

**INFLUÊNCIA DOS RECEPTORES 5-HT<sub>2A</sub> CENTRAIS NA MODULAÇÃO DA  
BRADICARDIA VAGAL INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES  
CARDIOPULMONARES EM RATOS ANESTESIADOS**

**SIMONE MOREIRA DE MACÊDO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**

**VITÓRIA, JANEIRO DE 2008**

**INFLUÊNCIA DOS RECEPTORES 5-HT<sub>2A</sub> CENTRAIS NA MODULAÇÃO DA  
BRADICARDIA VAGAL INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES  
CARDIOPULMONARES EM RATOS ANESTESIADOS**

**Simone Moreira de Macêdo**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da  
Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Fisiológicas.**

Aprovada em 10 /01/2008 por:

---

Prof. Dr. José Guilherme Pinheiro Pires Orientador -  
UFES

---

Prof. Dr. Henrique de Azevedo Futuro Neto  
Co-orientador - UFES

---

Prof. Dr. Antônio Carlos Avanza Junior  
UNIVIX

---

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg  
Coordenador do PPGCF

**Universidade Federal do Espírito Santo**

Vitória, janeiro de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

---

Macêdo, Simone Moreira, 1977

**RECEPTORES 5-HT<sub>2A</sub> CENTRAIS MODULAM A BRADICARDIA VAGAL  
INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES CARDIOPULMONARES EM  
RATOS ANESTESIADOS**

XIII, 78 p., 29,7 cm (UFES, M Sc., Ciências Fisiológicas, 2008)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF

---

I. Bezold-Jarisch II. Serotonina III. Receptor 5-HT<sub>2A</sub> IV. Receptor 5-HT<sub>2B</sub>.

---

### AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força depositada em mim, dando-me coragem para enfrentar a distância dos familiares e amigos, a dificuldade financeira e o medo da mudança e do desconhecido. Agradeço por ter me levantado em cada dia de fraqueza e me fazer perceber que eu estava no caminho certo; e agradeço por sempre colocar pessoas maravilhosas em meu caminho que contribuem para minha realização pessoal e profissional. Para mais esta conquista em minha vida, tenho a certeza de que fui guiada e instruída por Ele a encontrar pessoas como:

Prof. Dr. Henrique de Azevedo Futuro Neto, que abriu suas portas me aceitando e confiando na minha capacidade;

Aos meus tios Manoel e Alaidyr, por me recebem como filha em sua casa, me dando abrigo e amor. Vocês foram fundamentais para esta conquista, pois eu não teria condições de começar este projeto de vida.

Prof. Dr. Nyam F. Silva, que teve toda paciência, disponibilidade e carinho para me socorrer nos momentos difíceis dos procedimentos técnicos do laboratório e da vida.

Ao meu orientador prof. Dr. José Guilherme Pinheiro Pires primeiramente, pela pessoa que é e pela colaboração neste trabalho, sempre me ajudando a encontrar soluções.

Maya e Márcio pela amizade, carinho, risos, lágrimas, dúvidas, apoio, problemas e soluções vividas e compartilhadas durante todo esse tempo.

Aos meus primos Cezar e Ana que me adotaram e me fizeram sentir perto da minha família por tanto cuidado e amor em mim depositado.

A todas as pessoas do departamento de pós-graduação que me ajudaram nos meus momentos de aflição.

E aos meus pais que sempre confiaram na minha intenção de fazer o que é certo, e assim, me dando liberdade para seguir o meu caminho. Peço também desculpas por esta distância e pelos momentos de sofrimento que lhes causei para alcançar os meus sonhos.

### **LISTA DE ABREVIATURAS**

µg = micrograma

µl = microlitro

BJ = Bezold-Jarisch

bpm = batimentos por minuto

CVLM = bulbo ventrolateral caudal

DMV = núcleo motor dorsal do vago

EPM = erro padrão da média

FC = frequência cardíaca

i.c. = intracisternal

i.v. = intra-venosa

mmHg = milímetros de mercúrio

NA = núcleo ambíguo

NaCl = cloreto de sódio

NTS = núcleo do trato solitário

PA = pressão arterial

PAM = pressão arterial média

PAP = pressão arterial pulsátil

PBG = fenilbiguanida

RVLM = bulbo ventrolateral rostral

SNC = sistema nervoso central



## RESUMO

Receptores 5-HT estão envolvidos na regulação central das vias autonômicas para o coração, inclusive na modulação do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch (BJ). Há evidências que a ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>7</sub> no núcleo ambíguo, núcleo dorsal do vago e/ou no NTS aumenta a atividade vagal cardíaca, sendo pouco conhecida a participação dos receptores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub> centrais na excitabilidade de motoneurônios vagais cardíacos. Para investigar este aspecto, empregou-se o modelo da bradicardia vagal reflexa induzida por fenilbiguanida (PBG) i.v. em ratos pré-tratados com atenolol (reflexo de BJ modificado). Usou-se ratos Wistar machos, 250-300 g, anestesiados com uretana (1 g/kg, i.v.) e instrumentados para registros de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC). A artéria e veia femoral foram canuladas para registros dos parâmetros hemodinâmicos e administração de drogas, respectivamente. Os animais foram colocados no estereotáxico e a membrana atlanto-occipital foi exposta para permitir injeção i.c. (10 µL). Após estabilização, os ratos receberam atenolol (1 mg/kg, i.v.) para bloqueio da alça simpática do reflexo. Após 20 min, o reflexo BJ era desencadeado com PBG (15 µg/kg, i.v.) a intervalos de 15 min, até que 3 bradicardias similares fossem obtidas. Usou-se a média destas 3 administrações como valor pré-tratamento. Dez minutos após a bradicardia precedente, uma injeção i.c. era feita com o antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>2A</sub>, R-96544 (0,1 µmol/kg), antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>2B</sub>, SB-204741 (0,1 µmol/kg) ou com salina. As administrações subseqüentes de PBG foram feitas aos 5, 20, 35 e 50 min após a injeção i.c.. Os dados são expressos como média ± EPM. A significância estatística da diferença entre as médias foi verificada por ANOVAs seguidas de teste de Bonferroni. Houve atenuação significativa na variação da PA média (PAM) no reflexo de BJ nos tempo de 5 e 20 min após a administração de R-96544 i.c. comparado ao mesmo tempo do grupo controle (5 min = -29±3 mmHg, p< 0,01; 20 min = -30±4 mmHg, p< 0,01; vs -42±6 mmHg e -41±4 mmHg, respectivamente). Também houve atenuação significativa na variação da FC em todos os reflexos de BJ após a microinjeção (antes: -200±11 bpm; 5 min = -121±21 bpm, p< 0,01; 20 min = -85±12 bpm, p< 0,01; 35 min = -84±10 bpm, p< 0,01; 50 min = -107±19 bpm, p< 0,01). A injeção i.c. de salina não alterou nem os valores basais nem as respostas reflexas nos tempos medidos. No grupo tratado com SB-204741 houve aumento significativo

nos valores basais da FC após a administração de SB-204741 i.c. ( $373 \pm 10$  bpm, vs  $307 \pm 17$  bpm nos controles), sem alterar a PA basal e as variações da PAM e da FC no reflexo de BJ. Os resultados sugerem que a ativação de receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados em alguma área acessível pela cisterna magna interfere com a excitabilidade dos motoneurônios vagais cardíacos de modo semelhante àquele dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>7</sub>. O fato das respostas cardiovasculares terem sido atenuadas pelo antagonista de 5-HT<sub>2A</sub> sugere que estes receptores, em alguma área do tronco encefálico, mas não o receptor 5-HT<sub>2B</sub>, facilita as respostas autonômicas ao ativar o reflexo BJ, enquanto os receptores 5-HT<sub>2B</sub> parecem atuar na modulação tônica da FC. A relevância relativa da participação de cada subtipo de receptores 5-HT e os locais onde eles estão presentes ainda não foram estabelecidos. Estudos de microinjeções serão necessários para esclarecer estes aspectos.

## ABSTRACT

5-HT receptors play a role on central regulation of pathway autonomic to heart, beyond the modulation of Bezold-Jarisch (BJ) cardiopulmonary reflex. There is evidence that activation of 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> and/or 5-HT<sub>7</sub> receptors in the nucleus ambiguus, vagal dorsal nucleus and/or in the NTS cause increases in vagal drive, which decreases heart rate. Little is known about the role of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2B</sub> central receptors in the excitability of cardiac vagal motoneurons. To investigate this aspect, atenolol-pretreated rats, by comparing the reflex bradycardias induced by i.v. phenylbiguanide (PBG). Experiments were performed on male Wistar rats, 250-300 g, anesthetized with urethane (1 g/kg, i.v.) and instrumented for recording arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR). A femoral artery and vein were cannulated to monitor hemodynamic parameters and for administration of drugs, respectively. The animals were placed in a stereotaxic frame and the atlanto-occipital membrane was exposed to allow i.c. injections (10 µL). After stabilization, the rats received atenolol (1 mg/kg, i.v.) to block the sympathetic pathway of the reflex. Twenty min later, the cardiopulmonary reflex was induced with PBG (15 µg/kg) at 15 min-intervals until 3 similar bradycardias were obtained. The mean of these 3 responses was used as pre-drug figure. Ten minutes after the last bradycardia, an i.c. injection was done with a selective antagonist of 5-HT<sub>2A</sub> receptor, R-96544 (0.1 µmol/kg), selective antagonist of 5-HT<sub>2B</sub>, SB-204741 (0.1 µmol/kg) or saline. The subsequent i.v. PBG injections were made at 5, 20, 35 and 50 min after the i.c. injection. Each animal was used only once. Data are expressed as mean ± SE. Statistical significance of the difference between means was assessed by ANOVAs followed by Bonferroni test. It was observed that hypotensive response variance was attenuated by BJ reflex at 5 and 20 min after the de R-96544 i.c, compared at the same time of control group (5 min = -29±3 mmHg, p< 0.01; 20 min = -30±4 mmHg, p< 0.01; vs -42±6 mmHg e -41±4 mmHg, respectively). Moreover it had significant attenuation in the variation of HR in all BJ reflex after microinjection (before: -200±11 bpm; 5 min = -121±21 bpm, p< 0.01; 20 min = -85±12 bpm, p< 0,01; 35 min = -84±10 bpm, p< 0.01; 50 min = -107±19 bpm, p<0.01). Saline injections i.c. did not modify neither the basal values nor the reflex changes in the measured times. In the group treated with SB-204741, it was observed a significant increase in the baseline after

SB-204741 i.c. administration ( $373 \pm 10$  bpm,  $p < 0.05$  vs  $307 \pm 17$  bpm in controls), without modifying the basal MAP and the reflex variations of MAP and HR. These results suggest that the activation of receptors  $5\text{-HT}_{2A}$  located in some accessible area by cisterna magna, interferes with the cardiac vagal motoneurons excitability, in a similar way to that  $5\text{-HT}_{1A}$ ,  $5\text{-HT}_{2C}$ ,  $5\text{-HT}_3$  e  $5\text{-HT}_7$  receptors. The fact of the cardiovascular effects have been attenuated with the  $5\text{-HT}_{2A}$  antagonist suggests that these receptors, in some area of the brainstem, but not  $5\text{-HT}_{2B}$  receptor, facilitates to the autonomic answers when activating reflex BJ, while  $5\text{-HT}_{2B}$  receptors seem to act in the tonic modulation of the HR. The relative relevance of the participation of each subtype and the places where they are located had been established, and studies of microinjections will be necessary to clarify these aspects.

“Suba o primeiro degrau com fé. Você não tem que ver toda a escada. Você só precisa dar o primeiro passo.”

(Martin Luther King Jr.)

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.29</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	<b>Erro! Indicador não definido.29</b>
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	<b>Erro! Indicador não definido.29</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.1</b>
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS .....	<b>Erro! Indicador não definido.1</b>
3.2 ANESTESIA .....	<b>Erro! Indicador não definido.1</b>
3.3 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
<b>3.3.1 Canulação</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
<b>3.3.2 Traqueostomia</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
<b>3.3.3 Acesso cirúrgico à cisterna magna</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.2</b>
3.4 TEMPERATURA CORPORAL .....	<b>Erro! Indicador não definido.3</b>
3.5 REGISTROS HEMODINÂMICOS .....	<b>Erro! Indicador não definido.3</b>
3.6 DESENCADEAMENTO DO REFLEXO DE BEZOLD-JARISCH (BJ) .....	<b>ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.4</b>
3.7 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS .....	<b>Erro! Indicador não definido.4</b>
<b>3.7.1 Protocolo geral</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.4</b>
<b>3.7.2 Protocolos específicos</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.5</b>
3.9. DROGAS E REAGENTES .....	<b>Erro! Indicador não definido.6</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.38</b>
4.1 GRUPO SALINA .....	<b>Erro! Indicador não definido.38</b>
<b>4.1.1 Efeitos intrínsecos da salina (10 µL i.c.) sobre a FC e PAM basais</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.38</b>
<b>4.1.2 Efeitos da salina (10 µL i.c.) no Δ PAM e no Δ FC do reflexo de BJ</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.39</b>
4.2 GRUPO R-96544 - ANTAGONISTA DE 5-HT <sub>2A</sub> .....	<b>Erro! Indicador não definido.40</b>

4.2.1 Efeitos intrínsecos do R-96544 (0,1µmol/kg) (10 µL i.c.) sobre a PAM e FC basais .....	Erro! Indicador não definido.0
4-2.2 Efeitos do R-96544 (0,1µmol/kg) i.c. na Δ PAM e na Δ FC sobre o reflexo de BJ.....	Erro! Indicador não definido.1
4.3 GRUPO SB-204741 - ANTAGONISTA DE 5-HT <sub>2B</sub> .....	Erro! Indicador não definido.3
4.3.1 Efeitos intrínsecos do SB-204741 (0,1 µmol/kg; 10 µL i.c.) sobre a PAM e FC basais .....	Erro! Indicador não definido.3
4-3.2 Efeitos do SB-204741 (0,1µmol/kg) i.c. na Δ PAM e na Δ FC sobre o reflexo de BJ.....	Erro! Indicador não definido.4
4.4 COMPARAÇÃO DA VARIAÇÃO DA PAM E FC NOS REFLEXOS DE BJ, ENTRE OS GRUPOS SALINA, R-96544 E SB-204741 .....	Erro! Indicador não definido.6
5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO .....	Erro! Indicador não definido.49
6 ANEXOS .....	Erro! Indicador não definido.8
7 REFERÊNCIAS .....	Erro! Indicador não definido.3

## 1 INTRODUÇÃO

Diversos estudos mostram que o neurotransmissor serotonina (5-HT) participa da regulação central da pressão arterial e da frequência cardíaca. O tema é complexo, tanto pela existência de diferentes mecanismos centrais de controle cardiovascular, uns tônicos outros fásicos, como pela existência de muitos subtipos de receptores 5-HT, alguns dos quais ainda pouco estudados.

Os mecanismos reflexos de ajustes cardiovasculares, como o barorreflexo, o quimiorreflexo e os reflexos cardiopulmonares, são considerados os mais eficientes para os ajustes rápidos da pressão arterial e da frequência cardíaca. O presente trabalho aborda especificamente um destes tipos de reflexos, o cardiopulmonar (reflexo de Bezold-Jarisch), utilizando uma metodologia que possibilita uma análise mais detalhada do controle central da frequência cardíaca e o papel de subtipos de receptores 5-HT neste fenômeno.

### 1.1 – Histórico do reflexo de Bezold-Jarisch

Os primeiros estudos sobre os reflexos originados da região cardiopulmonar, surgiram há 145 anos atrás, com experimentos realizados por von Bezold em 1862, onde este conclui que existiam fibras sensoriais vagais, provavelmente partindo do coração, que ao serem estimuladas produziam um efeito vasodepressor (citado em Krayer, 1961). Em 1865, Cyon e Ludwig descreveram que a regulação cardiovascular reflexa era via nervo depressor aórtico (citado em Krayer, 1961). Em 1867, von Bezold e Hirt observaram que injeção intravenosa de doses adequadas de veratrina (alcalóide do *Veratrum*) causava, dentre outros efeitos, diminuição na pressão arterial, a qual poderia ser prevenida pela secção dos nervos vagos. Eles também observaram que as terminações nervosas que foram estimuladas se localizavam em regiões mais profundas do coração. Naquela época não se sabia quais eram as vias aferentes que participavam desse reflexo.

Em 1935, Jarisch e Henze (1937) iniciaram uma série de estudos com *Viscum album* L. (planta comum no norte da Europa, conhecida por suas propriedades anti-hipertensivas) acerca de sua ação no sistema circulatório, tendo obtido evidências de que este reflexo cardioinibidor se originava no coração e utilizava o nervo vago



como aferência. Somente em 1939, Jarisch e Ritcher concluíram que os receptores para este reflexo se localizavam no coração, predominantemente nos ventrículos; que as vias aferentes eram vagais e as vias eferentes promoviam tanto inibição da atividade simpática para os vasos periféricos, quanto aumento na atividade do nervo vago para o coração. Jarisch, então, designou este reflexo cardiopulmonar como “efeito Bezold”, mas em 1942, Strughold e Benzinger (citado por Kraye, 1961) associaram o nome de Jarisch quando se referiam ao “efeito Bezold”. Em 1961 Otto Kraye sugeriu que o nome de Jarisch fosse definitivamente incorporado à denominação do fenômeno. Assim, “reflexo de Bezold-Jarisch”, é um epônimo para a tríade de respostas – bradicardia, hipotensão e hipopnéia/apnéia, desencadeadas pela estimulação de receptores mecano- e/ou quimiossensíveis, localizados na área cardiopulmonar. A tríade depende do nervo vago intacto, sendo mediada através de centros bulbares de controle respiratório e cardiovascular. Os efeitos respiratórios, mais nítidos em roedores que em humanos, são mediados através de aferentes vagais pulmonares, e a bradicardia e a hipotensão primordialmente através de aferentes vagais cardíacos.

Os receptores cardiopulmonares localizam-se em diferentes estruturas da região cardiopulmonar, incluindo átrios, ventrículos, artérias coronárias, além do pulmão (Ferrari *et al.*, 1990). Admite-se que o ventrículo esquerdo seja o principal sítio de localização dos receptores sensitivos cardioinibitórios envolvidos neste reflexo (Dawes e Comroe, 1954). Eles podem situar-se no epicárdio, musculatura ventricular profunda, dentro ou em torno das artérias coronárias. Os receptores cardiossensoriais são polimodais, sendo tanto quimiossensíveis, caso em que o principal receptor envolvido é o receptor 5-HT<sub>3</sub>, como mecanossensíveis. McQueen e Mir (1989) mostraram que o reflexo de Bezold-Jarisch desencadeado pela serotonina (5-HT) era bloqueado pela aplicação periférica (i.v.) de antagonistas seletivos de receptores 5-HT<sub>3</sub>, demonstrando a participação desse receptor na gênese do reflexo, pelo menos em situação experimental. O receptor 5-HT<sub>3</sub> é do tipo ionotrópico e sua ativação deflagra uma rápida despolarização do nervo, devido à abertura de canais catiônicos e influxo de sódio. No clássico reflexo de Bezold-Jarisch, as principais fibras responsáveis pela aferência do sinal são fibras vagais amielínicas do tipo C, localizadas, em sua maioria, na parede póstero-inferior do ventrículo e átrios esquerdos. Fibras vagais mielínicas, com distribuição similar, participam em menor extensão (Mark, 1983). Sucessivas injeções sistêmicas de

agonistas seletivos de receptores 5-HT<sub>3</sub> como fenilbiguanida (PBG) e 5-HT, produzem, progressivamente, menores bradicardias no reflexo BJ, em ratos (Pires *et al.*, 1990; Bogle *et al.*, 1990; Whalen *et al.*, 2000) devido a dessensibilização (taquifilaxia) dos receptores 5-HT<sub>3</sub> nos aferentes cardiopulmonares vagais que medeiam o reflexo BJ. Assim, é necessário esperar um tempo de pelo menos 15 minutos entre uma administração e outra do agonista 5-HT<sub>3</sub>, para desencadear o reflexo de forma eficiente e reprodutível.

