RICARDO HENRIQUE DA COSTA E SOUSA

EFEITOS CARDÍACOS DA OCITOCINA:
HÁ INFLUÊNCIA DESTE PEPTIDEO NA HOMEOSTASE CARDIOVASCULAR?

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (FISIOLOGIA)

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
2005

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Costa e Sousa, Ricardo Henrique da.
Efeitos cardíacos da ocitocina: Há influência deste peptídeo na homeostase cardiovascular?/Ricardo Henrique da Costa e Sousa. Rio de Janeiro: UFRJ/IBCCF, 2005.
vii, 69f.: il.; 30cm.
Orientador: Antonio Carlos Campos de Carvalho
Dissertação (mestrado) – UFRJ/IBCCF, Ciências Biológicas – Fisiologia, 2005.
Referências Bibliográficas: f. 69-76
1.Ocitocina. 2.Contratilidade cardíaca. 3.Freqüência cardíaca. 4.Homeostase cardiovascular. I. Campos de Carvalho, Antonio Carlos. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Programa de pós-graduação em Bioengenharia e Biotecnologia Animal. III. Efeitos cardíacos da ocitocina: Há influência deste peptídeo na homeostase cardiovascular?

Este trabalho é dedicado aos meus avós,

Beca, Dazinha, Ramon e Zita,

e à minha mãe ,

Nadia.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Antonio, por ter possibilitado esta experiência magnífica e ter confiado em mim, permitindo que eu desenvolvesse este trabalho.

À Profa. Masako, pois além de ter permitido que eu entrasse para o laboratório, aceitou realizar a revisão deste trabalho, o que, para mim foi muito gratificante.

Aos Profs. José Hamilton e Regina, que estiveram ao meu lado durante esses últimos anos, me ajudando sempre que necessário.

Ao amigo e professor Emerson, com quem comecei a trabalhar no laboratório, tanto me ensinou e assim continua.

Aos Profs. do DCF, com os quais eu comecei minha vida acadêmica. Em especial: ao Fred, que me orientou durante a iniciação de forma exemplar e está sempre ao meu lado, contribuindo fundamentalmente para a minha formação; ao Luis, que tanto me ensina e apóia, sendo um exemplo de dedicação à ciência; ao Wellington, que despertou meu interesse pelas Ciências Fisiológicas,

além de grande amigo, é um profissional exemplar, entre os melhores professores que conheci.

Ao Prof. José Geraldo Mill, que me incentivou e sempre esteve disposto a tirar minhas dúvidas. Seria muito bom se pudesse vir mais vezes ao Rio.

Ao grande amigo João, a pessoa que mais apoiou minhas idéias. Também foi quem comprou a "primeira ocitocina", para uns experimentos pilotos.

À amiga Patrícia que me ajudou muito no estabelecimento dos modelos de registro de pressão ventricular e arterial. Também realizou comigo os experimentos de pressão arterial.

Ao amigo Badauê que, mesmo longe, sempre me ajuda. Nossos encontros nos congressos são sempre muito produtivos, pena que não servem mais vinho na FeSBE.

Aos amigos Fabrício e Fredson, que além das conversas diárias, me ensinaram o modelo de coração isolado.

Às amigas Norma, Patrícia e Vânia pelos momentos de reflexão que tivemos.

Ao Luis e à Ciria, pela atenção dada principalmente nas últimas semanas.

À Daisy e aos demais companheiros destes anos: Carol, Débora, Desigual, Elen, Emiliano, Fábio, Jú, Luíz Fernando, NoBru, Pedro, Stephan, Vanessa.

À minha família, especialmente aos tios Fred e Guiga, ao Sergio e ao meu pai Ricardo.

Aos amigos que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e dando força para que conseguisse superar os obstáculos: Ananda, Assis, Carlos, Fabiano e Victor.

e à pessoa mais importante: Daniele. Te amo!

"...nada justifica que se ignore quase tudo sobre quase tudo, já que sobra muita memória para acumular cultura em múltiplos campos. (...) O conhecimento da massa é imenso porém o conhecimento de cada um é muito limitado, o que a mim parece humilhante. (...) Como admirador da civilização grega, a mais importante de toda a História, adoto o critério helênico de que todo o *saber* deve ser unificado, no que os gregos chamavam "filosofia" (isto é, afinidade pelo saber) ou no que hoje deveríamos chamar "ciência" (palavra que significa conhecimento, em latim).

Acercando-me do fim de minha vida, não posso deixar de apelar todos os aqui presentes, bem mais jovens do que eu, para que almejem tornar-se "linces", como eram considerados os membros da primeira academia do mundo. Que enxerguem muito longe, abrangendo um ângulo acadêmico de saber muito amplo e passando essa atitude para seus alunos. Precisamos deixar de formar formiguinhas, treinadas para carregar pedacinhos de folhas de um lugar a outro quase que cegamente, e voltar a formar linces. E, talvez o que seja ainda pior, formiguinhas que redescubram freqüentemente o que já foi descoberto antes, por não mais lerem artigos que tenham mais de 5 anos de existência. Como dizia o grande professor Bernardo A. Houssay, um dos inventores da neuroendocrinologia, que descobriu a circulação porta hipotálamo-hipofisária e realizou o primeiro cateterismo intracardíaco, tem-se inventado reiteradamente a bicicleta, assim como a roda, o fogo e outras invenções antiquíssimas que os mais jovens desconhecem porque à sua faina de se comportarem como formiguinhas juntam a de só conhecerem as pesquisas dos últimos anos.

Por tudo o que acabo de dizer, permitam-me pedir-lhes mais uma vez que tentem quebrar a medíocre tendência destes nossos tempos e tornem-se linces, linces de verdade, não apenas meras formiguinhas. Não é necessário pesquisar em diversos campos da ciência mas é imperativo que se leia sobre todo o conhecimento humano."

Professor César Timo-Iaria

(Conferência de Abertura da Reunião da FeSBE de 2002)

Resumo

Amplamente conhecida por seus efeitos sobre o sistema reprodutor, pesquisadores têm sugerido a participação da ocitocina na homeostase cardiovascular/hidroeletrolítica. Foram descritos seus efeitos renais e seu papel natriurético está comprovado, mas a literatura carece de informações sobre efeitos cardíacos. Objetivamos investigar efeitos da ocitocina sobre a função cardíaca. A administração intravenosa de 1μg de ocitocina (n=6) em ratos não anestesiados reduziu a +dP/dt em aproximadamente 15% no 1ºminuto após a administração (-1650 ± 605 mmHg/seg; P<0,05), permanecendo inferior ao grupo controle (n=8) até 15 minutos (P<0,05). Também promoveu uma redução na freqüência cardíaca de 20% no 1ºminuto (-69 ± 14 bpm; P<0,001), retornando a valores controles após 5 minutos. A administração de 0,1μg (n=4) não alterou a função cardíaca. Em corações isolados, as concentrações 10^{-5}, 10^{-6} e 10^{-7}M, promoveram uma redução na pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo de aproximadamente 60 (P<0,01), 25 (P<0,01) e 10% (P<0,05), respectivamente, não alterando a função cardíaca nas demais concentrações testadas (10^{-10} a 10^{-8}M). A +dP/dt foi reduzida em 45 e 20% (10^{-5} e 10^{-6}M; P<0,01), enquanto a pressão diastólica sofreu um discreto incremento e a frequência cardíaca uma redução, com a perfusão da maior concentração (P<0,05). A administração intravenosa de 1μg (n=6) promoveu incremento de 22% na pressão arterial média ($+23 \pm 3$ mmHg; P<0,001) no 1ºminuto, que retornou a valor semelhante ao do grupo controle aos 5 minutos, assim permanecendo até 30 minutos após a administração. Portanto, a ocitocina é capaz de exercer efeitos inotrópico e cronotrópico negativos, sendo o efeito *in vivo*, em parte, uma resposta reflexa ao seu efeito hipertensor.

Abstract

Oxytocin is well known for its role in reproduction. However, evidences have emerged suggesting its role in cardiovascular/hydroeletrolitic homeostasis. Although its renal effects have been characterized, the cardiaovascular effects have not. Therefore, we aimed to investigate the cardiac effects of oxytocin. Intravenously given oxytocin (1μg; n=6) to unanesthetized rats decreased +dP/dt by 15% (−1650 ± 605 mmHg/seg; P<0.05) and heart rate by 20% (−69±14 bpm; P<0.001), at the first minute after injection. However, +dP/dt was still lower in OT-treated rats (n=8) up to 15 minutes (P<0.05), while heart rate returned to control values after 5 minutes. On the other hand, 0.1μg oxytocin treatment (n=4) did not change cardiac function. In isolated heart, oxytocin was able to promote negative inotropic and chronotropic effects. Perfusion with 10^{-5}, 10^{-6} and 10^{-7}M oxytocin resulted in approximately 60 (P<0.01), 25 (P<0.01) and 10% (P<0.05) reduction in the left ventricle developed pressure, without effect in lower concentrations (10^{-10} to 10^{-8}M). Also, +dP/dt was reduced by 45 and 20% (10^{-5} and 10^{-6}M, respectively; P<0.01). The diastolic pressure was increased and the heart rate was decreased by perfusion with high concentration of oxytocin (10^{-5}M; P<0.05). Intravenous injection of oxytocin (1μg; n=6) increased arterial pressure by 22% at the first minute (+23±3mmHg; P<0.001), equaling to control (n=6) thereafter. Thus, oxytocin has direct negative chronotropic and inotropic effects in the isolated heart, but its *in vivo* effect should involve a reflex mechanism derived from its effect on arterial pressure.

Sumário

1. INTRODUÇÃO
   - 1.1 Sistema hipotálamo-neurohipofisário e a secreção de ocitocina 09
   - 1.2 Influência da ocitocina sobre a dinâmica do fluido intravascular 19
2. OBJETIVOS 28
3. MATERIAL E MÉTODOS
   - 3.1 Animais 30
   - 3.2 Registro de pressão ventricular em ratos não anestesiados 30
   - 3.3 Coração isolado de rato 32
   - 3.4 Registro de pressão arterial em ratos não anestesiados 33
   - 3.5 Análise estatística 35
4. RESULTADOS
   - 4.1 Efeito da administração intravenosa de ocitocina sobre a função cardíaca de ratos não anestesiados 37
   - 4.2 Efeito da ocitocina no coração isolado de rato 42
   - 4.3 Efeito da administração intravenosa de ocitocina sobre a pressão arterial de ratos não anestesiados 50
5. DISCUSSÃO 55
6. CONCLUSÕES 65
7. PERSPECTIVAS 67
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 70

1 INTRODUÇÃO

1.1 SISTEMA HIPOTÁLAMO-NEUROHIPOFISÁRIO E A SECREÇÃO DE OCITOCINA

Localizado na base do diencéfalo, o hipotálamo é um local de integração de informações sobre o ambiente externo (provenientes, ao menos, da retina e do bulbo olfatório) bem como das que concernem ao meio interno, provenientes ou de neurônios sensoriais viscerais via núcleos bulbares e mesencefálicos, ou do próprio fluido extracelular, quer seja através de moléculas sinalizadoras (p.ex.: hormônios), quer seja por variações em suas características fisico-químicas (p.ex.: osmolaridade). A partir do processamento destas aferências, desencadeiam-se respostas neurohumorais capazes de influenciar os mais diversos tecidos colaborando assim para o fenômeno homeostático (Allen & Cechetto, 1992; Antunes-Rodrigues, *et al*., 2004; Burbach *et al*., 2001; De-Wardener, 2001; Fitch *et al*., 2000a; 2000b; Fitzsimons, 1998; Grindstaff *et al*., 2000a.; Skott, 2003).

Neurônios hipotalâmicos podem influenciar o funcionamento do organismo, através de vias neurais descendentes (p.ex.:modulação de atividade de neurônios pré-ganglionares simpáticos) ou humorais, através da secreção de moléculas sinalizadoras na circulação sanguínea. Além de secretarem seus produtos na circulação porta-hipofisária, influenciando assim a função da porção anterior desta glândula (adenohipofíse), terminais de neurônios que tem seu corpo celular localizado no hipotálamo também são encontrados na porção posterior da hipófise (neurohipófise), através da qual estes neurônios secretam seus produtos na circulação

sistêmica (De-Wardener, 2001; Freeman *et al*., 2000; Lohmeier, 2003; Müller *et al*., 1999).

Classicamente o sistema neurosecretótrio hipotálamo-neurohipofisário consiste em neurônios hipotalâmicos com grandes corpos celulares (magnocelulares) localizados nos núcleos paraventriculares (PVN) e supraópticos (SON), que projetam axônios aos capilares sanguíneos presentes na neurohipófise. Tratam-se de neurônios peptidérgicos que sintetizam principalmente ou arginina vasopressina (AVP), ou ocitocina (OT), sendo sua atividade modulada por diversos fatores, como lactação, pressão arterial, osmolaridade plasmática e pressão atrial direita (Ciriello, 1998; Cunningham *et al*., 2002; Fenelon *et al*., 1993; Grindstaff *et al*., 2000b; Howe *et al*., 2004; Li *et al*., 2003; Lohmeier, 2003; Morris *et al*., 1994; Sladek & Kapoor, 2001).

Ambos peptídeos (AVP e OT) derivam do processamento enzimático de pro-hormônios específicos (Acher & Chauvet, 1995; Shojo & Kaneko, 2000). Após sua síntese, estes precursores são armazenados em vesículas (LDCVs; "large dense core vesicles"), nas quais ocorrerão todas as etapas do processamento enzimático até a formação dos hormônios propriamente ditos, assim como o transporte destes aos terminais nervosos. Assim sendo, a ocitocina é armazenada em vesículas nos terminais nervosos localizados na neurohipófise até que, como conseqüência da estimulação dos corpos celulares dos respectivos neurônios magnocelulares, potenciais de ação atinjam estes terminais e promovam a abertura de canais para

cálcio, desencadeando o processo de exocitose e a liberação de OT na corrente sanguínea (Verhage *et al*., 1991 *apud* Burbach *et al*., 2001).

Apesar dos fatores moduladores da atividade de neurônios ocitocinérgicos magnocelulares e, conseqüentemente, da secreção de ocitocina, mais conhecidos estarem relacionados a processos reprodutivos (Ivell *et al*., 1996; Samson, 2004), nas últimas duas décadas diversos trabalhos demonstraram o envolvimento destes neurônios e da ocitocina na homeostase hidroeletrolítica e cardiovascular (Antunes-Rodrigues *et al*., 2004; de-Bold *et al*., 1996; Gutkowska *et al*., 2000).

Fenelon e colaboradores (1993), através de técnica imunohistoquímica, demonstraram que a privação hídrica e a hemorragia (estímulos osmótico e hipovolêmico, respectivamente) representam fortes estímulos à atividade dos neurônios magnocelulares localizados tanto no núcleo hipotalâmico supraóptico (SON), como no paraventricular (PVN). Através de dupla marcação, foi possível verificar que a maior parte das células positivas para Fos (indicando que estas células foram estimuladas) também eram positivas para vasopressina, enquanto cerca de 18% marcaram positivamente para ocitocina. Além disso, nas ratas submetidas à privação hídrica 37% dos neurônios ocitocinérgicos localizados no SON apresentaram a proteína Fos, enquanto nas ratas submetidas à hemorragia este valor elevou-se para 77%. Associados aos dados relativos à lactação e ao parto, estes resultados levaram os autores a concluir que tanto a privação hídrica, como a hemorragia são capazes de induzir uma maior expressão de *c-fos* nos neurônios magnocelulares

ocitocinérgicos, quando comparados com estímulos relacionados ao processo reprodutivo (Fenelon *et al*., 1993).

