL com acesso ao sódio e água foi maior do que a PAM dos ratos FURO+CAP que receberam injeções de veículo no NPBL sem acesso ao sódio e água. Nos ratos tratados com FURO+CAP s.c. e moxonidina no NPBL que tiveram livre acesso a água e NaCl 0,3 M foi observado um aumento da PAM aos 60 min do experimento em relação ao registro basal. Por fim, a moxonidina no NPBL dos ratos tratados com FURO+CAP sem acesso aos líquidos não alterou a PAM em relação ao seu basal. Dessa forma, a administração de moxonidina no NPBL após o tratamento com FURO + CAP não promove variações marcantes na pressão arterial que resultariam no aumento do comportamento ingestivo.

Com o livre acesso ao NaCl 0,3 M e água, os ratos tratados com FURO+CAP que receberam moxonidina no NPBL mostraram um aumento dos níveis de PAM em relação ao seu basal. Tal efeito pode ser explicado pelo exacerbado comportamento ingestivo que esses animais expressam durante a primeira hora de livre acesso aos

líquidos. Após esse período, quando a ingestão se estabiliza e os animais voltam a expressar maior período de repouso na gaiola, os níveis de PAM retornam próximos aos níveis basais, fato que coincide com o aumento da excreção renal de sódio e aumento do volume urinário que é também observado nesse tratamento. De qualquer forma, o aumento da PAM nesse grupo experimental seria devido ao comportamento ingestivo, e não o contrário, ou seja, uma possível redução na PAM desencadeando uma resposta de ingestão hidromineral.

A participação do NPBL nas respostas renais e hormonais já havia sido estudada em situação de expansão de volume e desidratação intracelular. Margatho e cols. mostram que o bloqueio serotoninérgico no NPBL também modifica a excreção renal e os níveis plasmáticos de ANP, OT e AVP induzidos pela expansão com solução salina isotônica do volume do líquido extracelular em ratos hidratados, (MARGATHO et al., 2007). O bloqueio serotoninérgico no NPBL com metisergida (antagonista de receptores serotoninérgicos) atenuou o aumento da excreção de sódio, potássio e volume urinário, e também impediu o aumento de ANP e OT plasmáticos induzidos pela expansão com solução salina isotônica do volume do líquido extracelular, enquanto a injeção de DOI (agonista de receptores 5-HT_{2A/2C}) promoveu efeitos opostos (MARGATHO et al., 2007).

Em relação aos receptores adrenérgicos alfa₂ do NPBL, foi verificado que durante uma hiperosmolaridade plasmática (induzida pela sobrecarga intragástrica de NaCl 2 M) em ratos sem acesso à água e sódio, a natriurese e a diurese normalmente observadas nessa situação são diminuídas pela administração bilateral de moxonidina no NPBL (ANDRADE et al., 2012). Esse efeito da moxonidina foi revertido pelo prévio tratamento com o antagonista de receptores adrenérgicos alfa₂, RX 821002, confirmando assim que os efeitos renais da moxonidina são devido a um ativação específica nesses receptores (ANDRADE et al., 2012). Esses resultados sugerem que a moxonidina no NPBL prejudica as respostas renais ativadas pelo aumento da osmolaridade plasmática, importantes para aumentar a excreção renal de água e de sódio. Além disso, quando injetada no NPBL, a moxonidina reduziu o aumento dos níveis de OT e de AVP produzidos pela desidratação celular (aumento da osmolaridade plasmática), mas não modificaram os níveis de ANP (ANDRADE et al., 2012).

Os presentes resultados mostram que a desidratação extracelular induzida por FURO+CAP em ratos com veiculo no NPBL não alterou de forma significativa os

níveis de AVP e de OT em relação ao tratamento controle (animais que receberam injeções de salina sc e veículo no NPBL). Esse resultado difere do observado no estudo anterior (THUNHORST et al., 1994b), no qual foi observado um aumento do AVP após o tratamento FURO+CAP sc. Como nesse modelo experimental ocorre hipovolemia associado ao aumento de ANG II central, seria esperado um aumento do AVP plasmático também em nosso estudo. Entretanto, a injeção de moxonidina no NPBL em ratos tratados com FURO+CAP promoveu um aumento de AVP plasmático no grupo que não teve acesso aos líquidos, tanto em comparação aos controles saciados quanto comparados aos desidratados que receberam veículo no NPBL. Esse aumento de AVP plasmático pela moxonidina nos ratos desidratados não foi mais observado após a livre ingestão de líquidos.