## **1.2 – Relevância clínica do reflexo de Bezold-Jarisch**

Em uma revisão sobre o papel clínico do reflexo BJ feita em 2003, Campagna demonstra sua importância em diversas condições normais e patológicas, como na regulação e manutenção da pressão arterial e estabilidade hemodinâmica, juntamente com outros mecanismos. Tanto o aumento como a diminuição na atividade desses aferentes pode contribuir para distúrbios cardiovasculares (Zoller *et al.*, 1972; Mark, 1983; Hainsworth, 1994;). Os receptores cardíacos que medeiam o reflexo BJ possuem baixa frequência de disparo na ausência de estímulos e contribuem para a inibição tônica do “centro vasomotor”. Ao serem estimulados, esses receptores aumentam a frequência de disparo, o que inibe o “centro vasomotor” e promove vasodilatação. A regulação da pressão arterial é controlada por uma interação dos receptores cardioinibitórios do BJ, dos barorreceptores carotídeos e aórticos. Ao diminuir a atividade dos receptores cardioinibitórios do BJ, diminui a inibição do “centro vasomotor” aumentando a resistência vascular renal e mesentérica, aumenta os níveis de renina e taquicardia, contribuindo para aumento da pressão arterial. Isso ativa o baroreflexo, que diminui a atividade simpática, controlando essas mudanças hemodinâmicas. Casos de hipotensão cardiogênica em humanos podem ser explicados, pelo menos em parte, pela ativação do reflexo de BJ. Estudos em animais com barorreceptores intactos mostram que em situações de hipovolemia leve, provocadas por sangramento de 4 mL/kg, os barorreceptores não são ativados e não há mudança na pressão arterial, mas há diminuição da atividade das fibras aferentes do reflexo de BJ. Isso causa desinibição do “centro vasomotor” aumentando a atividade simpática para o nervo renal e liberação de renina. Assim, os receptores cardioinibitórios respondem à diminuição de volume sanguíneo em

que os barorreceptores são insensíveis. Em humanos, pequenas hemorragias não causam alterações na liberação renina, somente hemorragias moderadas e associadas à queda da pressão arterial média e aumento da frequência cardíaca. Profundas hemorragias em humanos (>600 mL), causam hipotensão associada a bradicardia, pois não haverá uma diminuição da atividade dos receptores cardioinibitórios nesta situação; ao contrário, haverá um aumento em sua atividade que inibe o “centro vasomotor” causando bradicardia.

Em 1970 e 1972, Oberg & Thoren, com estudos de eletrofisiologia, registraram o aumento na frequência de disparo dos receptores cardioinibitórios em gatos com hemorragia profunda e viram que contrações vigorosas produzidas por um ventrículo relativamente vazio podem ativar fibras aferentes cardíacas vagais, que leva a bradicardia, vasodilatação e hipotensão. Há relatos de pessoas que sofreram bradicardia e hipotensão pós infarto ou isquemia do miocárdio, em especial da parede pósterio-inferior ventricular. Esse quadro pode ser explicado, pelo menos em grande parte, pelo reflexo BJ, pois é exatamente nesta região do coração onde se encontra grande quantidade de receptores cardioinibitórios para a ativação deste reflexo. Não se sabe exatamente quais fatores desencadeiam o reflexo durante a isquemia, mas sabe-se que há liberação de radicais livres, íons e eicosanóides que poderiam estar estimulando os receptores cardiopulmonares localizados na parede ventricular. Alguns autores sugerem que o reflexo BJ atua como um mecanismo protetor durante a isquemia, já que profunda bradicardia e vasodilatação renal reduzem a demanda de oxigênio ao miocárdio e aumenta a perfusão renal, que são benéficos na isquemia (Robertson & Robertson, 1981). A participação do reflexo BJ também tem sido evidenciado em diversos casos de síncope vasovagal, síncope por esforço, hipotensões durante procedimentos de anestésias peridural e raquidiana, em oclusões coronarianas, nos procedimentos de reperfusão coronariana e na estenose da aorta causadora de síncope, situações onde o aumento da pressão ventricular esquerda poderia ativar os receptores cardioinibitórios. Esse efeito pode também ser observado em exercícios onde há aumento da pressão ventricular esquerda. A redução da atividade desses receptores vagais cardíacos ocorre em casos de insuficiência cardíaca crônica (Mark, 1983).

A injeção intracoronariana de contraste radiológico pode estimular quimioceptores ventriculares causando bradicardia transitória (Carson & Lazzara,

1970). Essa resposta parece estar relacionada à ativação dos receptores aferentes vagais localizados na parede inferior do ventrículo esquerdo, sendo abolida pela injeção intravenosa prévia de atropina (Zelis *et al.*, 1976), o que demonstra sua origem reflexa vagal. Pacientes portadores de hipertrofia ventricular esquerda apresentaram significativa atenuação da bradicardia evocada pela injeção do meio de contraste radiológico (Hatab *et al.*, 1996). Atualmente acredita-se que a hipertrofia cardíaca, mais que a hipertensão arterial em si, seja responsável pela atenuação dos reflexos cardiopulmonares na hipertensão experimental (Hatab *et al.*, 1996) e provavelmente também em pacientes hipertensos. Tal atenuação estaria relacionada às alterações estruturais do miocárdio, provocadas pela hipertrofia, sugerindo que a modulação dos reflexos vagais inibitórios cardíacos pode ocorrer em nível sensorial (Vasquez, 1994). Estas conclusões são reforçadas pela constatação de que a redução da hipertrofia ventricular esquerda por fármacos está associada à significativa melhora das respostas reflexas dos receptores cardíacos (Zanchetti & Mancia, 1991).

Como os receptores cardiopulmonares são polimodais, compreende-se porque estímulos capazes de ativarem as aferências envolvidas no reflexo de Bezold-Jarisch incluem estímulos mecânicos, tais como variações de pressão intraventricular e intracoronariana. Em humanos, a imersão do sujeito até o pescoço em um tanque cheio de água (Gauer *et al.*, 1970; Epstein, 1976) ou a elevação passiva dos membros inferiores produz estimulação em massa dos receptores cardiopulmonares (Roddie *et al.*, 1957). Em animais e humanos, essas manobras levam a uma sobrecarga de volume ventricular, que é acompanhada de inibição da atividade simpática do nervo renal (vasodilatação), diminuição da vasopressina plasmática e aumento da diurese (Clement *et al.*, 1972). Conforme citado anteriormente, diversas substâncias químicas exógenas como nicotina, capsaicina, veratridina e fenilbiguanida, assim como endógenas, exemplificadas pela serotonina, histamina, bradicinina e certos eicosanóides, também são capazes de deflagrar o reflexo. A ativação do reflexo de Bezold-Jarisch, química- ou mecanicamente, determina as respostas características de apnéia (não observada em todas as espécies), bradicardia cardio-vagal, vasodilatação e hipotensão, sendo estas últimas, parcialmente devidas à retirada simpática e conseqüente diminuição do débito cardíaco (Thorén, 1979; Bell *et al.*, 1993; De Burgh *et al.*, 1988). A bradicardia é uma resposta predominante da ativação parassimpática e esta resposta é

essencialmente abolida com o uso de atropina (Cao & Morrison, 2000; Verbene & Guyenet, 1992).

### **1.3 – Aspectos da neurotransmissão na circuitaria central dos reflexos cardiovasculares**

Estudos mostram que a neurotransmissão dos reflexos cardiovasculares são mediados por vários neurotransmissores ou neuromoduladores como a 5-HT (Giersbergen *et al.*, 1992; Leal *et al.*, 2001), GABA (Bousquet *et al.*, 1982; Callera *et al.*, 2000), L-glutamato (Ashworth-Preece, 1995), acetilcolina e vasopressina (Izzo *et al.*, 1988; Michelini, 1989). O reflexo de Bezold-Jarisch ocorre através de uma integração de mecanismos centrais em vários níveis bulbares e em 1972, Lee *et al.*, mostraram que envolve pelo menos uma sinapse colinérgica. Injeção bilateral de agonista de 5-HT<sub>3</sub> dentro do NTS lateral, de ratos anestesiados (Sévoz *et al.*, 1996b) ou em ratos acordados (Leal *et al.*, 2001), inibe a bradicardia do reflexo BJ induzido por 5-HT i.v. Essa inibição foi revertida pela injeção de antagonista de receptores GABA<sub>A</sub> dentro do NTS, sugerindo que o efeito inibitório de agonistas 5-HT<sub>3</sub> era mediado pela ativação dos receptores GABA<sub>A</sub> (Sévoz *et al.*, 1996b; 1997). A ativação de receptores GABA<sub>A</sub>, por injeção de mucinol dentro do NTS de ratos acordados, reduz a bradicardia e a hipotensão promovidas pelo reflexo BJ (Callera *et al.*, 2005). A administração intra-NTS de agonistas de 5-HT<sub>3</sub> aumenta a liberação de glutamato dentro do NTS (Ashworth-Preece *et al.*, 1995) e de antagonista de glutamato bloqueiam a bradicardia do reflexo BJ, demonstrando a participação deste neurotransmissor no reflexo BJ (Chianca & Machado, 1996). N'Diaye (2001) sugere que receptores 5-HT<sub>2</sub>, dentro do NTS, participam com uma modulação facilitatória do reflexo BJ, provavelmente através da interação com receptores NMDA locais, pois a micro injeção de agonista 5-HT<sub>2</sub> no NTS promoveu bradicardia e hipotensão e esse efeito foi contrário (atenuou a bradicardia reflexa) quando se administrou antagonista de NMDA no NTS. A participação de receptores NMDA também foi proposta por Merahi *et al.*, (1992a). A participação de receptores serotoninérgicos centrais na modulação do reflexo de BJ foi inicialmente demonstrada em 1990, quando se mostrou a participação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> bulbares no referido reflexo, em particular na sua “alça” parassimpática para o coração (Bogle *et al.*, 1990). Outros

trabalhos confirmaram a participação serotonérgica através deste subtipo de receptor na excitabilidade de motoneurônios cardíacos vagais (Futuro Neto *et al.*, 1993; Skinner *et al.*, 2002). Verbene *et al.* (1989), mostraram que lesões eletrolíticas bilaterais ou injeções de antagonistas dos aminoácidos excitatórios, dentro de CVLM, atenuaram o reflexo de BJ desencadeado por injeções i.v. de 5-HT, o que indicou claramente ser CVLM um importante sítio bulbar atuando como mediador da integração reflexa cardiovascular. Essas observações parecem indicar que neurônios na CVLM são mediadores do reflexo cardiopulmonar por meio de projeções inibitórias, onde o principal neurotransmissor envolvido é o GABA, para neurônios vasomotores localizados na RVLM. Tanto o NTS como o núcleo ambíguo (NA) e o DVN são inervados por fibras contendo 5-HT (Steinbusch, 1981) e pelo menos, dentro do NA, eles fazem sinapse com neurônios vagais cardíacos (Izzo *et al.*, 1993).

#### **1.4 – Participação da serotonina no controle cardiovascular: aspectos gerais**

A serotonina (5-HT) é um neurotransmissor que promove diversas respostas fisiológicas, atuando através dos diferentes subtipos de receptores próprios. Dentre suas funções, ela participa da regulação do controle central da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) (Merahi *et al.*, 1992b; Ramage, 2001). A 5-HT é uma amina biogênica de ampla distribuição no sistema nervoso central (SNC). Os corpos celulares dos neurônios serotonérgicos localizam-se nos núcleos da rafe, estruturas localizadas na linha mediana do tronco cerebral. Os neurônios dos núcleos caudais da rafe projetam-se para núcleos e áreas da formação reticular e outros núcleos do tronco cerebral (Fort *et al.*, 1989, 1990) e intensamente para a medula espinhal (Dahlström & Fuxe, 1965; Holstege & Kuypers, 1982), incluindo a coluna intermédio-lateral (Loewy, 1981, 1982; Bacon *et al.*, 1990; Gilbey *et al.*, 1995), fazendo sinapse, respectivamente com neurônios das lâminas I, II e V e com grupos de neurônios pré-ganglionares simpáticos (Antal *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1996). A ligação dos núcleos bulbares da rafe com grupos de neurônios pré-ganglionares simpáticos da medula espinhal corroboram as pesquisas sobre a sua participação na regulação autonômica (Futuro-Neto e Coote, 1982; Lowey, 1981; Helke *et al.*, 1997; Skinner *et al.*, 1997). Por outro lado, a importância de cada um dos núcleos bulbares da rafe no

controle e modulação de vários componentes fisiológicos também pode ser ineficaz pelas várias conexões supra-segmentares existentes.

### 1.5 – Farmacologia dos receptores 5-HT<sub>2</sub>

Atualmente existem pelo menos 14 subtipos de receptores 5-HT: 5-HT<sub>1(A, B, D, E, F)</sub>, 5-HT<sub>2 (A, B, C)</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, e 5-HT<sub>4, 5 (A,B), 6/7</sub> (Nagatomo, *et al.*, 2004; Hoyer *et al.*, 2002). O 5-HT<sub>2A</sub> é, funcionalmente, o mais importante entre eles. Alguns ativam a fosfolipase C via proteína G (5-HT<sub>2A/C</sub>) (Courcelles *et al.*, 1985; Conn *et al.* 1986), e eles possuem seqüência de aminoácidos semelhantes e modulam sinais intracelulares similares e resultam em um rápido aumento do Ca<sup>2+</sup> intracelular (Julius *et al.*, 1990). Os receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, e 5-HT<sub>1D</sub> são acoplados a uma proteína G<sub>i</sub> e inibem a adenilato-ciclase (Nagatomo *et al.*, 2004) ou uma proteína G ativando diretamente um canal iônico (Nicoll, 1988).

Os receptores 5-HT<sub>2</sub> também pertencem à família de receptores acoplados à proteína G, e atualmente conhecem-se os subtipos 2A, 2B e 2C (sendo este último antigamente denominado 1C). Somente nos últimos anos dispomos de ligantes seletivos para estes 3 subtipos de receptores 5-HT<sub>2</sub>, razão pela qual os trabalhos iniciais não faziam a distinção entre os mesmos. Por exemplo, há alguns anos foi relatado que a ativação de receptores 5-HT<sub>2</sub> causa simpato-excitação (McCall e Clement, 1994). Sévoz-Couche *et al.*, (2000) citam que a aplicação, *in vivo*, de agonista de receptor 5-HT<sub>2</sub> produz diferentes efeitos na atividade neuronal. Em diversos sistemas, a ativação seletiva deste receptor promove aumento na atividade neuronal como nas células noradrenérgicas hipotalâmicas, neurônios do núcleo rubro, células do RVLM, motoneurônios espinhais, células reticulares pontinas, neurônios vestibulares e alguns neurônios do núcleo denteado cerebelar. No entanto, alguns estudos demonstram o efeito inibitório quando os receptores 5-HT<sub>2</sub> são seletivamente ativados, como em células dorsais da rafe, alguns neurônios do núcleo denteado cerebelar e girus denteado do hipocampo. Um estudo *in vitro*, demonstra que a ativação de receptores 5-HT<sub>2</sub> produz uma despolarização pós-sináptica e aumenta tanto a amplitude quanto a freqüência dos potenciais pós-sinápticos excitatórios (Brooks & Albert, 1995). No entanto, Wang *et al.* (1997) relatam que a aplicação iontoforética, *in vivo*, de agonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> pode

excitar, inibir ou não promover nenhum efeito nos neurônios do NTS. Um trabalho de Sévoz *et al.* (2000c), relatam efeitos diversos ao estimular receptores 5-HT<sub>2</sub> com um agonista DOI aplicado através de iontoforese com correntes positivas em neurônios do NTS que recebem aferências da via vagal vinda de áreas cardiopulmonares e evidenciam que o efeito produzido depende se o neurônio do NTS foi ativado por uma via monossináptica ou polissináptica, causando inibição e excitação, respectivamente. Como o agonista utilizado nesta pesquisa não era seletivo, a resposta e inibição ou excitação, também pode ser explicada por ativação dos diferentes subtipos, 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub>.

A seqüência de eventos seguida à ocupação do agonista no receptor 5-HT<sub>2A</sub> induz ativação das fosfolipases C e A<sub>2</sub> por ativação da proteína Gq; mobilização do Ca<sup>2+</sup> intracelular através do fosfoinositol; ativação da proteína kinase C; ativação de canais de cloreto ativado por Ca<sup>2+</sup>, reduzindo a despolarização celular (citado em Lacolley, *et al.*, 2006). No SNC, o RNA do receptor 5-HT<sub>2A</sub> foi encontrado no córtex cerebral, gânglio basal, hipocampo, tálamo, medula espinhal, bulbo olfatório, cerebelo e hipotálamo (Roth *et al.*, 1987; Julius *et al.* 1990) e existem evidências deste receptor no corpo celular das fibras aferentes vagais (Lacolley *et al.*, 2006). No SNP, o 5-HT<sub>2A</sub> está presente nas plaquetas facilitando a agregação plaquetária, no músculo liso vascular (Ullmer *et al.*, 1995) e promove sua vasoconstrição (revisão de Kaumann *et al.*, 1993). Em 2004, Nagatomo faz uma extensa revisão sobre as funções dos receptores 5-HT<sub>2A</sub> e relata sua presença também no músculo liso uterino promovendo contração, fígado humano e rins, em menor intensidade no pâncreas, baço, estômago e artéria pulmonar porcinos, onde eles promovem contração muscular e relaxamento respectivamente. Eles participam da contração muscular, relaxamento dos músculos lisos vasculares e promove contração arterial, induzida por 5-HT, na hipertensão induzida por sal, mantendo a alta pressão nesta afecção (Banes & Watts, 2003). Silva *et al.* (2005), demonstram que a hipertensão induzida por DOCA+sal, está relacionada com uma via serotoninérgica central ativando receptores 5-HT<sub>2</sub> e causando a liberação de vasopressina.

De acordo com sua localização e seus efeitos fisiológicos, o receptor 5-HT<sub>2A</sub> têm sido implicados na patogênese de uma variedade de doenças isquêmicas do coração como formação de trombos, espasmos da artéria coronária, broncoconstrição, aumento da permeabilidade vascular e temperatura corporal. A ativação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> nas artérias coronarianas podem causar



constrição vascular e espasmos produzindo arritmias e cardiodepressão. (Kaumann *et al.*, 1993, 1994). Os efeitos centrais envolvem as afecções comportamentais como ansiedade (Taylor, 1990), depressão (Meltzer & Lowy, 1987), percepção do apetite e emoção (Hoyer, *et al.*, 1994; Roth, 1994). A droga R-96544 [cloridrato de 4-hidroxi-2-[2-[2-(3-metoxi)-fenil]etil]fenoxi]etil-1-metilpirrolidina], antagonista competitivo do receptor 5-HT<sub>2A</sub>, vem sendo testada experimentalmente, mostrando-se altamente seletiva. Ela produz inibição da agregação plaquetária induzida pela serotonina em diversas espécies (Ogawa, *et al.*, 2002).

Periféricamente, receptores 5-HT<sub>2B</sub> expressam-se de forma abundante, mas no SNC, sua presença é mais reduzida. Eles estão envolvidos na patogênese de doenças valvulares cardíacas pelo uso de medicamentos serotoninérgicos, como os utilizados em alterações comportamentais, já que esses compostos possuem alta afinidade pelo receptor 5-HT<sub>2B</sub> (Rothman, 2000). Uma única aplicação de um agonista de 5-HT<sub>2B</sub> não altera a frequência da corrente pós-sináptica inibitória GABAérgica evocada de forma espontânea ou por estímulos inspiratórios, mas aplicações repetidas do agonista promove uma diminuição, de mais de uma hora, na frequência destas correntes pós-sinápticas para os neurônios cardíacos vagais dentro do núcleo ambíguo e a inibição destes neurônios são prevenidos pela aplicação do antagonista seletivos de 5-HT<sub>2B</sub>, o SB204741 (Dergacheva, *et al.*, 2007). Isso demonstra a importância do receptor 5-HT<sub>2B</sub> no papel de inibição da neurotransmissão GABAérgica. O receptor 5-HT<sub>2B</sub> atua através da hidrólise do fosfoinositol, como os outros dois subtipos da família 5-HT<sub>2</sub>. O RNAm do receptor 5-HT<sub>2B</sub> foi detectado em baixos níveis no cérebro humano (Kursar *et al.*, 1994), e o receptor de 5-HT<sub>2B</sub> foi mostrado em neurônios do córtex cerebral humano (Bonhaus *et al.*, 1995). Também foi detectado RNAm deste receptor no cérebro de ratos (Duxon *et al.*, 1995) e proteínas do receptor no cerebelo, septo lateral, hipotálamo dorsal e amígdala medial de ratos (Duxon *et al.*, 1997). Análises imunohistoquímicas, de criosecção, de vários tecidos de ratos expressaram receptores 5-HT<sub>2B</sub> no estômago, intestino, músculo liso pulmonar e miocárdio (Choi & Maroteaux, 1996). RNAm de receptores 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>4</sub> foram encontrados em células musculares lisa e endotelial de artéria pulmonar, aorta, coronária, e veia umbilical de humanos. A estimulação do receptor 5-HT<sub>2B</sub> em células endoteliais da artéria cerebral causa liberação de óxido nítrico, que promove relaxamento vascular (Ullmer *et al.*, 1995). Os receptores 5-HT<sub>2B</sub> medeiam sinais mitogênicos e podem estar

envolvidos há hipertensão pulmonar. Em ratos com hipóxia crônica, a 5-HT facilita, cronicamente, a proliferação de células vasculares lisas e o remodelamento vascular pulmonar, através dos receptores 5-HT<sub>2B</sub> (Launay *et al.*, 2002). Embora não haja evidências do envolvimento de 5-HT<sub>2B</sub> na hipertensão pulmonar, uma mutação do gene 5-HT<sub>2B</sub> foi associada com hipertensão pulmonar em pacientes usando fenfluramina por 9 meses (Blanpain *et al.*, 2003). O bloqueio dos receptores 5-HT<sub>2B</sub> em ratos, preveniu a hipertensão pulmonar (Launay *et al.*, 2002). No entanto, o bloqueio do 5-HT<sub>2B</sub> endotelial da artéria pulmonar porcine, impede o relaxamento induzido pelo óxido nítrico (Glusa & Pertz, 2000). Se isso também acontece em humanos, esse bloqueio seria contra-indicado em pacientes com hipertensão pulmonar.