Há quase uma década, Schiltz e colaboradores (1997) demonstraram ser a hipotensão um forte estímulo à secreção neurohipofisária de ocitocina. A administração de hidralazina e subseqüente queda na pressão arterial (de 119 para 72 mmHg), resultou na expressão de Fos em 66% e 46% dos neurônios ocitocinérgicos dos núcleos PVN e SON, respectivamente. Ainda, este estímulo hipotensor promoveu um aumento na concentração plasmática de ocitocina (de valores inferiores a 20ρg/mL, para valores máximos superiores a 100ρg/mL) durante todo o período experimental (90 minutos). É plausível que, em parte, as aferências responsáveis pela modulação da atividade dos neurônios ocitocinérgicos paraventriculares tenham origem em neurônios sensitivos renais. Afinal, a estimulação elétrica de neurônios aferentes renais resulta na excitação de cerca de 68% dos neurônios ocitocinérgicos localizados no PVN contralateral (ao nervo renal estimulado), que se projetam a neurohipófise. Além disso, a oclusão da artéria renal resulta na estimulação da atividade de 9% dos neurônios ocitocinérgicos localizados no PVN contralateral, enquanto a oclusão da veia renal acarreta a inibição de 13% (Ciriello, 1998). Assim sendo, tanto a hipovolemia, como a hipotensão representam estímulos à secreção neurohipofisária de ocitocina.

Todavia, se, por um lado, diversos trabalhos sugerem que estímulos hipovolêmicos e hipotensores constituem fatores determinantes de uma maior ativação de neurônios magnocelulares ocitocinérgicos e do incremento na concentração plasmática de ocitocina (OT), por outro, vários trabalhos sugerem o envolvimento deste peptídeo na resposta homeostática à expansão de volume, como será mencionado a seguir.

Um importante componente da resposta homeostática à expansão de volume é a secreção atrial do peptídeo natriurético atrial (ANP) e, conseqüentemente, o aumento em sua concentração plasmática. Apesar de ser amplamente aceito que o estiramento atrial determine uma maior secreção de ANP (de-Bold *et al*., 1996), Antunes-Rodrigues e colaboradores (1991) demonstraram que tanto lesões na eminência média, como a neurohipofisectomia reduzem acentuadamente o incremento na concentração plasmática de ANP subseqüente à expansão de volume (NaCl 0,15M, 2mL/100g de peso corporal), além da neurohipofisectomia reduzir a concentração plasmática deste peptídeo em condições basais, dados que levaram os autores a especular sobre o papel dos peptídeos neurohipofisários OT e AVP na secreção de ANP (Antune-Rodrigues *et al*., 1991). Posteriormente, o mesmo grupo demonstrou que, apesar da expansão de volume com salina hipertônica (NaCl 0,3M) promover o incremento na concentração plasmática de ambos peptídeos, a expansão de volume com salina isotônica (NaCl 0,15M) resultou em um aumento na concentração plasmática de OT e redução na de AVP, sugerindo ser a OT um peptídeo regulatório da secreção de ANP, já que

ambos protocolos de expansão de volume resultam no aumento da concentração plasmática de ANP (Haanwinckel *et al.*, 1995).

Portanto, a expansão de volume aguda hipertônica (NaCl 0,3M, 2mL/100g de peso corporal durante 1 min) resulta na modulação de vias neurais, culminando na estimulação de neurônios ocitocinérgicos que se projetam à neurohipófise e na secreção de OT, influenciando assim a secreção atrial de ANP (McCann *et al*., 1997; 2003; Antunes-Rodrigues *et al*., 2004). Este fenômeno depende da integridade dos barorreceptores aórticos e carotídeos, assim como de neurônios sensitivos renais, visto que a desnervação carotídea-aórtica ou renal reduzem em cerca de 50% a secreção de ANP induzida pela expansão de volume aguda hipertônica. Por outro lado, a vagotomia não influencia esta resposta homeostática à expansão de volume (Antunes-Rodrigues *et al*., 1992). Ainda, a participação do sistema serotoninérgico ascendente é fundamental neste evento, pois tanto a depleção serotoninérgica central (através da administração intracerebroventricular de PCPA), como a lesão do núcleo dorsal da rafe (DRN) reduzem a concentração plasmática de ANP em condições basais e de expansão de volume aguda hipertônica (Reis *et al*., 1994).

A expansão de volume contínua isotônica (infusão de 10% do peso corporal nos primeiros 10 minutos, seguida por 0,5mL/min durante 110 min. *vs* 0,01mL/min no grupo controle) resulta no aumento da pressão venosa central nos primeiro 10 minutos, sem alterar a freqüência cardíaca ou a pressão arterial média de ratos não anestesiados (Randolph *et al*.,

1998). Como conseqüência deste protocolo, ocorre a ativação de neurônios do núcleo do trato solitário (NTS), área postrema (AP), bulbo ventrolateral caudal (CVLM), PVN e porção antero-dorsal do SON, que corresponde à localização dos neurônios ocitocinérgicos que se projetam à neurohipófise. A dupla marcação (Fos e OT) demonstrou que as células deste núcleo (SON) marcadas para Fos também apresentaram marcação citoplasmática para OT, mas os neurônios ativados no PVN não eram ocitocinérgicos (Randolph *et al*., 1998; Howe *et al*., 2004). Cunningham e colaboradores reproduziram estes dados e demonstraram que a inibição da atividade de neurônios sensitivos cardíacos (através da administração intrapericárdica de procaína) bloqueia a ativação de neurônios do NTS, CVLM e *locus coeruleus*, sem influenciar a marcação de neurônios ocitocinérgicos do SON e neurônios da AP (Cunningham *et al*., 2002). Em acordo com estes dados, o estiramento atrial (através da implantação de um balão, via veia jugular) promove um efeito inibitório sobre a atividade elétrica de neurônios vasopressinérgicos do SON, mas não influencia a atividade de neurônios ocitocinérgicos deste núcleo (Grindstaff *et al*., 2000b).

Portanto, a via aferente que estimula a atividade de neurônios da AP e do SON na expansão isotônica de volume independe de neurônios sensitivos cardíacos e pode envolver tanto a ativação humoral da AP (a qual é uma estrutura circunventricular), como vias neurais independentes do NTS. Isso levou à especulação sobre a interação entre AP e SON na expansão de volume (Cunningham *et al*., 2002), o que é plausível se

considerarmos as interações entre AP, núcleo parabraquial lateral (LPBN) e núcleo dorsal da rafe (DRN) (Johnson *et al*., 1997; Fitzsimons, 1998), assim como o papel deste (DRN) na resposta à expansão de volume (Reis *et al*., 1994). Além disso, reforçando esta hipótese, podemos destacar o efeito estimulante de agonistas serotoninérgicos e inibidores da recaptação de serotonina sobre secreção neurohipofisária de ocitocina (Uvnäs-Moberg *et al*., 1996; Jorgensen *et al*., 2003) e a presença de neurônios serotoninérgicos na AP e DRN envolvidos na homeostase hidroeletrolítica (Franchini *et al*., 2002; Cavalcante-Lima *et al*., 2005).

Assim sendo, o conhecimento atual, apesar de consistente, nos leva a uma aparente incoerência, ou seja, como dois estímulos opostos (expansão de volume *vs* hipovolemia; ver figuras 01 e 02) desencadeariam a secreção de um mesmo hormônio? Será que a ocitocina desempenha algum papel homeostático nestas condições? Uma abordagem que pode nos ajudar a esclarecer estas questões se baseia em investigar o efeito deste peptídeo sobre os sistemas que influenciam diretamente a dinâmica do fluido intravascular e tentar esclarecer seu papel fisiológico.

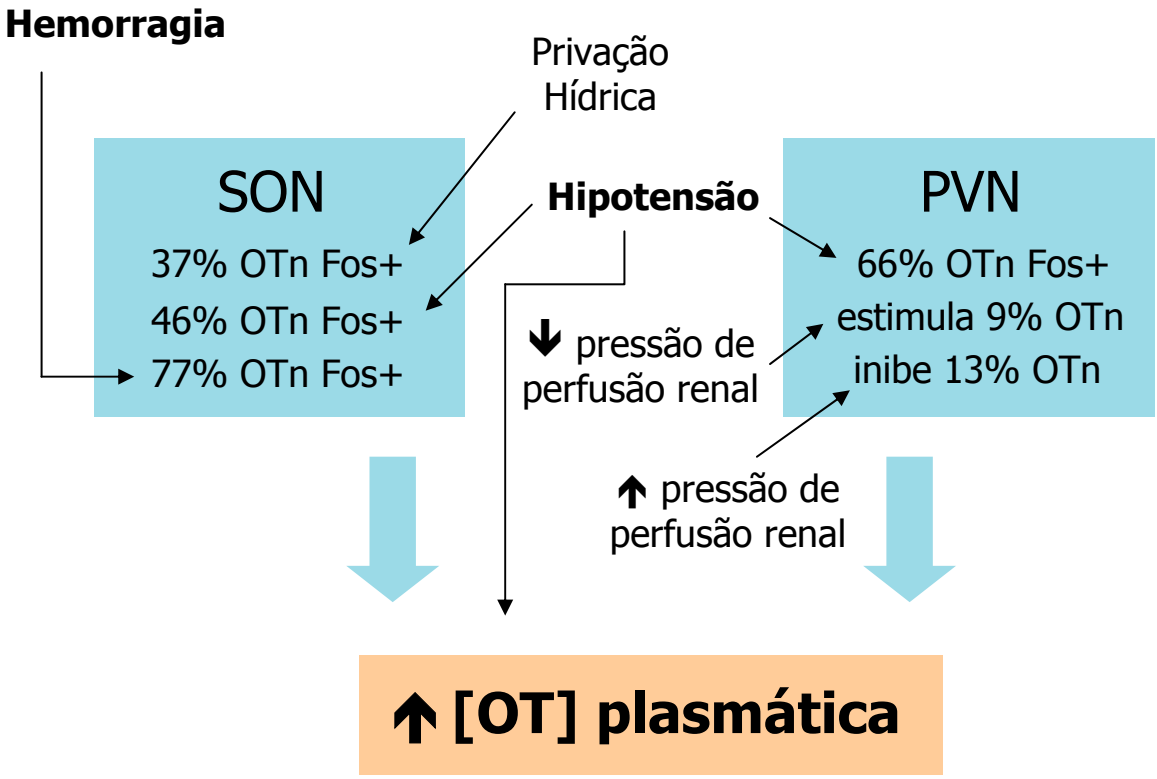

Figura 01: Representação esquemática do efeito de estímulos hipovolêmico, hipotensor e osmótico sobre a secreção neurohipofisária de ocitocina (OT), baseada nas referências citadas na introdução. Fos+=marcação positiva para Fos, OTn=neurônios ocitocinérgicos.

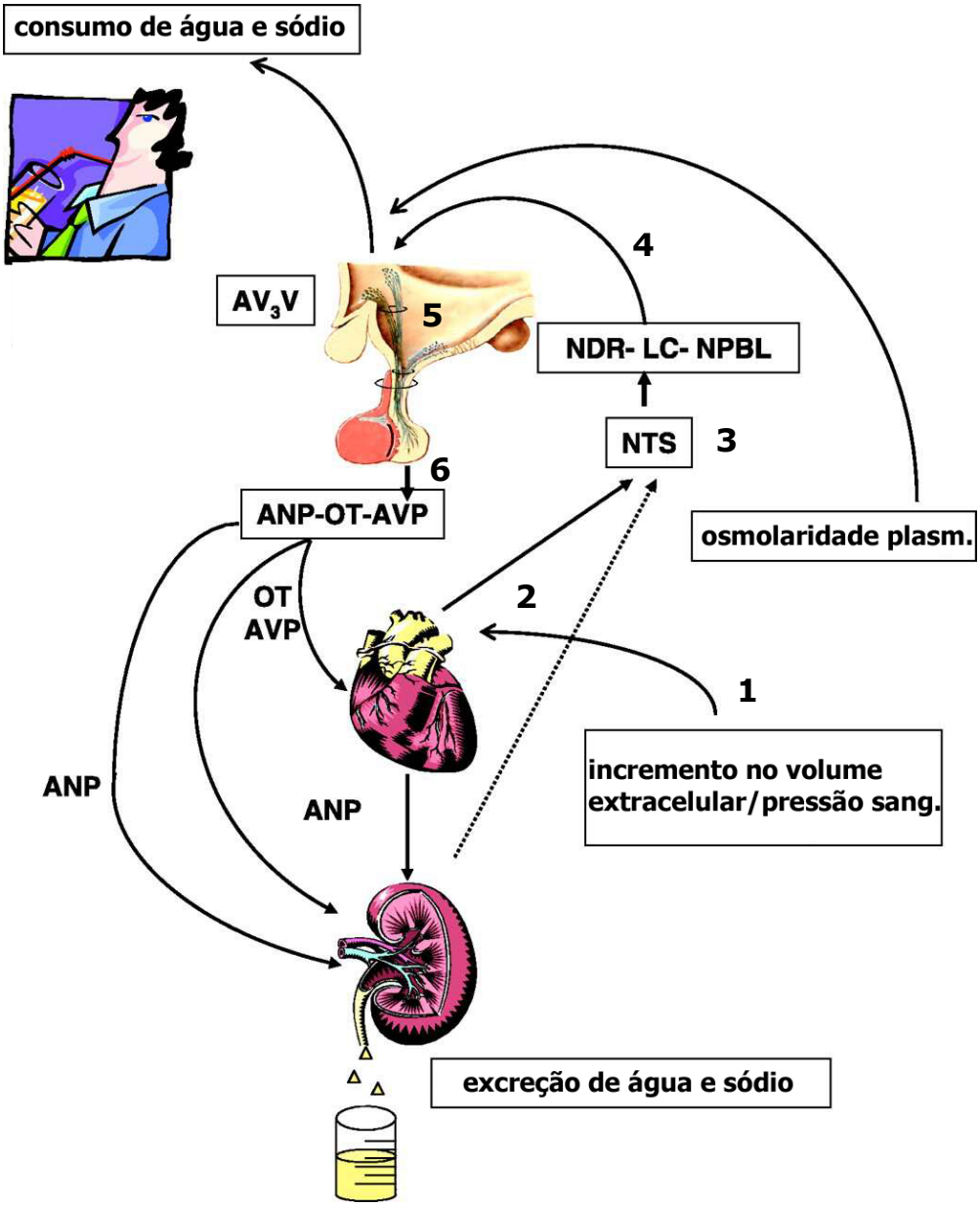

Figura 02: Representação esquemática do controle neuroendócrino da secreção de ANP. Observar seqüência de eventos (1 a 6). ANP=peptídeo natriurético atrial, AV3V=região anteroventral do 3º.ventrículo, AVP=arginina vasopressina, LC=*locus coeruleus*, NDR=núcleo dorsal da rafe, NPBL=núcleo parabraquial lateral, NTS=núcleo do trato solitário. Traduzido de Antunes-Rodrigues *et al*., 2004.

1.2 INFLUÊNCIA DA OCITOCINA SOBRE A DINÂMICA DO FLUIDO INTRAVASCULAR.

Alguns efeitos de extratos da neurohipófise já eram conhecidos no século 19 e, no final deste e início do século 20, diversos trabalhos já descreviam seus efeitos vasopressor, antidiurético, ocitotócico e estimulatório da ejeção de leite (Dale, 1906; Oliver & Schäfer, 1895; Ott & Scott, 1911; Von den Velden, 1913 *apud* Burbach *et al*., 2001). Entretanto, foi somente na década de 1950 que as estruturas químicas dos principais hormônios neurohipofisários foram elucidadas (Du-Vigneaud *et* al., 1953a; 1953b *apud* Burbach et al., 2001), permitindo assim a síntese destes compostos e, conseqüentemente, estudos mais detalhados sobre seus papéis fisiológicos. Apesar destes efeitos (vasopressor/antidiurético e ocitotócio/estimulatório da ejeção de leite) constituírem os principais atribuídos aos peptídeos neurohipofisários vasopressina e ocitocina, diversos outros efeitos são atualmente imputados a estes peptídeos e seus papeis fisiológicos representam um tema de discussão (Lohmeier, 2003).