Comparando os presentes resultados com estudo anterior (ANDRADE et al., 2012), pode ser observado que o bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL com injeções de moxonidina promove redução das respostas renais em situações de desidratação intracelular e extracelular (ANDRADE et al., 2012; presentes resultados, respectivamente). Mas, os efeitos do bloqueio dos mecanismos inibitórios do NPBL sobre as respostas hormonais são distintos para cada situação experimental. Durante uma hiperosmolaridade plasmática, a moxonidina no NPBL promove diminuição dos níveis de OT e AVP, sem alterar o ANP plasmático (ANDRADE et al., 2012); ao passo que durante a desidratação extracelular (presentes resultados), a moxonidina promove aumento de AVP plasmático, sem alterações de OT. Em suma, semelhante ao que ocorre durante a desidratação intracelular, a moxonidina no NPBL também promove redução das respostas renais durante uma desidratação extracelular, porém os mecanismos envolvidos nesse caso são diferentes.

Estudo recente também mostrou que o tratamento FURO+CAP é capaz de aumentar as respostas hedônicas e diminuir as respostas aversivas no teste de reatividade de sabor ao NaCl 0,3 M em comparação aos ratos saciados (ANDRADE et al, 2011). Esse efeito de aumento na palatabilidade ao sódio hipertônico promovido pelo tratamento com FURO+CAP foi semelhante ao observado após a depleção de sódio por 24 h (BERRIDGE et al., 1984; GRILL e BERNSTEIN, 1988). Quando comparado com as injeções de veículo no NPBL, o tratamento com moxonidina nessa área não alterou o número de respostas hedônicas tampouco o número de respostas aversivas ao NaCl 0,3 M em ratos tratados com FURO+CAP

sc antes do acesso ao NaCl 0,3 M e água. Contudo, em comparação com os animais tratados com veículo, os animais tratados com moxonidina no NPBL continuaram a exibir um número aumentado de reações hedônicas e um número reduzido de respostas aversivas após o consumo de grande volume de NaCl 0,3 M e água. Em outras palavras, o tratamento com moxonidina no NPBL parece bloquear o declínio das respostas hedônicas e/ou aumento das respostas aversivas relacionados a saciedade que normalmente ocorrem durante e após o consumo de NaCl 0,3 M e água, sugerindo que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 no NPBL reduz os sinais inibitórios ativados em consequência da ingestão de NaCl hipertônico e água (ANDRADE et al, 2011).

Em suma, os presentes resultados mostram que em ratos submetidos ao tratamento com furosemida e captopril (FURO+CAP) sc, injeções de moxonidina no NPBL aumentam o balanço de sódio durante situação de livre acesso à água e NaCl 0,3 M. A moxonidina no NPBL não modificou a excreção de sódio e volume urinário em ratos tratados com FURO+CAP sem acesso a água e sódio. Por outro lado, a administração de moxonidina no NPBL diminuiu o volume urinário e a excreção urinária de sódio em ratos tratados com FURO+CAP sc que receberam sobrecargas intragástricas de mistura de água e de NaCl 0,3 M. Em relação às respostas hormonais, moxonidina promoveu aumento dos níveis plasmáticos de AVP em ratos sem acesso ao sódio e água, o que não foi observado quando os ratos com esse tratamento tiveram livre acesso a água e NaCl 0,3 M para ingestão. Além disso, a administração de moxonidina no NPBL após o tratamento com FURO + CAP não promove variações marcantes na pressão arterial que resultariam no aumento do comportamento ingestivo.