## **1.6 – Vias aferentes e eferentes dos reflexos cardiovasculares**

As vias aferentes de reflexos respiratórios, gustatórios, gastrointestinais, baroreflexo e quimiorreflexo cardiopulmonar fazem sua primeira sinapse no NTS, localizado na região dorso medial do bulbo. Assim, este núcleo participa no controle de diversas funções reflexas autonômicas (Palkovits & Zborszky, 1977; Andresen & Kunze, 1994). Há algumas décadas sabe-se que os neurônios do NTS contribuem para a regulação e integração cardiovascular, produzindo ajustes autonômicos, como os envolvidos no controle da frequência cardíaca e pressão arterial. A ativação desses aferentes cardiovasculares produz uma resposta autonômica específica, por excitação de projeções neurais provenientes do NTS para áreas ventro-laterais do bulbo incluindo núcleo ambíguo, regiões ventro lateral caudal (CVLM) e rostral (RVLM) do bulbo, e, em menor grau, o núcleo motor dorsal do vago (DVM) (Jordan & Spyer, 1986; Sevoz *et al.*, 1997; Fogoros, 1999). O NTS é densamente inervado por terminações serotoninérgicas (Steinbusch, 1981; Sykes *et al.*, 1994) onde fazem sinapse (Maley & Elde, 1982). Essas terminações se originam centralmente do núcleo da rafe (Schaffar *et al.*, 1988), de áreas internas do próprio NTS (Calza *et al.*, 1985) e de aferentes vagais (Nosjean *et al.*, 1990). Especificamente sobre o reflexo BJ, tem-se evidenciado a participação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> bulbares, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> tanto no NTS como em outras áreas do tronco encefálico (Pires *et al.*, 1995; 1998) e receptores 5-HT<sub>7</sub>. A alteração da frequência cardíaca promovida por microinjeção de

agonistas de 5-HT pode ser por estimulação das vias pós-sinápticas locais, interneurônios, ativação de terminais pré-sinápticos, modificação das correntes pós-sinápticas ou por alteração direta das propriedades da membrana dos neurônios cardíacos vagais (O. Dergacheva, *et al.*, 2007).

### **1.7 – Participação dos diferentes subtipos de receptores 5-HT na modulação central do reflexo de Bezold-Jarisch**

Por haver vários subtipos diferentes, a microinjeção de 5-HT no NTS produz efeitos variados sobre o reflexo cardiopulmonar dependendo da dose e do receptor ativado. Bloqueio central de receptores 5-HT<sub>1A</sub> atenua o reflexo parassimpático para o coração de ratos (Bogle *et al.* 1990, Fletcher *et al.*, 1996; Jordan *et al.*, 2005), coelho (Futuro-Neto *et al.* 1993; Skinner *et al.* 2002) e de gatos (Wang & Ramage, 2001) Em um estudo realizado por Skinner *et al.* (2002) em ratos, foi demonstrado que injeções i.c. de buspirona, que é um agonista parcial do receptor 5-HT<sub>1A</sub>, em ratos, potencializaram a bradicardia quando os receptores cardiopulmonares eram estimulados por injeções de fenilbiguanida (PBG) e esse efeito era atenuado quando se fazia pré-tratamento com um antagonista 5-HT<sub>1A</sub>, o WAY-100635. Dois trabalhos pioneiros mostraram que o bloqueio central de receptores 5-HT<sub>1A</sub> inibe o componente vagal tanto do reflexo cardiopulmonar (Bogle *et al.*, 1990) quanto da “resposta de mergulho” induzida por fumaça nas vias aéreas superiores (Futuro-Neto *et al.*, 1993).

Baixas doses de 5-HT promovem hipotensão e bradicardia (Laguzzi *et al.*, 1984), o que é similar ao efeito observado quando ativa seletivamente os receptores 5-HT<sub>2</sub> (Shvaloff & Laguzzi 1986; Merahi *et al.*, 1992; Merahi & Laguzzi, 1995) e quando os aferentes vagais cardiopulmonares são estimulados (Verberne & Guyenet, 1992). Sévoz *et al.* (1996a), sugerem que esses aferentes e os efeitos mediados pela ativação dos receptores 5-HT<sub>2</sub> possuem a mesma via central. Os efeitos hipotensivos eram atenuados tanto por antagonistas dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Itoh & Bunag, 1991) como do 5-HT<sub>2</sub> (Shvaloff & Laguzzi, 1986a; Merahi *et al.*, 1992). Estudos sugeriram que a serotonina, atuando sobre os receptores 5-HT<sub>2</sub> no NTS, interferem no controle reflexo da pressão arterial através da modulação da transmissão glutamatérgica (Merahi *et al.*, 1992a) e estudos eletrofisiológicos

mostraram que a aplicação, microiontoforética, de agonista de 5-HT<sub>2</sub>, pode excitar neurônios no NTS que recebem impulsos aferentes vagais (Wang *et al.*, 1997), incluindo os neurônios originados do barorreceptores e quimioceptores cardiopulmonares (Sévoz-Couche *et al.*, 2000c) e microinjeção bilateral de baixas doses de antagonista, deste mesmo receptor, no NTS, potencializou a bradicardia tanto do barorreflexo quanto do cardiopulmonar e esse efeito pode ser prevenido pela aplicação local de ketanserina, que é um antagonista seletivo deste receptor (N'Diaye, *et al.*, 2001). Essa bradicardia também pode ser prevenida pela aplicação de ácido kinurênico no núcleo ambíguo (Sévoz *et al.*, 1996a). No trabalho mais recente sobre a participação dos receptores 5-HT<sub>2</sub>, os pesquisadores fizeram uma administração de DOI (agonista de 5-HT<sub>2</sub>) no NTS. A aplicação de antagonista seletivo de 5-HT<sub>2A</sub>, aboliu as respostas de bradicardia e hipotensão do DOI, enquanto que a aplicação de antagonistas dos outros subtipos, <sub>2B</sub> e <sub>2C</sub>, não tiveram efeitos.

A ketanserina, um antagonista não-seletivo de receptores 5-HT<sub>2A</sub>, tem sido capaz de reduzir a pressão arterial em pacientes e animais, possuindo efeitos terapêuticos, diminui a pressão arterial sistólica e diastólica em pacientes com hipertensão crônica e nas doenças vasculares periféricas (Vanhoutte *et al.*, 1988; Brogden & Sorkin, 1990) e exerce um efeito cárdio-protetor no miocárdio isquêmico (Grover *et al.*, 1993). A ketanserina tem propriedades vasodilatadoras na circulação pulmonar e sistêmica. Tratamento em longo prazo com ketanserina diminuiu significativamente a variabilidade da pressão arterial, melhorou a função barorreflexa anteriormente afetada e impediu a lesão de órgãos-alvo em ratos espontaneamente hipertensos (Du *et al.*, 2003 e Miao *et al.*, 2003). O sarpogrelato é um antagonista seletivo de 5-HT<sub>2A</sub> que foi proposto como agente terapêutico para tratamento de doenças isquêmicas associadas com trombose (Ito & Notsu, 1991); esta droga também inibe o espasmo da artéria coronária induzido por serotonina (Miyata *et al.*, 2000). Seu papel na terapêutica, entretanto, ainda não foi suficientemente estabelecido.

Altas doses de serotonina provocaram o efeito oposto de baixas doses, causando hipertensão e taquicardia (Wolf *et al.*, 1981; Laguzzi *et al.*, 1984; Itoh & Bunag, 1991; Merahi *et al.*, 1992) e esse efeito era bloqueado por antagonistas do receptor 5-HT<sub>3</sub> (Merahi *et al.*, 1992) e mimetizados por agonistas do receptor 5-HT<sub>3</sub> no NTS (Merahi *et al.*, 1992b; Merahi e Laguzzi, 1995; Sévoz *et al.*, 1996b) e no

núcleo da rafe (Wolf *et al.*, 1985). Pires *et al.* (1995), administraram um antagonista de 5-HT<sub>3</sub> i.c. e observaram significativa atenuação da bradicardia reflexa e em 1998 observaram que microinjeção no NTS atenua tanto a bradicardia quanto a hipotensão reflexa mas não afeta a frequência cardíaca basal nem a pressão arterial. Além disso, microinjeção bilateral de agonista de 5-HT<sub>3</sub> no NTS de ratos acordados, atenuou a bradicardia e hipotensão causados pelo reflexo cardiopulmonar (Leal *et al.*, 2001). Esses resultados, mostram que a participação da 5-HT nessa regulação cardiovascular tem sido controversa. Jeggo *et al.* (2005), registraram neurônios do NTS que recebiam impulsos quando fibras aferentes cardiopulmonares eram estimuladas. A aplicação iontoforética de PBJ potencializou a resposta do nervo vago e um antagonista (granisetrona) atenuou os impulsos. Aplicação de AMPA e NMDA também excitou os neurônios no NTS que foram bloqueados pelo uso de seus antagonistas. Esse bloqueio ocorria juntamente com a diminuição da atividade dos neurônios que recebiam impulsos cardiopulmonares. Essa resposta excitatória dos receptores 5-HT<sub>3</sub> pode ser, em parte, por ação pós-sináptica e também por facilitação da liberação de glutamato.

Quanto à participação dos receptores 5-HT<sub>7</sub>, os estudos ainda estão no seu início. Foi recentemente demonstrado que a microinjeção i.c. de antagonista de 5-HT<sub>7</sub> também atenuou as respostas cardiovasculares do reflexo B.J. (Damaso *et al.*, 2007; Kellett *et al.*, 2005).

Aplicação central de agonistas do receptor 5-HT<sub>1A</sub> aumentou a eferência vagal para o coração em gatos anestesiados (Shepherd *et al.*, 1994), em ratos (Sporton *et al.*, 1991) e coelhos (Dando *et al.*, 1998) e isto estava associado com hipotensão e simpatoinibição. Esses efeitos vagais para o coração, podem ser devido a ações ao nível do NTS onde aferentes cardiovasculares terminam (Jordan & Spyer, 1986; Lawrence & Jarrot, 1996) e/ou no núcleo DMV e/ou NA, que são as localizações dos neurônios pré-ganglionares vagais (Nosaka *et al.*, 1982; Jordan *et al.*, 1982). Além disso, microinjeções de agonistas do receptor 5-HT<sub>1A</sub> dentro do núcleo DMV (Sporton *et al.*, 1991) ou em NA (Izzo *et al.*, 1988; Chitravanshi & Calaresu, 1992) provocaram bradicardia vagal. Isso é consistente com a presença de receptores 5-HT<sub>1A</sub> nessa região em ratos (Pazos & Palácios, 1985; Thor *et al.*, 1992) e humanos (Pazos *et al.*, 1987) e com a demonstração que fibras contendo imunoreatividade para 5-HT inervam essas áreas, onde elas fazem contato sináptico com neurônios cardíacos pré-ganglionares vagais (Izzo *et al.*, 1993). Pesquisadores investigaram

neurônios que eram excitados a partir da estimulação elétrica do nervo vago e aplicaram drogas nestes neurônios. Agonista (sumatriptano) de 5-HT<sub>1B/1D</sub> produziu redução na frequência de disparo. A ketanserina atenuou essa redução quando co-aplicado com o sumatriptano, mas se aplicado com antagonista de 5-HT<sub>1B</sub> produzia potencialização da inibição. Eles concluem que os receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> têm ação oposta no NTS e como ambos são negativamente acoplados à adenilato ciclase, isso indica que eles tem localização diferente dentro do NTS (Jeggo *et al.*, 2007). O agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> flesinoxan, promove queda da pressão arterial em pacientes hipertensos (DeVoog & Proger, 1990) e em animais (Ramage *et al.*, 1988), entretanto ocorre tolerância e também mudanças comportamentais no homem, como efeitos colaterais, o que inviabiliza sua utilização como anti-hipertensivo.

Fu & Longhurst (2002) relataram que durante isquemia do miocárdio a ativação plaquetária estimula os aferentes cardíacos simpáticos através do 5-HT<sub>3</sub>. Estimulação de 5-HT<sub>3</sub> nos terminais dos aferentes cardíacos vagais produz hipotensão e bradicardia e a maioria dos trabalhos experimentais com o reflexo de BJ prefere o método de estimulação das fibras aferentes vagais com administração periférica de fenilbiguanida (PBG), um agonista seletivo de receptores 5-HT<sub>3</sub>. Este método de ativação de aferências vagais tem sido usado, pelo fato da PBG ativar seletivamente fibras aferentes vagais tipo C amielínicas, existentes na região cardiopulmonar e também por não sensibilizar os barorreceptores sinoaórticos. Embora a própria serotonina seja ainda hoje usada, a PBG parece ser melhor, pois a serotonina, quando injetada i.v. causa contração da musculatura lisa, alterações na pressão arterial sistêmica, que complicam o estudo do reflexo, enquanto que a PBG, afeta seletivamente receptores cardiopulmonares serotoninérgicos sensíveis (Bogle *et al.*, 1990; Dawes & Mott, 1950; Fastier *et al.*, 1959), com menor probabilidade de taquifilaxia e de outros efeitos secundários.

## **1.8 – Considerações finais**

Conforme ressaltado anteriormente, a ativação dos reflexos cardiopulmonares, em sentido amplo, envolve o estímulo de fibras aferentes mielínicas e amielínicas, as quais produzem reflexos simpato-excitatórios e simpato-

inibitórios, respectivamente (Aviado *et al.*, 2001). Os reflexos simpato-inibitórios, no entanto, devido ao seu efeito cardio-inibitório (particularmente o reflexo de Bezold-Jarisch), têm merecido grande atenção dos pesquisadores, por exemplo, na hipertensão arterial.

Diante da relevância dos estudos do papel dos receptores 5-HT na modulação central de reflexos cardiogênicos, escolhemos como modelo experimental, o reflexo de Bezold-Jarisch, para a investigação dos efeitos do R-96544 (antagonista seletivo de 5-HT<sub>2A</sub>; (Ogawa, *et al.*, 2002) e do SB-204742 (antagonista seletivo de 5-HT<sub>2B</sub>;) (Forbes, *et al.*, 1995), sobre a bradicardia vagal, desencadeada pela fenilbiguanida em ratos. A maioria dos trabalhos, envolvendo os receptores 5-HT<sub>2</sub> nos reflexos cardiopulmonares, mostra ser necessária a realização de estudos que determinem quais dos seus subtipos de receptores medeiam os efeitos ocorridos durante a ativação do reflexo BJ. Assim, o presente estudo se propõe a examinar a participação de cada um destes receptores no reflexo BJ, em particular na sua “alça” parassimpática para o coração.

# **OBJETIVOS**



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência de antagonistas seletivos dos receptores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub>, sobre a bradicardia vagal do reflexo cardiopulmonar (reflexo de Bezold-Jarisch modificado), em ratos anestesiados.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Determinar os efeitos da microinjeção intracisternal de R-96544 (antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>2A</sub>) e de SB-204741 (antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>2B</sub>) sobre os parâmetros hemodinâmicos basais de PAM e FC em ratos anestesiados, pré-tratados com atenolol intravenoso.
- 2- Verificar, através da estimulação química com fenilbiguanida (PBG) i.v., o comportamento do reflexo de Bezold-Jarisch em ratos anestesiados, pré-tratados com atenolol, submetidos à microinjeção intracisternal (i.c.) de R-96544, SB-204741 ou veículo.

# **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos Wistar, machos, com massa entre 250 e 270 gramas, criados e fornecidos pelo biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, com água tratada e alimento *ad libitum*. O controle da luminosidade era próximo às condições naturais, com ciclo de 12 horas, respeitando o artigo nº 10 dos princípios éticos na experimentação com animais, que diz que os alojamentos devem propiciar condições adequadas de saúde e conforto, conforme as necessidades das espécies animais mantidos pela experimentação (UNIFESP, 2004).

### 3.2 ANESTESIA

Cada animal era inicialmente colocado em uma cuba de vidro (3 dm<sup>3</sup>) contendo algodão hidrófilo embebido com éter etílico PA, para indução anestésica por inalação. Os animais foram fixados em decúbito dorsal a uma tábua cirúrgica de madeira e mantidos sob anestesia por inalação através de uma máscara feita com béquer de 125 mL revestido internamente com algodão embebido em éter etílico. Esse procedimento se justifica para que se torne possível a canulação da veia femoral e administrado o anestésico geral intravenosamente (i.v).

Após a canulação da veia femoral o béquer foi retirado e a anestesia mantida com uretana (ethyl carbamate – Sigma Chemical) na dose de 1,2 g kg<sup>-1</sup> pela via endovenosa. Esse anestésico promove apenas uma pequena depressão dos reflexos cardiovasculares e respiratórios do animal, mantendo um longo período de anestesia.

Pequenas doses suplementares de uretana eram administradas durante a realização do experimento, sempre que necessário, a fim de manter o nível anestésico ideal. O plano anestésico, por sua vez, foi avaliado por meio de reflexos da córnea e o reflexo de retirada, de modo a respeitar o artigo nº 8 do código de ética na experimentação com animais que diz que se deve assegurar sedação,

analgesia ou anestesia quando se estabelecer o desencadeamento de dor ou angústia, rejeitando sob qualquer argumento ou justificativa, o uso de agentes químicos e/ou físicos paralisantes ou não anestésicos (UNIFESP, 2004).

### 3.3 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

#### 3.3.1 Canulação

Uma pequena incisão cutânea de aproximadamente 1 cm, era feita na linha mediana ventral da região inguinal esquerda, próximo a virilha do animal, com a finalidade de dissecar a veia e a artéria femoral esquerda. Para a canulação da veia femoral, foi inserido um cateter de polietileno PE-50, preenchido com solução de uretana acoplado a uma seringa de 1 mL. Após realizar a traqueostomia, a artéria femoral foi canulada utilizando-se um cateter de polietileno PE 50 preenchido com salina-heparina (0,9%, 100:1/UI, respectivamente) acoplado a uma seringa de 1 mL.

#### 3.3.2 Traqueostomia

Para a colocação da cânula traqueal, foi feita uma incisão de aproximadamente 5 cm na linha mediana cervical ventral, com exposição e afastamento dos músculos esterno-hioídeo e tireo-hioídeo, para a visualização da traquéia. A incisão cirúrgica foi feita entre os anéis traqueais cartilagosos e em seguida, inserido o tubo de polietileno com 0,2 mm de diâmetro interno e 6,0 cm de comprimento, interiorizando aproximadamente 1 cm na traquéia. Este procedimento cirúrgico foi realizado para facilitar a respiração espontânea do animal, durante a realização do experimento.

#### 3.3.3 Acesso cirúrgico à cisterna magna

Após canulações e intubação o animal foi colocado em decúbito ventral na tábua cirúrgica. Uma incisão, no sentido antero-posterior, da linha mediana do crânio do animal, permitia a exposição da calota craniana e dos músculos trapézio, esplênio da cabeça e semiespinhal. Os dois primeiros músculos eram cortados em

suas inserções na crista óssea mediana e afastados lateralmente. O animal era, então, fixado a um aparelho esterotáxico (Stoelting, Lab Standard 51603) por meio de duas barras auriculares colocadas no meato auditivo externo e a barra incisiva ajustada em -11 mm, ficando a cabeça fletida num ângulo de aproximadamente 45° em relação ao eixo horizontal. Nesta posição, o músculo semiespinhal era desconectado do osso occipital usando-se uma espátula. Esses procedimentos permitem a visualização da membrana atlanto occipital e da cisterna magna.

Uma agulha Mizze foi introduzida na cisterna magna, conectada a uma cânula de PE-10 (25 cm de comprimento) preenchida com a solução-teste, por meio de uma microseringa (Hamilton®). As injeções intracisternais eram realizadas em volumes de 10 µl e no tempo de 20 segundos.

### 3.4 TEMPERATURA CORPORAL

Durante todo o experimento, a temperatura corporal do animal foi mantida em  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , por meio de uma manta térmica (Harvard Homeothermic Blanket Control Unit), com o sensor (par termoeletrico) posicionado no reto do animal.