Além do fato de estímulos hipovolêmicos/hipotensores serem capazes de ativar neurônios ocitocinérgicos e promover um aumento na concentração plasmática de ocitocina (Fenelon *et al*., 1993; Schiltz *et al*., 1997), a infusão sistêmica de um antagonista de receptores ocitocinérgicos inibe a secreção de renina induzida pela hipotensão, sem alterar a queda de pressão arterial induzida (Huang *et al*., 2001). Tanto em ratos anestesiados como em não anestesiados, a infusão intravenosa

contínua ou pulsátil de ocitocina é capaz de promover um incremento na atividade de renina plasmática quando a concentração plasmática de OT atinge aproximadamente 80ρg/mL (Huang *et al*., 2000; Sjoquist *et al*., 1999). Efeito este, completamente bloqueado tanto por antagonistas de receptores ocitocinérgicos, como por antagonistas de receptores β-adrenérgicos, sugerindo a participação de catecolaminas na secreção de renina induzida pela OT (Huang *et al*., 2000). A princípio, estes dados nos levariam a especular sobre o papel de eferências simpáticas renais no evento observado. Todavia, Loichot e colaboradores (2002) demonstraram que o efeito da OT sobre a secreção de renina permanece em ratos com desnervação renal, sendo bloqueado por antagonistas de receptores tanto ocitocinérgicos, como β-adrenérgicos. Mostraram também não se tratar de um efeito secundário, já que no período de infusão (10 minutos) não houve alteração na pressão arterial, fluxo plasmático renal, taxa de filtração glomerular ou excreção de sódio. Portanto, existem evidências da ação da OT na resposta homeostática à hipotensão, mas os mecanismos através do qual este peptídeo atua estão por ser elucidados.

Por outro lado, atualmente está claro que a ocitocina (OT) contribui para um balanço negativo do íon sódio, pois além de inibir o apetite por sódio (Antunes-Rodrigues *et al*., 2004; Fitzsimons, 1998; Rigatto *et al*., 2003; Stricker & Verbalis, 1987), apresenta um potente efeito natriurético (Haanwinckel *et al*., 1995; Soares *et al*., 1999; Sjoquist *et al*., 1999; Verbalis *et al*., 1991). Verbalis e colaboradores (1991) demonstraram que

a infusão subcutânea de OT, em ratos submetidos a uma dieta deficiente em sódio, resulta em um efeito natriurético dose-dependente, evidente mesmo em baixas concentrações plasmáticas de OT (15ρM) e completamente bloqueado pela infusão de um antagonista de receptores de ocitocina. De forma semelhante, a infusão intravenosa contínua de OT promove um aumento dose-dependente da excreção urinária de Na^+, sendo este efeito notado a partir da dose de 25ng/Kg.h (resultando na concentração plasmática de OT de aproximadamente 26ρg/mL) e máximo na dose de 250ng/Kg.h (conc. plasm. aproximadamente 100 ρg/mL). Por outro lado, a infusão pulsátil em intervalos de 5-10 minutos, simulando o padrão de secreção de OT durante o parto e a lactação, não resulta em incremento na natriurese, sugerindo que os distintos padrões secretórios afetem de forma diferente a função renal. Ainda, a infusão intravenosa contínua de 125ng/Kg.h de OT promove um aumento no fluxo urinário, de valores próximos a 3μL/minuto, para valores superiores a 10 μL/min., após 80 minutos de infusão (Sjoquist *et al*., 1999).

Além de estimular a natriurese por si, a administração intravenosa de 1 ou 10μg de OT (por rato) resulta em elevação na concentração plasmática do peptídeo natriurético atrial (ANP), de valores inferiores a 50ρg/mL para aproximadamente 200 ou 400ρg/mL, respectivamente (5 minutos após a administração), sendo a administração de 0,1μg ineficaz em promover tal aumento (Haanwinckel *et al*., 1995). Portanto, além de decorrer do efeito direto da OT sobre o transporte transepitelial renal do

íon sódio, a natriurese observada após a administração intravenosa de 1 e 10μg de OT também é resultante do efeito do ANP sobre a função renal, estando a síntese de GMPc envolvida no efeito natriurético de ambos os peptídeos (ANP e OT) e, no caso da OT, sendo esta síntese dependente da ativação do sistema nitrérgico renal (Soares *et al*., 1999).

Assim sendo, além de estimular a excreção de sódio e água através de seus efeitos renais, a ocitocina também atua no coração modulando sua função endócrina, pelo menos em relação à secreção de ANP. Foi demonstrada a presença de RNAm para o receptor de ocitocina, assim como a presença do receptor tanto nos ventrículos, como nos átrios (Gutkowska *et al*., 1997; Jankowski *et al*., 1998). Ainda, a perfusão de corações isolados de ratos com OT (10^{-6}M) promove um incremento na concentração de ANP no efluente, efeito completamente bloqueado pela perfusão com um antagonista de receptores de OT, que resultou na redução da concentração de ANP no efluente para valores inferiores aos basais (Gutkowska *et al*., 1997). Reforçando estes dados, Favaretto e colaboradores (1997) demonstraram que a incubação de átrios isolados de ratos com OT (10^{-6}M) resulta no aumento da secreção de ANP, efeito mais uma vez bloqueado por um antagonista de receptores ocitocinérgicos, o qual também manteve a secreção de ANP em níveis inferiores ao controle. Todavia, as concentrações necessárias de OT para influenciar a secreção de ANP são extremamente elevadas se compararmos com a concentração plasmática de OT atingida após a expansão de volume (100ρg/mL ~

10^{-10}M). Associado ao fato da perfusão do coração isolado com antagonista de receptores de OT reduzir a secreção de ANP para valores inferiores aos basais, essas observações sugerem a participação de um sistema ocitocinérgico cardíaco no controle da secreção atrial de ANP (Favaretto *et al*., 1997; Haanwinckel *et al*., 1995; Jankowski *et al*., 1998; Gutkowska *et al*., 2000).

Portanto, evidências experimentais demonstram que a ocitocina pode estar envolvida na resposta homeostática à expansão de volume alterando tanto a ingestão de sódio, como a excreção deste íon e de água e, desta forma, reduzindo o volume de fluido intravascular.

Além disso, a administração subcutânea de OT por cinco dias (0,1 e 1mg/Kg) promove uma redução na pressão arterial de ratos (machos e fêmeas) de aproximadamente 15mmHg, efeito este que dura, pelo menos, mais cinco dias após o término do tratamento (Petersson *et al.*, 1996). Por outro lado, a administração intravenosa de OT (0,1 a 10μg por rato) em animais não anestesiados resulta em uma resposta bifásica, constituída por um incremento na pressão arterial nos primeiros 2-5 minutos (~45mmHg, para 10μg de OT), seguido por um decréscimo, máximo após 30 minutos da administração (~15mmHg), sendo o efeito hipertensor inicial acompanhado por bradicardia. Entretanto, a administração de [Thr^4, Gly^7]OT, um análogo à OT com menor afinidade por receptores de vasopressina, resulta somente em queda da pressão arterial (Petty *et al*., 1985). Portanto, o efeito hipertensor observado

ocorre em função da interação da OT com receptores de vasopressina, estando de acordo com estudos em anéis isolados de artérias, os quais demonstram que a OT em concentrações superiores a 10^{-8}M promove vasoconstrição, sendo este efeito bloqueado por antagonistas de receptores V_{1A}, mas não por antagonistas de receptores ocitocinérgicos (Chen *et al*., 1999; Miller *et al*., 2002). Mais uma vez, podemos nos questionar sobre as concentrações de OT necessárias para se alcançar o efeito observado, mas assim como no coração, nos vasos também ocorre a síntese de OT, que é encontrada em valores entre 2000 e 4000 ρg/mg de proteína (*vs*. ~7000 ρg/mg de proteína no hipotálamo), sendo possível que a concentração local deste peptídeo alcance valores elevados (Jankowski *et al*., 2000). Todavia, Miller e colaboradores (2002) demonstraram não haver efeito vasorrelaxante da OT na faixa de concentração testada (10^{-14} a 10^{-6}M), o que dificulta a interpretação do efeito hipotensor descrito por Petty e colaboradores (1985). Considerando o fato de células endoteliais apresentarem receptores ocitocinérgicos e a interação da OT com estes promover um incremento na síntese de óxido nítrico (Thibonnier *et al*., 1999), não podemos descartar a possibilidade da OT *in situ* promover vasorrelaxamento em leitos arteriais distintos dos testados *in vitro*.

Além de ser capaz de modular a dinâmica do fluido intravascular através de seus efeitos renais e vasculares, a ocitocina também é capaz de influenciar a atividade cardíaca (Favaretto *et al*., 1997; Gutkowska *et*

al., 1997; Mukaddam-Daher *et al*., 2001). Apesar de efeitos cardíacos serem descritos desde a década de 60 (Covino, 1963; Nakano & Fisher, 1963; Katz, 1964), esses trabalhos mais antigos são de difícil interpretação, pois além de empregarem distintos modelos e animais experimentais, utilizaram ocitocina comercial, a qual contém diluentes que podem interferir nos resultados, conforme demonstrado por Rosaeg e colaboradores (1998). Assim sendo, somente discutiremos dados de trabalhos que utilizaram ocitocina pura.

A perfusão de corações isolados de ratos com OT (10^{-6}M) por 25 minutos promove uma redução na freqüência cardíaca (Gutkowska *et al*., 1997). Também em átrios isolados de ratos, a OT em concentrações superiores a 10^{-6}M promove uma redução concentração-dependente na freqüência de batimentos e na força de contração atrial, sendo este efeito independente da ativação de receptores muscarínicos (Favaretto *et al*., 1997). Como essas concentrações de OT estimulam uma maior secreção de ANP, os autores de ambos trabalhos sugerem ser o efeito de OT secundário ao aumento na concentração de ANP. Todavia, em átrios isolados de cães, apesar da perfusão com OT (10^{-6}M) também reduzir a freqüência de batimentos e a força de contração atrial, trata-se de um efeito transiente (80 segundos) e completamente bloqueado por uma antagonista de receptores de OT e por atropina, mas não influenciado por hexametônio e parcialmente bloqueado por L-NAME. Estes dados levaram os autores a sugerir a ação da OT sobre neurônios parassimpáticos pós-

ganglionares, influenciando a secreção de acetilcolina (Mukaddam-Daher *et al*., 2001).

Portanto, diversos autores sugeriram a participação do sistema ocitocinérgico hipotálamo-neurohipofisário na resposta homeostática à hipovolemia/hipotensão e à expansão de volume. Outros demonstraram efeitos cardiovasculares e renais da ocitocina, corroborando a hipótese da participação deste peptídeo na regulação cardiovascular. Todavia, a diferença entre as concentrações de OT necessárias para influenciar os parâmetros cardiovasculares observados e as concentrações plasmáticas de ocitocina, nos faz questionar a existência do papel deste peptídeo na homeostase cardiovascular. Além disso, apesar das especulações, ainda não foi demonstrado se a ocitocina exerce algum efeito sobre a atividade mecânica ventricular, tanto *in vivo*, como *in vitro*.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos cardíacos da ocitocina, colaborando para a compreensão do seu papel fisiológico. Para tanto investigamos os efeitos da ocitocina sobre a contratilidade e freqüência cardíacas em ratos não anestesiados e em corações isolados de ratos, além de verificar seu efeito sobre a pressão arterial de ratos não anestesiados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos pesando aproximadamente 350g, fornecidos pelo CPGM-FIOCRUZ/BA. Estes foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12hs (luzes ligadas das 07:00 as 19:00) e temperatura controlada (23±2ºC), com acesso livre à ração e água.

3.2 REGISTRO DE PRESSÃO VENTRICULAR EM RATOS NÃO ANESTESIADOS.

Para a implantação das cânulas os animais eram anestesiados com a associação quetamina/xilazina (50mg/kg e 5mg/kg respectivamnte, *i.p*.). Através da implantação de uma cânula PE10 (diâmetro interno: 0,28mm, diâmetro externo: 0,61mm), a veia jugular externa era utilizada como acesso venoso para a administração de ocitocina ou solução controle. Para o registro de pressão ventricular, uma cânula PE50 (diâmetro interno: 0,58mm, diâmetro externo: 0,97mm) era introduzida até o ventrículo esquerdo, através da artéria carótida direita. Ambas cânulas eram exteriorizadas na região dorsal, entre o ocipital e as escápulas. Os animais eram colocados em gaiolas individuais e os experimentos realizados no período de 1 a 4 dias após a cirurgia, sempre entre 07:00 e 11:30.

Pelo menos uma hora antes da administração intravenosa de ocitocina (Calbiochem, Cat. 05-23-0151, Lot. B52370; 0,1μg ou 1μg em 100μL, por animal) ou solução controle (100μL de ácido acético 0,05% ou

0,005% respectivamente, diluido em PBS – NaCl 138,9, KCl 2,7, KH_2PO_4 0,9 e Na_2HPO_4 6,4 mM), os animais, em suas gaiolas, eram colocados no local do experimento. Trinta minutos antes da administração, a cânula da veia jugular era conectada à seringa (através de uma extensão de aproximadamente 25cm), e a cânula do ventrículo esquerdo conectada ao transdutor de pressão (MLT0380/D, ADInstruments), tendo início a aquisição e o registro do sinal referente a pressão ventricular esquerda do animal não anestesiado. Após a administração intravenosa, a aquisição do sinal era realizada continuamente por uma hora e dez minutos.

Os dados estão expressos como variação em relação ao período basal. Para a análise dos dados foram considerados os seguintes períodos experimentais, nos quais foram calculados (através do programa Chart®) os valores de frequencia cardíaca e +dP/dt (valor máximo da derivada temporal do sinal de pressão):

- Basal: média dos 5 minutos anteriores à administração;

- 01 minuto: média dos 30 segundos próximos a 1 min da administração;

- 05 minutos:média dos 60 segundos (4,5 a 5,5 minutos);

- 10 minutos: média dos 60 segundos (9,5 a 10,5 minutos);

- 15 minutos: média dos 60 segundos (14,5 a 15,5 minutos);

- 30 minutos: média dos 5 minutos após 30 minutos de administração;

- 45 minutos: média dos 5 minutos após 45 minutos de administração;

- 60 minutos: média dos 5 minutos após 60 minutos de administração.

3.3 CORAÇÃO ISOLADO DE RATO.

Os animais eram heparinizados (500UI *i.p.*) e sacrificados, cerca de 15 minutos após, por deslocamento cervical sob anestesia por éter. O coração era retirado e imerso em solução de Krebs (NaCl 118, KCl 4,7, $MgSO_4$ 1,2, KH_2PO_4 1,2, $NaHCO_3$ 25, $CaCl_2$ 1,8 e glicose 11 mM; aerada com 95% O_2 e 5% CO_2) até sua conexão, via aorta, com o sistema de perfusão, através de uma cânula metálica. Portanto, o coração era perfundido através de uma bomba peristáltica (fluxo contínuo de 9-10 mL/minuto) com solução de Krebs a 37°C e mantido imerso em uma câmara, também com Krebs a 37°C. Logo após, a junção atrioventricular era cortada, permitindo a visualização da valva mitral, através da qual um balão de látex, preenchido com água e conectado ao transdutor de pressão (MLT0380/D, ADInstruments), era introduzido no ventrículo esquerdo. A pressão diastólica final era mantida entre 5 e 10 mmHg. Uma vez montado o sistema tinha início a aquisição do sinal de pressão intraventricular por um período de estabilização de 20 a 30 minutos. Após a estabilização, a solução de Krebs era substituída pela solução controle (ácido acético em Krebs, na concentração referente à solução de ocitocina a ser testada; ac. acético 0,05% para OT 10^{-5}M a ac. acético 0,0000005% para OT^{-10}M), a qual era perfundida por 5 minutos e trocada pela solução de ocitocina (Calbiochem, Cat. 05-23-0151, Lot. B52370) para mais 5 minutos de perfusão. Após estes últimos 5 minutos, o coração era novamente perfundido com Krebs por 20 minutos e, caso permanecesse com pressão desenvolvida mínima de 80mmHg, uma nova concentração

de OT era testada. Em um mesmo coração eram testadas no máximo três concentrações diferentes, de forma aleatória.

Para a análise, foram considerados como valores basais os obtidos no último minuto de perfusão da solução controle, aos quais foram comparados os valores após a estabilização do efeito da OT (aproximadamente 2 minutos após o início da perfusão). Os dados analisados a partir do registro de pressão foram: freqüência cardíaca, pressão desenvolvida, pressão sistólica, pressão diastólica e +dP/dt (valor máximo da derivada de primeira ordem do sinal de pressão), através do programa Chart®.