Como a moxonidina no NPBL aumenta a ingestão de sódio e água além de reduzir a excreção renal de sódio e água em animais com desidratação extracelular, é possível que os receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos dessa área possam estar envolvidos em mecanismos ativados para aumentar o volume plasmático. Portanto, esses resultados sugerem que a moxonidina injetada no NPBL em ratos com desidratação extracelular ativa mecanismos que facilitam a retenção de sódio/água e a expansão de volume.

6 CONCLUSÃO

Em conjunto, os presentes resultados sugerem que a ativação de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos do NPBL ativa mecanismos que facilitam a retenção de sódio/água e a expansão de volume e exercem um papel importante na regulação do equilíbrio hidroeletrólítico durante a desidratação extracelular.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, A. M., MCKINLEY, M. J., MENDELSON, F. A. O. Comparative neuroanatomy of angiotensin receptor localization in the mammalian hypothalamus. **Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.**, v. 15, p. 137-145, 1988.
- ANDRADE CAF, DE LUCA JR LA, COLOMBARI DSA, MENANI JV. Enhancement of meal-associated hypertonic NaCl intake by moxonidine into the lateral parabrachial nucleus. **Behavioural Brain Res** 183:156-160, 2007.
- ANDRADE CAF, ANDRADE-FRANZÉ GMF, DE LUCA JR LA, JOHNSON AK, MENANI, JV. Changes in taste reactivity to intra-oral (IO) hypertonic NaCl after lateral parabrachial injections of α 2-adrenergic receptor agonist. **Physiol Behav** 24;104(5):702-8, 2011.
- ANDRADE, C. A. F., OLIVEIRA, L. B., MARTINEZ, G., SILVA, D. C. F., DE LUCA JR, L. A., MENANI, J. V. Involvement of forebrain imidazoline and α 2-adrenergic receptors in the antidipsogenic response to moxonidine. **Ann.N.Y.Acad.Sci.**, v. 1009, p. 262-264, 2003.
- ANDRADE CAF, BARBOSA SP, DE LUCA JR LA, MENANI JV. Activation of α 2-adrenergic receptors into the lateral parabrachial nucleus enhances NaCl intake in rats. **Neuroscience** 129, 25-34, 2004.
- ANDRADE CAF, DE LUCA JR LA, COLOMBARI DSA, MENANI JV. α 2-adrenergic activation in the lateral parabrachial nucleus induces NaCl intake under conditions of systemic hyperosmolarity. **Neuroscience** 142, 21-28, 2006.
- ANDRADE CA, MARGATHO LO, ANDRADE-FRANZÉ GM, DE LUCA LA JR, ANTUNES-RODRIGUES J, MENANI JV., Moxonidine into the lateral parabrachial nucleus reduces renal and hormonal responses to cell dehydration. **Neuroscience**; 208:69-78, 2012.
- ANDRADE-FRANZÉ GM, ANDRADE CA, DE LUCA LA JR, DE PAULA PM, COLOMBARI DS, MENANI JV. Lesions in the central amygdala impair sodium intake induced by the blockade of the lateral parabrachial nucleus. **Neuroscience**. 3;165(3):633-41; 2010a.
- ANDRADE-FRANZÉ GM, ANDRADE CA, DE LUCA LA JR, DE PAULA PM, COLOMBARI DS, MENANI JV., Lateral parabrachial nucleus and central amygdala in the control of sodium intake. **Neuroscience**. 3;165 (3):633-41 ; 2010b.
- ANTUNES-RODRIGUES J, DE CASTRO M, ELIAS LLK, VALENÇA MM, MCCANN SM. Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism. **Physiol Rev** 84:169-208,2004.

ANTUNES-RODRIGUES, J., MCCANN, S. M., ROGERS, L. C., SAMSON, W. K. Atrial natriuretic factor inhibits water intake in conscious rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 82, p. 8720-8724, 1985.

ANTUNES-RODRIGUES, J., MCCANN, S. M., SAMSON, W. K. Central administration of atrial natriuretic factor inhibits salt intake in the rat. **Endocrinology**, v. 118, p. 1726-1729, 1986.

BAXTER, J. D., LEWICKI, J. A., GARDNER, D. G. Atrial Natriuretic peptide. **Biological Technology**, v. 295, p. 529-546, 1988.