### 3.5 REGISTROS HEMODINÂMICOS

A pressão arterial pulsátil (PAP) e a pressão arterial média (PAM) foram registradas através de uma cânula inserida na artéria femoral esquerda, ligada a um transdutor de pressão (Viggo-Spectramed, P 23 XL), conectado a um amplificador (Pressure Processor, Gould, 20-4615-526611). Os registros desses sinais foram feitos por um polígrafo de quatro canais (Gould RS 3400), previamente calibrado. A frequência cardíaca (FC) foi medida com um frequencímetro (Biotach, Gould 13-64615 – 66) a partir da onda de pulso de pressão arterial. Os registros da PAP, PAM, e FC foram digitalizados (Biopac MP100) e armazenados no disco rígido de um computador PC para posterior análise.

### 3.6 DESENCADEAMENTO DO REFLEXO DE BEZOLD-JARISCH (BJ)

O reflexo cardiopulmonar de BJ foi desencadeado nos ratos anestesiados e pré-tratados com atenolol por injeção i.v. *in bolus* de fenilbiguanida (PBG), agonista de receptores 5-HT<sub>3</sub>, na dose de 15 µg/kg. A PBG foi administrada após um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares subseqüentes à injeção de atenolol (1mg/kg i.v.). A razão do emprego do atenolol é explicada abaixo. Foram administradas 3 doses de PBG, mantendo-se um intervalo de 15 minutos entre cada injeção, até obter-se três bradicardias similares (conforme descrito em Bogle *et al*, 1990). O reflexo foi novamente desencadeado aos 5, 20, 35 e 50 minutos após as injeções da droga teste ou salina dentro da cisterna magna.

### 3.7 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

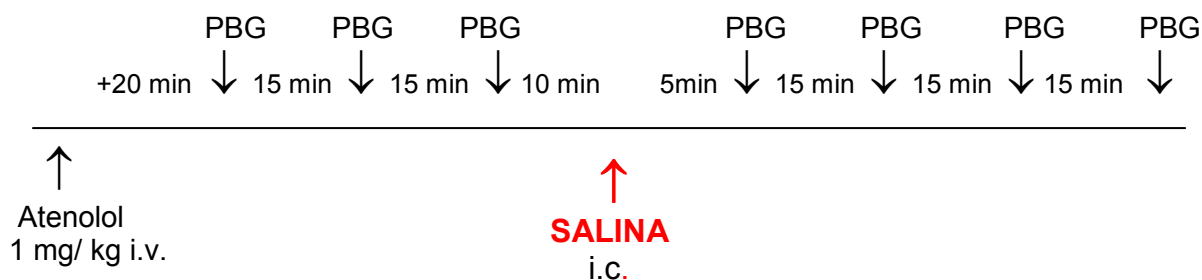
#### 3.7.1 Protocolo geral

Após canulações, traqueostomia, acesso á cisterna magna, posicionamento no estereotáxico e acoplamento para registros hemodinâmicos media-se os valores basais da PAM e FC. Após estabilização dos parâmetros cardiovasculares, fazia-se o bloqueio dos receptores  $\beta_1$  periféricos por Atenolol (1 mg/kg i.v.), para eliminar os efeitos da variação do tônus simpático sobre o coração. Desta forma a resposta bradicárdica observada reflete a excitabilidade dos motoneurônios vagais cardíacos (Bogle *et al*, 1990). O atenolol foi escolhido por ele praticamente não penetrar no SNC (Street *et al.*, 1979) e não possui afinidade por receptores 5-HT (Middlemiss *et al.*, 1977). Vinte minutos após atenolol, fazia-se novas medidas da PAM e FC e induzia o reflexo de B.J. por injeção de PBG 15 µg/kg i.v. mantendo-se em intervalos de 15 minutos entre cada injeção, até conseguir três bradicardias similares, cujo valor médio foi considerado “controle”. 10 minutos após a última injeção de PBG realizava a administração i.c. de salina ou droga teste, num tempo de 20 segundos. No tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após a injeção i.c., refazia os reflexos de BJ. No final de cada experimento era injetado Sky Blue através da cânula, que já estava conectada à cisterna magna. Somente os ratos que tiveram a cisterna magna marcada, foram utilizados para análise dos dados.

### 3.7.2 Protocolos específicos

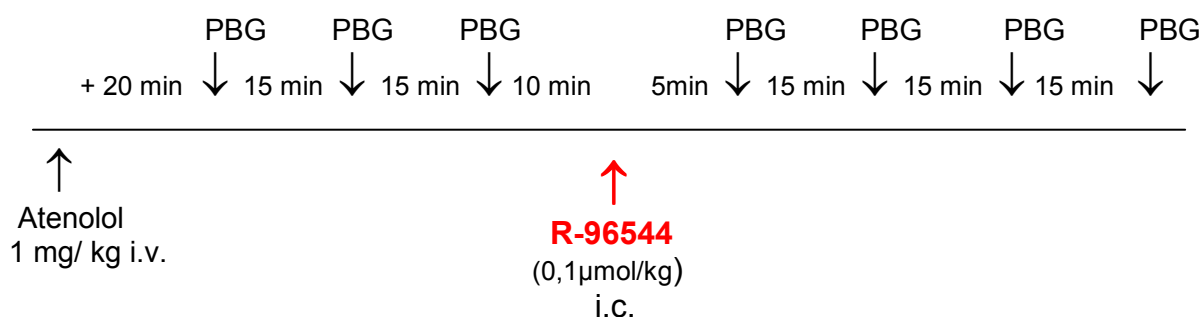
#### 3.7.2.1 Grupo controle – Salina

Esquema da aplicação de salina 10 minutos após último reflexo de BJ e as coletas de resultados após aplicação da droga. N=8



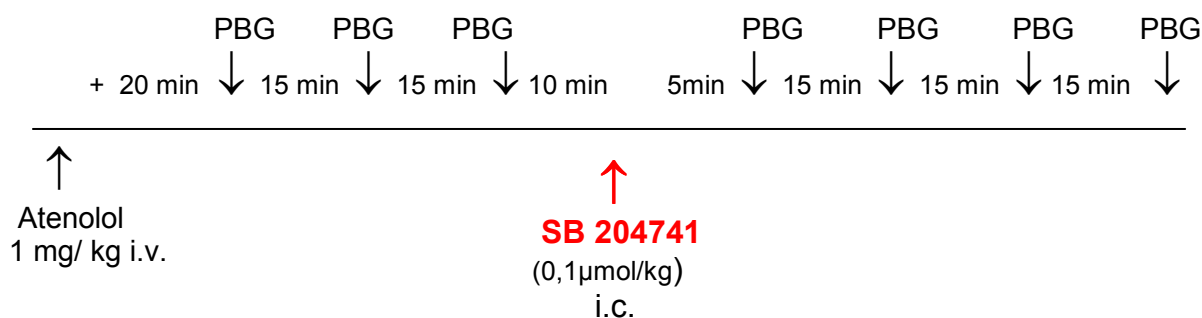
#### 3.7.2.2 Grupo R-96544 (0,1 µmol/kg)

Esquema da aplicação de R-96544 10 i.c. minutos após último reflexo de BJ e as coletas de resultados após aplicação da droga. N= 9



#### 3.7.2.3 Grupo SB 204741 (0,1 µmol/kg)

Esquema da aplicação de SB 204741 10 minutos após último reflexo de BJ e as coletas de resultados após aplicação da droga. N=8



### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A não ser quando explicitado de outra forma, os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para análise estatística foi aplicada ANOVA de uma ou de duas vias, conforme o caso, seguida do teste de Bonferroni. As diferenças estatísticas foram aceitas como significativas para  $p < 0,05$ .

### 3.9. DROGAS E REAGENTES

- Atenolol (Sigma). 1mg/kg. Bloqueador  $\beta_1$  adrenérgico periférico.
- Fenilbiguanida (Aldrich). 0,6mg/kg. Agonista seletivo de receptor 5-HT<sub>3</sub>.
- SB 204741 (Tocris). 0,1 $\mu$ mol/kg. Antagonista seletivo de receptor 5-HT<sub>2B</sub>.
- R9-96544 hydrochloride (Tocris), 1 $\mu$ mol/kg. Antagonista seletivo de receptor 5-HT<sub>2A</sub>.
- Uretana 30% (Sigma). 1,2g/kg. Anestésico geral intravenoso.
- Éter etílico (Isofar).
- Salina heparinizada (Liquemine<sup>®</sup>, Roche). Anticoagulante.
- NaCl a 0,9% (Quimibrás Indústria Química S.A).
- DMSO. (Sigma). Veículo usado para solubilização da SB 204741.
- Pontamine Sky Blue a 2% de concentração final. Marcador.

As soluções das drogas injetadas i.v. foram preparadas em água destilada. As soluções das drogas i.c. foram preparadas com salina 0,9% para o R-96544 e DMSO para o SB 204741. Foi feito um grupo de ratos (n=4) com DMSO para servir de controle.



# **RESULTADOS**

## 4 RESULTADOS

### 4.1 GRUPO SALINA

#### 4.1.1 Efeitos intrínsecos da salina (10 $\mu$ L i.c.) sobre a FC e PAM basais

Os valores de PAM e FC aferidos respectivamente antes ( $98\pm 3$  mmHg,  $355\pm 13$  bpm) e após ( $98\pm 3$  mmHg,  $370\pm 17$  bpm) a administração de salina i.c. , não demonstraram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 1 e 2 do anexo 1) (Fig 1A e 1B).

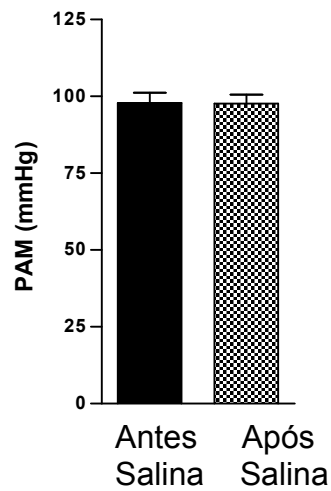


Fig. 1A- Valores médios da PAM basal antes e após microinjeção de salina 10  $\mu$ L i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

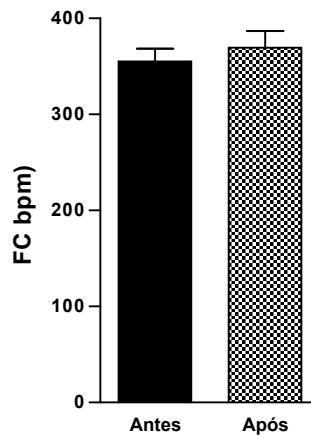


Figura 1B- Valores médios da FC basal antes e após microinjeção de salina 10  $\mu$ L i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

#### 4.1.2 Efeitos da salina (10 $\mu$ L i.c.) no $\Delta$ PAM e no $\Delta$ FC do reflexo de BJ

A salina i.c. não alterou significativamente a variação da PAM no reflexo BJ (antes:  $\Delta = -44 \pm 5$  mmHg) nos intervalos de tempo de 5, 20, 35 e 50 min após sua administração ( $\Delta = -42 \pm 6$  mmHg;  $-41 \pm 4$  mmHg;  $-35 \pm 6$  mmHg;  $-36 \pm 6$  mmHg, respectivamente). Também não houve alteração significativa na variação da FC nos reflexos BJ após a microinjeção de salina i.c. (antes  $\Delta = -203 \pm 14$  bpm; 5min  $\Delta = -199 \pm 15$  bpm; 20min  $\Delta = -203 \pm 13$  bpm; 35min  $\Delta = -204 \pm 21$  bpm; 50min  $\Delta = -210 \pm 18$  bpm). (Tabela 3 e 4 do anexo 1) (Figura 2A e 2B).

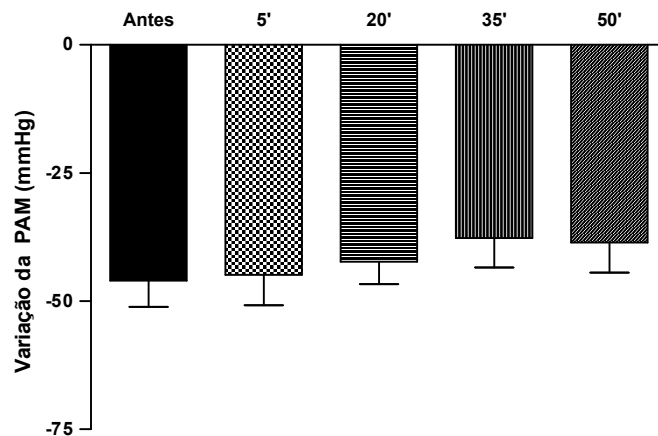


Fig. 2A- Média de variação da pressão arterial média durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após microinjeção de salina 10  $\mu$ L i.c., nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

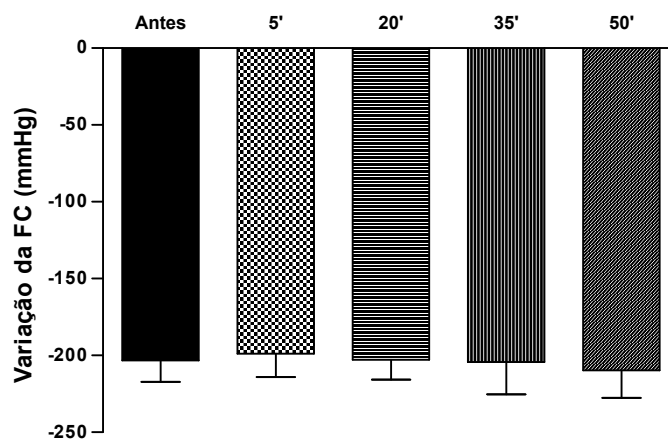


Fig. 2B- Média de variação da frequência cardíaca durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após microinjeção de salina 10  $\mu$ L i.c., nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

## 4.2 GRUPO R-96544 - ANTAGONISTA DE 5-HT<sub>2A</sub>

### 4.2.1 Efeitos intrínsecos do R-96544 (0,1µmol/kg) (10 µL i.c.) sobre a PAM e FC basais

Os valores de PAM e FC aferidos respectivamente antes (90±4 mmHg, 342±10 bpm) e após (87±4mmHg, 350±9 bpm) à administração de R-96544 i.c., não demonstraram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 5 e 6 do anexo 2). (Fig 3A e 3B).

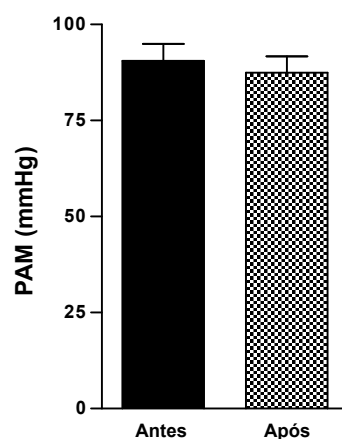


Fig. 3A- Valores médios da PAM basal antes e após microinjeção de R-96544 (0,1µmol/kg) i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

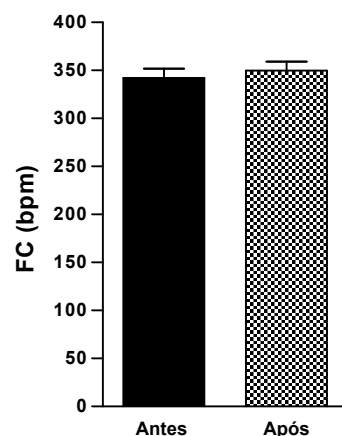


Fig. 3B- Valores médios da FC basal antes e após microinjeção de R-96544 (0,1µmol/kg) i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

#### 4-2.2 Efeitos do R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c. na $\Delta$ PAM e na $\Delta$ FC sobre o reflexo de BJ

A figura 4 é um registro de um experimento típico onde podemos observar o efeito do antagonista de 5-HT<sub>2A</sub> quando microinjetado na cisterna magna. Observou-se uma atenuação das alterações reflexas da PAM e da FC ao induzir o reflexo BJ com PBJ i.v.

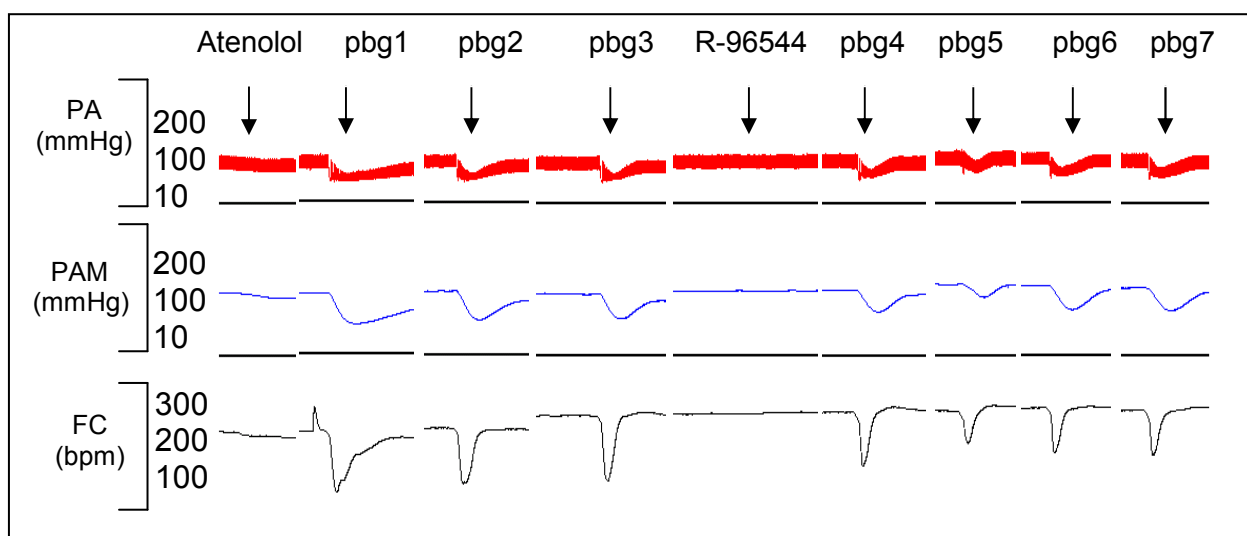


Fig. 5- Registro hemodinâmico da pressão arterial pulsátil (PAP), a pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), medida com um frequencímetro a partir da onda de pulso de pressão arterial. Esse registro demonstra a atenuação das bradicardias e da hipotensão sob o reflexo BJ, após a aplicação de R-96544 i.c.

Houve alteração significativa na variação da PAM no reflexo BJ nos tempo de 5, 20, e 50 min após a administração de R-96544 i.c. (antes:  $\Delta = -42 \pm 3$  mmHg; 5min  $\Delta = -29 \pm 3$  mmHg,  $p < 0,01$ ; 20min  $\Delta = -30 \pm 4$  mmHg,  $p < 0,01$ ; 50min  $\Delta = -32 \pm 3$  mmHg,  $p < 0,05$ ). Também houve alteração significativa na variação da FC em todos os reflexos BJ após a microinjeção (antes:  $\Delta = -200 \pm 11$  bpm; 5min  $\Delta = -121 \pm 21$  bpm,  $p < 0,01$ ; 20min  $\Delta = -85 \pm 12$  bpm,  $p < 0,01$ ; 35min  $\Delta = -84 \pm 10$  bpm,  $p < 0,01$ ; 50min  $\Delta = -107 \pm 19$  bpm,  $p < 0,01$ ). (Tabela 7 e 8 do anexo 2) (Figura 4A e 4B).

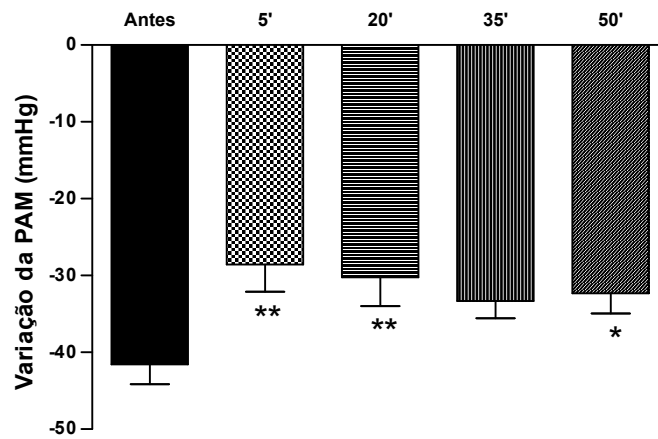


Fig. 4A - Variação da pressão arterial média durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após a injeção intracisternal de R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) em ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

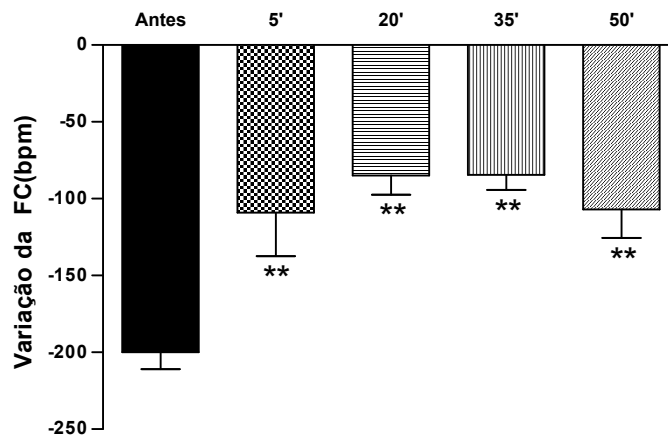


Fig. 4B- Média de variação da frequência cardíaca durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após microinjeção de R-96544 0,1 $\mu$ mol/kg i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

### 4.3 GRUPO SB-204741 - ANTAGONISTA DE 5-HT<sub>2B</sub>

#### 4.3.1 Efeitos intrínsecos do SB-204741 (0,1µmol/kg) (10 µL i.c.) sobre a PAM e FC basai.

Os valores basais de PAM (antes 82±3 mmHg vs 79±3 mmHg) não diferiram significativamente com o uso desta droga. Houve diferença estatisticamente significativa nos valores da FC após a administração de SB-204741 i.c. (307±17 bpm vs 373±10 bpm, p<0,05) (Tabela 9 e 10 do anexo 3). (Fig 5A e 5B).