3.4 REGISTRO DE PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS NÃO ANESTESIADOS.

De maneira similar ao procedimento para registro da pressão ventricular, para a implantação das cânulas os animais eram anestesiados com a associação quetamina/xilazina (50mg/kg e 5mg/kg respectivamnte, *i.p.*). Através da implantação de uma cânula PE10 (diâmetro interno: 0,28mm, diâmetro externo: 0,61mm), a veia femoral esquerda era utilizada como acesso venoso para a administração de ocitocina ou solução controle. Para o registro de pressão arterial, uma cânula PE50 (diâmetro interno: 0,58mm, diâmetro externo: 0,97mm) era introduzida na artéria femoral esquerda. Ambas cânulas eram exteriorizadas na região dorsal, entre o ocipital e as escápulas. Os animais eram colocados em

gaiolas individuais e os experimentos realizados 24 horas após a cirurgia, sempre entre 07:00 e 11:30.

Pelo menos uma hora antes da administração intravenosa de ocitocina (Calbiochem, Cat. 05-23-0151, Lot. B52370; 1μg em 100μL, por animal) ou solução controle (100μL de ácido acético 0,05%, diluído em PBS), os animais, em suas gaiolas, eram colocados no local do experimento. Vinte minutos antes da administração, a cânula da veia femoral esquerda era conectada à seringa (através de uma extensão de aproximadamente 25cm), e a cânula arterial conectada ao transdutor de pressão (MLT0380/D, ADInstruments), tendo início a aquisição e o registro do sinal referente a pressão arterial do animal não anestesiado. Após a administração intravenosa, a aquisição do sinal era realizada continuamente por 35 minutos.

Os dados estão expressos como variação em relação ao período basal. Para a análise dos dados foram considerados os seguintes períodos experimentais, nos quais foram obtidos os valores das pressões diastólica e sistólica, e calculados (através do programa Chart®) os valores de freqüência cardíaca e pressão arterial média:

- Basal: média dos 5 minutos anteriores à administração;

- 01 minuto: média de 30 segundos próximos a 1 min. da administração;

- 05 minutos: média dos 60 segundos (4,5 a 5,5 minutos);

- 10 minutos: média dos 60 segundos (9,5 a 10,5 minutos);

- 15 minutos: média dos 60 segundos (14,5 a 15,5 minutos);

- 30 minutos: média dos 5 minutos após 30 minutos de administração.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a comparação entre as médias dos grupos nos estudos de pressão ventricular e arterial em ratos não anestesiados, foi utilizada a ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni. Já para os dados de coração isolado foi utilizado o teste *t* pareado para comparação entre as médias antes e após a perfusão com ocitocina. Os dados estão expressos como média ± erro padrão da média. A diferença entre as médias foi considerada significativa quando $P<0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DE OCITOCINA SOBRE FUNÇÃO CARDÍACA DE RATOS NÃO ANESTESIADOS.

A figura 03 mostra os resultados de um experimento típico, onde podemos observar que a administração intravenosa de 1μg de ocitocina promove uma rápida redução (observar o quadro ampliado) tanto na freqüência, como na contratilidade cardíacas, o que não ocorre após a administração do veículo (Fig. 03B). A administração intravenosa de 1μg de OT (n=6) promoveu uma redução na contratilidade cardíaca, expressa através da diminuição do valor máximo da derivada de primeira ordem do sinal de pressão ventricular (+dP/dt), de aproximadamente 15% no primeiro minuto após a administração (-1650 ± 605 mmHg/seg; $P<0,05$) e 12% no quinto minuto (-1376 ± 529 mmHg; $P<0,05$), permanecendo inferior ao grupo controle (n=8) até 15 minutos após a administração do peptídeo (Fig. 04). De forma semelhante, a administração de 1μg de OT também promoveu uma redução aguda na freqüência cardíaca de aproximadamente 20% no primeiro (-69 ± 14 bpm; $P<0,001$) e 13% no quinto minuto (-48 ± 13; $P<0,05$), não diferindo nos demais períodos (Fig. 03 e 05). Por outro lado, o tratamento com 0,1μg de OT (n=4) não promoveu alteração significativamente diferente do grupo controle (Fig. 04 e 05). Os valores basais de +dP/dt (11625 ± 565, 11689 ± 1169 e 11963 ± 641 mmHg/seg.; grupos controle, 1μg e 0,1μg de OT, respectivamente) e freqüência cardíaca (369 ± 20, 365 ± 16 e 368 ± 39

bpm; grupos controle, 1μg e 0,1μg de OT, respectivamente) não diferiram entre os grupos experimentais.

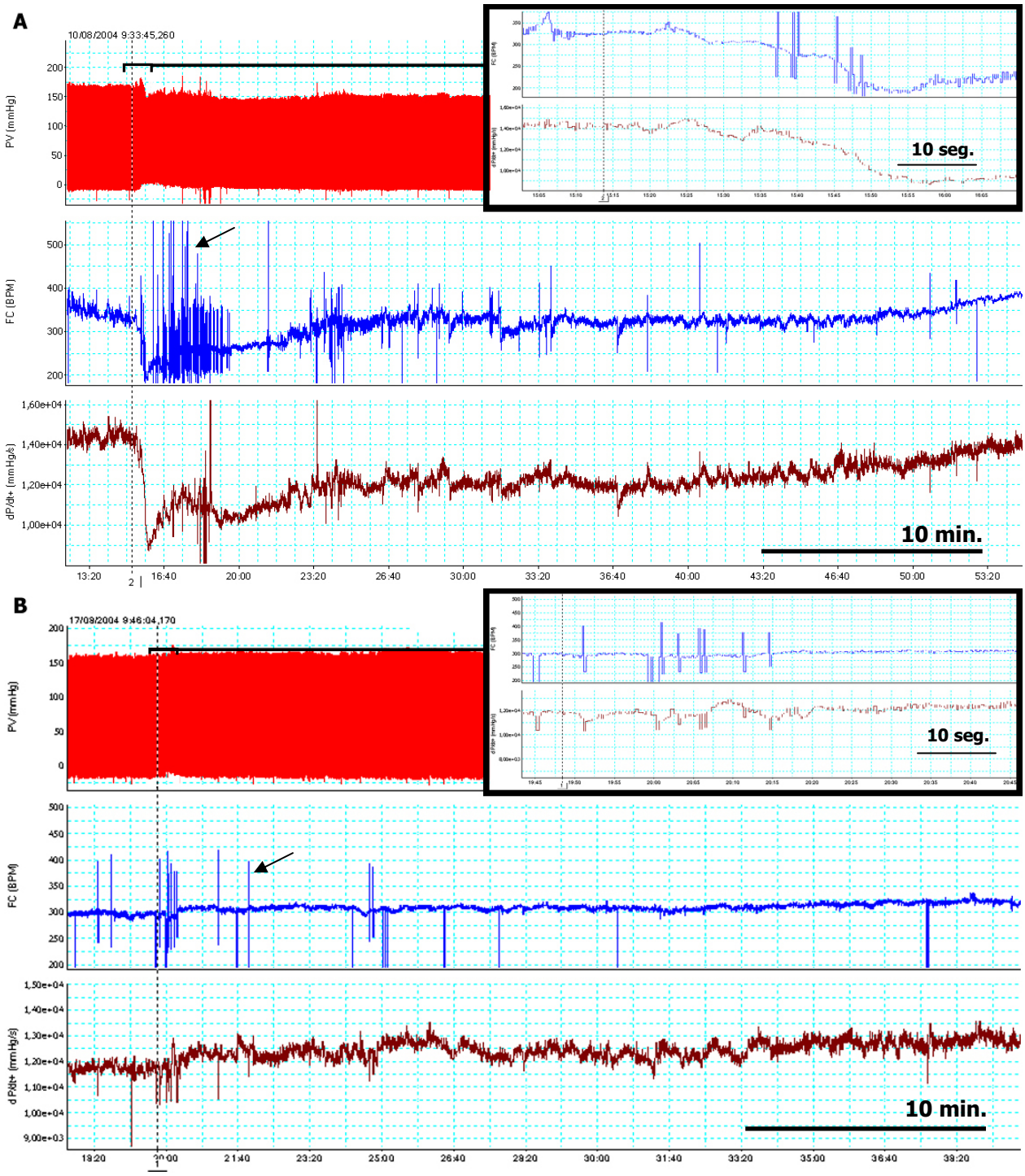

Figura 03: Efeito agudo da administração intravenosa (*i.v.*) de 1μg de ocitocina (OT) em ratos não anestesiados. Exemplo de registro de pressão ventricular (vermelho), freqüência cardíaca (azul) e +dP/dt (magenta) após a administração de 1μg de OT (A) ou solução controle (B). A linha pontilhada vertical representa o instante da administração. As variações transitórias de grande amplitude (setas) são interferências.

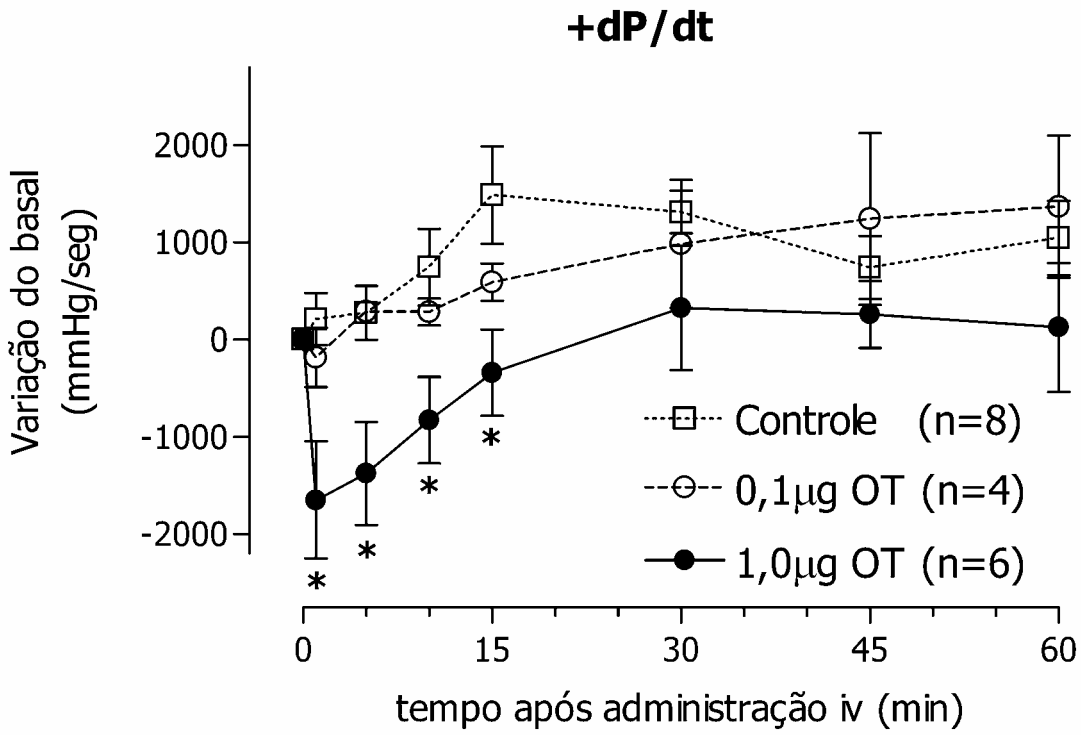

Figura 04: Efeito da administração intravenosa de ocitocina (OT) sobre a contratilidade ventricular esquerda de ratos não anestesiados. Observar a redução da contratilidade no primeiro minuto após a administração de 1μg de OT. Os símbolos representam as médias (variação em relação ao período basal, "0";■) e as barras verticais o erro padrão da média, nos diversos intervalos de tempo. *P<0,05.

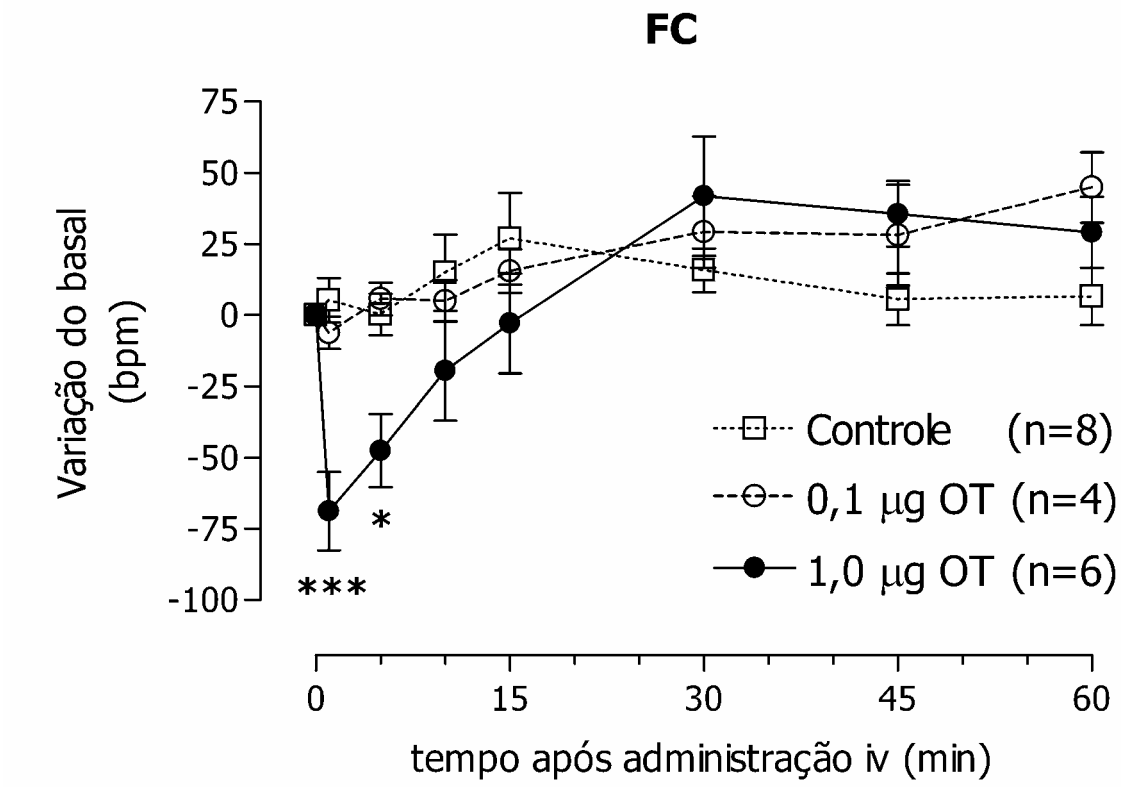

Figura 05: Efeito da administração intravenosa de ocitocina (OT) sobre a freqüência cardíaca (FC) de ratos não anestesiados. Notar a rápida queda da freqüência cardíaca e seu retorno a valores controle após 5 minutos da administração de 1μg de OT. Os símbolos representam as médias (variação em relação ao período basal, "0"; ■) e as barras verticais o erro padrão da média, nos diversos intervalos de tempo. *P<0,05, ***P<0,001.