BEAUCHAMP, G. K., BERTINO, M., BURKE, D., ENGELMAN, K. Experimental sodium depletion and salt taste in normal human volunteers. **Am.J.Clin.Nutr.**, v. 51, p. 881-889, 1990.

BERRIDGE KC, FLYNN FW, SCHULKIN J, GRILL HJ. Sodium depletion enhances salt palatability in rats. **Behav Neurosci** 98:652-660, 1984.

BLACKBURN, R. E., SAMSON, W. K., FULTON, R. J., SRICKER, E. M., VERBALIS, J. G. Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **Am J Physiol**, v. 269, p. R245-R251, 1995.

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

BYLUND, D. B. Pharmacological characteristics of alpha-2 adrenergic receptor subtypes. **Ann N Y Acad Sci**, v. 763, p. 1-7, 1995.

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

CALLERA, J. C., OLIVEIRA, L. B., BARBOSA, S. P., COLOMBARI, D. S. A., DE LUCA JR, L. A., MENANI, J. V. GABAA receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. **Neuroscience**, v. 134, p. 725-735, 2005.

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

COLOMBARI, D. S. A., MENANI, J. V., JOHNSON, A. K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. **Am.J.Physiol.**, v. 271, n. R1470, p. R1476 1996.

DE BOLD, A. J., BOVEINSTEIN, H. B., VERESS, A. T., SONERBERG, H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Sciences**, v. 28, p. 98-94, 1981.

DE CASTRO E SILVA, E., FREGONEZE, J. B., JOHNSON, A. K. Corticotropin-releasing hormone in the lateral parabrachial nucleus inhibits sodium appetite in rats. **Am.J.Physiol.**, v. 290, p. R1136-R1141, 2005.

DE GOBBI, J. I. F., DE LUCA JR, L. A., MENANI, J. V. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. **Brain Research**, v. 880, p. 131-138, 2000.

DE GOBBI JI, BELTZ TG, JOHNSON RF, MENANI JV, THUNHORST RL, JOHNSON AK., Non-NMDA receptors in the lateral parabrachial nucleus modulate sodium appetite. **J Physiol.** 1;586(Pt 15):3719-29, 2009.

DE GOBBI JI, MENANI JV, BELTZ TG, JOHNSON RF, THUNHORST RL, JOHNSON AK., Right atrial stretch alters fore- and hind-brain expression of c-fos and inhibits the rapid onset of salt appetite. **J Physiol.** , 1;586(Pt 15):3719-29, 2008.

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

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

DE LUCA JR, L. A.; VIVAS, L.; MENANI, J. V. Controle neuroendócrino da ingestão de água e sal. In: ANTUNES-RODRIGUES, J.; MOREIRA, A. C.; ELIAS, L. L. K.; CASTRO, M. (Eds.). **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 10 , p. 116-131, 2005.

DE OLIVEIRA, L. B., DE LUCA JR, L. A., MENANI, J. V. Moxonidine and central α_2 adrenergic receptors in sodium intake. **Brain Res.**, v. 993, p. 177-182, 2003.

DE OLIVEIRA LB, CALLERA JC, DE LUCA JR LA, COLOMBARI DSA, MENANI JV. GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite. **Brain Res Bull** 73,238-247, 2007.

DE OLIVEIRA LB, DE LUCA JR LA, COLOMBARI DSA, COLOMBARI E, MENANI, JV. Opioid activation in the lateral parabrachial nucleus induces hypertonic sodium intake. **Neuroscience** 155,350-358, 2008.

DE PAULA, P. M., SATO, M. A., MENANI, J. V., DE LUCA JR, L. A. Effects of central a-adrenergic agonists on hormone-induced 3% NaCl and water intake. **Neurosci.Lett.**, v. 214, n. 155, p. 158, 1996.

DUFFY, V. B., BARTOSHUK, L. M., , S.-M. R., RODIN, J. Taste changes across pregnancy. **Ann.N.Y.Acad.Sci.**, v. 855, p. 805-809, 1998.