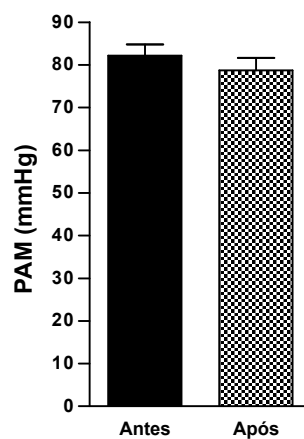


Fig. 5A- Valores médios da PAM basal antes e após microinjeção de SB-204741 (0,1µmol/kg) i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

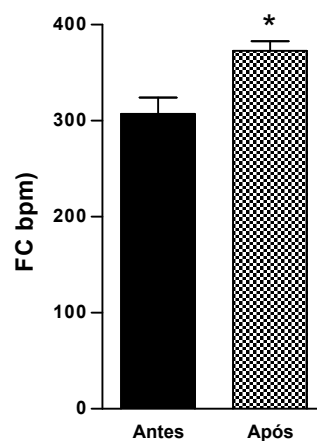


Fig. 5B- Valores médios da FC basal antes e após microinjeção de SB-204741 (0,1µmol/kg) i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

#### 4-3.2 Efeitos do SB-204741 (0,1 $\mu\text{mol/kg}$ ) i.c. na $\Delta$ PAM e na $\Delta$ FC sobre o reflexo de BJ

A figura 6 é um registro de um experimento típico onde podemos observar o efeito do antagonista de 5-HT<sub>2B</sub> quando microinjetado na cisterna magna. Observou-se que não houve alterações reflexas da PAM e da FC ao induzir o reflexo BJ com PBJ i.v.

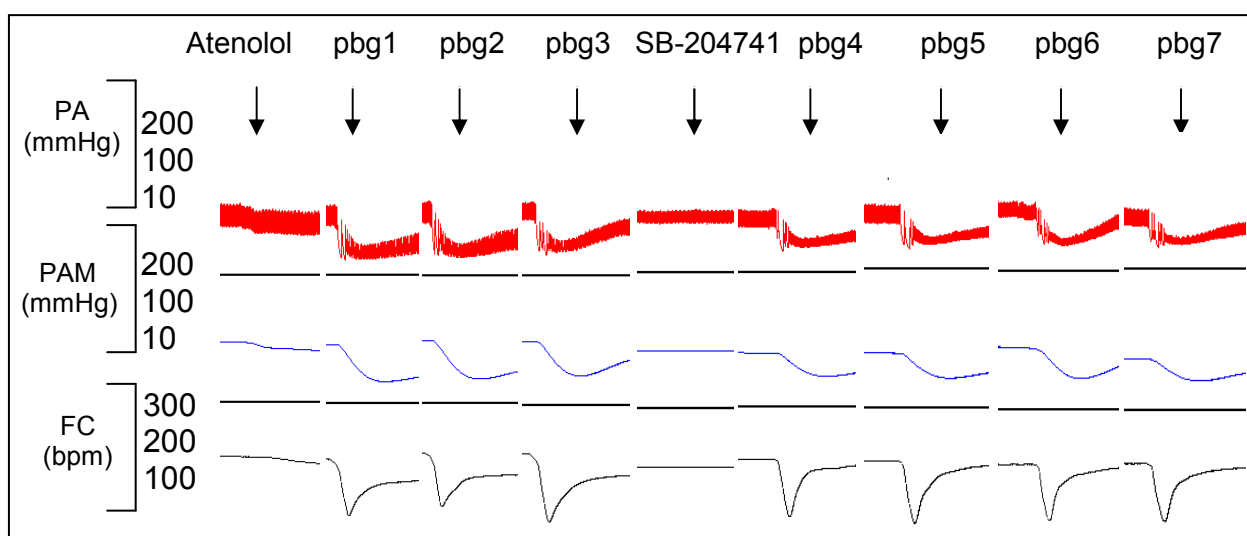


Fig. 6- Registro hemodinâmico da pressão arterial pulsátil (PAP), a pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), medida com um frequencímetro a partir da onda de pulso de pressão arterial. Esse registro demonstra a atenuação das bradicardias e da hipotensão sob o reflexo BJ, após a aplicação de SB-204741 i.c.

O SB-204741, 0,1 $\mu\text{mol/kg}$ , não alterou a variação da PAM no reflexo BJ (antes:  $\Delta = -41 \pm 3$  mmHg; vs 5min  $\Delta = -30 \pm 3$  mmHg; 20min  $\Delta = -34 \pm 4$  mmHg; 35 min  $\Delta = -33 \pm 3$  mmHg; 50min  $\Delta = -30 \pm 3$  mmHg). (Tabela 11 do anexo 3) (Figura 6A).



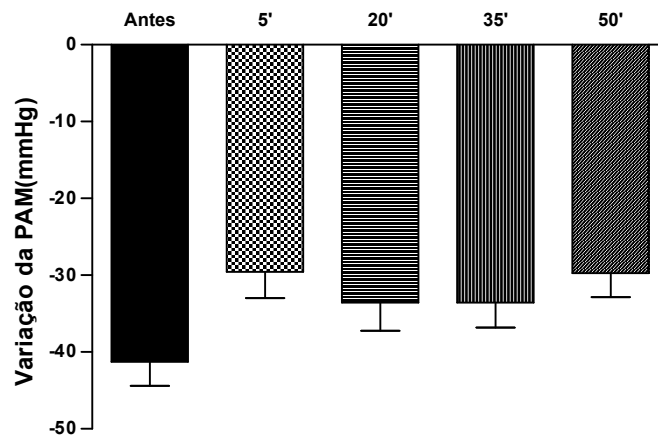


Fig. 6A- Média de variação da pressão arterial média durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após microinjeção de SB-204741 (0,1  $\mu\text{mol/kg}$  i.c.) nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

O SB-204741, 0,1  $\mu\text{mol/kg}$ , não promoveu variação da FC no reflexo BJ (antes:  $\Delta = -185 \pm 12$  bpm; vs 5min  $\Delta = -179 \pm 17$  bpm; 20min  $\Delta = -188 \pm 19$  bpm; 35min  $\Delta = -208 \pm 11$  bpm; 50min  $\Delta = -187 \pm 22$  bpm). (Tabela 12 do anexo 3) (Figura 6B).

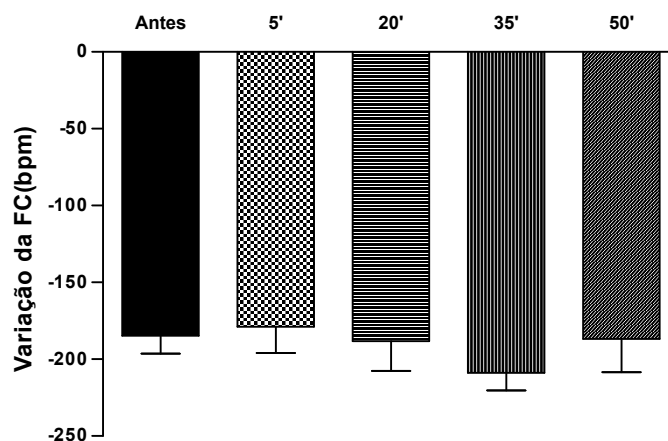


Fig. 6B- Média de variação da frequência cardíaca durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após microinjeção de SB-204741 0,1 $\mu\text{mol/kg}$  i.c. nos ratos anestesiados pré-tratados com atenolol.

#### 4.4 COMPARAÇÃO DA VARIAÇÃO DA PAM E FC NOS REFLEXO BJ, ENTRE OS GRUPOS SALINA, R-96544 E SB-204741

Ao comparar as médias das variações da PAM dos grupos experimentais, após microinjeção i.c. das drogas teste, com as variações ocorridas no grupo controle (salina i.c), observa-se que houve alteração significativa após microinjeção de R-96544 comparado ao grupo controle nos tempos 5 e 20 minutos (controle:  $\Delta PAM = -42 \pm 6$  mmHg e  $-41 \pm 4$  mmHg) respectivamente; (R-96544:  $\Delta PAM = -29 \pm 3$  mmHg,  $p < 0,05$ ; e  $-30 \pm 4$  mmHg,  $p < 0,05$ ) respectivamente. Comparando o grupo de SB-204741 com o controle, também houve alteração significativa aos 5 e 20 minutos após sua administração i.c. ( $\Delta PAM = -30 \pm 3$  mmHg,  $p < 0,05$  e  $-34 \pm 4$  mmHg) respectivamente (Tabela 13 do anexo 4) (Figura 7A).

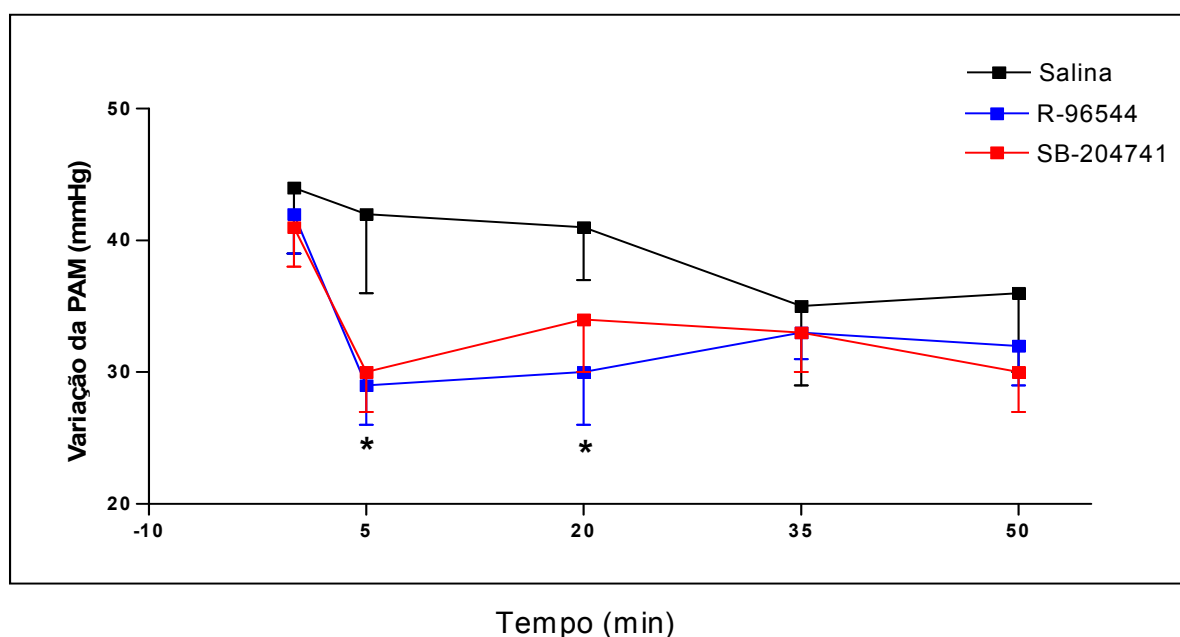


Fig. 7A- Comparação da média dos valores de variação da PAM entre os grupos salina i.c. (controle), R-96544 0,1 $\mu$ mol/kg i.c. e SB-204741 0,1 $\mu$ mol/kg i.c. durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após aplicação da droga teste.

Ao comparar as médias das variações da FC dos grupos experimentais, após microinjeção i.c. das drogas teste, com as variações ocorridas no grupo controle (salina i.c), observa-se que houve atenuação significativa após microinjeção de R-96544 nos tempos 5, 20, 35 e 50, respectivamente, em  $\Delta FC$  ( $-121 \pm 21$  bpm  $p < 0,01$ ;  $-85 \pm 12$  bpm  $p < 0,01$ ;  $-84 \pm 10$  bpm  $p < 0,01$ ;  $-107 \pm 19$  bpm  $p < 0,01$ ) comparado ao mesmo tempo do grupo controle ( $-199 \pm 15$  bpm;  $-203 \pm 13$  bpm;  $-204 \pm 21$  bpm;  $-210 \pm 18$  bpm). Comparando o grupo de SB-204741 com o grupo controle, não houve alteração significativa em nenhum dos tempos após sua administração i.c. ( $-179 \pm 17$  bpm;  $-184 \pm 19$  bpm;  $-208 \pm 11$  bpm;  $-187 \pm 22$  bpm) (Tabela 13 do anexo 4) (Figura 8A).

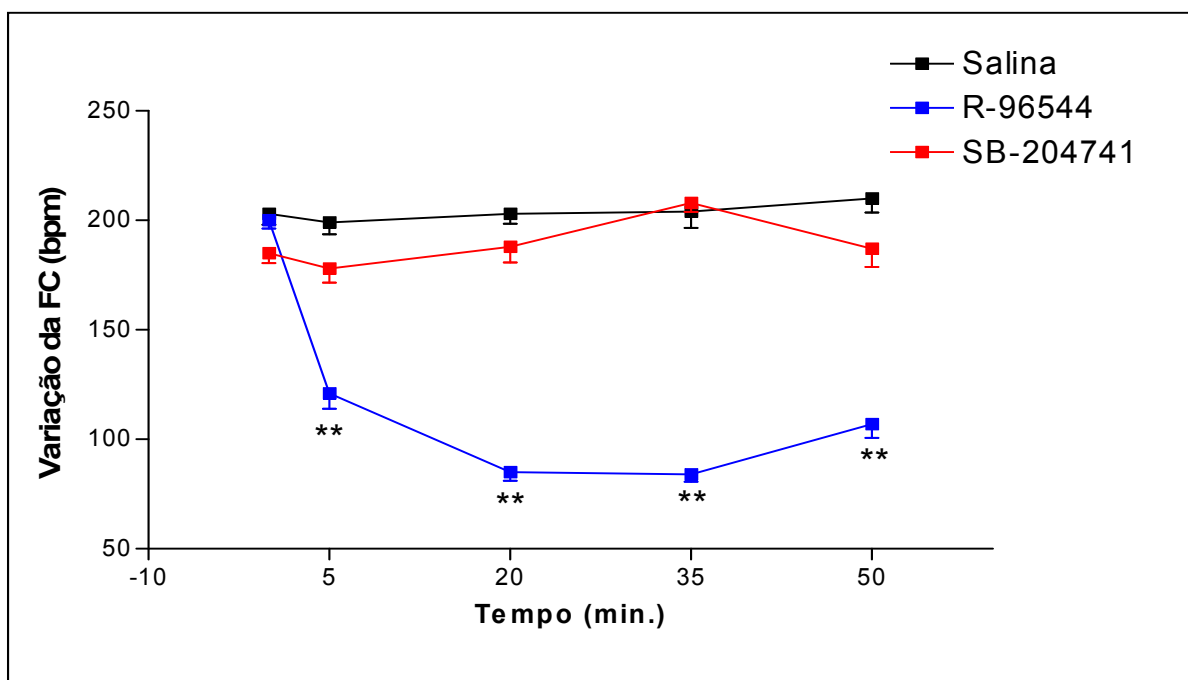


Fig. 7B- Comparação da média dos valores de variação da FC entre os grupos salina i.c. (controle), R-96544 0,1 $\mu$ mol/kg i.c e SB-204741 0,1 $\mu$ mol/kg i.c. durante o desencadeamento do reflexo BJ antes e nos tempos 5, 20, 35 e 50 minutos após aplicação da droga teste.

# **DISCUSSÃO**

## 5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A investigação do papel dos receptores 5-HT<sub>2</sub> na regulação cardiovascular central tem sido controversa, já que existem três subtipos desses receptores e diferenças de ativação neuronal quando a via é monossináptica ou polissináptica. O presente experimento utilizou a PBG para a ativação química dos receptores cardiopulmonares. Essa droga foi escolhida por estimular seletivamente fibras C-vagais existentes na área cardiopulmonar, sem ativação antidrômica das fibras eferentes vagais (Thorén, 1979), como ocorre com estimulação elétrica do tronco vagal seccionado; além de não estimular os receptores atriais do tipo A ou B (Paintal, 1955) nem sensibilizar os barorreceptores sinoatriais (Mott & Paintal, 1953). Com a PBG o reflexo de BJ pode ser obtido várias vezes, enquanto que outras substâncias quando injetadas repetidamente, levam facilmente ao fenômeno de taquifilaxia (Dawes & Mott, 1950). O estudo foi realizado em ratos anestesiados e pré-tratados com atenolol, sugerindo que receptores 5-HT<sub>2A</sub> centrais estão envolvidos na ativação reflexa das vias parassimpáticas para o coração, desencadeada por PBG intravenosa. Esta sugestão pode ser feita pois o atenolol, por ser um antagonista  $\beta_1$ -adrenérgico seletivo, não cruzar a barreira hematoencefálica nem interagir com receptores 5-HT, permite que se remova a influência da variação do tônus simpático sobre a frequência cardíaca (Bogle *et al.*, 1990). Mostrou-se que a injeção central de antagonista seletivo do receptor 5-HT<sub>2A</sub> atenuou a bradicardia vagal promovida pela ativação do reflexo BJ, através da

estimulação de fibras aferentes cardiopulmonares com o uso de PBG. Este efeito parece ser devido ao bloqueio dos receptores 5-HT<sub>2A</sub>, localizados no tronco encefálico, pelo R-96544, já que o bloqueio seletivo dos receptores 5-HT<sub>2B</sub> não alterou a bradicardia do reflexo. Como foi administrado atenolol antes da ativação do reflexo B.J., podemos atribuir as alterações reflexas ocorridas na frequência cardíaca, ao componente vagal do reflexo (Bogle *et al.* 1990). Parece que os receptores 5-HT<sub>2A</sub> não são ativados tonicamente, mas são recrutados durante o reflexo BJ, já que não promoveram nenhuma mudança nos parâmetros cardiovasculares basais. Damaso *et al.* (2007), também não observaram alterações da frequência cardíaca basal, mas relatam um aumento da PAM, ao injetar antagonista de 5-HT<sub>7</sub> i.c. em ratos anestesiados. A hipotensão no reflexo BJ ocorre tanto em consequência da bradicardia, como por redução do tônus vasomotor simpático simpático (Bell *et al.*, 1993; De Burgh, *et al.*, 1988), enquanto a bradicardia é uma resposta predominante da ativação parassimpática, sendo praticamente abolida com o uso de atropina (Cao & Morrison, 2000; Verbene & Guyenet, 1992). Alguns estudos mostram que parte residual da bradicardia é atribuída ao componente simpático já que este é abolido pelo uso de antagonista  $\beta$ -adrenérgico (Barron & Bishop, 1982; Zucker & Cornish, 1981). Salo *et al.* (2007), demonstram a atividade do nervo simpático cardíaco possui respostas diversas ao ativar o reflexo BJ. Através de registros neurais, eles observaram que a atividade do nervo simpático cardíaco pode ser inibida, excitada e até mesmo ser inibida seguida de excitação, sendo esta última, a resposta predominante. Esses dados contrariam

a idéia de que sempre havia simpatoinibição durante o reflexo BJ. Esse trabalho também demonstra que diferente dos nervos simpáticos cardíacos, os nervos simpáticos vasomotores sempre apresentavam uma diminuição da sua atividade ao desencadear o reflexo. A simpato-excitação que ocorre após a fase de inibição, não alterou a resposta de bradicardia do reflexo, assim, esses autores sugerem que o reflexo BJ excita uma via monotônica de neurônios cardioinibitórios vagais. Foi sugerido que a simpato-excitação cardíaca pode ser devido a ativação de fibras aferentes simpáticas ou mesmo por ativação de fibras aferentes vagais, pois a excitação simpática cardíaca foi reduzida pela vagotomia.