4.2 EFEITO DA OCITOCINA NO CORAÇÃO ISOLADO DE RATO.

Na figura 06 observamos um registro de pressão ventricular esquerda representativo dos experimentos de perfusão de corações isolados com OT a 10^{-6}M. Podemos notar a rápida redução na pressão desenvolvida e o retorno a valores próximos ao controle após a lavagem. A perfusão de corações isolados com OT resultou em um efeito inotrópico negativo dose-dependente. A solução de OT 10^{-5}M (n=5) promoveu uma redução de aproximadamente 60% na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (33 ± 8 *vs*. 78 ± 6 mmHg, OT *vs*. Controle; P<0,01), enquanto a solução de OT 10^{-6}M (n=6) reduziu cerca de 25% (85 ± 5 *vs*. 112 ± 5 mmHg; P<0,01) e a de OT 10^{-7}M (n=7) pouco mais de 10% (95 ± 6 *vs*. 108 ± 6 mmHg; P<0,05). Entretanto, a OT nas concentrações de 10^{-8} (n=6), 10^{-9} (n=5) e 10^{-10}M (n=5) não promoveu alteração estatisticamente significativa (91 ± 5 *vs*. 98 ± 6, 103 ± 9 *vs*. 104 ± 7 e 101 ± 5 *vs*. 101 ± 5 mmHg, respectivamente) (Fig. 07 e 11). Por outro lado, a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) somente foi alterada significativamente pela perfusão da maior concentração de OT (10^{-5}M), que a elevou de 7,4 ± 0,9 para 9,1 ± 1,1 mmHg (P<0,05), permanecendo inalterada pela OT nas demais concentrações (Fig. 08). Ainda, a perfusão com OT nas concentrações 10^{-5} e 10^{-6}M resultou em redução significativa da dP/dt máxima (+dP/dt) em aproximadamente 45% (1435 ± 273 *vs*. 2511 ± 172 mmHg/seg.; P<0,01) e 20% (3003 ± 215 *vs*. 3695 ± 265 mmHg/seg.; P<0,01), respectivamente, não sendo alterada significativamente nas demais concentrações (3283 ± 154 *vs*.

3616 ± 242, 3408 ± 177 *vs*. 3657 ± 242, 3354 ± 223 *vs*. 3420 ± 283 e 3342 ± 297 *vs*. 3316 ± 365 mmHg/seg., OT *vs*. Controle, para OT 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} e 10^{-10}M respectivamente) (Fig. 09 e 11).

Assim como *in vivo*, *in vitro* a OT também apresentou efeito cronotrópico negativo, mas somente na concentração de 10^{-5}M, promovendo uma redução na freqüência cardíaca de aproximadamente 15% (205 ± 16 *vs*. 238 ± 6 bpm; P<0,05). Nas demais concentrações a OT não alterou significativamente a freqüência cardíaca do período controle (246 ± 11 *vs*. 249 ± 12, 251 ± 7 *vs*. 254 ± 9, 272 ± 11 *vs*. 279 ± 13, 272 ± 6 *vs*. 276 ± 8 e 269 ± 7 *vs*. 273 ± 6 bpm, OT *vs*. Controle, para OT 10^{-6} a 10^{-10}M, respectivamente) (Fig. 10 e 11).

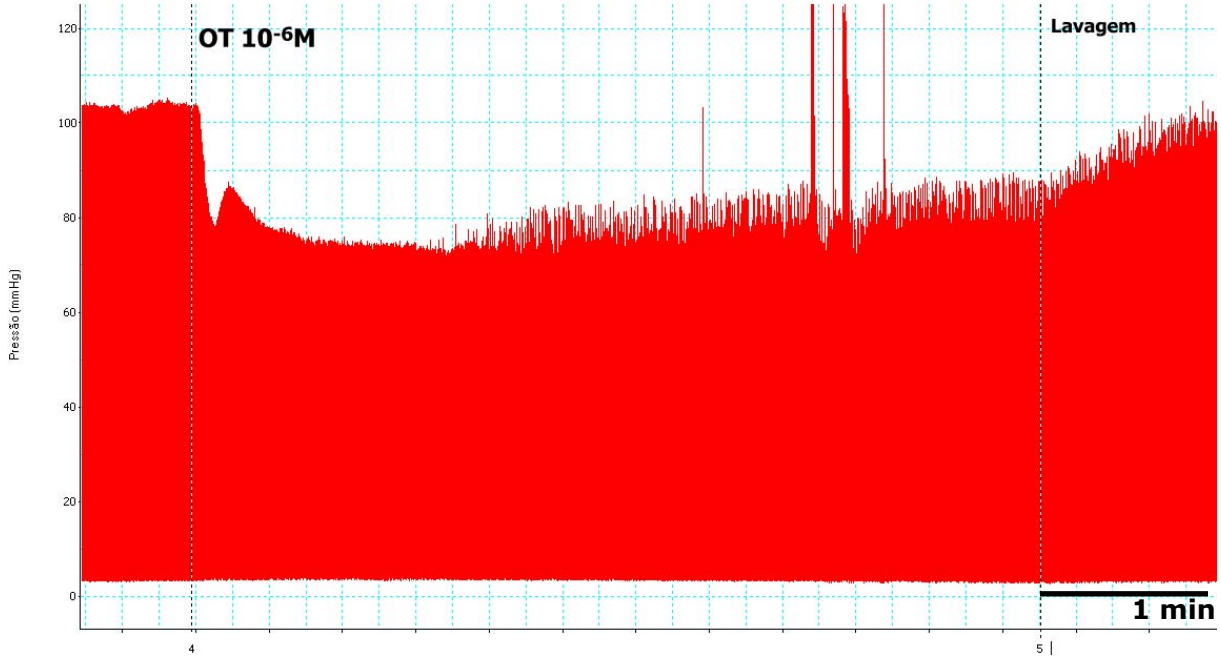

Figura 06: Exemplo de registro de pressão ventricular esquerda de um coração isolado de rato. Notar o efeito inotrópico negativo resultante da perfusão de OT (10^{-6}M).

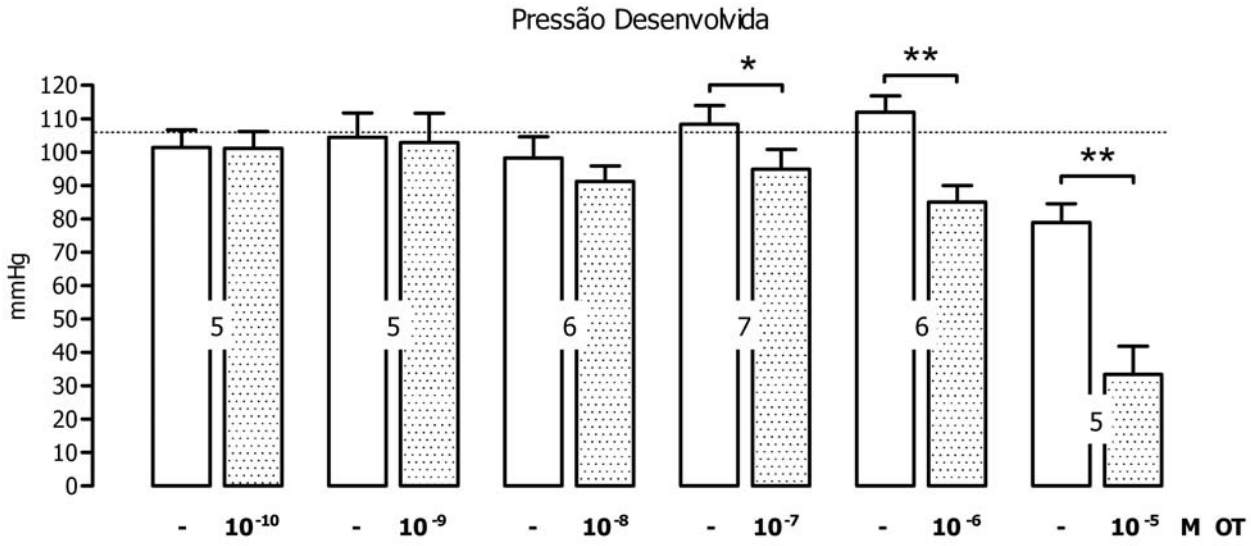

Figura 07: Efeito da perfusão, por 5 minutos, com diferentes concentrações de OT sobre a pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo de corações isolados de ratos. Colunas brancas correspondem ao período controle (solução de Krebs acrescida de ácido acético) e as pontilhadas ao período de perfusão com ocitocina (OT). O número sobreposto às colunas representa o número de corações utilizados. As colunas representam as médias e as barras o erro padrão da média. A linha pontilhada horizontal representa o valor médio de pressão desenvolvida por corações isolados de ratos, em condições basais (solução de Krebs; logo após o período de estabilização). Notar que a solução controle só influencia o inotropismo cardíaco na maior concentração. *P<0,05 e **P<0,01.

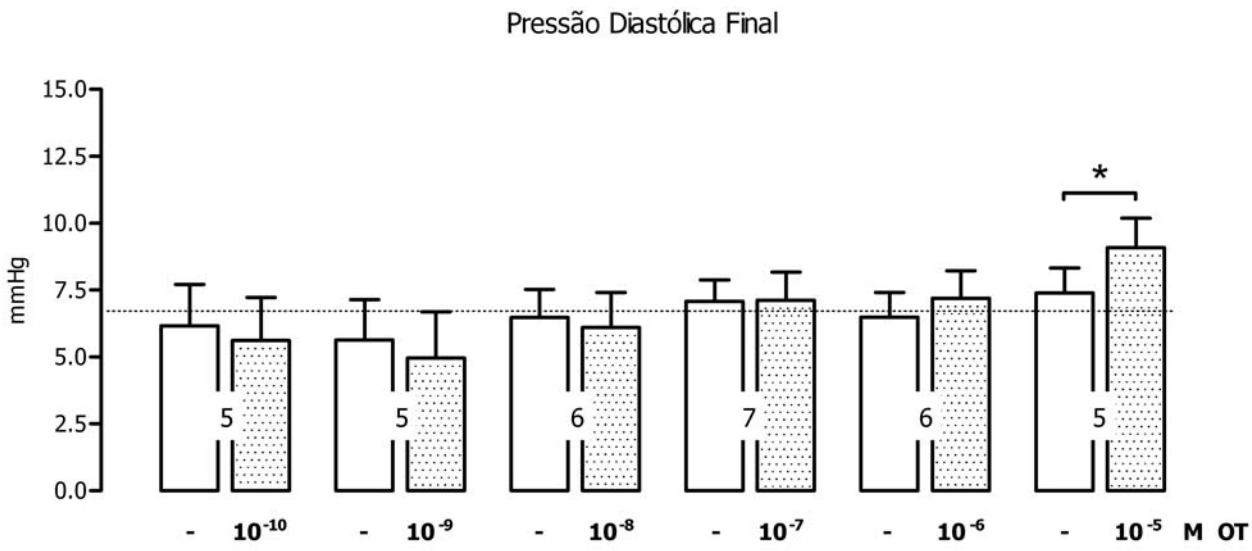

Figura 08: Efeito da perfusão com diferentes concentrações de OT sobre a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo de corações isolados de ratos. Colunas brancas correspondem ao período controle e as pontilhadas ao período de perfusão com ocitocina (OT). O número sobreposto às colunas representa o número de corações utilizados. As colunas representam as médias, e as barras o erro padrão da média. A linha pontilhada horizontal representa o valor médio de pressão diastólica de corações isolados de ratos, em condições basais. *P<0,05.

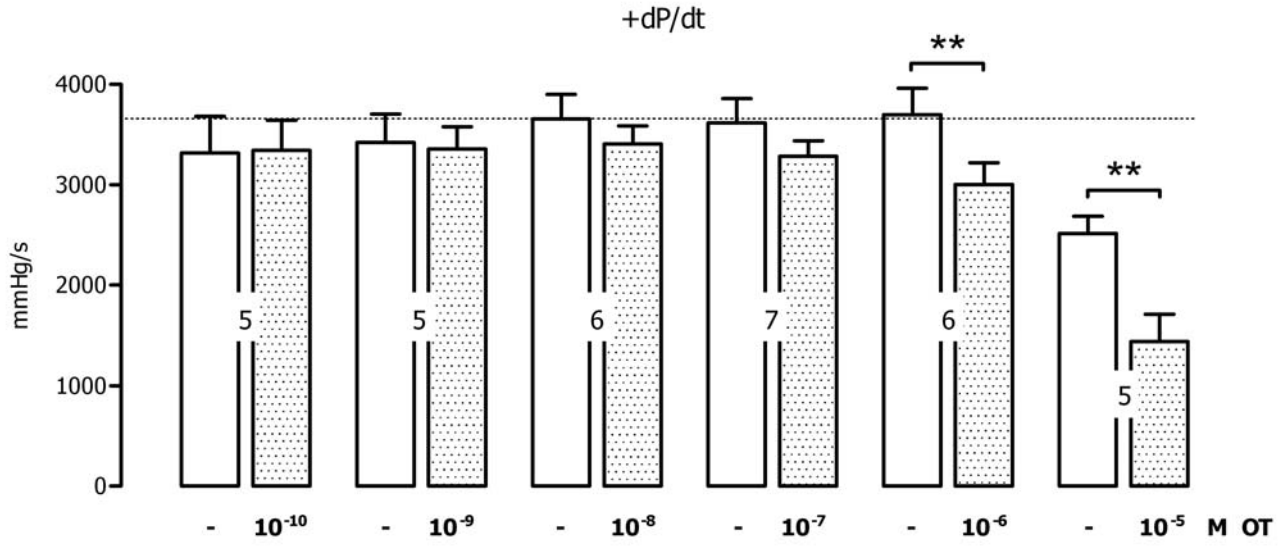

Figura 09: Efeito da perfusão com diferentes concentrações de OT sobre o valor máximo da derivada de 1ª. ordem do sinal de pressão (+dP/dt) ventricular esquerda de corações isolados de ratos. Colunas brancas correspondem ao período controle e as pontilhadas ao período de perfusão com ocitocina (OT). O número sobreposto às colunas representa o número de corações utilizados. As colunas representam as médias e as barras o erro padrão da média. A linha pontilhada horizontal representa o valor médio de +dP/dt de corações isolados de ratos, em condições basais.**P<0,01.

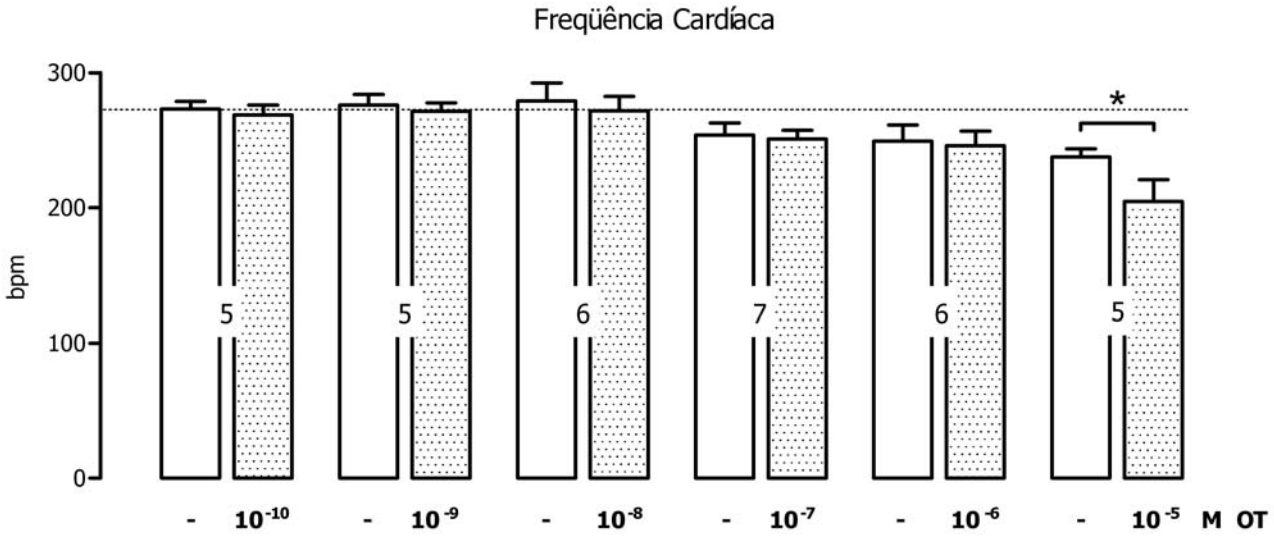

Figura 10: Efeito da perfusão com diferentes concentrações de OT sobre a freqüência cardíaca de corações isolados de ratos. Colunas brancas correspondem ao período controle e as pontilhadas ao período de perfusão com ocitocina (OT). O número sobreposto às colunas representa o número de corações utilizados. As colunas representam as médias e as barras o erro padrão da média. A linha pontilhada horizontal representa o valor médio da freqüência cardíaca de corações isolados de ratos, em condições basais. *P<0,05.