EDWARDS, G. L. & JOHNSON, A. K. Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. **Am.J.Physiol.**, v. 261, p. R1039-R1044, 1991.

ERNSBERGER, P., DAMON, T. H., GRAFF, L. M., SCHAFER, S. G., CHRISTEN, M. O. Moxonidine, a centrally acting antihypertensive agent, is selective ligand for I1-imidazoline sites. **J.Pharmacol.Exper.Therap.**, v. 264, p. 172-264, 1993.

ERNSBERGER, P. & HAXHIU, M. A. The I1-imidazoline-binding site is a functional receptor mediating vasodepression via the ventral medulla. **Am.J.Physiol.**, v. 273, p. R1572-R1579, 1997.

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

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

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

FITZSIMONS, J. T. Physiology and pathology of thirst and sodium appetite. In: SELDIN DW ; GIEBISCH G (Eds.). The kidney: physiology and pathophysiology. **New York: Raven Press**, p. 885-901, 1985.

FRANCHINI, L. F. & VIVAS, L. Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. **Am J Physiol.**, v. 276, n. 4 Pt 2, p. R1180-R1187, 1999.

FREGLY, M. J., KELLEHER, D. L., GREENLEAF, J. E. Antidipsogenic effect of clonidine on angiotensin II-, hypertonic saline-, pilocarpine- and dehydration-induced water intake. **Brain Res.Bull.**, v. 7, n. 661, p. 664, 1981.

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

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

FRENCH, N. α_2 -adrenoceptors and I2 sites in the mammalian central nervous system. **Pharmacol.Ther.**, v. 68, p. 175-208, 1995.

FULWILER, C. E. & SAPER, C. B. Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. **Brain Res.**, v. 7, n. 229, p. 259, 1984.

GALAVARNA, O., DE LUCA JR, L. A., SCHULKIN, J., YAO, S. Z., EPSTEIN, A. K. Deficits in NaCl ingestion after damage to the central nucleus of the amygdala in the rat. **Brain Res.Bull.**, v. 28, n. 1, p. 89-98, 1991.

GASPARINI S, DE LUCA LA JR, COLOMBARI DS, DE PAULA PM, BARBOSA SP, MENANI JV., Adrenergic mechanisms of the Kölliker-Fuse/A7 area on the control of water and sodium intake. **Neuroscience**. 1;164(2):370-9. 2009.

GRILL HJ, BERNSTEIN IL. Strain differences in taste reactivity to NaCl. **Am J Physiol** 255:R424-R430, 1988.

HALSELL, C.B., FRANK M.E., Mapping study of the parabrachial taste-responsive area for the anterior tongue in the golden hamster. **J Comp Neurol**. ;306 708–722, 1991.

HAXHIU, M. A., DRESHAJ, I., SCHAFFER, S. G., ENSBERGER, P. Selective antihypertensive action of moxonidine is mediated mainly by I1-imidazoline receptors in the rostral ventrolateral medulla. **J.Cardiovasc.Pharmacol.**, v. 24, n. 1, p. S1-S8, 1994.

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

JHAMANDAS, J. H., HARRIS, K. H., PETROV, T., KRUKOFF, T. L. Characterization of the parabrachial nucleus input to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. **J Neuroendocrinology**, v. 4, p. 461-471, 1992.

JHAMANDAS, J. H., PETROV, T., HARRIS, K. H., VU, T., KRUKOFF, T. L. Parabrachial nucleus projection to the amygdala in the rat. Electrophysiological and anatomical observations. **Brain Res.Bull.**, v. 39, p. 115-126, 1996.

JOHNSON, A. K. ; EDWARDS, G. L. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. In: **Current Topics in Neuroendocrinology, Behavioral Aspects of Neuroendocrinology**. p. 149-190, 1990.

JOHNSON, A. K. & THUNHORST, R. L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front Neuroendocrinol**, v. 18, p. 292-353, 1997.

JOHNSON A. K., THUNHORST R.L. The neuroendocrinology, neurochemistry and molecular biology of thirst and salt appetite. In: Lajtha A, Laustein JD, editors. Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Behavioral Neurochemistry, **Neuroendocrinology and Molecular Neurobiology**, p. 641-687, 2007.

KOBASHI, M., ICHIKAWA, H., SUGIMOTO, T., ADACHI, A. Response of neurons in the solitary tract nucleus, area postrema and lateral parabrachial nucleus to gastric load of hypertonic saline. **Neurosci Lett**, v. 158, p. 47--50, 1993.

KOLESÁROVÁ D, PETROVICKÝ P., Parabrachial nuclear complex in the rat (nuclei parabrachiales and nucleus Koelliker-Fuse). Detailed cytoarchitectonic division and connections compared. **J Hirnforsch.** ;28(5):517-27., 1987.

KRUKOFF, T. L., HARRIS, K. H., JHAMANDAS, J. H. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. **Brain Res.Bull.**, v. 30, p. 163-172, 1993.

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

LE DOUAREC, J. C., SCHMITT, H., LUCET, B. Influence de la clonidine et des substances alfa-sympathomimetiques sur la prise d'eau chez le rat assoiffe. **J.Pharmacol.(Paris)**, v. 2, p. 435-444, 1971.

LESHEM, M. & RUDOY, J. Hemodialysis increases the preference for salt in soup. **Physiol.Behav.**, v. 61, p. 65-69, 1997.

LEWIS, S. J., ALLEN, A. M., VERBERNE, A. J. M., FIGDOR, R., JARROT, B., MENDELSON, F. A. O. Angiotensin II receptor binding in the rat nucleus solitarius is reduced after unilateral nodose ganglionectomy or vagotomy. **Eur.J.Pharmacol.**, v. 125, p. 305-307, 1986.

MARGATHO LO, GIUSTI-PAIVA A, MENANI JV, ELIAS LL, VIVAS LM, ANTUNES-RODRIGUES J. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus in renal and hormonal responses to isotonic blood volume expansion. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** ;292(3):R1190-7., 2007.

MCCANN, S. M., FRANCI, C., GUTKOWSKA, J., FAVARETTO, A. L., ANTUNES-RODRIGUES, J. Neural control of atrial natriuretic peptide actions on fluid intake and excretion. **Proc.Soc.Exp.Biol.Med.**, v. 213, p. 117-127, 1996.

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

MCKINLEY, M. J., ALLEN, A. M., CLEVERS, J., PAXINOS, G., MENDELSON, F. A. O. Angiotensin receptor binding in the human hypothalamus: autoradiographic localization. **Brain Res.**, v. 420, n. 2, p. 375-379, 1987.

MENANI J V, DE LUCA JR.L A, THUNHORST R L, JOHNSON A K. Hindbrain serotonin and the rapid induction of sodium appetite. **Am.J.Physiol.**, v. 279, p. R126-R131, 2000.

MENANI, J. V., COLOMBARI, D. S. A., BELTZ, T. G., THUNHORST, R. L., JOHNSON, A. K. Salt appetite: interaction of forebrain angiotensinergic and hindbrain serotonergic mechanisms. **Brain Res.**, v. 801, p. 29-35, 1998a.

MENANI, J. V., DE LUCA JR, L. A., JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. **Am.J.Physiol.**, v. 274, p. R555-R560, 1998b.

MENANI, J. V. & JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. **Am.J.Physiol.**, v. 269, p. R1044-R1049, 1995.

MENANI, J. V. & JOHNSON, A. K. Cholecystokinin actions in the parabrachial nucleus: effects on thirst e salt appetite. **Am J Physiol**, v. 275, p. R1431-R1437, 1998.

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

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

MENANI, J. V. et. al. ,Role of central α 2-adrenergic/imidazoline receptors in the control of thirst, sodium appetite and renal excretion. F.J. Chen (Ed.), **New trends in brain research**, Nova Science Publishers, Hauppauge, NY pp. 95–126, 2006.

MOREIRA, T. S., TAKAKURA, A. C. T., MENANI, J. V., SATO, M. A., COLOMBARI, E. Central blockade of nitric oxide synthesis reduces moxonidine-induced hypotension. **British J.Pharmacol**, v. 142, p. 765-771, 2004.

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

NURMINEN, M. L., CULMAN, J., HAASS, M., CHUNG, O., UNGER, T. Effect of moxonidine on blood pressure and sympathetic tone in conscious spontaneously hypertensive rats. **Eur.J.Pharmacol.**, v. 362, p. 61-67, 1998.

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

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

OLDFIELD, B. J. ; MCKINLEY, M. J. Circunventricular organs. In: PAXINOS G. The Rat Nervous System. San Diego: **Academic Press**,. p. 391-403.,1995.

PAXINOS, G. & WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates, 6ª edição, New York, **Academic Press**, 2007.

PENNER, S. B. & SMYTH, D. D. Central and renal I1-imidazoline preferring receptors: two unique sites mediating natriuresis in the rat. **Cardiovasc.Drug Ther.**, v. 8, p. 43-48, 1994a.

PENNER, S. B. & SMYTH, D. D. Sodium excretion following central administration of an I1 imidazoline receptor agonist, moxonidine. **Br.J.Pharmacol.**, v. 112, p. 1089-1094, 1994b.

PENNER, S. B. & SMYTH, D. D. Rilmenidine alters renal function when administered intracerebroventricularly or intrarenally. **Ann.New York Acad.Sci.**, v. 763, p. 353-356, 1995.

PEREIRA, D. T. B., VENDRAMINI, R. C., DAVID, R. B., NOZAKI, P. N., MENANI, J. V., DE LUCA JR, L. A. Isotonic NaCl intake by cell-dehydrated rats. **Physiol Behav**, v. 76, p. 501-505, 2002.

SAKAI, R. R., MA, L., ZHANG, D. M., MCEWEN, B. S., FLUHARTY, S. J. Intracerebral administration of mineralocorticoid receptor antisense oligonucleotides attenuate adrenal steroid-induced salt appetite in rats. **Neuroendoc.**, v. 64, p. 425-429, 1996.

SATO, M. A., SUGAWARA, A. M., MENANI, J. V., DE LUCA JR, L. A. Idazoxan and the effect of intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. **Regul.Pept.**, v. 69, p. 137-142, 1997.

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

SUGAWARA, A. M., MIGUEL, T. T., DE OLIVEIRA, L. B., MENANI, J. V., DE LUCA JR, L. A. Noradrenaline and mixed α_2 -adrenoceptor/imidazoline-receptor ligands: effects on sodium intake. **Brain Res**, v. 839, p. 227-234, 1999.

TAKAMATA, A., MACK, G. W., GILLEN, C. M., NADEL, E. R. Sodium appetite, thirst, and body fluid regulation in humans during rehydration without sodium replacement. **Am.J.Physiol.**, v. 266, p. R1493-R1502, 1994.

THUNHORST, R. L. & JOHNSON, A. K. Renin-angiotensin, arterial blood pressure and salt appetite in rats. **Am.J.Physiol.**, v. 266, p. R458-R465, 1994a.

THUNHORST RL, MORRIS M, JOHNSON AK. Endocrine changes associated with a rapidly developing sodium appetite in rats. **Am J Physiol**. 267:R1168-73, 1994b.

THUNHORST, R. L., XU, Z., CICHA, M. Z., ZARDETTO-SMITH, A. M., JOHNSON, A. K. Fos expression in rat brain during depletion-induced thirst and salt appetite. **Am.J.Physiol.**, v. 274, p. R1807-R1814, 1998.

VERBALIS, J. G., BLACKBURN, R. E., HOFFMAN, G. E., STRICKER, E. M. Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. **Adv.Exp.Med.Biol.**, v. 395, p. 209-225, 1995.

VERNEY, E. B. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. **Proc.Royal Soc.**, London, v. 135, p. 25-106, 1947.

YAMAMOTO, T., SHIMURA, T., SAKO, N., SAKAI, N., TANIMIZU, T., WAKISAKA, S. c-Fos expression in the parabrachial nucleus after ingestion of sodium chloride in the rat. **Neuroreport.**, v. 4, n. 11, p. 1223-1226, 1993.