Vários autores encontraram bradicardia e hipotensão ao microinjetar agonista de receptor 5-HT<sub>2</sub> no NTS (Shvaloff & Laguzzi 1986; Merahi *et al.*, 1992; Merahi e Laguzzi, 1995), o que demonstra seu efeito facilitatório sobre o reflexo. N' Djaye e colaboradores (2001), fizeram microinjeção de agonista de receptor 5-HT<sub>2</sub> dentro do NTS encontrando também uma resposta dose-dependente de hipotensão e bradicardia. Microinjeção bilateral de antagonista de NMDA reduziu, de forma dose-dependente, tanto o baroreflexo quanto o cardiopulmonar. O efeito facilitatório do agonista de 5-HT<sub>2</sub> foi prevenido por pré microinjeção de baixas doses de ketanserina ou por antagonista de receptores NMDA. Essas informações sugerem que o receptor 5-HT<sub>2</sub> dentro do NTS participa da modulação facilitatória do controle reflexo da bradicardia, provavelmente através da interação funcional com receptores NMDA locais. Podemos, agora, sugerir que essa facilitação ocorre devido ativação dos receptores 5-HT<sub>2A</sub>, já que o bloqueio do receptor 5-HT<sub>2A</sub> não

promoveu alterações nas respostas cardiovasculares por ativação do reflexo BJ. O mesmo efeito de atenuação foi observado com o bloqueio de receptores 5-HT<sub>7</sub> (Hagan *et al.* 2000; Lovell *et al.*, 2000; Thomas *et al.*, 2003; Jordan *et al.*, 2005) e 5-HT<sub>1A</sub> (Fletcher *et al.*, 1996; Jordan *et al.*, 2005). O receptor 5-HT<sub>7</sub> é positivamente acoplado à adenilato ciclase enquanto que o receptor 5-HT<sub>1A</sub> é negativamente acoplado à adenilato ciclase (Alexander *et al.* 2004). O receptor 5-HT<sub>2A</sub> ativa proteína G<sub>q</sub>, induz ativação da fosfolipase C e possui um efeito final de redução na despolarização celular por ativar canais de cloreto ativados por Ca<sup>+2</sup> (citado em Lacolley, *et al.*, 2006). Esse efeito é similar à ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> que também causa uma inibição neuronal, mas promove um efeito facilitatório na via vagal do reflexo B.J. já que o bloqueio central de receptores 5-HT<sub>1A</sub> atenua o reflexo parassimpático para o coração de ratos (Bogle *et al.* 1990), coelho (Futuro-Neto *et al.* 1993; Skinner *et al.* 2002) e de gatos (Wang & Ramage, 2001). No entanto, Sévoz-Couche e colaboradores (2000), viram que fibras no NTS, que recebem aferências polissinápticas das vias cardiopulmonares possuem efeito excitatório através dos receptores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub> e inibitório pelo receptor 5-HT<sub>2C</sub>, no entanto, eles não testaram o efeito dos diferentes antagonistas dos receptores 5-HT<sub>2</sub> na resposta do reflexo cardiopulmonar.

A serotonina possui efeito excitatório sobre os neurônios pré-ganglionares vagais quando aplicados em baixas correntes iontoforéticas, mas uma ação de inibição quando aplicado com altas correntes nos neurônios do núcleo dorsal do vago. (Wang *et al.*, 1995). Foi mostrado que agonistas de 5-HT<sub>1A</sub> também possuem ação excitatória e inibitória sobre os neurônios vagais dorsais e neurônios pré-ganglionares cardíacos vagais de gato no núcleo ambíguo (Wang & Ramage, 2001). Entretanto, apenas o efeito excitatório cardiopulmonar era atenuado com o



antagonista seletivo de 5-HT<sub>1A</sub>, sugerindo que a inibição era mediada por algum outro receptor. A injeção de agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub> dentro do IV ventrículo (Shepherd *et al.*, 1994) e dentro do NA e MDV aumentou o tônus vagal e a ativação dos neurônios pré-ganglionares cardíacos vagais por estimulação de receptores cardiopulmonares, receptores das vias aéreas superiores e do nervo aórtico, são atenuados pelo bloqueio dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> centrais (Dando *et al.*, 1998). Como os neurônios pré-ganglionares vagais estão sob inibição tônica GABAérgica (Taylor *et al.*, 1990), é possível que esse efeito facilitatório seja mediado por desinibição. Isso vale também para os receptores 5-HT<sub>2A</sub>, já que tanto 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2</sub>, quando estimulados por agonistas, causam diminuição da despolarização neuronal.

Assim como demonstrado neste trabalho, Kellett *et al.* (2005), também observaram atenuação da frequência cardíaca sob o reflexo BJ logo após 5 min da injeção i.c. de antagonista de 5-HT<sub>7</sub>. Assim como os receptores 5-HT<sub>1</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, parece que, pelo menos em ratos anestesiados, o receptor 5-HT<sub>2A</sub> não são tonicamente ativados, mas são recrutados durante o reflexo cardiopulmonar, já que seu o antagonista seletivo não promoveu nenhuma mudança nos valores basais da frequência cardíaca e da pressão arterial média. O antagonista do receptor 5-HT<sub>2B</sub> não promoveu alterações na frequência cardíaca quando o reflexo foi desencadeado, mas aumentou a frequência cardíaca basal, o que sugere sua participação tônica. Em uma pesquisa sobre o papel dos receptores 5-HT<sub>2A</sub> do NTS, na resposta de bradicardia quando a área pré-óptica do hipotálamo é ativada, foi microinjetado agonista de GABA<sub>A</sub> no NTS prevenindo a diminuição da pressão arterial e da frequência cardíaca quando a área pré-óptica é ativada. Foi ainda observado que microinjeção de antagonista específico de 5-HT<sub>2A</sub> no NTS não alterou a diminuição nos parâmetros cardiovasculares basais induzidos pela estimulação da área pré-óptica, mas preveniu a bradicardia do barorreflexo aórtico (Sévoz-Couche *et al.* 2006). Apesar de o reflexo estudado ter sido o barorreflexo, as vias de ativação do reflexo BJ e do baro são muito semelhantes e assim, esses resultados reforçam nossos achados de que os receptores 5-HT<sub>2A</sub> participam das respostas cardiovasculares reflexas, mas não promovem alterações nem a frequência cardíaca nem a pressão arterial basal.

Já foi demonstrado que aplicação iontoforética, *in vivo*, de agonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> pode excitar, inibir ou não promover nenhum efeito nos neurônios do NTS (Wang *et al.* (1997). Em 2000, Sévoz e colaboradores, relatam que os

efeitos diversos ao estimular receptores 5-HT<sub>2</sub> com um agonista DOI, em neurônios do NTS que recebem aferências da via vagal vinda de áreas cardiopulmonares, eram devido a ativação de vias monossinápticas ou polissinápticas, causando inibição e excitação, respectivamente. Eles aplicaram agonistas de receptores serotoninérgico em neurônios do NTS que recebem aferências cardiopulmonares de forma monossináptica, e demonstram que, os receptores 5-HT<sub>2A</sub> causam inibição, 5-HT<sub>2B</sub> não promove alterações e 5-HT<sub>2C</sub> causa inibição. Já nos neurônios ativados por mais de uma sinapse, promovia excitação principalmente através dos receptores 5-HT<sub>2B</sub>, pois apenas seu agonista seletivo era capaz de excitar essas células. Isso pode explicar, em parte, nossos resultados, onde o antagonista de 5-HT<sub>2A</sub> inibe a bradicardia, enquanto que o 5-HT<sub>2B</sub> não produziu nenhum efeito no reflexo. Como houve alteração da frequência cardíaca basal pelo bloqueio dos receptores 5-HT<sub>2B</sub>, podemos sugerir que esse efeito ocorra através das vias polissinápticas que promove excitação através da estimulação de 5-HT<sub>2B</sub>.

A presença de receptores 5-HT<sub>2A</sub> em áreas do tronco encefálico tem sido documentada (Pompeiano *et al.*, 1994), mas os receptores 5-HT<sub>2B</sub> foram encontrados apenas na medula espinhal (Helton *et al.*, 1994) e algumas áreas do cérebro (Duxon *et al.*, 1997a). Embora não estar demonstrado a expressão dos receptores 5-HT<sub>2B</sub> no tronco encefálico, estudos funcionais sugerem que eles estão presentes no NTS (Sévoz-Couche, *et al.*, 2000).

Conforme foi discutido na Introdução, apesar do vasto conhecimento sobre o mecanismo periférico que desencadeia o reflexo de BJ, ainda há muito para se investigar sobre a modulação central deste reflexo. Evidências sugerem que as vias reflexas, tanto do barorreflexo como do reflexo de BJ, envolvem estruturas neurais em comum e são integrados à nível bulbar, convergindo para neurônios no NTS (Jordan & Spyer, 1986; Kidd, 1987). Essa estrutura desempenha papel fundamental na regulação cardiovascular, não só por ser o local de convergência das aferências periféricas e sua primeira estação sináptica, mas também por distribuir a informação a diferentes núcleos bulbares e supra-bulbares, além de ser ainda local de modulação da resposta reflexa e da própria informação aferente. O NTS envia projeções monossinápticas para neurônios cardíacos vagais no NA e eles participam de forma essencial no controle reflexo cardiovascular. Essas vias podem estar relacionadas com o aumento da pressão sanguínea e a atividade das vias aferentes baroreceptoras, as quais ativam neurônios no NTS e aumenta a atividade

cardioinibitória eferente reduzindo a frequência cardíaca e a força de contração do coração (Neff *et al.*, 1998). Tem-se demonstrado que o neurotransmissor envolvido nessa primeira sinapse é o glutamato, atuando em receptores ionotrópicos do tipo NMDA e não-NMDA. A rápida ativação mediadas pelos não-NMDA podem estar envolvidos nas rápidas mudanças da atividade dos nervos cardíacos vagais e promover as rápidas alterações na frequência cardíaca que ocorrem em condições onde há uma perturbação na pressão sanguínea e ativação dos barorreceptores (Neff *et al.*, 1998) ou receptores cardiopulmonares. Wang *et al.* (1991) também sugerem que a ativação dos receptores NMDA também são necessários para uma rápida transmissão das informações do NTS para neurônios no NA.

Apesar do nosso trabalho não ter sido especificamente sobre o NTS, os aferentes sensoriais estimulados neste estudo terminam dentro do NTS, onde informações aferentes viscerais são processadas e integradas (Jordan & Spyer, 1986). Deste núcleo, fibras atingem áreas ventro-laterais do bulbo incluindo núcleo ambíguo, regiões ventro lateral caudal (CVLM) e rostral (RVLM) do bulbo e o núcleo motor dorsal do vago (DVM) (Jordan & Spyer, 1986; Sevoz *et al.*, 1997) que são locais que contem neurônios pré-ganglionares cardíacos parassimpáticos (Taylor, *et al.*, 1999). Todos esses locais podem ter sido atingidos, por difusão do antagonista, já que eles foram injetados na cisterna magna e esta região se encontrar a 1,7 mm dos núcleos caudais da rafe (Paxinos & Watson, 1986). Assim, um ou mais desses núcleos podem estar envolvidos na modulação descrita neste trabalho, já que todos recebem inervação de fibras nervosas contendo serotonina. Verbene e colaboradores (1989) mostraram que lesões eletrolíticas bilaterais ou injeções de antagonistas dos aminoácidos excitatórios, dentro de CVLM, atenuou as respostas do reflexo de Bezold-Jarisch desencadeadas por injeções intravenosas de 5-HT, o que indicou claramente ser CVLM um importante sítio bulbar atuando como mediador da integração reflexa cardiovascular. Essas observações parecem indicar que neurônios na CVLM são mediadores do reflexo cardiopulmonar por meio de projeções inibitórias, onde o principal neurotransmissor envolvido é o GABA, para neurônios vasomotores localizados em RVLM. No entanto, como Salo *et al.* (2007) encontraram simpato-excitação dos neurônios cardíacos, existe a possibilidade de que esta resposta excitatória não seja mediada via RVLM e sim por outras vias neurais. O preciso local destes receptores 5-HT<sub>2A</sub> não foi determinado neste estudo.

Estudos em ratos acordados envolvendo os receptores 5-HT<sub>2</sub>, sobre o reflexo B.J., não foram realizados, mas é possível que tenha um efeito semelhante aos resultados das pesquisas em ratos anestesiados, já que um estudo de Damaso e colaboradores (2007) avaliou o papel do receptor 5-HT<sub>7</sub> dentro do sistema nervoso central, na modulação das respostas cardiovasculares sob ativação do químico, baro e reflexo cardiopulmonar, e na modulação da pressão arterial e frequência cardíaca, usando aplicação intracisternal de um antagonista seletivo de 5-HT<sub>7</sub> em ratos acordados. Houve redução na pressão arterial média e da bradicardia quando os três reflexos foram ativados.

Até o momento, sabe-se que o receptor 5-HT<sub>2A</sub> está presente em diversos órgãos e ativando diferentes funções, como contração do músculo liso uterino, relaxamento dos músculos lisos vasculares e promove vasoconstrição, induzida por 5-HT, na hipertensão induzida por sal, mantendo a alta pressão nesta afecção (Banes & Watts, 2003). Também está presente no fígado humano e rins, pâncreas, baço, estômago e artéria pulmonar porcinos, onde eles promovem contração muscular e relaxamento respectivamente (Nagatomo, 2004). Sévoz-Couche *et al.*, (2000) citam que a aplicação, in vivo, de agonista de receptor 5-HT<sub>2</sub> produz diferentes efeitos na atividade neuronal. Em diversos sistemas, a ativação seletiva deste receptor promove aumento na atividade neuronal como nas células noradrenérgicas hipotalâmicas, neurônios do núcleo rubro, células do RVLM, motoneurônios espinhais, células reticulares pontinas, neurônios vestibulares e alguns neurônios do núcleo denteado cerebelar. No entanto, alguns estudos demonstram o efeito inibitório quando os receptores 5-HT<sub>2</sub> são seletivamente ativados, como em células dorsais da rafe, alguns neurônios do núcleo denteado cerebelar e girus denteado do hipocampo. Um estudo in *vitro*, demonstra que, a ativação de receptores 5-HT<sub>2</sub> produz uma despolarização pós-sináptica e aumenta tanto a amplitude quanto a frequência dos potenciais pós-sinápticos excitatórios (Brooks & Albert, 1995). No entanto, Wang *et al.* (1997) relatam que a aplicação inoforética, in vivo, de agonistas de receptores 5-HT<sub>2</sub> pode excitar, inibir ou não promover nenhum efeito nos neurônios do NTS.

Comet, *et al.*, (2007), realizaram um estudo em ratos anestesiados, administrando DOI (agonista de 5-HT<sub>2</sub>) dentro do NTS, causando bradicardia e a hipotensão. Esses efeitos foram abolidos ao administrar, intra NTS, um antagonista

seletivo de 5-HT<sub>2A</sub>, mas não foi revertido pelo antagonista seletivo de 5-HT<sub>2B</sub> ou 5-HT<sub>2C</sub>. No mesmo experimento, eles fizeram registros extracelulares e observaram que a maioria dos neurônios no RVLM era inibida pela estimulação de receptores 5-HT<sub>2A</sub> do NTS. Essas informações mostram que a ativação do receptor 5-HT<sub>2A</sub>, mas não o 5-HT<sub>2B</sub> ou 5-HT<sub>2C</sub>, localizados no NTS, promove hipotensão e bradicardia e que estes efeitos são produzidos via inibição de neurônios cardiovasculares no RVLM. Apesar de este experimento analisar respostas sobre o componente simpático, mais uma vez, comprova o efeito inibitório do receptor 5-HT<sub>2A</sub> e seu efeito facilitatório sobre a modulação do reflexo B.J.

As alterações na frequência cardíaca e pressão arterial, sob ativação do reflexo BJ, envolvendo os receptores 5-HT<sub>3</sub>, são controversas. Sévoz-Couche *et al.* (1996b) diz que sua ativação por agonistas no NTS de ratos anestesiados inibe a bradicardia reflexa. Pires e colaboradores (1995) administraram um antagonista de 5-HT<sub>3</sub> i.c. e também observaram significativa atenuação da bradicardia reflexa e em 1998 observaram que microinjeção no NTS atenua tanto a bradicardia quanta a hipotensão reflexa; e ainda, em 2001, Leal e colaboradores fizeram microinjeção bilateral de agonista de 5-HT<sub>3</sub> no NTS de ratos acordados e houve atenuação da bradicardia e hipotensão causada pelo reflexo cardiopulmonar. Esses últimos resultados são semelhantes ao encontrado neste estudo ao bloquear os receptores 5-HT<sub>2A</sub>.

Concluindo, o presente estudo demonstra que em adição aos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, os receptores 5-HT<sub>2A</sub> também participam do “drive” vagal para o coração. O fato das respostas cardiovasculares terem sido atenuadas pelo antagonista de 5-HT<sub>2A</sub> sugere que estes receptores, em alguma área do tronco encefálico, e não o receptor 5-HT<sub>2B</sub>, facilitam as respostas autonômicas ao ativar o reflexo Bezold-Jarisch, enquanto os receptores 5-HT<sub>2B</sub> parecem atuar na modulação tônica da FC.

**ANEXOS**

## 6 ANEXOS

### ANEXO 1

Tabela 1 – Média da PAM (mmHg) antes e após salina 10 µL i.c.

Animais	Antes Salina	Após Salina
01	90	84
02	106	100
03	78	89
04	98	93
05	103	106
06	104	98
07	102	105
08	102	106
Média ± EPM	98±3	98±3

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 2 – Média da FC (bpm) antes e após salina 10 µL i.c.

Animais	Antes Salina	Após Salina
01	366	398
02	281	275
03	387	420
04	360	350
05	405	432
06	333	347
07	355	367
08	355	367
Média ± EPM	355±13	370±17

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 3 - Δ de PAM (mmHg) sobre o reflexo de BJ antes e após salina 10 µL i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-43	-41	-38	-40	-31
02	-63	-66	-49	-29	-48
03	-57	-61	-63	-67	-64
04	-43	-34	-34	-34	-42
05	-32	-37	-30	-39	-33
06	-57	-53	-48	-38	-38

07	-27	-22	-34	-17	-14
08	-26	-21	-31	-15	-14
Média ± EPM	-44±5	-42±6	-41±4	-35±6	-36±6

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 4 -  $\Delta$  de FC (bpm) sobre o reflexo de BJ antes e após salina 10  $\mu$ L i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-221	-202	-247	-226	-194
02	-205	-212	-169	-111	-164
03	-275	-280	-267	-325	-304
04	-231	-174	-172	-191	-269
05	-148	-168	-171	-189	-161
06	-190	-237	-209	-211	-204
07	-179	-162	-195	-191	-192
08	-177	-156	-192	-191	-190
Média ± EPM	-203±14	-199±15	-203±13	-204±21	-210±18

Os valores são expressos como média ± EPM

## ANEXO 2

Tabela 5 – Média da PAM (mmHg) antes e após R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c.

Animais	Antes R-96544	Após R-96544
01	80	89
02	84	85
03	73	72
04	106	92
05	81	84
06	97	88
07	113	115
08	86	72
09	95	90
Média ± EPM	90±4	87±4

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 6 – Média da FC (bpm) antes e após R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) L i.c.

Animais	Antes R-96544	Após R-96544
01	298	345
02	340	323
03	357	314
04	364	344
05	372	386
06	361	369
07	366	389
08	322	358
09	298	320
Média ± EPM	342±10	350±9

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 7 -  $\Delta$  de PAM (mmHg) sobre o reflexo de BJ antes e após R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-37	-29	-18	-32	-30
02	-34	-39	-34	-29	-30
03	-37	-27	-19	-34	-21
04	-50	-35	-47	-43	-40
05	-47	-36	-36	-36	-32
06	-49	-15	-41	-38	-41
07	-51	-38	-33	-36	-44
08	-30	-10	-13	-19	-25



09	-39	-30	-31	-33	-28
Média ± EPM	-42±3	-29±3 **	-30±4 **	-33±2	-32±3 *

Os valores são expressos como média ± EPM \* p<0,05 e \*\* p<0,01 comparado aos valores antes da microinjeção.

Tabela 8 - Δ de FC (bpm) sobre o reflexo de BJ antes e após R-96544 (0,1 μmol/kg) i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-178	-160	-94	-133	-133
02	-190	-188	-144	-66	-110
03	-260	-85	-127	-127	-192
04	-158	-53	-87	-69	-74
05	-235	-192	-19	-63	-33
06	-224	-42	-77	-75	-68
07	-196	-204	-62	-55	-192
08	-175	-76	-60	-65	-73
09	-183	-88	-95	-107	-88
Média ± EPM	-200±11	-121±21**	-85±12**	-84±10**	-107±19**

Os valores são expressos como média ± EPM \*\*p<0,01 comparado aos valores antes da microinjeção.

### ANEXO 3

Tabela 9 – Média da PAM (mmHg) antes e após SB-204741 (0,1 μmol/kg) i.c.