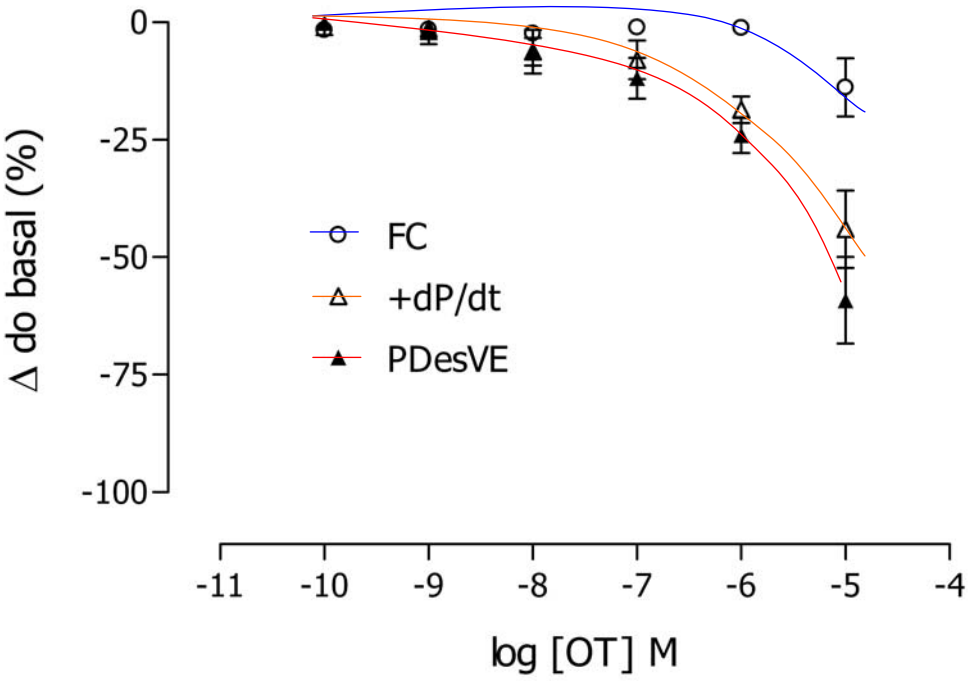

Figura 11: Efeito da perfusão com diferentes concentrações de OT sobre a pressão desenvolvida, dP/dt máxima (+dP/dt) e freqüência cardíaca de corações isolados de ratos. Os símbolos representam as médias do efeito da OT sobre os 3 parâmetros, representado como variação do período controle (basal). As barras verticais representam o erro padrão da média.

4.3 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DE OCITOCINA SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL DE RATOS NÃO ANESTESIADOS.

A figura 12 mostra os resultados de um experimento típico de registro de pressão arterial, no qual podemos observar que a administração intravenosa de 1μg de ocitocina (OT) promove um rápido incremento na pressão arterial, acompanhado por uma redução da freqüência cardíaca (Fig.12A), o que não ocorre após a administração do veículo (Fig. 12B).

De forma semelhante ao ocorrido no experimento do item 4.1, a administração intravenosa de 1μg de OT (n=6) promoveu uma redução na freqüência cardíaca de aproximadamente 20% (-67 ± 16 bpm; P<0,001) em relação ao período basal no primeiro minuto, permanecendo 13% inferior ao valor basal 5 minutos após sua administração (-45 ± 15 bpm; P<0,05) e retornando a valor semelhante ao do grupo controle (n=6) aos 10 minutos, assim permanecendo até o final do experimento (Fig. 13).

A administração intravenosa de 1μg de OT promoveu um incremento agudo na pressão arterial média de cerca de 22% em relação ao período basal (23 ± 3 mmHg, no minuto 1; P<0,001), que retornou a valor semelhante ao do grupo controle aos 5 minutos, assim permanecendo até 30 minutos após a administração (Fig. 14). Os valores basais de pressão arterial média não diferiram entre os grupos (106 ± 2 e 106 ±3 mmHg, controle e 1μg de OT, respectivamente).

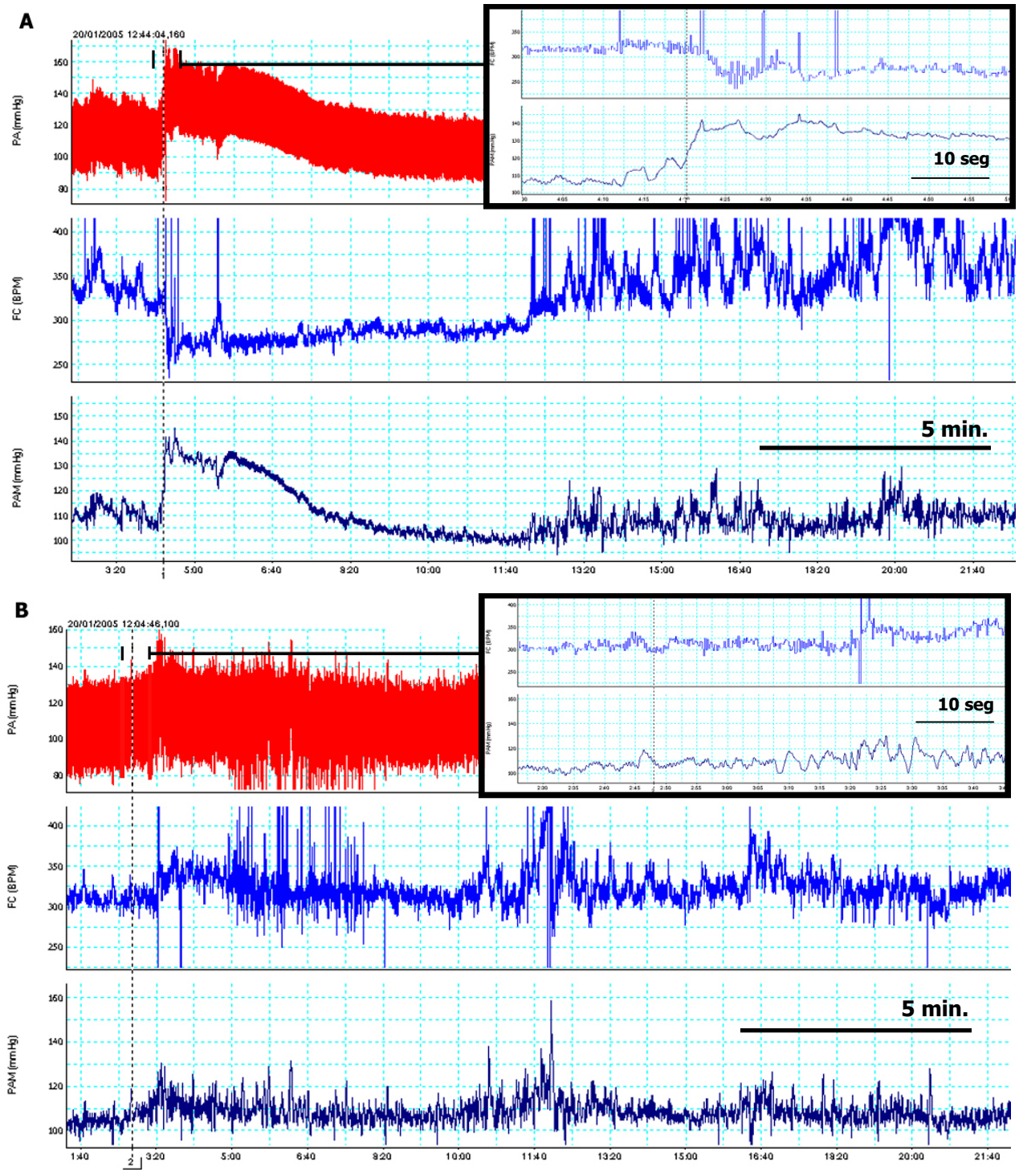

Figura 12: Efeito agudo da administração intravenosa (*i.v.*) de 1μg de ocitocina (OT). Exemplo de registro de pressão arterial (vermelho), freqüência cardíaca (azul claro) e pressão arterial média (azul escuro) após a administração de 1μg de OT (A) ou solução controle (B). A linha pontilhada vertical representa o instante da administração.

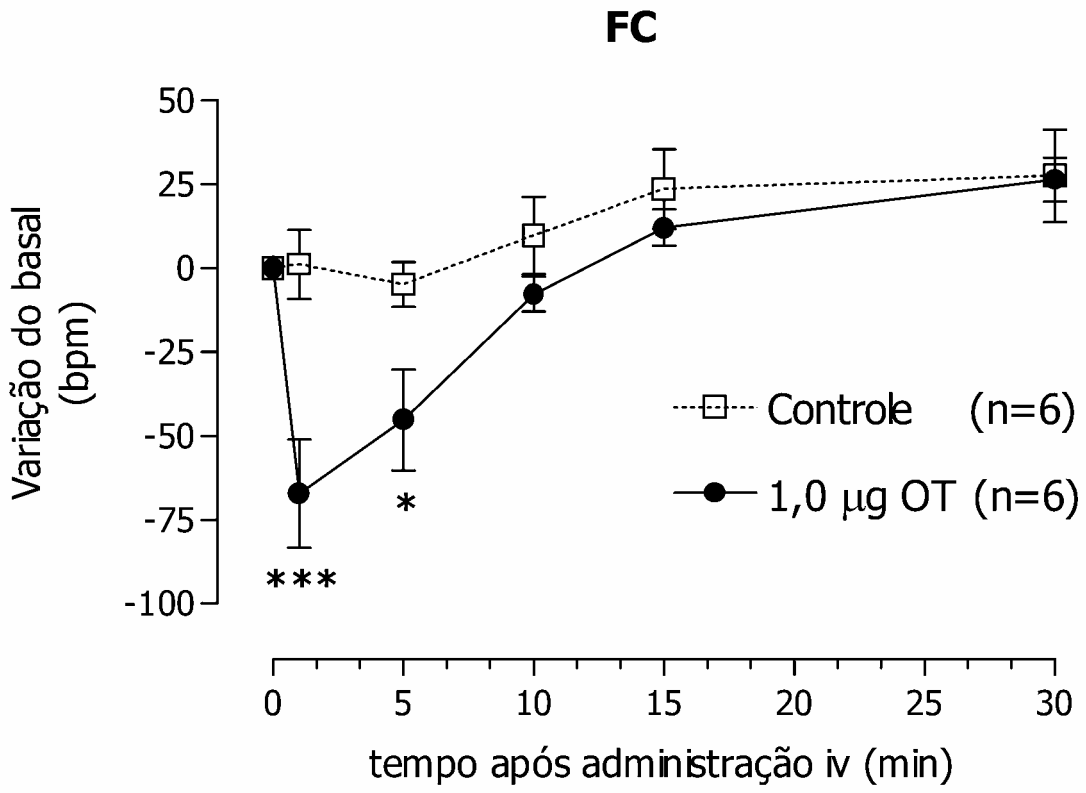

Figura 13: Efeito da administração intravenosa de ocitocina (OT) sobre a freqüência cardíaca (FC) de ratos não anestesiados. Os símbolos representam as médias (variação em relação ao período basal, "0"; ■) e as barras verticais o erro padrão da média, nos diversos intervalos de tempo. *P<0,05 e ***P<0,001.

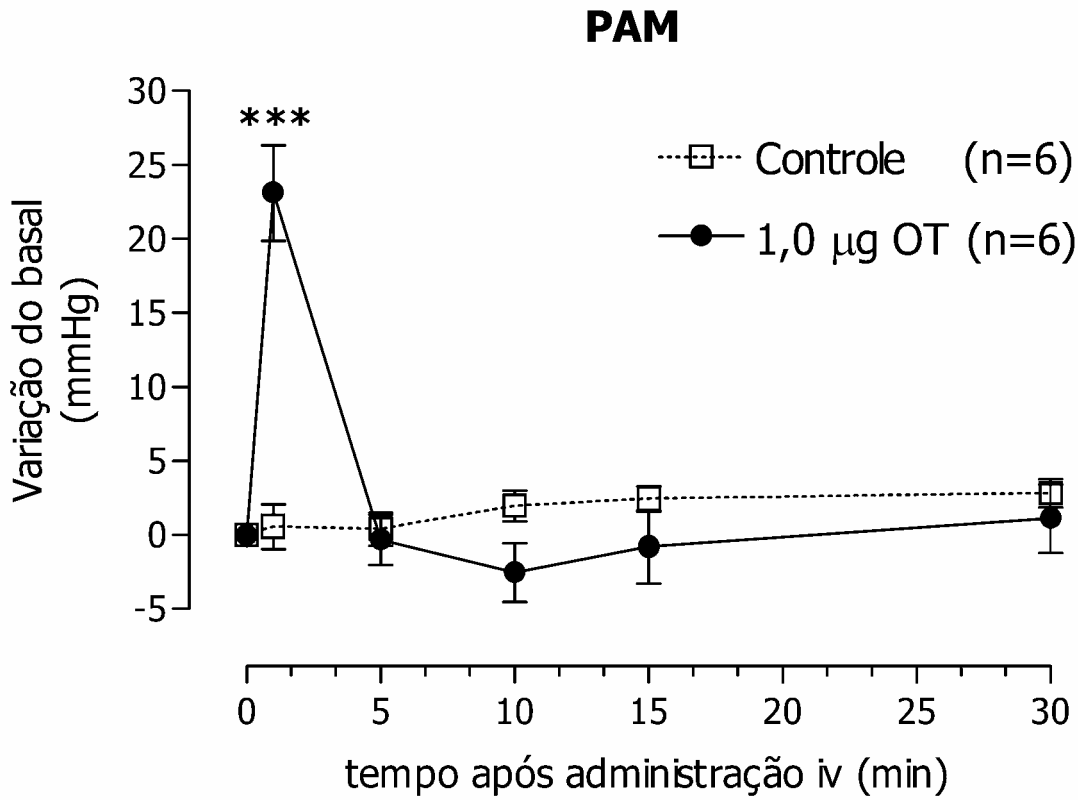

Figura 14: Efeito da administração intravenosa de ocitocina (OT) sobre a pressão arterial média de ratos não anestesiados. Os símbolos representam as médias (variação em relação ao período basal, "0"; ■) e as barras verticais o erro padrão da média, nos diversos intervalos de tempo. ***P<0,001.

5 DISCUSSÃO

Apesar de ser amplamente conhecida por seus efeitos sobre o sistema reprodutor (Ivell & Russel, 1996; Samson, 2004), nas últimas duas décadas diversos pesquisadores propuseram ser a ocitocina um componente importante para a homeostase cardiovascular e hidroeletrolítica (detalhes na introdução). Alguns autores defendem a participação do sistema ocitocinérgico hipotalâmico-neurohipofisário na resposta homeostática à hemorragia e hipotensão (Fenelon *et al*., 1993; Schiltz *et al*., 1997), sendo a ocitocina capaz de estimular a secreção de renina (Hwang *et al*., 2000; 2001; Loichot *et al*., 1997). Por outro lado, outros defendem sua participação na resposta desencadeada pela expansão de volume (Antunes-Rodrigues *et al*., 2004), modulando a secreção de ANP (Gutkowska *et al*., 1997; Haanwinckel *et al*., 1995), inibindo o apetite por sódio (Stricker & Verbalis, 1987), estimulando a excreção de sódio (Haanwinckel *et al*., 1995; Verbalis *et al*., 1991) e influenciando a atividade cardíaca (Favaretto *et al*., 1997; Gutkowska *et al*., 2000; Mukaddam-Daher *et al*., 2001). Entretanto, para a elucidação precisa dos mecanismos através dos quais a secreção neurohipofisária de ocitocina (OT) e o incremento na concentração plasmática deste peptídeo participaria do fenômeno homeostático nas situações supracitadas, ainda são necessárias diversas respostas, como por exemplo, qual seria a influencia da OT sobre a função ventricular esquerda.