Animais	Antes SB-204741	Após SB-204741
01	87	82
02	83	83
03	83	73
04	72	67
05	92	91
06	74	75
07	84	80
Média ± EPM	82±3	79±3

Os valores são expressos como média ± EPM

Tabela 10 – Média da FC (bpm) antes e após SB-204741 (0,1 μmol/kg) i.c.

Animais	Antes SB-204741	Após SB-204741
01	311	385
02	243	371
03	367	421
04	277	337
05	293	356
06	362	376
07	298	364
Média ± EPM	307±17	373±10 *

Os valores são expressos como média ± EPM \* p<0,05 comparado aos valores antes da microinjeção.

Tabela 11 - Δ de PAM (mmHg) sobre o reflexo de BJ antes e após SB-204741 (0,1 μmol/kg) i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-41	-27	-30	-28	-28
02	-40	-26	-28	-33	-29
03	-46	-27	-32	-31	-37
04	-56	-47	-54	-47	-42
05	-39	-23	-28	-27	-23
06	-29	-21	-26	-25	-17
07	-38	-36	-37	-44	-32
Média ± EPM	-41±3	-30±3	-34±4	-33±3	-30±3

Os valores são expressos como média ± EPM \* p<0,05 comparado aos valores antes da microinjeção.

Tabela 10 -  $\Delta$  de FC (bpm) sobre o reflexo de BJ antes e após SB-204741 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c.

Animais	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
01	-191	-129	-187	-186	-186
02	-147	-155	-142	-208	-205
03	-211	-232	-249	-250	-283
04	-212	-139	-148	-232	-105
05	-200	-219	-223	-212	-166
06	-196	-150	-125	-157	-142
07	-136	-228	-244	-217	-220
Média $\pm$ EPM	-185 $\pm$ 12	-179 $\pm$ 17	-188 $\pm$ 19	-208 $\pm$ 11	-187 $\pm$ 22

Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM

#### ANEXO 4

Tabela 13-  $\Delta$  de PAM (mmHg) sobre o reflexo de BJ antes e após administração de salina i.c. (controle), R-96544 0,1 $\mu$ mol/kg i.c e SB-204741 0,1 $\mu$ mol/kg i.c.

Grupo	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
Salina i.c.	-44 $\pm$ 5	-42 $\pm$ 6	-41 $\pm$ 4	-35 $\pm$ 6	-36 $\pm$ 6
R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c.	-42 $\pm$ 3	-29 $\pm$ 3 *	-30 $\pm$ 4 *	-33 $\pm$ 2	-32 $\pm$ 3
SB-204741 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c	-41 $\pm$ 3	-30 $\pm$ 3*	-34 $\pm$ 4*	-33 $\pm$ 3	-30 $\pm$ 3

Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM . \* p<0,05 comparado ao grupo controle.

Tabela 14-  $\Delta$  de FC (bpm) sobre o reflexo de BJ antes e após administração de salina i.c. (controle), R-96544 0,1 $\mu$ mol/kg i.c e SB-204741 0,1 $\mu$ mol/kg i.c.

Grupo	Antes	5 min	20 min	35 min	50 min
Salina i.c.	-203 $\pm$ 14	-199 $\pm$ 15	-203 $\pm$ 13	-204 $\pm$ 21	-210 $\pm$ 18
R-96544 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c.	-200 $\pm$ 11	-121 $\pm$ 21**	-85 $\pm$ 12**	-84 $\pm$ 10**	-107 $\pm$ 19**
SB-204741 (0,1 $\mu$ mol/kg) i.c	-185 $\pm$ 12	-179 $\pm$ 17	-188 $\pm$ 19	-208 $\pm$ 11	-187 $\pm$ 22

Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM . \* p<0,05 e \*\*p<0,01 comparado ao grupo controle.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, S.P.H.; MATHIE, A.; PETERS, J.A. 5-Hydroxytryptamine receptors. *British Journal of Pharmacology*. 141: 36–37, 2004.

ANDRESEN, M.C. & KUNZE, D.L. Nucleus tractus solitarius-Gateway to neural circulatory contro. *Annual Review of Physiology*, 56: 93-116, 1994.

ANTAL, M.; PETKO, M.; POLGAR, E.; HEIZMANN, C.V. & STORMMATHISEN, J. Direct evidence of an extensive GABAergic innervations of the spinal dorsal horn by fibers descending from the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*, 73: 509-518, 1996.

ASHWORTH-PREECE, M.A.; JARROTT, B.; LAWRENCE, A.J. 5-hydroxytryptamine 3 receptor modulation of excitatory amino acid release in the rat nucleus tractus solitarius. *Neuroscience. Letters*. 191:75–78, 1995.

AVIADO, D.M. & GUEVARA, A.D. The Bezold-Jarisch reflex. A historical perspective of cardiopulmonary reflexes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 940: 48-58, 2001.

BACON, S.J.; ZAGON, A. & SMITH, A.D. Electron microscopy evidence of monosynaptic pathways between cells in the caudal raphe nuclei and sympathetic preganglionic neurons in the rat spinal cord. *Experimental. Brain Research*, 79: 589-602, 1990.

BANES, A.K. & WATTS, S.W. Arterial expression of 5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors during development of DOCA-salt hypertension, *BMC Pharmacology*, 3: 12, 2003.

BARRON, K.W. & BISHOP, V.S. Reflex cardiovascular changes with veratridine in the conscious dog. *American Journal of Physiology- Heart and Circulatory Physiology*, 242: 810-817, 1982.

BELL, L.B.; O'HAGAN, K.P. & CLIFFORD, P.S. Cardiac but not pulmonary receptors mediate depressor response to IV phenyl biguanide in conscious rabbits. *The American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 264: 1050-1057, 1993.

BLANPAIN, C.; LE POUL, E.; PARMA, J.; KNOOP, C.; DETHEUX, M.; PARMENTIER, M.; VASSART, G. & ABRAMOWICZ, M.J. Serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptor loss of function mutation in a patient with fenfluramine-associated primary pulmonary hypertension. *Cardiovascular Research*, 601: 518-528, 2003.

BONHAUS, D.W.; BACH, C.; DESOUZA, A.; SALAZAR, F.H.; MATSUOKA, D.B. & ZUPPAN, P. The pharmacology and distribution of human 5-hydroxytryptamine 2B (5-HT<sub>2B</sub>) receptor gene products: comparison with 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *British Journal of Pharmacology*, 115: 622–628, 1995.

BOUSQUET, P.; FELDMAN, J.; BLOCH, R. & SCHWARTZ, J. Evidence for a neuromodulatory role of GABA at the first synapse of the baroreceptor reflex pathway. Effects of GABA derivatives injected into the NTS. *Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology*, 319: 168-171, 1982.

BROGDEN, R.N. & E.M. SORKIN, E.M. KETANSERIN. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in hypertension and peripheral vascular disease. *Drugs*, 40: 903–949, 1990.

BROOKS, P.A. & ALBERT, A.P., 5-HT<sub>3</sub> receptors in the dorsal vagal complex. In: Reynolds, D.J.M., Andrews, P.L.R. and Davis, C.J. Serotonin and the Scientific Basis of Anti-emetic Therapy. *Oxford Clinical Communications*: 106–110, 1995.

CALLERA, J.C.; COLOMBARI. & MENANI, J.V. The bradycardic and hypotensive responses to serotonin are reduced by activation of GABA<sub>A</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius of awake rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38: 1123-1131, 2005.

CALLERA, J.C.; BONAGAMBA, L.G.H.; NOSJEAN, A.; LAGUZZI, R. & MACHADO, B.H. Activation of GABA receptors in the NTS of awake rats reduces the gain of baroreflex bradycardia. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 84: 58-67, 2000.

CALZA, L.; GIARDINO, L.; GRIMALDI, R.; RIGOLI, M.; STEINBUSCH, H.W. & TIENGO, M. Presence of 5-HT-positive neurons in the medial nuclei of the solitary tract. *Brain Research*, 347: 135–139, 1985.

CAMPAGNA, J. A. & CARTER, C. Clinical Relevance of the Bezold-Jarisch Reflex. *Anesthesiology*, 98:1250-60: 2003.

CAO, W.H. & KIRKMAN, E. Responses of adrenal sympathetic preganglionic neurons to stimulation of cardiopulmonary receptors. *Brain Research*, 887: 46-52, 2000.

CARSON, R.P. & LAZZARA, R. Hemodynamic responses initiated by coronary stretch receptors with special reference to coronary arteriography. *American Journal of Cardiology*, 25: 571-578, 1970.

CHIANCA, D.A.; & MACHADO, B.H. Microinjection of NMDA antagonist into the NTS of conscious rats blocks the Bezold–Jarisch reflex. *Brain Research*, 718: 185–188, 1996.

CHITRAVANSHI, V.C. & CALARESU, F.R. Additive effects of dopamine and 8-OH-DPAT microinjected into the nucleus ambiguus in eliciting vagal bradycardia in rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 41: 121-128, 1992.

CHOI, D. & Maroteaux, L. Immunohistochemical localisation of the serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptor in mouse gut, cardiovascular system, and brain. *Elsevier Science*, 391, 45-51, 1996.

CLEMENT, D.L.; PELLETIER, C.L. & SHEPHERD, J.T. Role of vagal afferents in the control of renal sympathetic nerve activity in the rabbit. *Circulation Research*, 31: 826-830, 1972.

COMET, M.A.; BERNARD, J.F.; HAMON, M.; LAGUZZI, R. & SÉVOZ-COUCHE, C. Activation of nucleus tractus solitarius 5-HT<sub>2A</sub> but not other 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes inhibits the sympathetic activity in rats. *European Journal of Pharmacology* 26(2):345-54, 2007.

CONN, P.J.; SANDERS-BUSH, E.; HOFFMAN, B.J. & HARTIG. A unique serotonin receptor in choroid plexus is linked to phosphatidylinositol turnover. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.* 83: 4086–4088, 1986.

DAHLSTRÖM, A. & FUXE, K. Evidence for the existence of monamine neurons in the central nervous system. *Acta Physiologica*, 64: 1-7, 1965.

DAMASO, E.L.; BONAGAMBA, L.G.H.; KELLETT, D.O.; JORDAN, D.; RAMAGE, A.G.; MACHADO, B.H. Involvement of central 5-HT<sub>7</sub> receptors in modulation of cardiovascular reflexes in awake rats. *Brain Research*, 1144: 82-90, 2007.

DANDO, S.B.; SKINNER, M.R.; JORDAN, D. & RAMAGE, A.G. Modulation of the vagal bradycardia evoked by stimulation of upper airway receptors by central 5-HT<sub>1</sub> receptors in anaesthetized rabbits, *British Journal of Pharmacology*, 125: 409–417, 1998.

DAWES, G.S. & MOTT, J.C. Circulatory and respiratory reflexes caused by aromatic guanidines. *British Journal of Pharmacology*, 5: 65-76, 1950.

DAWES, G.S. & COMROE, J.H. Chemoreflexes from the heart and lungs. *Physiology Review*, 34: 167-201, 1954.

DE BURGH, D.M.; KIRKMAN, EL & WOOD, L.M. Cardiovascular responses to stimulation of cardiac receptors in the cat and their modification by Changes in respiration. *Journal of Physiology*, 407: 349-362, 1988.

DEVOOG, J.M. & PROGER, G. Early clinical experience with flesinoxan, a new selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist. In: SAXENA, PR et al. (Ed.). Cardiovascular pharmacology of 5-hydroxytryptamine: perspective therapeutic applications. *Kluwer: Academic Netherlands*, 335-359, 1990.

DU, W.M.; MIAO, C.Y.; LIU, J.G.; SHEN, F.M.; YANG, X.Q. & SU, D.F. Effects of long-term treatment with ketanserin on blood pressure variability and end-organ damage in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 41: 233–239, 2003.

DUXON, M.S.; Flanigan, T.P.; Reavley, A.C.; Baxter, G.S. & Blackburn, T.P. Evidence for expression of the 5 -hydroxytryptamine-<sub>2B</sub> receptor protein in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 76: 323-329, 1997.

EPSTEIN, P. Cardiovascular and renal effects of head-out water immersion in man. *Circulation Research*, 39: 619-628, 1976.

FASTIER, F.N.; MCDOWALL, M.A. & WALL, H. Pharmacological properties of phenylpiguamide and other amidine derivates in relation to those of 5-hydroxytryptamine. *British Journal of Pharmacology*, 14: 527-535, 1959.

FERRARI, A.U; GRASSI, G.; & MANCIA, G. The cardiopulmonary reflex in hypertension. *Hypertension Pathophysiology*, 2: 349-358, 1990.

FLETCHER, A.; FORSTER, E.A.; BILL, D.J.; BROWN, G.; CLIFFE, I.A.; HARTLEY, J.E. Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist. *Behavior Brain Research*, 73: 337–353, 1996.

FOGOROS, RN. Practical cardiac diagnosis: electrophysiologic testing. 3<sup>rd</sup> ed. Malden, MA: Blackwell Publishing, 1999.

FORBES, I.T.; JONES, G.E. & MURPHY, O.E. *N*-(1-methyl-5-indolyl)-*N'*-(3-methyl-5-isothiazolyl) urea: a novel, high affinity 5-HT<sub>2B</sub> receptor antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38: 855–857, 1995.

FORT, P.; LUPPI, P.H.; SAKAI, K.; SALVERT, D. & JOUVET, M. Monoaminergic peptidergic, and cholinergic afferents to the cat facial nucleus as evidenced by a double immunostaining method with unconjugated cholera-toxin as a retrograde tracer. *The Journal of Comparative Neurology*, 283: 285-302, 1989.

FORT, P.; LUPPI, P.H; SAKAI, K.; SALVERT, D. & JOUVET, M. Monoaminergic peptidergic, and cholinergic afferents to the cat trigeminal motor nucleus: a double-labeling study with cholera-toxin as a retrograde tracer. *The Journal of Comparative Neurology*, 301: 262-275, 1990.

FU, L.W. & LONGHURST, J. C. Activated platelets contribute to stimulation of cardiac afferents during ischaemia in cats: role of 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Journal of Physiology*, 544: 897-912, 2002.

FUTURO NETO, H.A. & COOTE, J.H. Changes in sympathetic activity to Heart and blood vessels during desynchronized sleep. *Brain Research*, 252, p. 259-268, 1982.

FUTURO-NETO, H.A.; PIRES, J.G.P.; GILBEY, M.P.; RAMAGE, A.G. Evidence for the ability of central 5-HT<sub>1A</sub> receptors to modulate the vagal bradycardia induced by stimulating the upper airways in anaesthetized rabbits with smoke. *Brain Research*, 629: 349–354, 1993.

GAUER, O.H; HENRY, J.P. & BEHN, C. Regulation of extracellular fluid volume. *Annual Review of Physiology*, 32, 547-595, 1970.

GIERSBERGEN, van P.L.M.; PALKOVITS, M. & JONG, W. Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitari in cardiovascular regulation. *American Journal of Physiology*, 72: 232-286, 1992.

GILBEY, M.P.; FUTURO NETO, H.A. & ZHOU, S.Y. Respiratory-related discharge patterns of caudal raphe neurons projecting to the upper thoracic spinal cord in the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 50: 263-273, 1995.

GLUSA, E. & PERTZ, H.H. Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelial 5-HT<sub>2B</sub> receptors. *British Journal of Pharmacology*, 130: 692–698, 2000.

GROVER, C.A.; SARGENT, S.; DZWONCZYK, D.E.; NORMANDIN & ANTONACCIO, M.J. Protective effect of serotonin (5-HT<sub>2</sub>) receptor antagonists in ischemic rat hearts, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 22: 664–672, 1993.

GUYENET, P.G. Role of the ventral medulla oblongata in blood pressure regulation. In *Central Regulation of Autonomic Function*, ed. Loewy AD & Spyer KM,. 145–167, 1992. Oxford University Press, New York.

HAGAN, J.J.; PRICE, G.W.; JEFFREY, P.; DEEKS, N.J.; STEAN, T. & PIPER, D. Characterization of SB-269970-A, a selective 5-HT<sub>7</sub> receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology*, 130: 539–548, 2000.

HAINSWORTH, R. Sensory functions of the heart. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 23: 546-51, 1994

HATAB, S.A.; FUTURO NETO, H.A. & PIRES, J.G.P. Are 5-HT<sub>1A</sub> receptors involved in the control of reflex bradycardia induced by intracoronary injection of contrast medium in humans ?. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29: 769-772, 1996.

HELKE, C.J.; CAPUANO, S.; TRAN, N. & ZHUO, H. Immunocytochemical studies of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor in ventral medullary neurons that project to the intermediolateral



cell column and contain serotonin or tyrosine hydroxylase immunoreactivity. *The Journal of Comparative Neurology*, 379: 261-270, 1997.

HELTON, L.A.; THOR, K.B. & BAEZ, M. 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub>, 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub>, and 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptor mRNA expression in the spinal cord of rat, cat, monkey and human. *NeuroReport*, 5: 2617-2620, 1994.

HOLSTEGE, J.G. & KUYPERS, H.G.J.M. The anatomy of the brain stem pathways to the spinal cord in cat. A labeled amino acid tracing study. *Progress in Brain Research*, 57: 145-175, 1982.

HOYER, D.E.; CLARKE, J.R.; FOZARD, P.R.; HARTIG, G.R.; MARTIN & MYLECHARANE, E.J. VII. International union of pharmacology classification of receptors of 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacological Reviews*, 46: 157-203, 1994.

HOYER, D.; CLARKE, D.E.; FOZARDE, J.R.; HARTIG, P.R.; MARTIN, G.R.; MYLECHARANE, E.J.; SAXENA, P.R., & HUMPHREY, P.P.A. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacological Reviews*, 46: 157-204, 2002.

ITOH, H. & BUNAG, R.D. Cardiovascular and sympathetic effects of injecting serotonin into the nucleus tractus solitarius in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 256: 1147-1153, 1991.

ITO, K. & NOTSU, T. Effect of sarpogrelate hydrochloride (MCI-9042) on peripheral circulation of chronic arterial occlusive diseases. *J. Clin. Ther. Med.*, 7:1243-1251, 1991.

IZZO, P.N.; DEUCHARS, J. & SPYER, K.M. Localization of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the rat: immunocytochemical evidence of synaptic inputs containing 5-hydroxytryptamine. *The Journal of Comparative Neurology*, 327: 572-583, 1993.

IZZO, P.N.; JORDAN, D. & RAMAGE, A.G. Anatomical and pharmacological evidence supporting the involvement of serotonin in the central control of cardiac vagal motoneurons in the anaesthetized cat. *Journal of Physiology*, 406: 19, 1988.

JARISCH, A; HENZE, C. Uber Blutdrucksenkung durch chemische Erregung depressorischer Nerven. *Naunyn-Schmiedeberg's. Archives fur Experimental. Pathology und. Pharmakology*, 187: 706-730, 1937.

JARISCH, A; RICHTER, H. Die Kreislaufwirkung des varatrins. *Archives fur Experimental. Pathology und. Pharmakology*, 193: 347-354, 1939.

JEGGO, R.D.; KELLETTE, D.O.; WANG, Y.; RAMAGE, A.G. & JORDAN, D. The role of central 5-HT<sub>3</sub> receptors in vagal reflex inputs to neurones in the nucleus tractus solitarius of anaesthetized rats. *Journal of Physiology*, 1;566(Pt 3): 939-53, 2005.

JEGGO, R.D.; WANG, Y.; JORDAN, D. & RAMAGE, A.G. Activation of 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptors in the rat nucleus tractus solitarius: opposing action on neurones

that receive an excitatory vagal C-fibre afferent input. *British Journal of Pharmacology*, 150(8): 987-95, 2007.

JORDAN, D.; KHALID, MEM.; SCHNEIDERMAN, N. & SPYER, K.M. The location and properties of preganglionic vagal cardiomotor neurons in the rabbit. *Plügers Arch.*, 95: 244-250, 1982.

JORDAN, D. & SPYER, K.M. Brainstem integration of cardiovascular and pulmonary afferent activity. *Brain Research*, 67: 295–314, 1986.

JORDAN, D. Vagal control of the heart: Central serotonergic (5-HT) mechanisms. *Experimental Physiology*, 90.2: 175-181, 2005.

JULIUS, D.; Huang, K.N.; LIVELLI, T.J.; AXEL, R.; JESSELL, T.M. The 5-HT<sub>2</sub> receptor defines a family of structurally distinct but functionally conserved serotonin receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 87: 928-932, 1990.

KAUMANN, A.J.; PARSONS, A.A. & BROWN, A.M. Human arterial constrictor serotonin receptors. *Cardiovascular Research*, 27(12):2094-103, 1993.

KAUMANN, A.J.; FRENKEN, M.; POSIVAL, H. & BROWN, A.M. Variable participation of 5-HT<sub>1</sub>-like receptors and 5-HT<sub>2</sub> receptors in serotonin-induced contraction of human isolated coronary arteries. 5-HT<sub>1</sub>-like receptors resemble cloned 5-HT<sub>1D</sub> beta receptors. *Circulation*: 90(3): 1141-53, 1994.

KELLETT, A.G.; RAMAGE & JORDAN, D. Central 5-HT<sub>7</sub> receptors are critical for reflex activation of cardiac vagal drive in anaesthetized rats. *Journal of Physiology*, 563: 319–331, 2005.

KIDD, C. Central nervous pathways of cardiac and pulmonary reflexes. In Hainsworth, R; McWilliam, D.N. & Mary, D.A.S.G *Cardiogenic Reflexes*. Oxford University Press, 223-240, 1987.

KURSAR, J.D.; Nelson, D.L.; Wainscott, D.B. & Baez, M. Molecular cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the human 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub> receptor. *Molecular Pharmacology*, 46: 227-234, 1994.

KRAYER, O. The history of the Bezold-Jarisch effect. *Archives of Experimental Pathology and Pharmacology*, 240: 361-368, 1961.

LACOLLEY, P.J; OWEN, J.R.; BATES, J.N.; JOHNSON, A.K. 5-HT activates vagal afferent cell bodies in vivo: role of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Neuroscience*, 143: 273-287, 2006.

LAGUZZI, R.; REIS, D.J. & TALMAN, W. Modulation of cardiovascular and electrocortical activity through serotonergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Research*, 304: 321–328, 1984.

LAUNAY, L.M.; HERVÉ, P.; PEOC'H, K.; TOURNOIS, C.; CALLEBERT, J.; NEBIGIL, C.G.; ETIENNE, N.; DROUET, L.; HUMBERT, M.; SIMONNEAU, G. & MAROTEAUX, L. Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension. *Nature Medicine*, 8: 1129 – 1135, 2002.

LAWRENCE, AJ; JARROT, B. Neurochemical modulation of cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius. *Progress in Neurobiology*, 48: 21-53, 1996

LEA, L.D.M.; CALLERA, J.C.; BONAGAMBA, L.G.H.; NOSJEAN, A.; LAGUZZI, R. & MACHADO, B.H. Microinjection of a 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist into the NTS of awake rats inhibits the bradycardic response to activation of the von Bezold-Jarisch reflex. *Brain Research Bulletin*, 54: 7-11, 2001.

LEE, T.M.; DUO, J.S.; & CHAI, C.Y. Central integrating mechanisms of the Bezold-Jarisch and baroreceptor reflexes. *American Journal of Physiology*, 222: 713-720, 1972.

LI, Y.Q.; WANG, Z.M.; ZHENG, H.X. & SHI, J.W. Central origins of substance P-like immunoreactive fibers and terminals in the spinal trigeminal caudal subnucleus in the rat. *Brain Research*, 719: 219-224, 1996.

LOVELL, P.J.; BROMIDGE, S.M.; DABBS, S.; DUCKWORTH, D.M. FORBES, I.T.; JENNINGS, A.J. A novel, potent, and selective 5-HT<sub>7</sub> antagonist: (R)-3-(2-(2-(4-methylpiperidin-1-yl) ethyl) pyrrolidine-1-sulfonyl) phenol (SB-269970). *Journal of Medicinal Chemistry*, 43: 342–345, 2000.

LOEWY, A.D. Raphe pallidus and raphe obscurus projections to the intermediolateral cell column in the rat. *Brain Research*, 222: 129 -133, 1981.

LOEWY, A.D. Descending pathways to the sympathetic preganglionic neurons. *Brain Research*, 57: 267-277, 1982.

MALEY, B. & ELDE, R. The ultrastructural localization of serotonin immunoreactivity with the nucleus of the solitary tract of the cat. *Journal of Neuroscience*, 2: 1499–1506, 1982.

MARK, A.L. The Bezold-Jarisch reflex revisited: clinical implications of inhibitory reflexes originating in the heart. *Journal American College of Cardiology*, 1: 90-102, 1983.

MCCALL, R.B. & CLEMENT, M.E. Role of serotonin<sub>1A</sub> and serotonin<sub>2</sub> receptors in the central regulation of the cardiovascular system. *Pharmacological Reviews*, 46: 231–243, 1994.

McQUEEN, D.S. & MIR, A.K. 5-Hydroxytryptamine and carotid body reflex mechanisms. In: FOZARD, JR (Ed.). *The Peripheral Actions of 5- Hydroxytryptamine* Oxford: Oxford University Press: 301-326, 1989.

MELTZER, H.T. & LOWY, M.T. The serotonin hypothesis of suppression. *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, 513–526, 1987.

MERAHI, N.; ORER, H.S. & LAGUZZI, R. 5-HT<sub>2</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius: characterization and role in cardiovascular regulation in the rat. *Brain Research*, 575: 74–78, 1992a.

MERAHI, N; ORER, HS; LAGUZZI, R. Baroreceptor reflex inhibition induced by stimulation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the nucleus of tractus solitarius of the rat. *Neuroscience*. v. 46, p. 91-100, 1992b.

MERAHI, N. & LAGUZZI, R. Cardiovascular effects of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor stimulation in the nucleus tractus solitarius of spontaneously hypertensive rats. *Brain Research*, 669: 130-134, 1995.

MIAO ET AL., 2003 C.Y. MIAO, H.H. XIE, H. YU, Z.X. CHU AND D.F. SU, Ketanserin stabilizes blood pressure in conscious spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 30: 189–193, 2003.

MICHELINI, L.C. Mecanismos neuro-humorais na regulação reflexa da pressão arterial. Em: Tavares, LA; Lima, EG & Vasquez, EC (eds). *Hipertensão Arterial, Presente e Futuro*. Fundo Editorial BYK, São Paulo, p. 13-27, 1989.

MIDDLEMISS, D.N.; BLAKEBOROUGH, L. & LEATHER, S.R. Direct evidence for an interaction of  $\beta$ -adrenergic blockers with the 5-HT receptor. *Nature*, 267: 289–290, 1977.

MIYATA, K.; SHIMOKAWA, H.; HIGO, T.; YAMAWAKI, T.; KATSUMATA, N. & KANDABASHI, T. Sarpogrelate, a selective 5-HT<sub>2A</sub> serotonergic receptor antagonist, inhibits serotonin-induced coronary artery spasm in a porcine model. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 35: 294–301, 2000.

MOTT, J.C. & PAINTAL, A.S. The action of 5-hydroxytryptamine on pulmonary and cardiovascular vagal afferent fibres and its reflex respiratory effects. *British Journal of Pharmacology*, 8: 238-241, 1953

N'DIAYE, A.; SÉVOZ, C.C.; NOSJEAN, A.; HAMON, M. & LAGUZZI, R. Stimulation of 5-HT<sub>2</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius enhances NMDA receptor-mediated reflex-evoked bradycardiac responses in the rat. *Autonomic Neuroscience* 92, 45-55, 2001.

NAGAMOTO, T.; RASHID, M.; MUNTASIR, H.<sup>a</sup> & KOMIYAMA, T. Functions of 5-HT<sub>2A</sub> receptor and its antagonists in the cardiovascular system. *Pharmacology & Therapeutics*: 104, 59-81, 2004.

NEFF, R.A., MIHALEVICH, M. & MENDELOWITZ, D. Stimulation of NTS activates NMDA and non-NMDA receptors in rat cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *Brain Research*, 792: 277-282, 1998.

NICOLL, R.A. THE COUPLING OF NEUROTRANSMITTER RECEPTORS TO ION CHANNELS IN THE BRAIN. *Science*, 241: 545 - 551, 1988.

NOSAKA, S.; YASUNAGA, K. & TAMAI, S. Vagal preganglionic neurones distribution, cell types and reflex discharges. *American Journal of Physiology* 243: 92-98, 1982.

NOSJEAN, A.; COMPOINT, C.; BUISSERET-DELMAS, C.; ORER, H.S.; MERAHI, N. & PUIZILLOUT, J.-J. Serotonergic projections from the nodose ganglia to the nucleus tractus solitarius: an immunohistochemical and double labeling study in the rat. *Neuroscience Letters*, 114: 22-26, 1990.

O. DERGACHEVA, K.J.S.; Griffioen, X.; Wang, H.; Kamendi, C.; Gorini & D. Mendelowitz. 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes mediate different long-term changes in GABAergic activity to parasympathetic cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *Neuroscience*, 2007.

OBERG, B. & THOREN, P. Increased activity in vagal cardiac afferents correlated to the appearance of reflex bradycardia during severe hemorrhage in cats. *Acta Physiologica Scandinavica*, 80: 22-23A, 1970.

OBERG, B. & THOREN, P. Increased activity in left ventricular receptors during hemorrhage or occlusion of caval veins in the cat. A possible cause of the vaso-vagal reaction. *Acta Physiologica Scandinavica*, 85: 164-73, 1972.

OGAWA, T.; SUGIDACHI, A.; TANAKA, N.; FUJIMOTO, K. & ASAI, F. Pharmacological profiles of R-96544, the active form of a novel 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist R-102444. *Vascular Pharmacology*, 41: 7-13, 2002.

PALKOVITS, M. & ZBORSZKY, L. Neuroanatomy of central cardiovascular control. Nucleus tractus solitarius: afferent and efferent neuronal connections in relation to the baroreceptor reflex arc. *Brain Research*. 47, 9-34, 1977.

PAINTAL, A.S. A study of ventricular pressure receptors and their role in the Bezold reflex. *Journal of Experimental Physiology*, 40: 348-363, 1955.

PAXINOS, G. & WATSON, C. The rat in stereotaxic coordinates. 2<sup>a</sup> ed., San Diego: Academic Press, 1986.

PAZOS, A. & PALACIOS, J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. *Brain Research*, 346: 205-230, 1985.

PAZOS, A.; PROBST, A. & PALACIOS, J.M. Serotonin receptors in the human brain. III. Autoradiographic mapping of serotonin -1 receptors. *Neuroscience*, 21: 97-122, 1987.

PIRES, J.G.P. & RAMAGE, A.G. Evidence suggesting that the 5-HT<sub>2</sub> antagonist ICI 169,369 activates vagal afferents and in addition has a central hypotensive action in anesthetized rats, *Journal of Autonomic Pharmacology*, 10: 345-351, 1990.

PIRES, J.G.P.; SILVA, S.R. & FUTURO-NETO, H.A. Central 5-HT<sub>3</sub> receptors modulate the vagal bradycardia evoked by the von bezold-Jarisch reflex. *Pharmacological Research*, 31: 286, 1995.

PIRES, J.G.P.; SILVA, S.R.; RAMAGE, A.G. & FUTURO-NETO, H.A. Evidence that 5-HT<sub>3</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius and other brainstem areas modulate the vagal bradycardia evoked by activation of the von Bezold–Jarisch reflex in the anesthetized rat. *Brain Research*, 791: 229-234, 1988.

POMPEIANO, M.; PALACIOS, J.M. & MENGOD, G. Distribution of the serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor family mRNAs: comparison between 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Molecular Brain Research*, 23: 163–178, 1994.

RAMAGE, A.G. Central cardiovascular regulation and 5-hydroxytryptamine receptors. *Brain Research Bulletin*, 56: 425-439, 2001.

RAMAGE, A.G.; WOUTERS, W. & BEVAN, P. Evidence that the novel antihypertensive agent, flesinoxan, causes differential sympathoinhibition and also increases vagal tone by a central action. *European Journal of Pharmacology*, 151: 375-379, 1988.

ROBERTSON, R.M. & ROBERTSON, D. The Bezold-Jarisch reflex: possible role in limiting myocardial ischemia. *Clinical Cardiology*, 4: 75-9, 1981.

RODDIE, I.C.; SHEPHERD, J.T. & WHELAN, R.F. Reflex changes in vasoconstrictor tone in human skeletal muscle in response to stimulation of receptors in a low-pressure area of the intrathoracic vascular bed. *Journal of Physiology*, 139: 369-376, 1957.

ROTH, D.L.; WILLINS, K.; KRISTIANSEN & W.K. KROEZE; 5-Hydroxytryptamine<sub>2</sub>-family receptors (5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub>, 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub>, 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub>): where structure meets function. *Pharmacology & Therapeutics*, 79: 231–257, 1987.

ROTH, B.L., Multiple serotonin receptors: clinical and experimental aspects, *Annals of Clinical Psychiatry*, 6: 67–78, 1994.

ROTHMAN, R.B.; Baumann, M.H.; Savage, J.E.; Rauser, L.; McBride, A.; Hufeisen, S.J. & Roth, B.L. Evidence for Possible Involvement of 5-HT<sub>2B</sub> Receptors in the Cardiac Valvulopathy Associated With Fenfluramine and Other Serotonergic Medications. *Circulation*, 102: 2836, 2000.

SALO, L.M.; WOODS, R.L.; ANDERSON, C.R. & MCALLEN, R.M. Nonuniformity in the von Bezold-Jarisch reflex. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293: 714-720, 2007

SCHAFFAR, N.; KESSLER, J.P.; BOSLER, O. & JEAN, A. Central serotonergic projections to the nucleus tractus solitarius: evidence from a double labeling study in the rat. *Neuroscience*, 26: 951–958, 1988.

SÉVOZ-COUCHE, C.; CALLERA, J.C.; MACHADO, B.H.; HAMON, M. & LAGUZZI, R. Role of serotonin<sub>3</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius on the carotid chemoreflex. *American Journal of Physiology*, 272: H1250-H1259, 1997.

SÉVOZ-COUCHE, C.; COMET, M.A.; BERNARD, J.F.; HAMON, M. & LAGUZZI, R. Cardiac baroreflex facilitation evoked by hypothalamus and prefrontal cortex stimulation: role of the nucleus tractus solitarius 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291: R1007-1015, 2006.

SÉVOZ-COUCHE, C.; HAMON, M. & LAGUZZI, R. Medullary pathways of cardiovascular responses to 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor stimulation in the rat nucleus tractus solitarius. *Neuroreport*, 7: 1965–1969, 1996a.

SÉVOZ-COUCHE, C.; JORDAN, D.; SPYER, K.M.; RAMAGE, A.G. & WANG, Y. Modulation of neurones in the nucleus tractus solitarius (NTS) of the rat by 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Neuropharmacology*, 39: 2006-2016, 2000c.

SÉVOZ-COUCHE, C.; NOSJEAN, A.; CALLERA, J.C.; MACHADO, B.; HAMON, M. & LAGUZZI, R. Stimulation of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the NTS inhibits the cardiac Bezold–Jarisch reflex response. *American Journal of Physiology*, 271: H80–H87, 1996b.

SÉVOZ-COUCHE, C. In vivo modulation of vagal-identified dorsal medullary neurones by activation of different 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptors in rats. *British Journal of Pharmacology*, 131: 1445–1453, 2000.

SILVA, A.L.; CABRAL, A.M.; ABREU, G.R.; PIRES, J.G.P.; BISSOLI, N.S. & RAMAGE, A.G. Chronic treatment with mianserin prevents DOCA-salt hypertension in rats-evidence for the involvement of central 5-HT<sub>2</sub> receptors. *European Journal of Pharmacology*, 518(2-3):152-7, 2005.

SHEPHEARD, S.L.; JORDAN, D. & RAMAGE, A.G. Comparison of the effects of IVth ventricular administration of some tryptamine analogues with those of 8-OH-DPAT on autonomic outflow in the anaesthetized cat. *British Journal of Pharmacology*, 111(2): 616-24, 1994.

SHVALOFF & LAGUZZI, R. Serotonin receptors in the rat nucleus tractus solitarius and cardiovascular regulation. *European Journal of Pharmacology*, 132: 283–288, 1986A.

SKINNER, M.R.; RAMAGE, A.G. & JORDAN, D. Modulation of reflex evoked vagal bradycardias by central 5-HT<sub>1A</sub> receptors in anaesthetized rabbits. *British Journal of Pharmacology*, 137: 861–873, 2002.

SKINNER, M.R.; RAMAGE, A.G. & JORDAN, D. Evidence that central 5-HT<sub>1A</sub> receptor are involved in the vagal bradycardia evoked by aortic nerve stimulation in anaesthetized rabbits. *British Journal of Pharmacology*, 120: 25P, 1997.

SPORTON, S.C.; SHEPHEARD, S.L.; JORDAN, D. & RAMAGE, A.G. Microinjections of 5-HT<sub>1A</sub> agonists into the dorsal motor vagal nucleus produce a bradycardia in the atenolol-pretreated anaesthetized rat. *British Journal of Pharmacology*, 104: 466-470, 1991.

STEINBUSCH, W.M. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat. Cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 6: 557–618, 1981.

STREET, J.A.; HEMSWORTH, B.A.; ROACH, A.G. & DAY, M.D. Tissue levels of several radiolabelled  $\beta$ -adrenoceptor antagonists after intravenous administration in rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie*, 237: 180–190, 1979.

SYKES, R.M.; SPYER, K.M. & IZZO, P.N. Central distribution of substance P, calcitonin gene-related peptide and 5-hydroxytryptamine in vagal sensory afferents in the rat dorsal medulla. *Neuroscience*, 59: 195–210, 1994.

TAYLOR, D.P. Serotonin agents in anxiety In: P.M. Whitaker-Azmitia and S.J. Peroutka, *Editors, The Pharmacology of Serotonin, New York Academy of Sciences, New York*: 545–557, 1990.

THOMAS, D.R.; MELOTTO, S.; MASSAGRANDE, M.; GRIBBLE, A.D.; JEFFREY, P. & STEVENS, A.J. SB-656104-A, a novel selective 5-HT<sub>7</sub> receptor antagonist, modulates REM sleep in rats. *British Journal of Pharmacology*, 139: 705–714, 2003.

THOR, K.B.; BLITZ-SIEBERT, A. & HELKE, C.J. Autoradiographic localization of 5-HT<sub>1</sub> binding sites in autonomic areas of the rat dorsomedial medulla oblongata. *Synapse*, 10: 217-227, 1992.

THORÉN, P. Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. *Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology*, 86: 1-94, 1979.

ULLMER, C.; Schmuck, K.; Kalkman, H.O. & Lübbert, H. Expression of serotonin receptor mRNAs in blood vessels. *FEBS Letters*, 370: 215-221, 1995.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação. 1ed. São Paulo, 2004.

VANHOUTTE, P.; AMERY, A.; BIRKENHAGER, W.; BREKENRIDGE, A.; BUHLER, F. & DISTLER, A. Serotonergic mechanisms in hypertension. Focus on the effects of ketanserin. *Hypertension*, 11: 111–133, 1988.

VASQUEZ, E. C. Contribution of the cardiopulmonary reflex to the cardiovascular regulation in normal and pathophysiological states. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 1049-1064, 1994.

VERBENE, A.J.M.; BEART, P.M. & LOUIS, W.J. Excitatory amino acid receptors in the caudal ventrolateral medulla mediate a vagal cardiopulmonary reflex in the rat. *Brain Research*, 78: 185-192, 1989.

VERBERNE, A.J.M. & GUYENET, P.G. Medullary pathway of the Bezold–Jarisch reflex in the rat. *American Journal of Physiology*, 263: R1195–R1202, 1992.

WANG, Y. BIEGER, D. & NEUMAN, R.S. Activation of NMDA receptors is necessary for fast information transfer at brainstem vagal motoneurons. *Brain Research*, 567: 260-266, 1991.



WANG, Y. & RAMAGE, A.G. The role of central 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the control of B-fibre cardiac and bronchoconstrictor vagal preganglionic neurones in anaesthetized cats. *Journal of Physiology*, 536: 753–767, 2001.

WANG, Y.; RAMAGE, A.G. & JORDAN, D. In vivo effects of 5-hydroxytryptamine receptor activation on rat nucleus tractus solitarius neurones excited by vagal C-fibre afferents. *Neuropharmacology*, 36: 489–498, 1997.

WHALEN, E.J.; JOHNSON A.K. & LEWIS, S.J. Functional evidence for the rapid desensitization of 5-HT<sub>3</sub> receptors on vagal afferents mediating the Bezold–Jarisch reflex. *Brain Research*, 873: 302–305, 2000.

WOLF, W.A.; KUHN, D.M. & LOVENBERG, W. Serotonin in central regulation of blood pressure. In: Vanhoutte, P.M., Editor, 1985. Serotonin and Cardiovascular System.

ZANCHETTI, A; MANCIA, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. *Hypertension*, 18: Suppl III, 13-21, 1991.

ZELIS, R.; CAUDILL, C. C.; BAGGETE, K.; MANDON, T.D. & BAGGETTE, L. Caudal Reflex vasodilatation induced by coronary in human subjects. *Circulation*, 53: 490-3, 1976.

ZOLLER, R.P.; MARK, A.L.; ABBOUD, F.M.; SCHMID, P.G. & HEISTAD, D.D. The role of low pressure baroreceptors in reflex vasoconstrictor responses in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 51: 2967-2972, 1972.

ZUCKER, I.H. & CORNISH, K.G. The Bezold-Jarisch reflex in the conscious dog. *Circulation Research*, 49: 940-94

# 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](#)