Favaretto e colaboradores (1997) demonstraram que a ocitocina em concentrações superiores a 10^{-6}M reduz a freqüência de batimentos espontâneos e a força de contração de átrios isolados de ratos, atribuindo

estes efeitos ao ANP, já que nestas concentrações, a OT estimula a secreção de ANP, o qual é capaz de reduzir a freqüência e a força de contração de átrios isolados. Todavia, seria sensato, confirmar esta hipótese utilizando um antagonista de receptores de peptídeos natriuréticos, o que não ocorreu até hoje. Ainda, atribuindo à ocitocina plasmática um papel fisiológico na resposta homeostática à expansão de volume, estes autores especularam sobre o papel deste peptídeo no coração *in situ*, sugerindo uma maior sensibilidade do órgão, nesta condição, à OT, pois, a expansão de volume promove um aumento na concentração plasmática de OT para cerca de 100ρg/mL ($\sim 10^{-10}$M) (Haanwinckel *et al*., 1995), valor muito inferior ao necessário para influenciar a atividade atrial *in vitro*.

Portanto, a princípio, os nossos resultados apoiariam a hipótese sugerida por Favaretto e colaboradores (1997), já que a administração intravenosa de 1μg de OT promove tanto um efeito inotrópico negativo (Fig. 04), como cronotrópico negativo (Fig. 05). Entretanto, considerando o volume plasmático de ratos em torno de 60mL/Kg (Brizzee & Walker, 1990 *apud* Mueller *et al*., 2003), a concentração plasmática máxima de OT após a administração intravenosa de 1μg a ratos com cerca de 350g, seria aproximadamente 50ng/mL ($\sim 5.10^{-8}$M), muito superior aos valores fisiológicos (10^{-10}M). Ainda, a administração de 0,1μg, que levaria a uma concentração plasmática máxima de aproximadamente 5ng/mL ($\sim 5.10^{-9}$M) não altera a atividade cardíaca. Assim sendo, para confirmar se os

efeitos da OT observados nos animais não anestesiados resultam de uma ação direta sobre o coração e, a faixa de concentração na qual estes ocorrem, optamos por testar diferentes concentrações deste peptídeo em corações isolados de ratos.

Assim como *in situ*, demonstramos pela primeira vez, que no coração isolado de ratos a perfusão com ocitocina também promove uma redução na contratilidade cardíaca, além do efeito cronotrópico negativo já descrito (Petty *et al*., 1985; Gutkowska *et al*., 1997). Em concentrações superiores a 10^{-8}M, a ocitocina reduz significativamente a pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo, resultando em uma redução de aproximadamente 60%, na concentração máxima testada (10^{-5}M) (Fig. 07 e 11). Este efeito está relacionado a um déficit contrátil, já que a perfusão com 10^{-6} e 10^{-5}M de OT promoveu uma redução na +dP/dt (Fig. 09) Ainda, a pressão diastólica final somente se alterou na perfusão com a maior concentração, sofrendo apenas uma discreta elevação (Fig. 08). Conforme descrito por Gutkowska e colaboradores (1997), a perfusão de corações isolados de ratos com OT promove um efeito cronotrópico negativo (Fig. 10). Todavia, naquele trabalho foi testada apenas uma concentração (10^{-6}M), e o efeito sobre a freqüência cardíaca foi observado somente após 25 minutos de perfusão. No presente trabalho, a ocitocina somente foi capaz de promover um efeito cronotrópico negativo na concentração de 10^{-5}M, não alterando significativamente a freqüência cardíaca nas demais concentrações testadas. Uma possível explicação para esta diferença pode ser o tempo de perfusão, que no presente

trabalho foi mais curto (5 minutos). Todavia, se assumirmos isso como o fator determinante da diferença ocorrida entre aquele trabalho e o presente, é plausível admitirmos que o efeito cronotrópico negativo resultante da perfusão prolongada com ocitocina seja decorrente do seu efeito sobre a secreção de ANP. Ao longo de 25 minutos de perfusão, a concentração de ANP no banho, no qual está imerso o coração, se eleva, atingindo um valor suficiente para influenciar a atividade das células do nodo sinoatrial, o que não ocorre com nosso protocolo.

Apesar de nossos experimentos *in vivo* e *in vitro* não apoiarem a hipótese da ocitocina em concentrações plasmáticas fisiológicas influenciar a atividade cardíaca, os dados obtidos a partir dos experimentos com os animais não anestesiados e em corações isolados reforçam a hipótese que a ocitocina exerça efeito inotrópico negativo, quer seja por uma ação direta, quer seja secundário a secreção de ANP. Todavia, neste ponto nos deparamos com um resultado intrigante: se no coração isolado a perfusão com OT apresenta efeito inotrópico negativo em concentração superiores a 10^{-8}M, mas só afeta o cronotropismo quando a concentração atinge 10^{-5}M, como no animal não anestesiado a administração de 1μg (concentração plasmática máxima de ~5.10^{-8}M) promove ambos os efeitos? Para responder a esta pergunta, levantamos duas hipóteses: ou o efeito cronotrópico negativo é dependente da secreção e recirculação do ANP, não o sendo o efeito inotrópico, o que justificaria ambos os efeitos ocorrerem no animal não anestesiado; ou, pelo menos o efeito

cronotrópico negativo, observado nos animais não anestesiados, é secundário a algum outro efeito da OT.

Destarte, Petty e colaboradores (1985) demonstraram que a administração intravenosa de 10 μg de ocitocina em ratos, resulta em um efeito bifásico sobre a pressão arterial, consistindo em um efeito hipertensor agudo (incremento de ~45mmHg no primeiro minuto, retornando a valores basais após 10 minutos da administração) seguido por uma redução discreta na pressão arterial. Por outro lado, a administração de 10μg de [Thr^4, Gly^7]OT, um análogo com menor afinidade por receptores de vasopressina, não resulta no efeito hipertensor inicial. Reforçando estes dados, a incubação de anéis de diferentes leitos arteriais com OT em concentrações superiores a 10^{-8}M resulta em vasoconstrição, sendo este efeito bloqueado por antagonistas de receptores V_{1a}, mas não por antagonistas de receptores de OT (Chen *et al*., 1999; Miller *et al*., 2002). Assim sendo, é possível que o efeito cronotrópico negativo resultante da administração intravenosa de OT e, pelo menos em parte, o efeito inotrópico negativo por nós descrito, seja resultante da interação da OT com receptores vasculares V_{1a}, causando vasoconstricção e aumento da pressão arterial média, resultando na ativação do barorreceptores arteriais e, conseqüentemente, inibição de neurônios simpáticos. Entretanto, para que esta hipótese fosse plausível, precisávamos verificar se a administração intravenosa de 1μg de OT promove alguma alteração aguda na pressão arterial.

Para testar esta hipótese utilizamos ratos não anestesiados e realizamos o registro de pressão arterial, de forma invasiva através da artéria femoral. De forma semelhante à ocorrida no experimento de registro de pressão ventricular em ratos não anestesiados, a administração intravenosa de 1μg de OT promoveu uma redução na freqüência cardíaca de 67 ± 16 bpm no primeiro minuto (nos experimentos anteriores esta redução média foi de 69 ± 14 bpm), permanecendo, até 5 minutos, com valores inferiores ao valor basal e retornando a valores semelhantes ao grupo controle 10 minutos após a administração, comprovando assim, a reprodutibilidade dos dados em ambos os grupos experimentos (Fig. 5 e 13). Além disso, a OT promoveu um incremento na pressão arterial média de aproximadamente 23 mmHg no primeiro minuto, retornando a valores basais já no 5° minuto após a administração (Fig. 14).

À primeira vista, portanto, poderíamos admitir que os efeitos cardíacos observados após a administração de 1μg de OT em ratos não anestesiados fossem resultantes da ativação de barorreceptores, não se tratando de um efeito cardíaco direto da ocitocina. Todavia, o aumento de cerca de 23mmHg na pressão arterial, decorrente da administração de 1μg de OT, foi acompanhado por uma redução na freqüência cardíaca de quase 70 bpm, sendo este ganho superior ao esperado para o barorreflexo (~2bpm/mmHg). Isto está de acordo com os dados de Russ e Walker (1994), que demonstraram que a infusão de ocitocina elevando sua

concentração plasmática para cerca de 100ρg/mL, apesar de não alterar os parâmetros hemodinâmicos basais, aumenta a resposta bradicárdica a um estímulo hipertensor, obtido pela administração de metoxamina.

Embora a resposta reflexa ao aumento de pressão não possa explicar a intensa diminuição do inotropismo e cronotropismo cardíacos, é difícil pensarmos serem os efeitos inotrópico e cronotrópico negativos resultantes de uma ação direta da OT sobre cardiomiócitos ventriculares e sinusais, respectivamente. Afinal, o receptor de OT é acoplado à proteína G_q e, conseqüentemente, sua ativação resulta na estimulação da fosfolipase C, geração de inositol-trifosfato (IP_3) e diacilglicerol, resultando na "liberação" do íon cálcio de reservas intracelulares e aumento na sua concentração citoplasmática (Gimpl & Fahrenholz, 2001). Todavia, é possível que a ativação de receptores ocitocinérgicos nas células endoteliais cardíacas, resulte na ativação da enzima NOS e aumento na síntese de óxido nítrico (NO) que, por sua vez, pode estimular a enzima guanilato ciclase presente em cardiomiócitos, resultando na maior síntese de GMPc nestas células. Realmente, um incremento tanto nos níveis de NO, como de GMPc resulta em efeito inotrópico negativo, que pode ser explicado com base na ativação de proteinaquinases dependentes de GMPc, as quais inibem a síntese de ATP e fecham canais de cálcio dependentes de voltagem (Brutsaert, 2003).

Outra possibilidade seria considerarmos os efeitos cardíacos do ANP, que ao interagir com seus receptores promove a ativação de guanilatociclases. A administração intravenosa de 1μg de ocitocina

promove um aumento na concentração plasmática do ANP, de valores basais inferiores a 50ρg/mL, para valores próximos de 200ρg/mL, 5 minutos após sua administração (Haanwinckel *et al*., 1995). Todavia, a concentração de OT mínima necessária para se observar um incremento na secreção de ANP é de 10^{-6}M (~1μg/mL) (Favaretto *et al*., 1997; Gutkowska *et al*., 1997), valor muito superior ao atingido pela administração intravenosa de 1μg de OT (~5.10^{-8}M). Assim sendo, é possível que o incremento na concentração plasmática de ANP subseqüente a administração de 1μg de OT seja secundário ao seu efeito hipertensor, já que a secreção de ANP é inibida pela destruição de barorreceptores arteriais (Antunes-Rodrigues *et al*., 1992).

Em resumo, a administração intravenosa de ocitocina em ratos não anestesiados é capaz de promover efeitos inotrópico e cronotrópico negativos, podendo estes efeitos, pelo menos em parte, resultarem de uma ação direta da OT sobre o coração, já que ambos foram verificados na perfusão de corações isolados com OT. Entretanto, a administração intravenosa de OT também é capaz de promover incremento na pressão arterial e, deste modo, estimular a atividade de barorreceptores arteriais e inibir neurônios simpáticos, influenciando assim a atividade cardíaca. Assim sendo, os efeitos cardíacos observados após a administração intravenosa de OT parecem ter origem em pelo menos dois mecanismos: um reflexo, secundário ao efeito hipertensor; outro cardíaco direto, ainda

não completamente elucidado, podendo envolver tanto a participação do óxido nítrico, como do ANP.

Independente do mecanismo pelo qual a ocitocina exerça seus efeitos inotrópico e cronotrópico negativos, os nossos dados não apóiam a hipótese de que a ocitocina em concentração plasmática fisiológica influencie estes parâmetros cardíacos. Contudo, conforme demonstrado por Jankowski e colaboradores (1998), tanto os átrios, como os ventrículos são capazes de sintetizar ocitocina e, além disso, cardiomiócitos atriais em cultura secretam ocitocina. Deste modo, é possível que fatores ainda desconhecidos modulem a síntese e secreção cardíaca de ocitocina, controlando assim, a concentração tecidual deste peptídeo, que poderia assim atingir níveis elevados, capazes de influenciar a função elétrica e mecânica do coração, além de sua função endócrina, sendo esta hipótese reforçada pelo fato de camundongos depletados do gen da ocitocina apresentarem elevada freqüência cardíaca intrínseca (Michelini *et al*., 2003).

6 CONCLUSÕES

O principal mérito deste trabalho foi demonstrar, pela primeira vez, que tanto em ratos não anestesiados, como em corações isolados, a ocitocina é capaz de deflagrar um efeito inotrópico negativo. Além disso, demonstramos em ambas as abordagens experimentais ocorrer também um efeito cronotrópico negativo, corroborando dados de outros autores.

Nossos dados não nos permitem definir os mecanismos através dos quais a ocitocina promove os efeitos inotrópico e cronotrópico negativos, *in vivo* ou *in vitro*, mas nos permitem afirmar que este peptídeo pode produzir estes efeitos através de uma ação direta no coração ou secundariamente à inibição de neurônios simpáticos, já que a administração intravenosa de ocitocina também promove um incremento na pressão arterial.

Apesar de demonstrarmos ser a ocitocina um peptídeo capaz de influenciar o inotropismo e o cronotropismo cardíacos, reforçando a hipótese da participação deste peptídeo na resposta homeostática à expansão de volume, nosso dados não apóiam a hipótese da ocitocina ter esta ação em concentrações plasmáticas fisiológicas. No entanto, não se pode descartar a hipótese deste peptídeo modular fisiologicamente a atividade cardíaca através de efeitos parácrinos, considerando para tanto a existência de um sistema ocitocinérgico cardíaco.

7 PERSPECTIVAS

Uma dúvida evidente que surgiu em nosso trabalho se refere ao mecanismo pelo qual a administração intravenosa de 1μg de ocitocina promove os efeitos inotrópico e cronotrópico negativos. Para colaborar com o esclarecimento desta, propomos a utilização de um antagonista de receptores vasopressinérgicos V1. Assim, poderemos confirmar se o efeito hipertensor da ocitocina é resultante da sua interação com estes receptores e, caso seja, poderemos excluir este efeito e observar somente os efeitos resultantes da ativação de receptores ocitocinérgicos.

Embora nossos dados demonstrem ser a ocitocina capaz de promover efeitos inotrópico e cronotrópico negativos, ainda não se sabe os mecanismos pelos quais estes ocorrem. Para ajudar na compreensão destes efeitos da ocitocina, propomos investigar, em corações isolados, o envolvimento da proteína Gq (através da utilização do bloqueador U-73122), da enzima de síntese do óxido nítrico (utilizando o L-NAME) e de receptores para peptídeos natriuréticos (utilizando um antagonista de NPR-A). Ainda, é fundamental que confirmemos serem os efeitos observados resultantes da ativação de receptores ocitocinérgicos, utilizando para tanto, um antagonista adequado.

Objetivando investigar se o sistema ocitocinérgico cardíaco pode estar envolvido na homeostase cardiovascular, podemos quantificar a síntese cardíaca de ocitocina, tanto *in vivo*, com *in vitro*. No animal não anestesiado, podemos utilizar modelos de incremento na pressão venosa central sem alteração na pressão arterial (expansão de volume lenta), de incremento em ambas (expansão de volume aguda) e de incremento na

pressão venosa central e redução na pressão arterial (insuficiência cardíaca subseqüente ao infarto do miocárdio). No coração isolado, podemos utilizar balões de látex para determinar as pressões ventricular e atriais, verificando se estes fatores influenciam a síntese local de ocitocina.

Desta forma, poderemos colaborar para compreensão do papel da ocitocina na homeostase cardiovascular e hidroeletrolítica, assim como dos mecanismos envolvidos nos efeitos inotrópico e cronotrópico negativos deste peptídeo.

8 REFERÊNCIAS

ACHER, R., CHAUVET, J. The neurohypophysial endocrine regulatory cascade: precursors, mediators, receptors and effectors. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.16, p.237-289, 1995.

ALLEN, G.V., CECHETTO, D.F. Functional and anatomical organization of cardiovascular pressor and depressor sites in the lateral hypothalamic area: I Descending projections. **Journal of Comparative Neurology**, v.315, p.313-332, 1992.

ANTUNES-RODRIGUES, J., RAMALHO, M.J., REIS, L.C., MENANI, J.V., TURRIN, M.Q.A., GUTKOWSKA, J., MCCAN, S.M. Lesions of the hypothalamus and pituitary inhibit volume-expansion-induced release of atrial natriuretic peptide. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.88, p.2956-2960, 1991.

ANTUNES-RODRIGUES, J., MACHADO, B.H., ANDRADE, H.A., MAUAD, H., RAMALHO, M.J., REIS, L.C., SILVA-NETTO, C.R., FAVARETTO, A.L.V., GUTKOWSKA, J., MCCAN, S.M. Carotid-aortic and renal baroreceptors mediate the atrial natriuretic peptide release induced by blood volume expansion. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.89, p.6828-6831, 1992.

ANTUNES-RODRIGUES, J., CASTRO, M., ELIAS, L.L.K., VALENÇA, M.M., MCCANN, S. M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiological Reviews**, v.84, p.169-208, 2004.

BRIZZEE, B.L., WALKER, B.R. Altered baroreflex function after tail suspension in the conscious rat. **Journal of Applied Physiology**, v.69, p.2091–2096, 1990.

BRUTSAERT, D.L. Cardiac endothelial-myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. **Physiological Reviews**, v.83, p.59-115, 2003.

BURBACH, J.P.H., LUCKMAN, S.M., MURPHY, D., GAINER, H. Gene regulation in the magnocellular hypotalamo-neurohypophysial system. **Physiological Reviews**, v.81, n.3, p.1197-1267, 2001.

CAVALCANTE-LIMA, H.R., LIMA, H.R.C., COSTA-E-SOUSA, R.H., OLIVARES, E.L., CEDRAZ-MERCEZ, P.L., REIS, R.O., BADAUE-PASSOS, D.Jr., DE-LUCCA, W.Jr, MEDEIROS, M.A., CORTES, W.S., REIS, L.C. Dipsogenic stimulation in ibotenic DRN-lesioned rats induces concomitant sodium appetite. **Neuroscience Letters**, v.374, n.1, p.5-10, 2005.

CHEN, Y.L., SHEPHERD, C., SPINELLI, W., LAI, F.M. Oxytocin and vasopressin constrict rat isolated uterine resistance arteries by activating vasopressin V_{1A} receptors. **European Journal of Pharmacology**, v.376, n.1-2, p.45-51, 1999.

CIRIELLO, J. Afferent renal inputs to paraventricular nucleus vasopressin ans oxytocin neurosecretory neurons. **American Journal of Physiology**, v.275, p.R1745-R1754, 1998.

COVINO, B.G. Cardiac effects of synthetic oxytocin (Syntocinon). **American Heart Journal**, v.66, p.627-631, 1963.

CUNNINGHAM, J.T., BRUNO, S.B., HIGGS, K.A.N., SULLIVAN, M.J. Intrapericardial procaine affects volume expansion-induced fos immunoreactivity in unanesthetized rats. **Experimental Neurology**, v.174, p.181-192, 2002.

DALE, H.H. On some physiological actions of ergot. **Journal of Physiology** (Lond), v.34, p.165-206, 1906.

DE-BOLD, A.J., BRUNEAU, B.G., DE-BOLD, M.L.K. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. **Cardiovascular Research**, v.31, p.7-18, 1996.,

DE-WARDENER, H. E. The hypothalamus and hypertension. **Physiological Reviews**, v.81, n.4, p.1599-1658, 2001.

DU-VIGNEAUD, V., LAWLER, H.C., POPENOE, E.A. Enzymatic cleavage of glycinamide from vasopressin and a proposed structure for this pressor-antidiuretic hormone of the posterior pituitary. **Journal of the American Chemistry Society**, v.75, p.4880-4881, 1953a.

DU-VIGNEAUD, V., RESSLER, C., SWAN, J.M., ROBERTS, C.W., KATSOYANNIS, P.G., GORDON, S. The synthesis of an octapeptide amide with the hormonal activity of oxytocin. **Journal of the American Chemistry Society**, v.75, p.4879-4880, 1953b.

FAVARETTO, A.L.V., BALLEJO, G.O., ALBUQUERQUE-ARAÚJO, W.I.C., GUTKOWSKA, J., ANTUNES-RODRIGUES, J., MCCANN, S.M. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts negative inotropic and chronotropic action. **Peptides**, v.18, n.9, p.1377-1381, 1997.

FENELON, V.S., POULAIN, D.A., THEODOSIS, D.T. Oxytocin neuron activation and fos expression: a quantitative immunocytochemical analysis of the effect of lactation, parturition, osmotic and cardiovascular stimulation. **Neuroscience**, v.53, n.1, p.77-89, 1993.

FITCH, G.K., PATEL, K.P., WEISS, M.L. Activation of renal afferent pathways following furosemide treatment I. Effects of survival time and renal denervation. **Brain Research**, v.861, p.363-376, 2000a.

FITCH, G.K., WEISS, M.L. Activation of renal afferent pathway following furosemide treatment II. Effects of angiotensin blockade. **Brain Research**, v.861, p.377-389, 2000b.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst and sodium appetite. **Physiological Reviews**, v.78, n.3, p.583-686, 1998.

FRANCHINI, L.F., JOHNSON, A.K., OLMOS, J., VIVAS, L. Sodium appetite and Fos activation in serotonergic neurons. **American Journal of Physiology**, v.282, p.R235-R243, 2002.

FREEMAN, M.E., KANYICSKA, B., LERANT, A., NAGY, G. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. **Physiological Reviews**, v.80, n.4, p.1523-1631, 2000.

GIMPL, G., FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. **Physiological Reviews**, v.81, n.2, p.629-683, 2001.

GRINDSTAFF, R.J., GRINDSTAFF, R.R., SULLIVAN, M.J., CUNNINGHAM, J.T. Role of the locus ceruleus in baroreceptor regulation of supraoptic vasopressin neurons in the rat. **American Journal of Physiology**, v.279, p.R306-R319, 2000a.

GRINDSTAFF, R.R., GRINDSTAFF, R.J., CUNNINGHAM, J.T. Effects of right atrial distension on the activity of magnocellular neurons in the supraoptic nucleus. **American Journal of Physiology**, v.278, p.R1605-R1615, 2000b.

GUTKOWSKA, J., JANKOWSKI, M., LAMBERT, C., MUKADDAM-DAHER, S., ZINGG, H.H., MCCANN, S.M. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.94, p.11704-11709, 1997.

GUTKOWSKA, J., JANKOWSKI, M., MUKADDAM-DAHER, S., MCCAN, S.M. Oxytocin is a cardiovascular hormone. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.625-633, 2000.

HAANWINCKEL, M.A., ELIAS, L.K., FAVARETTO, A.L.V., GUTKOWSKA, J., MCCANN, S.M., ANTUNES-RODRIGUES, J. Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.92, p.7902-7906, 1995.

HOWE, B.M., BRUNO, S.B., HIGGS, K.A.N., STIGER, R.L., CUNNINGHAM, J.T. FosB expression in the central nervous system following isotonic volume expansion in unanesthetized rats. **Experimental Neurology**, v.187, p.190-198, 2004.

HUANG, W., SJOQUIST, M., SKOTT, O., STRICKER, E.M., SVED, A.F. Oxytocin-induced rennin secretion in conscious rats. **American Journal of Physiology**, v.278, p.R226-R230, 2000.

HUANG, W., SJOQUIST, M., SKOTT, O., STRICKER, E.M., SVED, A.F. Oxytocin antagonist disrupts hypotension-evoked rennin secretion and other responses in conscious rats. **American Journal of Physiology**, v.280, p.R760-R765, 2001.

IVELL, R., RUSSELL, J.A. Oxytocin: cellular and molecular approaches in medicine and research. **Reviews of Reproduction**, v.1, p.13-18, 1996.

JANKOWSKI, M., HAJJAR, F., KAWAS, S.A., MUKADDAM-DAHER, S., HOFFMAN, G., MCCANN, S.M., GUTKOWSKA, J. Rat heart: a site of oxytocin production and action. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.95, p.14558-14563, 1998.

JANKOWSKI, M., WANG, D., HAJJAR, F., MUKADDAM-DAHER, S., MCCANN, S.M., GUTKOWSKA, J. Oxytocin and its receptors are synthesized in the rat vasculature. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.97, n.11, p.6207-6211, 2000.

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

JORGENSEN, H., KJAER, A., KNIGGE, U., MOLLER, M., WARBERG, J. Serotonin stimulates hypothalamic mRNA expression and local release of neurohypophysial peptides. **Journal of Neuroendocrinology**, v.15, p.564-571, 2003.

KATZ, R.L. Antiarrhythmic and cardiovascular effects of synthetic oxytocin. **Anesthesiology**, v.25, n.5, p.653-661, 1964.

LI, Y.F., MAYHAN, W.G., PATEL, K.P. Role of the paraventricular nucleus in renal excretory responses to acute volume expansion: role of nitric oxide. **American Journal of Physiology**, v. 285, p.H1738-H1746, 2003.

LOHMEIER, T.E. Neurohypophysial hormones. **American Journal of Physiology**, v.285, p.R715-R717, 2003.

LOICHOT, C., GRIMA, M., JONG, W.D., HELWIG, J.J., IMBS, J.L., BARTHELMEBS, M. Oxytocin-induced rennin secretion by denervated kidney in anaesthetized rat. **European Journal of Pharmacology**, v.454, p.241-247, 2002.

MCCANN, S.M., FRANCI, C.R., FAVARETTO, A.L.V., GUTKOWSKA, J., ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine regulation of salt and water metabolism. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, p.427-441, 1997.

MCCAN, S.M., GUTKOWSKA, J., ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.165-181, 2003.

MICHELINI, L.C., MARCELO, M.C., AMICO, J., MORRIS, M. Oxytocinergic regulation of cardiovascular function: studies in oxytocin-deficient mice. **American Journal of Physiology**, v.284, p.H2269-H2276, 2003.

MILLER, M.E., DAVIDGE, S.T., MITCHELL, B.F. Oxytocin does not directly affect vascular tone in vessels from nonpregnant and pregnant rats. **American Journal of Physiology**, v.282, p.H1223-1228, 2002.

MORRIS, M.J., HASTINGS, J.A., PAVIA, J.M. Catecholamine release in the rat hypothalamic paraventricular nucleus in response to haemorrhage, desipramine and potassium. **Brain research**, v.665, p.5-12, 1994.

MUELLER, P.J., HASSER, E.M. Enhanced sympathoinhibitory response to volume expansion in conscious hindlimb-unloaded rats. **Journal of Applied Physiology**, v.94, p.1806-1812, 2003.

MUKADDAM-DAHER, S., YIN, Y.L., ROY, J., GUTKOWSKA, J., CARDINAL, R. Negative inotropic and chronotropic effects of oxytocin. **Hypertension**, v.38, p.292-296, 2001.

MÜLLER, E.E., LOCATELLI, V., COCCHI, D. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. **Physiological Reviews**, v.79, n.2, p.511-607, 1999.

NAKANO, J., FISHER, R.D. Studies on the cardiovascular effects of synthetic oxytocin. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v.142, p.206-214, 1963.

OLIVER, G., SCHÄFER, E.A. On the physiological actions of extracts of pituitary body and other glandular organs. **Journal of Physiology** (Lond), v.18, p.277-299, 1895.

OTT, I., SCOTT, J.C. The action of infundibulin upon mammary secretion. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.8, p.48-49, 1911.

PETERSSON, M., ALSTER, P., LUNDEBERG, T., UVNÄS-MOBERG, K. Oxytocin causes a long-term decrease of blood pressure in female and male rats. **Physiology and Behavior**, v.60, n.5, p.1311-1315, 1996.

PETTY, M.A., LANG, R.E., UNGER, T., GANTEN, D. The cardiovascular effects of oxytocin in conscious male rats. **European Journal of Pharmacology**, v.112, p.203-210, 1985.

RANDOLPH, R.R., LI, Q., CURTIS, K.S., SULLIVAN, M.J., CUNNINGHAM, J.T. Fos expression following isotonic volume expansion of the unanesthetized male rat. **American Journal of Physiology**, v.274, p.R1345-R1352, 1998.

REIS, L.C., RAMALHO, M.J., FAVARETTO, A.L.V., GUTKOWSKA, J., MCCAN, S.M., ANTUNES-RODRIGUES, J. Participation of the ascending serotonergic system in the stimulation of atrial natriuretic peptide release. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.12022-12026, 1994.

RIGATTO, K., PURYEAR, R., BERTANOVA, I., MORRIS, M. Salt appetite and the renin-angiotensin system. Effect of oxytocin deficiency. **Hypertension**, v.42, p.793-797, 2003.

ROSAEG, O.P., CICUTTI, N.J., LABOW, R.S. The effect of oxytocin on the contractile force of human atrial trabeculae. **Anesthesia and Analgesia**, v.86, n.1, p.40-44, 1998.

RUSS, R.D., WALKER, B.R. Oxytocin augments baroreflex bradycardia in conscious rats. **Peptides**, v.15, n.5, p.907-912, 1994.

SAMSON, W.K. The posterior pituitary and water metabolism. In: GRIFFIN, J.E., OJEDA, S.R. **Text book of endocrine physiology**. 5ed. Oxford University Press, 2004. Cap.7, p.147-166.

SCHILTZ, J.C., HOFFMAN, G.E., STRICKER, E.M., SVED, A.F. Decreases in arterial pressure activate oxytocin neurons in conscious rats. **American Journal of Physiology**, v.273, p.1474-1483, 1997.

SHOJO, H., KANEKO, Y. Characterization and expression of oxytocin and the oxytocin receptor. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.71, p.552-558, 2000.

SJOQUIST, M., HUANG, W., JACOBSSON, E., SKOTT, O., STRICKER, E.M., SVED, A.F. Sodium excretion and renin secretion after continuous *versus* pulsatile infusion of oxytocin in rats. **Endocrinology**, v.140, n.6, 1999.

SKOTT, O. Body sodium and volume homeostasis. **American Journal of Physiology**, v.285, p.R14-R18, 2003.

SLADEK, C.D., KAPOOR, J.R. Neurotransmitter/Neuropeptide interactions in the regulation of neurohypophyseal hormone release. **Experimental Neurology**, v.171, p.200-209, 2001.

SOARES, T.J., COIMBRA, T.M., MARTINS, A.R., PEREIRA, A.G.F., CARNIO, E.C., BRANCO, L.G.S., ALBUQUERQUE-ARAUJO, W.I.C., NUCCI, G., FAVARETTO, A.L.V., GUTKOWSKA, J., MCCAN, S.M., ANTUNES-RODRIGUES, J. Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.96, p.278-283, 1999.

STRICKER, E.M., VERBALIS, J.G. Central inhibitory control of sodium appetite in rats: correlation with pituitary oxytocin secretion. **Behavioral Neuroscience**, v.101, p.560-567, 1987.

THIBONNIER, M., CONARTY, D.M., PRESTON, J.A., PLESNICHER, C.L., DWEIK, R.A., ERZURUM, S.C. Human vascular endothelial cells express oxytocin receptors. **Endocrinology**, v.140, n.3, p.1301-1309, 1999.

UVNÃS-MOBERG, K., HILLEGAART, V., ALSTER, P., AHLENIUS, S. Effects of 5-HT agonists, selective for different receptor subtypes, on oxytocin, CCK, gastrin and somatostatin plasma levels in the rat. **Neuropharmacology**, v.35, n.11, p.1635-1640, 1996.

VERBALIS, J.G., MANGIONE, M.P., STRICKER, E.M. Oxytocin produces natriuresis in rat at physiological plasma concentrations. **Endocrinology**, v.128, n.3, p.1317-1322, 1991.

VERHAGE, M., MCMAHON, H.T., GHIJSEN, W.E., BOOMSMA, F., SCHOLTEN, G., WIEGANT, V.M., NICHOLLS, D.G. Differential release of amino acids, neuropeptides and catecholamines from isolated nerve terminals. **Neuron**, v.6, p.517–524, 1991.

VON DEN VELDEN, R. Die nierenwirkung von hypophysenextrakten beim menschen. **Berliner Klinische Wochenschrift**, v.50, p.2083-2086, 1913.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo