

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia

**Pró-Forma**

**Tese Doutorado**

*Avaliação da participação de mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) na modulação autonômica basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados*

Josiane de Campos Cruz

Ribeirão Preto

2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Universidade de São Paulo

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Programa de Pós-Graduação em Fisiologia

JOSIANE DE CAMPOS CRUZ

*Pró-forma da tese de doutorado, apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia  
da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,  
como parte das exigências para a obtenção do  
título de Doutor em Ciências.*

**Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado**

## ÍNDICE

1. RESUMO .....	5
2. SUMMARY .....	9
3. INTRODUÇÃO .....	12
4. OBJETIVOS.....	22
5. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
5.1) Animais.....	25
5.2) Implante de cânulas- guia dirigidas ao PVN:.....	25
5.3) Canulação da artéria e veia femoral: .....	27
5.4) Registros cardiovasculares: .....	28
5.5) Microinjeção de drogas no PVN de ratos não anestesiados: .....	28
5.6) Drogas e soluções utilizadas: .....	29
5.7) Histologia:.....	29
5.8) Análise estatística: .....	30
6. Protocolos experimentais .....	31
6.1) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados: .....	32
6.2) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos anestesiados com uretana: .....	33
6.3) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados: .....	34

6.4) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.....	35
6.5) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados: ....	36
6.6) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados: .....	37
6.7) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados: .....	38
6.8) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%) no PVN de ratos não anestesiados: .....	39
6.9) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de salina (0.9%) no PVN de ratos não anestesiados: .....	41
6.10) Medidas do peso, da ingestão de ração, água e excreção de urina antes e após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas: .....	42
6.11) Medida do peso, da ingestão de ração, água e excreção de urina antes e após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas:.....	43
7. RESULTADOS.....	44
7.1) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados: .....	45

7.2) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos anestesiados:	46
7.3) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados.	58
7.4) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.	59
7.5) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após as microinjeções bilaterais do ácido quinurênico (KYN) dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.	71
7.6) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 1, 3, 5, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados.	73
7.7) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 1, 3, 5, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel KYN + PPADS no PVN de ratos não anestesiados.	74
7.8) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de bicuculina antes e após a microinjeção ipsilateral de lidocaína no PVN de ratos não anestesiados.	97
7.9) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.	97

7.10) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados. ....	98
7.11) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de salina (0.9%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados. ....	99
7.12) Peso, ingestão de ração, ingestão água e excreção de urina antes e após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas: .....	100
7.13) Peso, ingestão de ração, ingestão de água e excreção de urina antes e após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas:.....	101
8. DISCUSSÃO .....	116
8.1) Participação dos receptores GABA <sub>A</sub> no PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. ....	118
8.2) Efeito do anestésico uretana sobre as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo. ....	120
8.3) Participação do óxido nítrico no PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.....	121
8.4) Efeito da microinjeção unilateral de glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral do ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados. ....	124

8.5) <i>Participação dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.</i> .....	125
8.6) <i>Participação dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.</i> .....	127
8.7) <i>Participação do PVN nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.</i> .....	130
8.8) <i>Efeito do implante de cânulas-guia em direção ao PVN e da anestesiada (ip) no peso, na ingestão de ração, na ingestão de água e na excreção de urina dos animais.</i> .....	133
8.9) <i>Considerações finais:</i> .....	135
9. <i>CONCLUSÕES</i> .....	139
10. <i>SUMÁRIO</i> .....	141
11. <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> .....	144
12. <i>APÊNDICE</i> .....	158



## *1. RESUMO*

---

As células quimiossensíveis do corpúsculo carotídeo são ativadas em situações de alteração na  $pO_2$  do sangue arterial. A primeira sinapse das aferências dos quimiorreceptores periféricos ocorre no núcleo do trato solitário (NTS). A partir do NTS duas vias autonômicas e distintas são ativadas; a via simpato-excitatória e a via parassimpato-excitatória, desencadeando assim as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo. Além disso, são também geradas respostas respiratórias e comportamentais. Estudos funcionais sugerem a participação do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) na via simpato-excitatória do quimiorreflexo. O PVN é um importante centro de controle autonômico e neuroendócrino. Vários trabalhos sugerem a participação de mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos e glutamatérgicos na modulação tônica da atividade simpática no PVN, sugerindo a existência de um balanço entre os receptores excitatórios e inibitórios no PVN sobre a modulação tônica da atividade simpática. Recentes estudos sugerem o envolvimento dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica simpática. O objetivo do nosso estudo foi avaliar a participação de mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos do PVN na modulação tônica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Para tanto, utilizamos ratos Wistar (300-320g); cânulas-guia foram implantadas em direção ao PVN 4-5 dias antes dos experimentos. A artéria e a veia femoral esquerda dos animais foram canuladas, um dia antes dos experimentos. O quimiorreflexo foi ativado com KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml, iv) antes e em diferentes tempos após a microinjeção bilateral de bicuculina (antagonista GABA<sub>A</sub>), L-NAME (inibidor não seletivo da enzima oxido nítrico sintase), ácido quinurênico [KYN (antagonista inespecífico dos receptores ionotrópicos do L-glutamato)] e PPADS (antagonista dos receptores purinérgicos P2). Realizamos também a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados. Os resultados

---

mostraram que a microinjeção bilateral de bicuculina (n=7) no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM ( $94 \pm 3$  vs  $113 \pm 5$  mmHg) e na FC ( $350 \pm 9$  vs  $439 \pm 18$  bpm) basais dos animais. Contudo, a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $49 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg) e bradicárdica ( $-213 \pm 23$  vs  $-276 \pm 42$  bpm) à ativação do quimiorreflexo. A microinjeção de L-NAME (n=8) no PVN promoveu um aumento significativo na PAM ( $94 \pm 2$  vs  $110 \pm 3$  mmHg) e na FC basais ( $352 \pm 11$  vs  $448 \pm 20$  bpm), contudo não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $52 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg) e bradicárdica ( $-253 \pm 19$  vs  $-320 \pm 24$  bpm) à ativação do quimiorreflexo. A microinjeção de KYN (n=6) no PVN não promoveu alterações significativas na PAM ( $98 \pm 3$  vs  $100 \pm 3$  mmHg), FC basais ( $330 \pm 5$  vs  $339 \pm 1$  bpm) ou nas respostas pressora ( $50 \pm 4$  vs  $42 \pm 4$  mmHg) e bradicárdica ( $-252 \pm 4$  vs  $-285 \pm 16$  bpm) à ativação do quimiorreflexo. A microinjeção de PPADS no PVN (n=6) promoveu um aumento significativo na PAM ( $99 \pm 2$  vs  $112 \pm 3$  mmHg) e na FC basais ( $332 \pm 8$  vs  $375 \pm 8$  bpm), mas não alteraram as respostas pressora ( $53 \pm 4$  vs  $56 \pm 8$  mmHg) e bradicárdica ( $-245 \pm 13$  vs  $-286 \pm 14$  bpm) à ativação do quimiorreflexo. A microinjeção do coquetel PPADS + KYN (n=7) no PVN não promoveu alterações significativas na PAM ( $93 \pm 2$  vs  $99 \pm 3$  mmHg), FC basais ( $357 \pm 11$  vs  $380 \pm 11$  bpm) ou nas respostas pressora ( $58 \pm 4$  vs  $49 \pm 4$  mmHg) e bradicárdica ( $-252 \pm 17$  vs  $-273 \pm 13$  bpm) à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

Concluimos que a) os receptores GABA<sub>A</sub>, o óxido nítrico e os receptores purinérgicos no PVN de ratos não anestesiados estão envolvidos com a modulação tônica cardiovascular, mas não estão envolvidos com as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados e b) que os receptores ionotrópicos de L-glutamato no PVN de ratos não anestesiados não estão envolvidos com a modulação

tônica cardiovascular ou com as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

## *2. SUMMARY*

---

The chemosensitive cells, located in the carotid body, are activated in hypoxia situation (low arterial  $PO_2$ ). The first synapse of chemoreflex afferents occurs in the nucleus tractus solitarius (NTS). From the NTS, different autonomic neural pathways are activated to produce cardiovascular, respiratory and behavioral responses. There is evidence showing the involvement of the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus on the cardiovascular response to chemoreflex activation in anesthetized and awake rats. However the neurotransmitter in the PVN involved in the cardiovascular response to chemoreflex activation in awake rats, remains to be characterized. In this regard, different functional studies have shown that GABAergic, nitroergic and glutamatergic mechanisms in the PVN have an important role in the maintenance of tonic autonomic modulation. Besides, recent studies suggest the involvement of purinergic receptors (P2X) in the PVN on the sympathetic modulation. In the present study we evaluated the role of GABAergic, nitroergic, glutamatergic and purinergic mechanisms in the PVN on the tonic autonomic modulation of the cardiovascular system and on the cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. Guide-cannulae were bilaterally implanted in the PVN of male Wistar rats. Femoral artery and vein were catheterized one day before of the experiments. Chemoreflex was activated with KCN (80  $\mu$ g/ 0.05 ml, iv) before and after microinjections performed into the PVN. Microinjection of bicuculline, a GABA<sub>A</sub> receptor antagonist, into the PVN (n=7) produced an increase in baseline MAP ( $94 \pm 3$  vs  $113 \pm 5$  mmHg) and HR ( $350 \pm 9$  vs  $439 \pm 18$  bpm), but had no effect on the pressor ( $49 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg) or bradycardic ( $-213 \pm 23$  vs  $-276 \pm 42$  bpm) responses to chemoreflex activation. Microinjection of L-NAME, a non-selective inhibitor of nitric oxide-synthase, into the PVN (n=8) produced an increased in the baseline MAP ( $94 \pm 2$  vs  $110 \pm 3$  mmHg) and HR ( $352 \pm 11$  vs  $448 \pm 20$  bpm), but had no effect on the pressor

---

( $52 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg) or bradycardic ( $-253 \pm 19$  vs  $-320 \pm 24$  bpm) response to chemoreflex activation. Microinjection of Kynurenic acid, a non-selective antagonist of ionotropic, glutamate receptors, (n= 6) into the PVN had no effect in the baseline MAP ( $98 \pm 2$  vs  $110 \pm 3$  mmHg) and HR ( $330 \pm 5$  vs  $339 \pm 1$  bpm) or in the pressor ( $50 \pm 4$  vs  $42 \pm 4$  mmHg) and bradycardic ( $-252 \pm 4$  vs  $-285 \pm 16$  bpm) response to chemoreflex activation. Microinjection of PPADS, a non selective P2X antagonist, into the PVN (n=6) produced an increased in the baseline MAP ( $99 \pm 2$  vs  $112 \pm 3$  mmHg) and HR ( $332 \pm 8$  vs  $375 \pm 8$  bpm), but had no effect on the pressor ( $53 \pm 4$  vs  $56 \pm 8$  mmHg) or bradycardic ( $-245 \pm 13$  vs  $-286 \pm 14$  bpm) response to chemoreflex activation. Microinjection of cocktail PPADS + KYN (n= 7) into the PVN had no effect in the baseline MAP ( $93 \pm 2$  vs  $99 \pm 3$  mmHg) and HR ( $357 \pm 11$  vs  $380 \pm 11$  bpm) or in the pressor ( $58 \pm 4$  vs  $49 \pm 4$  mmHg) and bradycardic ( $-252 \pm 17$  vs  $-273 \pm 13$  bpm) response to chemoreflex activation.

We conclude that a) GABA<sub>A</sub>, purinergic receptors and nitric oxide in the PVN are involved in maintenance of the baseline autonomic function to the cardiovascular system but not in the modulation of the cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats; b) the ionotropic glutamate receptors in the PVN are not involved neither with the maintenance of the tonic autonomic function to the cardiovascular system nor with the modulation of the cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats.

### *3. INTRODUÇÃO*



O sistema cardiovascular apresenta diferentes mecanismos de controle, os quais têm por finalidade manter a pressão arterial (PA) continuamente dentro de faixas normais de variação, garantindo a perfusão adequada de todos os tecidos e os órgãos. Há assim, mecanismos de ajustes rápidos que modulam a variação da pressão arterial em diferentes situações. Tais ajustes envolvem a ativação de sensores periféricos que detectam as mínimas variações da PA, enviando essas informações para áreas específicas do sistema nervoso central, cujas eferências promovem ajustes simpáticos e parassimpáticos. Dentre os mecanismo de modulação a curto prazo da pressão arterial destacamos os quimiorreceptores periféricos.

Os quimiorreceptores periféricos estão localizados principalmente nas células dos corpúsculos carotídeos (quimiorreceptores carotídeos) e são altamente irrigados por uma pequena artéria proveniente diretamente da bifurcação das carótidas comuns ou das carótidas externas, a artéria do corpúsculo carotídeo, a qual confere as células quimiossensíveis o maior fluxo sanguíneo por grama de tecido. As células quimiossensíveis periféricas também estão presentes na curvatura da artéria aorta [quimiorreceptores aórticos (Comroe, 1939)]. No entanto, sabe-se que no rato, os quimiorreceptores carotídeos são mais importantes na quimiorrecepção do que os quimiorreceptores aórticos, pois a remoção cirúrgica destes corpúsculos (ligadura das artérias dos corpúsculos carotídeos) abole as respostas cardiovasculares, respiratórias e comportamentais à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados (Haibara e cols., 1995; Barros e cols., 2002). Os quimiorreceptores periféricos são ativados em situações de alterações na pressão parcial de oxigênio ( $pO_2$ ), gás carbônico ( $pCO_2$ ) e por alterações no pH sanguíneo. Em situações de queda na  $pO_2$  (abaixo de 60 mmHg), canais de  $K^+-O_2$  dependentes, localizados na membrana das células quimiossensíveis, são inibidos, resultando na ativação de canais de  $Ca^{2+}$  voltagem dependentes (Biscoe e cols.,

1990), com a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre à despolarização da membrana e em seguida a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica. As células quimiossensíveis apresentam vesículas contendo vários tipos de neurotransmissores e vários indícios sugerem ser a dopamina, o neurotransmissor liberado nas fendas sinápticas dos corpúsculos carotídeos, em situações de hipóxia (Bairam e cols., 1998; Jiang e cols., 2004).

Os quimiorreceptores periféricos são altamente sensíveis à redução da  $\text{pO}_2$  e quando ativados resultam em respostas cardiovasculares (hipertensão e bradicardia), ventilatórias (taquipnéia) e resposta comportamental de exploração do ambiente. Estudos de Haibara e cols.(1995) mostraram que as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo, derivam de vias distintas, a simpato-excitatória, uma vez que o prazosin (antagonista adrenoceptor  $\alpha_1$ ) bloqueou a resposta pressora quimiorreflexa, e a via parassimpato-excitatória, uma vez que a bradicardia quimiorreflexa foi bloqueada pela metil-atropina (antagonista de receptores muscarínicos). Experimentalmente as células quimiossensíveis periféricas são ativadas com o cianeto de potássio (KCN), o qual atua inibindo a enzima citocromo-oxidase da cadeia respiratória, produzindo conseqüentemente uma hipóxia-citotóxica, originando respostas cardiovasculares e respiratórias semelhantes àquelas promovidas pela hipóxia-hipóxica em ratos não anestesiados (Franchini e Krieger, 1993; Bao e cols., 1997; Barros e cols., 2002).

As células quimiossensíveis quando ativadas realizam sinapses com neurônios pseudo-unipolares, cujos corpos celulares encontram-se no gânglio petroso, e ao serem estimulados enviam potenciais de ação que se propagam por meio do nervo do seio carotídeo. O nervo do seio carotídeo se junta ao glossofaríngeo (IX par craniano), alcançando assim a região dorso medial bulbar, onde estabelecem as primeiras sinapses no núcleo do trato solitário [NTS] (Lowey, 1990)]. Estudos do nosso laboratório (Cruz e

---

cols. 2004) mostraram um aumento na expressão da proteína Fos no NTS comissural intermediário e caudal após o estímulo do quimiorreflexo, sugerindo a participação específica destes sub-núcleos nas vias neurais do quimiorreflexo. Estudos de Colombari e cols. (1994) mostraram que a microinjeção de L-glutamato no NTS promove respostas pressora e bradicárdica similares àquelas promovidas pela ativação periférica do quimiorreflexo. Em estudos posteriores, Haibara e cols. (1995, 1999) evidenciaram que a microinjeção de AP-5 (antagonista seletivo dos receptores NMDA de L-glutamato) no NTS comissural intermediário bloqueou a resposta bradicárdica à ativação do quimiorreflexo, sugerindo a participação do L-glutamato, via ativação dos receptores NMDA do NTS comissural intermediário, no componente parassimpato-excitatório do quimiorreflexo. No entanto a microinjeção no NTS de diferentes antagonistas de receptores do L-glutamato não bloquearam a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo, sugerindo o possível envolvimento de outros tipos de neurotransmissores e/ou de outras áreas do sistema nervoso central (SNC) na neurotransmissão do componente simpato-excitatório do quimiorreflexo. Estudos recentes de Braga e cols. (2007) mostraram que o duplo bloqueio dos receptores glutamatérgicos e purinérgicos no NTS promove uma redução significativa na resposta simpática à ativação do quimiorreflexo, sugerindo a participação dos mecanismos glutamatérgicos e purinérgicos do NTS no componente simpato-excitatório do quimiorreflexo.

A partir do NTS diferentes núcleos do SNC são ativados promovendo ajustes autonômicos. A parassimpato-excitação observada após o estímulo dos quimiorreceptores, provém de neurônios do NTS que se projetam para o núcleo ambíguo (NA) onde estão localizados os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos que se projetam para o coração, via nervo vago, o qual ao liberar a acetilcolina nas células do marca-passo cardíaco promove o aumento da permeabilidade ao íon  $K^+$ , dificultando

---

assim a sua despolarização, com conseqüente redução na frequência cardíaca basal (resposta bradicárdica). A via simpato-excitatória do quimiorreflexo é composta por neurônios do NTS que enviam projeções para a região ventrolateral rostral da medula [(RVLM), Aicher e cols., 1996; Koshiya e Guyenet, 1996], a qual é responsável pela geração e modulação da atividade simpática (Sun e cols., 1988). Os neurônios da RVLM enviam projeções direta ou indiretas para a coluna intermédia lateral (CIL) da medula espinhal (Pyner e Coote, 2000; Badoer e Merolli, 1998) onde estão localizados os neurônios pré-ganglionares simpáticos, produzindo assim a resposta pressora do quimiorreflexo.

Estudos de Mauad e Machado (2001), com a ligadura unilateral da artéria que irriga o corpúsculo carotídeo, mostraram que a microinjeção de antagonistas de receptores de aminoácido excitatório (AAE) na RVLM ipsilateral ao corpúsculo carotídeo intacto, não afetou a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo com KCN, sugerindo que o componente simpato-excitatório do quimiorreflexo, não parece estar restrito às projeções ipsilaterais do NTS para a RVLM e que projeções do NTS para outras regiões do sistema nervoso central podem participar dessa resposta. Nesse sentido, diferentes estudos ainda evidenciam a participação do núcleo parabraquial [NPB (Haibara e cols. 2002)], retro-trapezóide [RTZ (Moreira e cols., 2006)] e do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) na via simpato-excitatória do quimiorreflexo (Cruz e cols., 2008; Olivan e cols., 2001). Dentre os núcleos citados acima, destacamos a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo; estudos de Berquim e cols. (2000<sup>a,b</sup>) observaram um aumento significativo na expressão da proteína Fos no PVN de ratos submetidos à hipóxia moderada (pO<sub>2</sub>, 11%). Estudos do nosso laboratório (Olivan e cols., 2001) evidenciaram a participação do PVN na via simpato-excitatória do quimiorreflexo, pois a lesão eletrolítica bilateral deste núcleo

---

promoveu uma redução significativa na resposta pressora à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados e estudo posterior avaliando a expressão da proteína Fos em resposta à ativação do quimiorreflexo mostraram a participação específica dos sub-núcleos parvocelulares pré-autonômicos dorso-medial, ventro-medial e posterior do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo (Cruz e cols., 2008). Evidências anatômicas mostram conexões entre o PVN e o NTS (Kannan e Yamashita, 1985; Kooy e cols., 1984; Ricardo e Koh, 1978), bem como com outras áreas do SNC como a RVLM (Badoer e Merolli, 1998; Cunningham e cols., 1990; Pyner e Coote, 2000) e com os neurônios da medula espinhal (Swanson e Sawchenko, 1980; Kannan e Yamashita, 1985; Badoer e Merolli., 1998; Shafton e cols. 1998; Pyner e Coote 2000). Estudos recentes do nosso laboratório (Cruz e cols., 2008) mostraram que cerca de 30% dos neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) que se projetam para a RVLM expressão a proteína Fos após o estímulo intermitente do quimiorreflexo, sugerindo a participação de projeções do PVN para a RVLM na via simpato-excitatória do quimiorreflexo.

O PVN contém diferentes sub-núcleos incluindo o magnocelular, o parvocelular neuroendócrino e o parvocelular pré-autonômico (Swanson e Sawchenko, 1980, 1983), com diferentes características anatômicas e funcionais, conferindo a este núcleo hipotalâmico um importante papel na modulação neuroendócrina e cardiovascular (Swanson e Sawchenko, 1980; 1983). Diferentes tipos de neurotransmissores são encontrados no PVN (Moga e Saper, 1994; Swanson e Sawchenko, 1980; 1983), tais como: ATP (adenosine-5'-triphosphate), noradrenalina, acetilcolina, glutamato, óxido nítrico (NO) e GABA. Dentre esses, destacamos inicialmente o GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico), pois estudos de Decavel e Van den Pol (1990) sugeriram que o GABA é o neurotransmissor inibitório mais importante no hipotálamo. A microinjeção de

---

bicuculina (antagonista GABA<sub>A</sub>) no PVN de ratos anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM, FC e na atividade simpática renal [ASR (Zhang e Patel, 1998; Li e cols., 2001; Li e Patel, 2003) e trabalhos de Martin e Haywood (1991) e Schelenker e cols. (2001) mostraram que a microinjeção de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM, FC, nos níveis de noradrenalina plasmática (Martin e Haywood, 1991) e também na ventilação (Schelenker e cols., 2001). Todos esses estudos sugerem a participação de mecanismos GABAérgicos do PVN no controle tônico da atividade simpática.

Trabalhos de Horn e cols. (1994) mostraram existir uma interação entre mecanismos GABAérgicos e o óxido nítrico (NO) no PVN, pois a perfusão deste núcleo com líquido cerebrospinal artificial contendo NO promoveu o aumento dos níveis de GABA. Estudos de Li e Stern (2003) mostraram que 30 % dos neurônios pré-autonômicos do PVN que se projetam para a RVLM expressam NO-sintase (NOs). O uso de inibidores da NOs promove um aumento na frequência de disparo dos neurônios do PVN que se projetam para a RVLM ou complexo dorso-vagal, sugerindo um controle tônico inibitório exercido pelo NO nestes neurônios do PVN (Li e cols., 2001; Li e Stern, 2003). Estudos de eletrofisiologia realizados por De-Pei e cols. (2002) mostraram que doadores de NO ou L-arginina (aminoácido precursor do NO) causaram um aumento significativo nas correntes inibitórias pós-sinápticas em miniatura de neurônios do PVN que se projetam para a medula espinhal, esta resposta foi eliminada pela prévia microinjeção de bicuculina, sugerindo o controle tônico do NO sobre esses neurônios do PVN que se projetam para a medula espinhal por meio de mecanismos GABAérgicos. Estudos realizados com microinjeções no PVN de ratos anestesiados mostraram que o óxido nítrico promove uma diminuição significativa na PAM, FC e na ASR basal (Zhang e cols., 1997, 1998; Li e cols., 2001; Li e Patel 2003). Nesse sentido, Zhang e

Patel (1998) mostraram que esse efeito simpato-inibidor do óxido nítrico no PVN foi eliminado pela prévia microinjeção de GABA, os autores sugerem que o efeito simpato-inibitório do óxido nítrico no PVN é mediado por mecanismos GABAérgicos.

Os RNAs mensageiros (mRNAs) de receptores ionotrópicos de L-glutamato são expressos em neurônios de diferentes sub-núcleos do PVN (Herman e cols., 2000). A microinjeção de L-glutamato no PVN aumenta significativamente a PAM, FC, ASR e nos níveis de noradrenalina plasmática (Kannan e Yamashita, 1989; Martin e Haywood, 1992). Os receptores ionotrópicos de glutamato parecem ser importante no PVN para a modulação autonômica, pois a microinjeção de AP-5 no PVN de ratos não anestesiados bloqueou a resposta pressora a microinjeção de NMDA intracerebroventricular (Goren e cols., 2000). Estudos de eletrofisiologia, por meio da técnica de “patch clamp”, mostraram que o NMDA promove a despolarização das células do PVN, sendo essa resposta potencializada pela prévia aplicação de L-NAME (inibidor não específico da NO-sintase) na perfusão (Bains e Ferguson, 1997). Esses estudos sugerem existir uma interação entre os receptores ionotrópicos de L-glutamato e o óxido nítrico no PVN, por sua vez a perfusão do PVN com NO promove aumento na concentração de glutamato (Horn e cols., 1994) e a perfusão do PVN com glutamato ou NMDA promove um aumento significativo na concentração de óxido nítrico no PVN (Li e cols., 2001).

Estudos funcionais mostraram que a microinjeção de NMDA no PVN de ratos anestesiados promove um aumento significativo na PAM, FC e na ASR dos animais e que essas respostas foram potencializadas pela microinjeção prévia de um inibidor não específico da NO-sintase no PVN (Li e cols., 2001; Li e Patel, 2003). Todos esses trabalhos sugerem a existência de um *feedback* negativo entre o óxido nítrico e os receptores de NMDA no PVN, o qual pode contribuir para a manutenção do tônus

---

simpático. Há também uma interação entre os mecanismos glutamatérgicos e GABAérgicos do PVN atuando na modulação tônica autonômica, pois a prévia microinjeção de AP-5 ou NBQX (antagonista não NMDA) no PVN de ratos anestesiados aboliu a resposta pressora e o aumento da ASR à microinjeção de bicuculina (Chen e cols., 2003). Estudos de Zhang e Patel (1998) e Li e cols. (2001) sugerem que o glutamato no PVN promove a liberação de óxido nítrico o qual atua inibindo diretamente os neurônios pré-autonômicos do PVN ou indiretamente por meio da liberação de GABA. Estudos recentes mostraram que os mecanismos GABAérgicos e nitrérgicos do PVN estão envolvidos com a modulação do componente simpato-excitatório do quimiorreflexo em ratos anestesiados (Reddy e cols., 2005 e 2007) e estudos de Kubo e cols. (1997) sugerem a participação dos receptores ionotrópicos de glutamato na modulação da resposta pressora do quimiorreflexo em animais anestesiados e com transecção da medula espinhal. No entanto, estudos de Kannan e Yamashita (1989) documentaram que o uso de anestésicos promove a atenuação ou reversão das respostas cardiovasculares à estimulação do PVN e estudos de Franchini e Krieger (1993) mostraram que as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo estão atenuadas em ratos anestesiados. Considerando os estudos de Zhang e Patel (1998) e Li e cols. (2001), nossa hipótese é que a ativação dos quimiorreceptores periféricos promoveria a des-inibição tônica exercida pelos mecanismos GABAérgicos e nitrérgicos do PVN sobre os neurônios glutamatérgicos, os quais atuariam modulando a atividade dos neurônios pré-autonômicos do PVN responsáveis pelos ajustes cardiovasculares observados após a ativação dos quimiorreceptores periféricos.

Outro importante neurotransmissor presente no PVN é o ATP. Os receptores purinérgicos são ativados por meio da abertura de canais iônicos (receptores P2X ionotrópicos) ou ativação de segundo mensageiro [receptores P2Y metabotrópicos



(Burnstock e Kennedy, 1985)]. Estudos de Cham e cols. (2007) mostraram que todas as subunidades P2X dos receptores purinérgicos são expressas no PVN incluindo os sub-núcleos parvocelulares pré-autonômicos dorsal cap e ventro-medial. O ATP atua facilitando a liberação de glutamato e GABA no SNC (Robertson e cols., 1999; Shigetomi e Kato, 2004). Contudo pouco ainda é conhecido sobre o papel funcional das diferentes sub-unidades dos receptores purinérgicos expressos nas células do PVN. Neste sentido, estudos realizados com cultura organotípica de células do PVN mostraram que o ATP no banho induz um aumento significativo na medida do  $Ca^{+}$  intracelular (Roychowdhury e cols., 2005). Estudos de Cham e cols. (2007) mostraram ainda que 14-29% dos neurônios do PVN que expressam as diferentes subunidades P2X dos receptores purinérgicos projetam-se para a RVLM. Esses autores também sugerem a participação desses receptores do PVN na modulação simpática, contudo estudos funcionais são necessários para elucidar o papel dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica. Em relação ao quimiorreflexo, Kubo e cols. (1997) documentaram que a microinjeção de suramin (antagonista P2) no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo, entretanto esses estudos foram realizados em animais anestesiados e com transecção da medula espinhal.

Considerando que os estudos sugerindo o envolvimento dos mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos do PVN nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo foram realizados em animais anestesiados, no presente estudo analisamos a participação desses mecanismos do PVN nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

## *4. OBJETIVOS*

Analisar por meio de estudos farmacológicos a participação de mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos do núcleo paraventricular do hipotálamo na modulação da pressão arterial e da frequência cardíaca basal, bem como nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

## *5. MATERIAL E MÉTODOS*

### 5.1) Animais:

Utilizamos ratos Wistar machos pesando de 300-320 gramas, fornecidos pelo Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto. Os animais, ao chegarem do Biotério central foram alojados em caixas adequadas com no máximo 5 animais por caixa e alimentados com ração granulada e água de torneira “*ad libitum*”. As caixas foram colocadas em uma estante ventilada ALESCO, na qual a temperatura, umidade e a ventilação foram mantidas adequadamente. A estante de animais está localizada em uma das salas climatizadas, com ciclo claro/escuro controlado (12/12h) do biotério de manutenção de animais em experimentação do Departamento de Fisiologia da FMRP/USP. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram alojados em caixas individuais, as quais foram mantidas na sala de experimentos.

Os protocolos realizados em animais não anestesiados foram conduzidos de acordo com as normas e princípios de experimentação em animais de laboratório estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela comissão de ética em experimentação animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (protocolo n° 039/2005).

### 5.2) Implante de cânulas- guia dirigidas ao PVN:

Utilizamos um aparelho estereotáxico (David-Kopf, Tujunga, CA, EUA), para o implante de cânulas-guia bilateralmente em direção à região do PVN de acordo com a técnica descrita por Michelini and Bonagamba (1988). Cânulas de aço inoxidável (15 mm de comprimento) confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas (25 x 0,7 mm) foram fixadas no suporte da torre do estereotáxico. Os animais foram anestesiados com tribromoetanol [2.5 mg/Kg, i.p. (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, EUA)],

depilados na região dorsal da cabeça e posicionados no aparelho de estereotáxico, a cabeça dos animais foi fixada por meio de barras auriculares. A seguir injetamos, subcutâneamente na região do escalpo a ser aberta, um anestésico local com vasoconstrictor (cloridrato de lidocaína a 3% com bitartarato de adrenalina 1:50.000), a fim de se evitar o sangramento após a incisão cirúrgica. Na seqüência realizamos uma incisão longitudinal na pele e tecido subcutâneo, expondo a região da calota craniana. A torre do estereotáxico foi posicionada verticalmente (angulação zero) e a cabeça do animal ajustada até que os pontos das suturas sagital (bregma) e occipital (lâmbda) da calota craniana ficassem na posição horizontal e então os parâmetros antero-posterior (AP), laterais (L) e dorso-ventral (DV) foram anotados a partir do bregma. Uma vez determinado o ponto de introdução da cânula guia, realizamos a trepanação da calota craniana bilateralmente com o auxílio de uma broca odontológica esférica acoplada a um motor de baixa rotação. Com um afastador, posicionamos o seio venoso lateralmente para que este não fosse danificado durante o implante. Através do orifício feito na calota craniana introduzimos bilateralmente as cânulas-guia, de acordo com os parâmetros previamente estabelecidos em nosso laboratório seguindo as coordenadas estereotáxicas do Atlas de Paxinos e Watson [1986 (AP = -1.2 mm em relação ao bregma; L = 0.4 mm da linha média e DV = -4.8 mm ventral à superfície do osso)]. Assim as extremidades inferior das cânulas-guia foram posicionadas 3 mm acima do PVN evitando o sangramento após o posicionamento dorso-ventral das cânulas-guia. Após o implante, as cânulas-guia foram fixadas ao crânio com resina acrílica de uso odontológico (Simplex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) presas por pequenos parafusos de aço-inoxidável, previamente introduzidos na região occipital da calota craniana. Após a completa fixação das cânulas-guia a torre de estereotáxico foi removida, na seqüência mandris (15 mm) de aço inoxidável foram introduzidos no interior das cânulas-guia para que estas não fossem

obstruídas, os mandris foram removidos antes do início dos experimentos. Ao final do implante, os animais foram retirados do aparelho estereotáxico e como medida de profilaxia pós-cirúrgica, injetamos 0.3 ml (intramuscular) de Pentabiótico Veterinário de amplo-espectro (associação de penicilina e estreptomicina, 1.200.000 UI, Fort Dodge, Campinas, SP, Brasil). Em seguida, para recuperação pós- cirúrgica, os animais foram alojados em caixas com água e ração “*ad-libitum*” e mantidos na estante ventilada ALESCO localizada no biotério do departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto por um período de 4-5 dias.

### 5.3) *Canulação da artéria e veia femoral:*

Um dia antes dos experimentos uma artéria e uma veia femoral dos animais foram canuladas para a obtenção dos registros cardiovasculares e injeção de drogas, respectivamente. As cânulas foram confeccionadas a partir de tubos de polietileno [PE-10 Clay Adams, Parsippany, NJ, EUA (3 cm para canulação da veia femoral e 5 cm para a artéria femoral)], soldadas a outro tubo de polietileno PE-50 de aproximadamente 18 cm. Antes de iniciarmos a canulação, preenchemos as cânulas com solução fisiológica [salina (0,9%)] e obstruímos com pinos de metal a extremidade livre do PE-50. Os ratos foram anestesiados com tribromoetanol [2.5 mg/Kg, i.p. (Aldrich Chemical Co. Inc., Milwaukee, EUA)] e as cânulas foram então inseridas e fixadas na veia e na artéria femoral dos animais, as extremidades livres das cânulas foram dirigidas subcutaneamente com o auxílio de um trocater para a cintura escapular, onde foram exteriorizadas e fixadas com linha de sutura.

#### 5.4) Registros cardiovasculares:

Um dia após a canulação, para o implante das cânulas arterial e venosa, a cânula conectada a arteria femoral dos animais foi heparinizada e em seguida conectada a um transdutor de pressão (MLT 0380, AD-Instruments, NSW, Austrália). O sinal foi então transferido para um amplificador (Bridge Amp, ML221, AD-Instruments, NSW, Austrália) e deste para o computador no qual se encontra instalado o software “Power Lab” (Power Lab, AD-Instruments, NSW, Australia) para aquisição e análise dos sinais. A frequência cardíaca (bpm) foi registrada por meio de um biotacômetro digital acionado a partir dos pulsos de pressão arterial.

Os registros cardiovasculares dos animais do grupo microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados foram obtidos por meio da cânula arterial conectada a um transdutor de pressão Cobe (modelo CDX III, Cobe Laboratories, Lakewood, CO, EUA), acoplado a um polígrafo de 8 canais (Narco Bio-System, Austin, TX, EUA) para registro da pressão arterial pulsátil (PAP) e da pressão arterial média (PAM). A FC, nesse grupo, foi registrada através de um biotacômetro (Narco Biotachometer Coupler, Model 7302) acionado a partir dos pulsos da pressão arterial.

#### 5.5) Microinjeção de drogas no PVN de ratos não anestesiados:

As drogas utilizadas foram dissolvidas em solução fisiológica estéril (salina 0.9%) com pH ajustado com bicarbonato de sódio (Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para valores próximos a 7.4. As drogas foram microinjetadas bilateralmente no PVN através de uma seringa Hamilton de 1 µl (Hamilton, Reno, NV) conectada por meio de um tubo de polietileno PE-10 a uma microinjetora (33 gauge) cerca de 3 mm mais longa que a cânula-guia. O volume microinjetado bilateralmente de acordo com os protocolos foi de 50 ou 100 nl.



5.6) *Drogas e soluções utilizadas:*

- **Ácido quinurênico** {antagonista não seletivo dos receptores ionotrópicos de L-glutamato [7.2 nmol/50 nl (Sigma Chemical, St Louis, MO, EUA)]}
- **Bicuculline methbromide** {antagonista GABA<sub>A</sub> [50 pmol/50 nl (Sigma Chemical, St Louis, MO, EUA)]}
- **Cianeto de Potássio** {inibidor da citocromo oxidase [80 µm/0.05 ml iv (KCN-Merck, Darmstadt, Alemanha)]};
- **L-glutamato monossódico** [3.75 nmol/50 nl (amino ácido excitatório- Sigma St. Louis, MO, EUA)];
- **L-NAME-** N<sub>ω</sub>-Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride {inibidor não seletivo da NO-sintase [50 pmol/50 nl (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, EUA)]}
- **PPADS-** Pyridoxal phosphate-6-azo (benzene-2,4-disulfonic acid) tetrasodium salt hydrate {antagonista P2 [0.25 nmol/50 nl (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, EUA)]}
- **Solução salina estéril** [NaCl 154 mM (0,9%)-veículo];
- **Tiopental sódio** [0.01 ml/100 g ip (anestésico- Sigma, St Louis, MO, EUA)];
- **Tribromoetanol** [0.1 ml/100 g ip (anestésico- Aldrich Chemicol Co. Inc., Milwaukee, EUA)];
- **Uretana-** Urethane [1.2 g/kg ip (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, EUA)].

5.7) *Histologia:*

Ao final dos experimentos fizemos a microinjeção bilateral no PVN do corante azul de Evans 2% (Vetec, Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) no volume de 50 nl, para a determinação dos sítios específicos das microinjeções. A seguir, os animais

foram anestesiados com tionembutal [50 mg/kg i.p. (tiopental sódico; Abbott Laboratórios do Brasil Ltda)] e perfundidos com solução de salina (0.9%) seguido de perfusão com solução de formol (10%) tamponada. O cérebro foi removido e fixado em formol (10%) por 48 horas e então incluído em bloco de parafina e seccionado transversalmente, por meio de um micrótomo, em fatias de 15 µm. Os cortes histológicos foram corados pelo método de Nissl e posteriormente analisados por microscopia de luz [Axioskop (Carl Zeiss, Alemanha)] para identificação dos sítios das microinjeções. As histologias foram consideradas positivas quando os centros das microinjeções atingiram o interior ou os limites (borda) do PVN medial (bregma -1.8 mm) ou posterior (bregma - 2.12 mm).

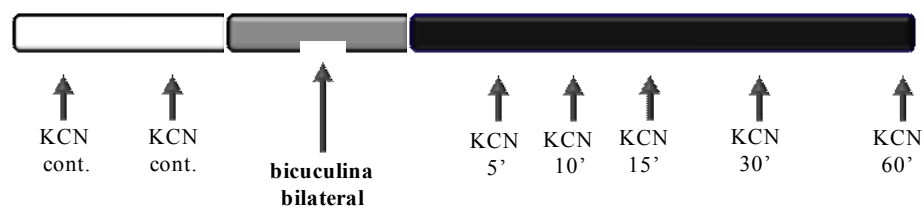
#### 5.8) *Análise estatística:*

A análise estatística foi realizada com análise de variância para medidas repetidas (ANOVA one-way) e quando houve significância estatística ( $p \leq 0.05$ ) utilizamos o pós-teste de Tukey pareado para múltiplas comparações. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média).

## *6. Protocolos experimentais*

6.1) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados:

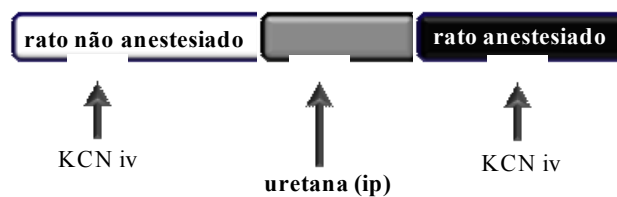
No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de bicuculina [50 pmol/50 nl (Schelenker e cols., 2001)] no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após as microinjeções. O objetivo deste protocolo foi avaliar a participação dos receptores GABA<sub>A</sub> do PVN na modulação autonômica cardiovascular basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.



6.2) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos anestesiados com uretana:

Trinta minutos após o final dos experimentos de microinjeção de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados realizamos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares, os animais foram anestesiados com uretana (1.2 g/kg ip) e o quimiorreflexo foi ativado aos 15, 60, 90 ou 120 minutos após a indução da anestesia. Durante todo o experimento pinçávamos a cauda dos animais para confirmarmos se estes estavam sob o efeito do anestésico, pois caso houvesse alguma reação reflexa a esse estímulo, suplementávamos a anestesia com 15% da dose inicial.

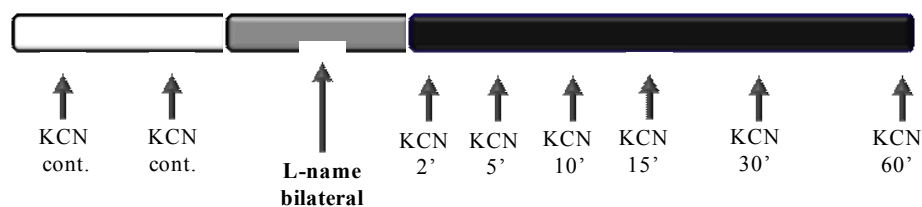
O objetivo deste protocolo foi avaliar as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a anestesia (ip) com uretana.



6.3) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados:

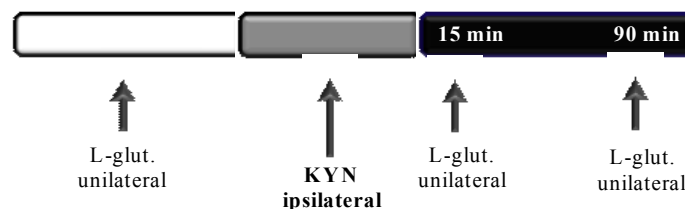
No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de L-NAME (50 pmol/50 nl, KD=10<sup>-6</sup>) no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após as microinjeções.

O objetivo deste protocolo foi avaliar a participação do óxido nítrico na modulação autonômica cardiovascular basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo no PVN de ratos não anestesiados.



6.4) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.

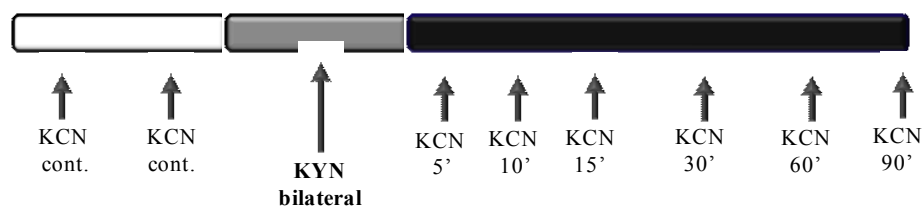
No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas microinjeções unilaterais de L-glutamato (3.75 nmol/50 nl) no PVN de ratos não anestesiados, uma terceira microinjeção foi realizada, caso as respostas anteriores a microinjeção de L-glutamato no PVN não fossem semelhantes. Após as microinjeções controle de L-glutamato esperamos por um período de 15 minutos para a estabilização dos parâmetros cardiovasculares e então realizamos a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico [7.2 nmol/50 nl (Chen e cols., 2003)]. A microinjeção de L-glutamato foi realizada novamente aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico. O objetivo deste protocolo foi verificar se a dose de 7.2 nmol/50 nl de ácido quinurênico utilizada estava antagonizando efetivamente os receptores ionotrópicos de L-glutamato no PVN de ratos não anestesiados.



6.5) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados:

No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de ácido quinurênico (KYN, 7.2 nmol/ 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml, i.v.) aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após as microinjeções.

O objetivo deste protocolo foi avaliar a participação dos receptores ionotrópicos de L-glutamato do PVN na modulação autonômica cardiovascular basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

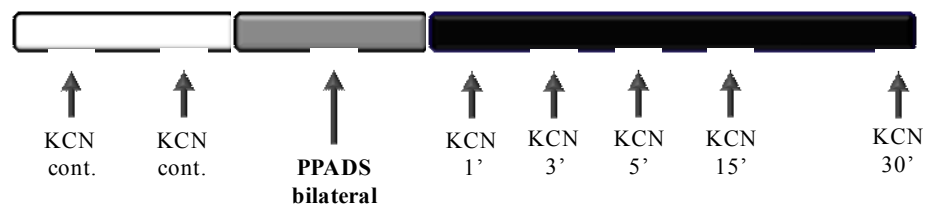




6.6) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados:

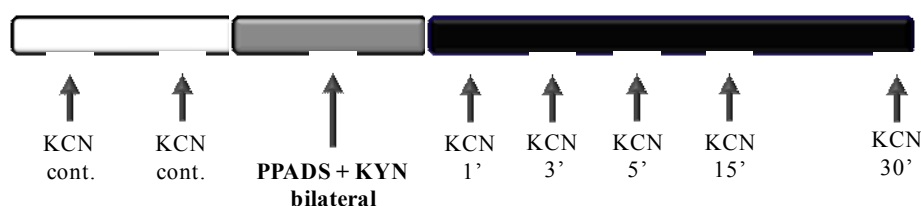
No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de PPADS [0.25 nmol/ 50 nl (Braga e cols., 2007)] no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v) aos 1, 3, 10 e 30 minutos após as microinjeções.

O objetivo deste protocolo foi avaliar a participação dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.



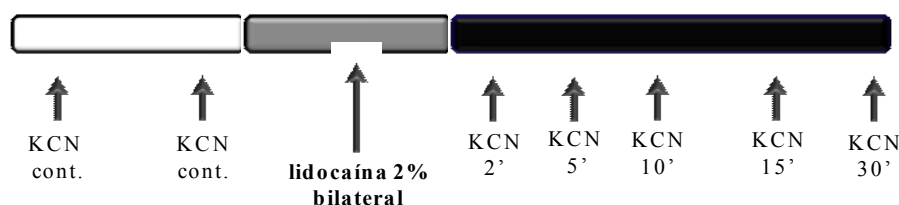
6.7) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados:

No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral do coquetel (50 nl) PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) aos 1, 3, 10 e 30 minutos após as microinjeções. Para a preparação do coquetel volumes iguais das soluções de PPADS (0.5 nmol/50 nl) e de KYN (14.4 nmol/50 nl) foram misturadas para obtermos ao final concentrações semelhantes as concentrações utilizadas nos protocolos de microinjeções individuais de PPADS (0.25 nmol/ 50 nl) e KYN (7.2 nmol/ 50 nl). O objetivo deste protocolo foi avaliar a participação da interação entre os receptores ionotrópicos de glutamato e dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular basal e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

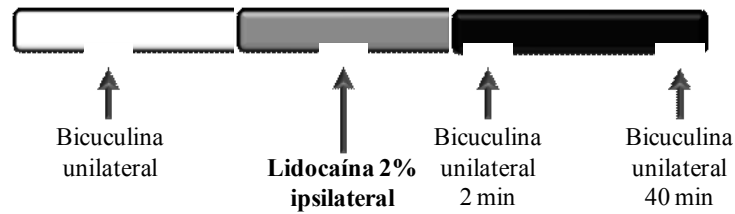


6.8) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%) no PVN de ratos não anestesiados:

No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 ou 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após as microinjeções. O objetivo deste protocolo foi checar se a microinjeção de um anestésico local em um mesmo volume usado para a microinjeção de diferentes antagonistas no PVN, seria suficiente para alterar as respostas cardiovasculares do quimiorreflexo, uma vez que estudos anteriores já haviam documentado a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo (Olivan e cols., 2001; Cruz e cols., 2008).



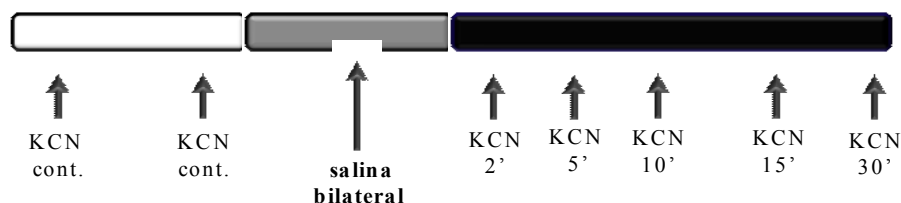
Trinta minutos após o final dos experimentos realizamos a microinjeção unilateral de bicuculina (50 pmol/ 100 nl) antes e aos 2 e 40 minutos após a microinjeção ipsilateral de lidocaína (2%, 100 nl). O objetivo deste protocolo foi avaliar a eficácia da lidocaína como anestésico local no PVN de ratos não anestesiados.



6.9) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de salina (0.9%) no PVN de ratos não anestesiados:

No dia do experimento, a cânula inserida na artéria femoral dos animais foi conectada ao transdutor de pressão. Após a ambientação dos animais e estabilização dos parâmetros cardiovasculares realizamos pelo menos duas injeções de KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) a intervalos de 10 minutos, cujas respostas serviram como controle para o estímulo do quimiorreflexo. Caso não houvesse semelhança no padrão dessas respostas, uma terceira injeção de KCN foi realizada. Após as ativações controle do quimiorreflexo e estabilização dos registros cardiovasculares realizamos a microinjeção bilateral de salina (0.9%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados e o quimiorreflexo foi ativado com KCN (80 µg/0.05 ml, i.v.) aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após as microinjeções.

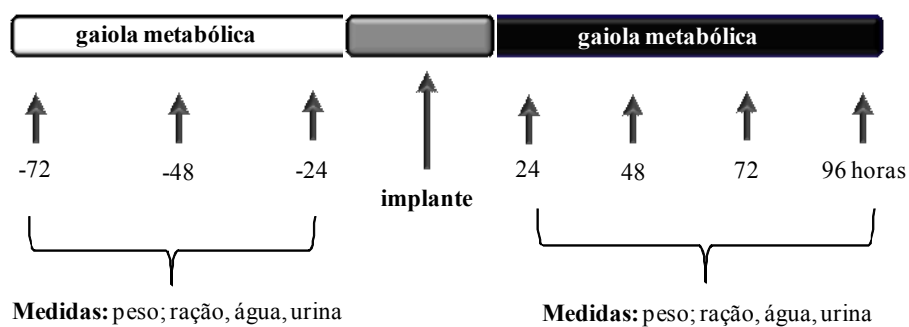
O objetivo deste protocolo foi verificar se o veículo (salina 0.9%) utilizado para diluir as drogas poderia estar afetando os parâmetros cardiovasculares basais e/ou as resposta cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.



6.10) *Medidas do peso, da ingestão de ração, água e excreção de urina antes e após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas:*

Os ratos foram alojados em gaiolas metabólicas individuais três dias antes do início dos experimentos para a ambientação dos animais. Após este período foram avaliados o peso, a ingestão de ração e de água e a excreção de urina dos animais 24, 48 e 72h antes e 24, 48, 72 e 96 h e após o implante bilateral de cânulas-guia em direção ao PVN.

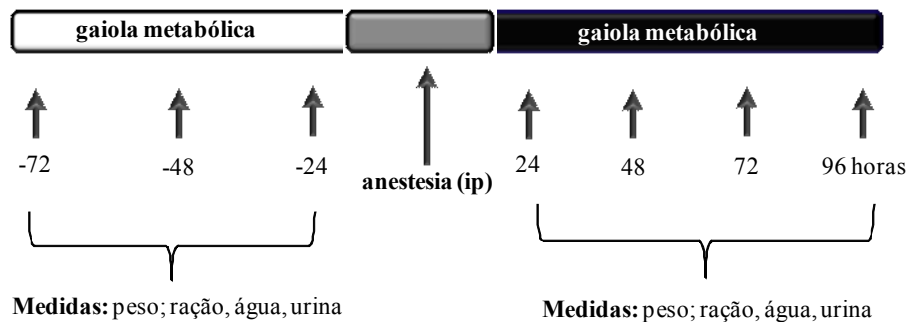
O objetivo do protocolo foi avaliar se o implante de cânulas-guia em direção ao PVN poderia promover alterações no peso, ingestão de ração, água e excreção de urina dos animais e conseqüentemente promover alterações nos parâmetros cardiovasculares basais.



6.11) Medida do peso, da ingestão de ração, água e excreção de urina antes e após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas:

Os ratos foram alojados em gaiolas metabólicas individuais três dias antes do início dos experimentos para a ambientação dos animais. Após este período foram avaliados o peso, a ingestão de ração e de água e a excreção de urina dos animais 24, 48 e 72h antes e 24, 48, 72 e 96 h e após a anestesia (tribromoetanol 2.5% 10 ml/kg ip) dos animais.

O objetivo do protocolo foi avaliar se anestesia (ip) dos animais poderia promover alterações no peso, na ingestão de ração e de água e na excreção de urina dos animais conseqüentemente promovendo alterações nos parâmetros cardiovasculares basais.



## *7. RESULTADOS*



---

7.1) *Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados:*

Os resultados referentes às respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras de 1 a 4. Os painéis superiores da figura 1 ilustram os centros das microinjeções bilaterais de bicuculina realizadas no interior (círculos fechados) ou fora (círculos abertos) dos limites do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 1 apresentam fotomicrografias de histologias positivas de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). A figura 2 mostra os traçados de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP, PAM basal e as alterações cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN. Podemos observar no traçado da figura 2 uma grande variabilidade no registro da FC basal; isso ocorre porque após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN promove a ativação do reflexo de “grooming” ou de auto-limpeza, a qual perdura por um período de 10 a 15 minutos. O conjunto dos resultados está graficamente representados nas figuras 3 e 4. A microinjeção bilateral de bicuculina no PVN (n=7) promoveu um aumento significativo na PAM basal dos animais aos 5 minutos [ $94 \pm 3$  vs  $113 \pm 5$  mmHg (figura 3, painel A)] e na FC basal aos 5 ( $350 \pm 9$  vs  $493 \pm 18$  bpm), 10 ( $350 \pm 9$  vs  $411 \pm 17$  bpm) e aos 15 minutos [ $350 \pm 9$  vs  $417 \pm 19$  bpm (figura 3, painel B)]. Nos painéis da figura 4 podemos observar que a microinjeção de bicuculina não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $49 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg (painel A)] ou bradicárdica [ $-213 \pm 23$  vs  $-276 \pm 42$  bpm (painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos

---

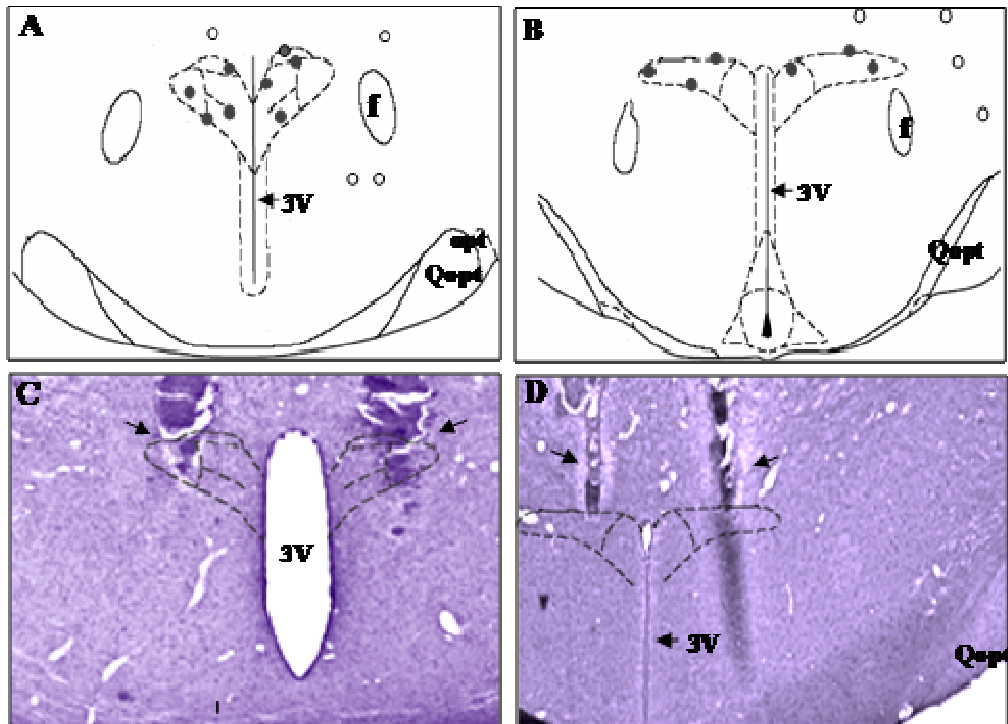
alterações significativas na análise da área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN (figura 5, tabela V do apêndice).

A microinjeção de bicuculina (50 pmol/50 nl) fora dos limites do PVN medial e posterior (n=4) não promoveu alterações significativas na PAM [ $101 \pm 1$  vs  $105 \pm 5$  mmHg (figura 6 painel A)] ou na FC [ $373 \pm 27$  vs  $435 \pm 31$  bpm (figura 6, painel B)] basal, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $40 \pm 6$  vs  $45 \pm 11$  mmHg) ou bradicárdica ( $-240 \pm 43$  vs  $-188 \pm 60$  bpm) à ativação do quimiorreflexo (figura 7, painéis A e B, respectivamente).

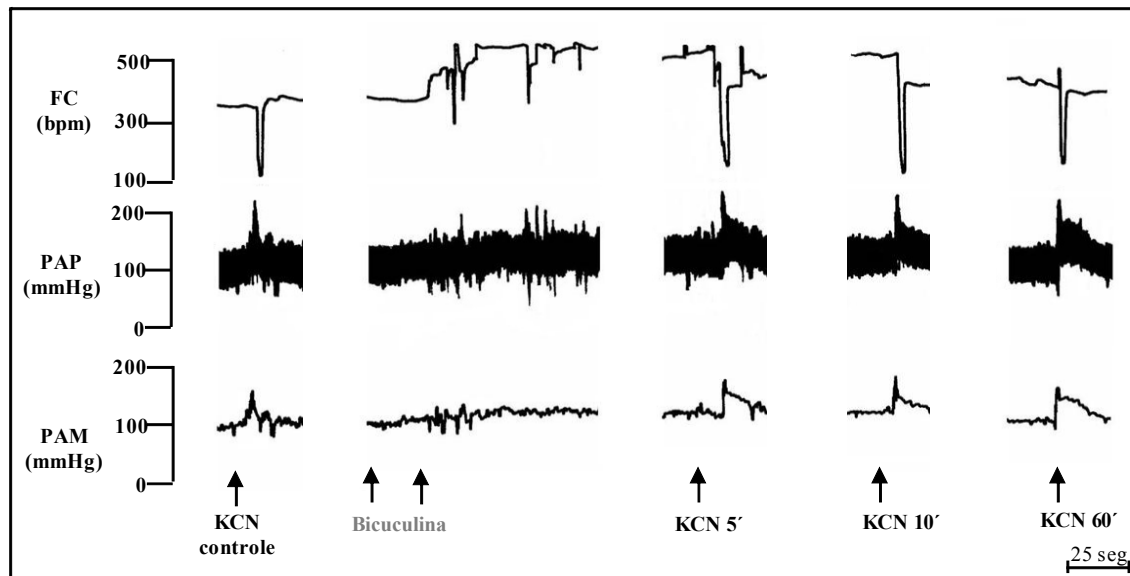
Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC basal à ativação do quimiorreflexo antes e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina dentro e fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de I a IV e de VI a IX do apêndice.

### *7.2) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos anestesiados:*

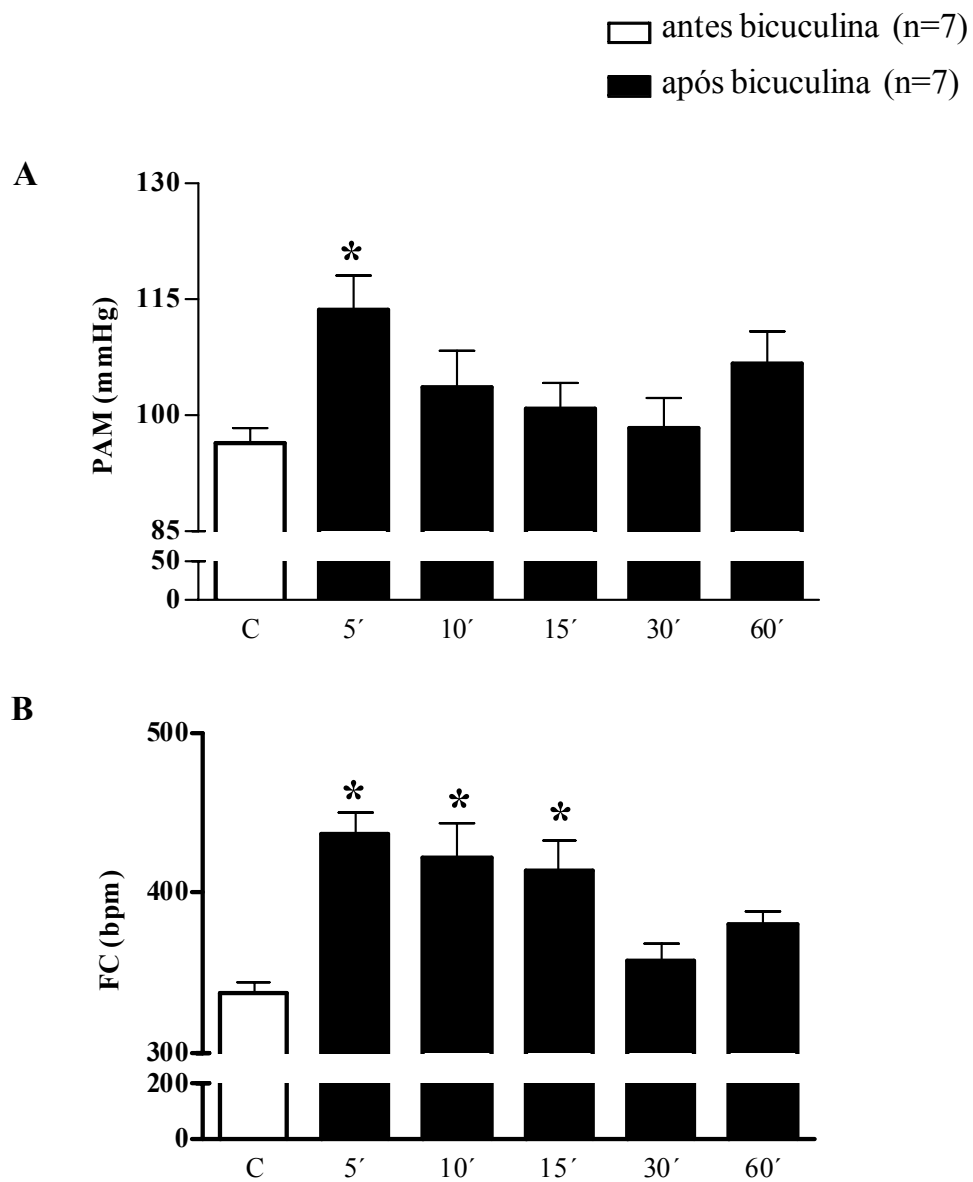
Na figura 8 ilustramos o gráfico, de um animal representativo do grupo, mostrando as variações na FC, PAP e na PAM basal à ativação do quimiorreflexo no animal não anestesiado e aos 120 minutos após a indução da anestesia (ip) com uretana. Os resultados mostram que à ativação do quimiorreflexo em animais não anestesiados promoveu respostas pressora e bradicardia e aos 15, 90, 60 e 120 minutos após a indução da anestesia com uretana as respostas à ativação do quimiorreflexo foram de hipotensão e de bradicardia, embora esta tenha sido significativamente de menor amplitude em relação à condição não anestesiados. Os gráficos das figuras 8, 9 e 10 representam o conjunto dos



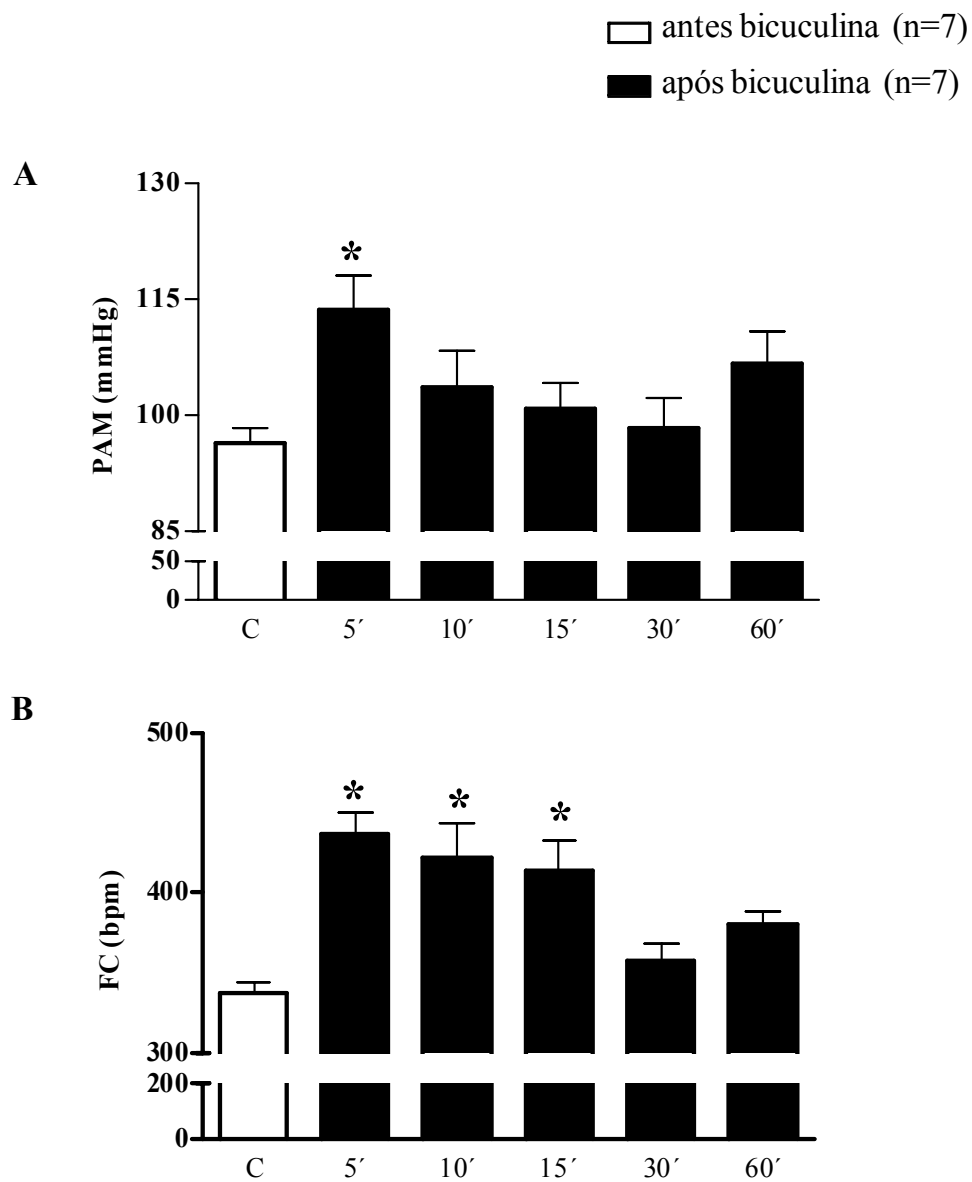
**Figura 1:** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de bicuculina no interior (círculos fechados) e fora dos limites (círculos abertos) do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), representativas do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de bicuculina (setas). Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fornix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.



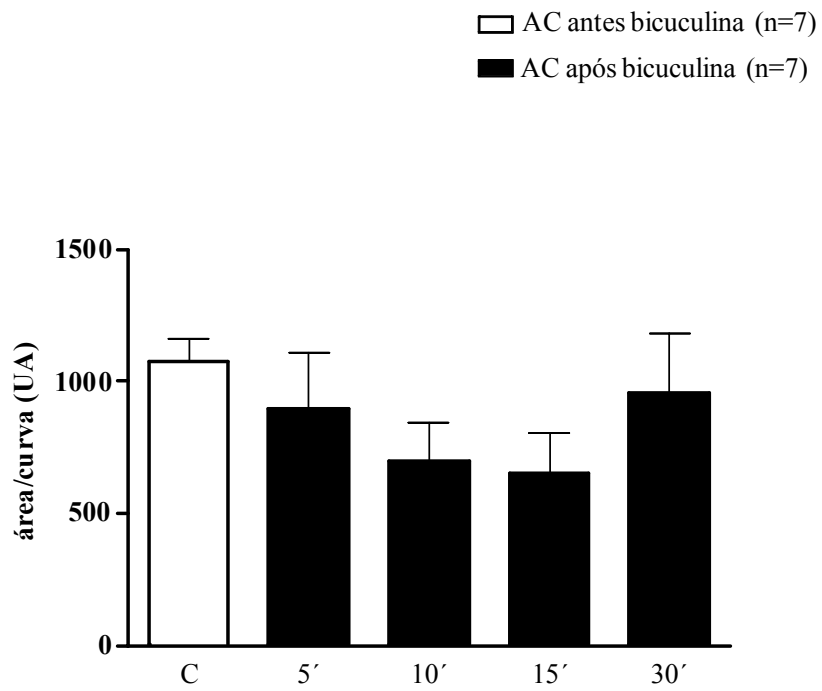
**Figura 2:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à ativação do quimiorreflexo antes [KCN controle (80  $\mu$ g/ 0.05 ml/iv)] e aos e aos 5, 10 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina (50 pmol/ 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.



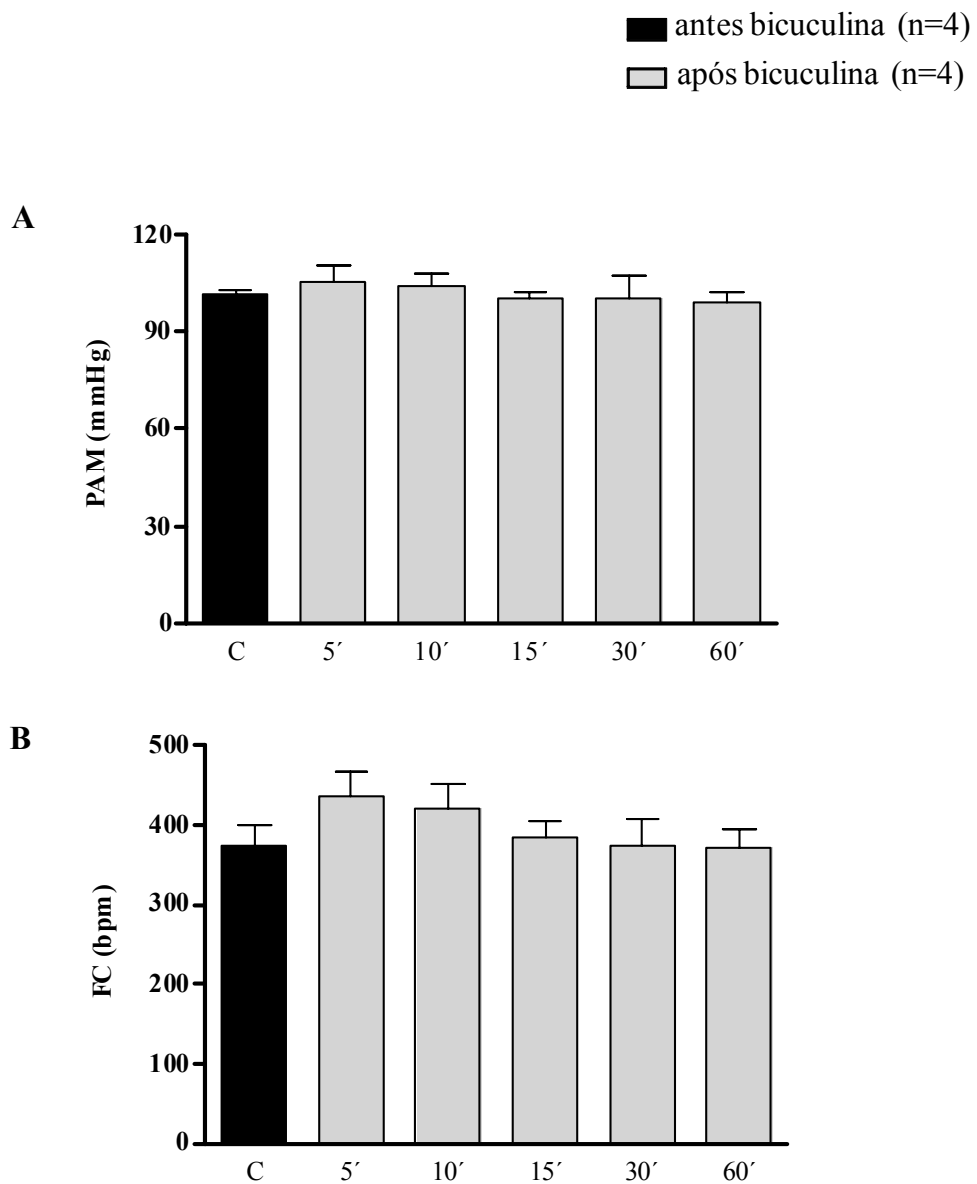
**Figura 3:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painel A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados. (\*) diferente em relação ao controle ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 4:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painel A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral bicuculina no PVN de ratos não anestesiados.

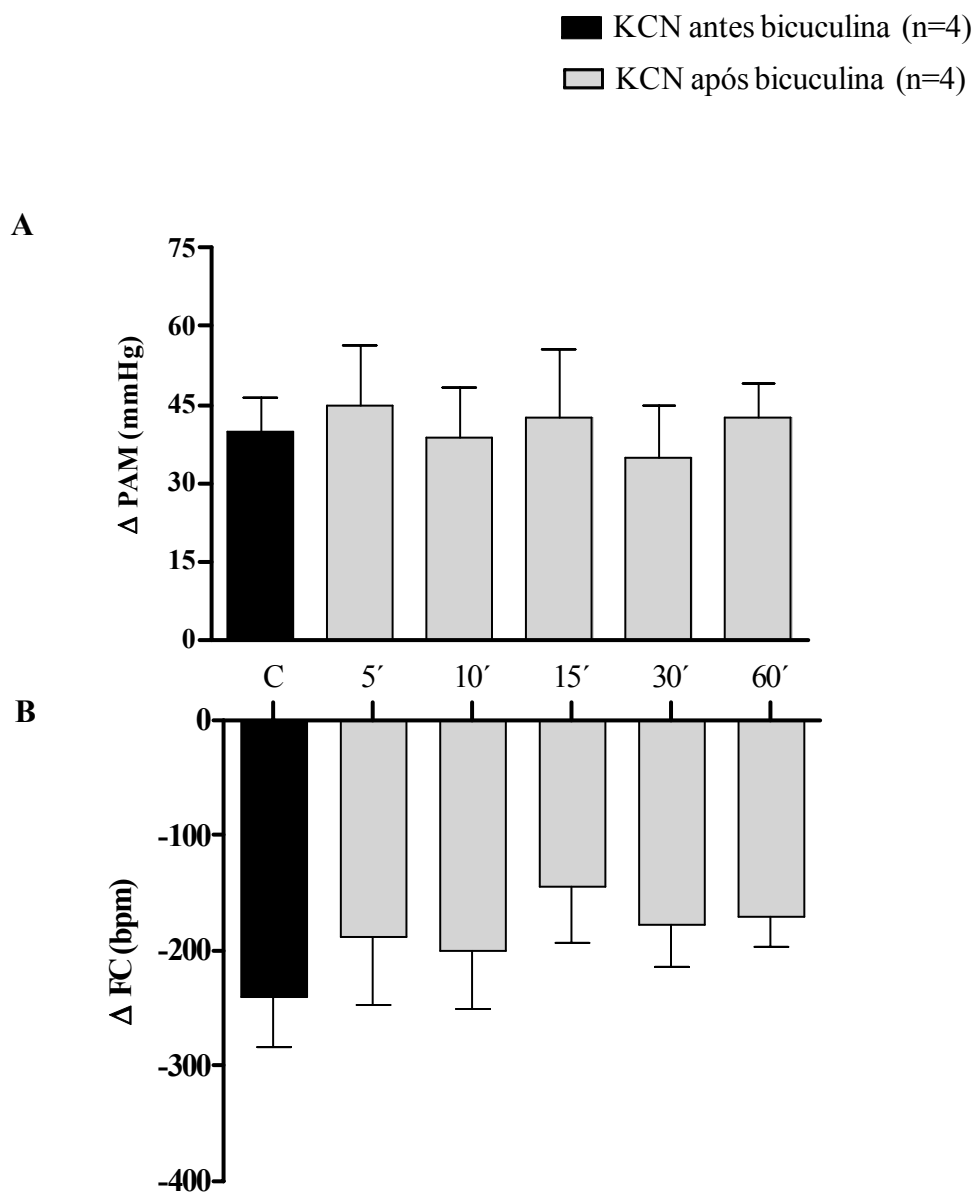


**Figura 5:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 5, 10 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados.

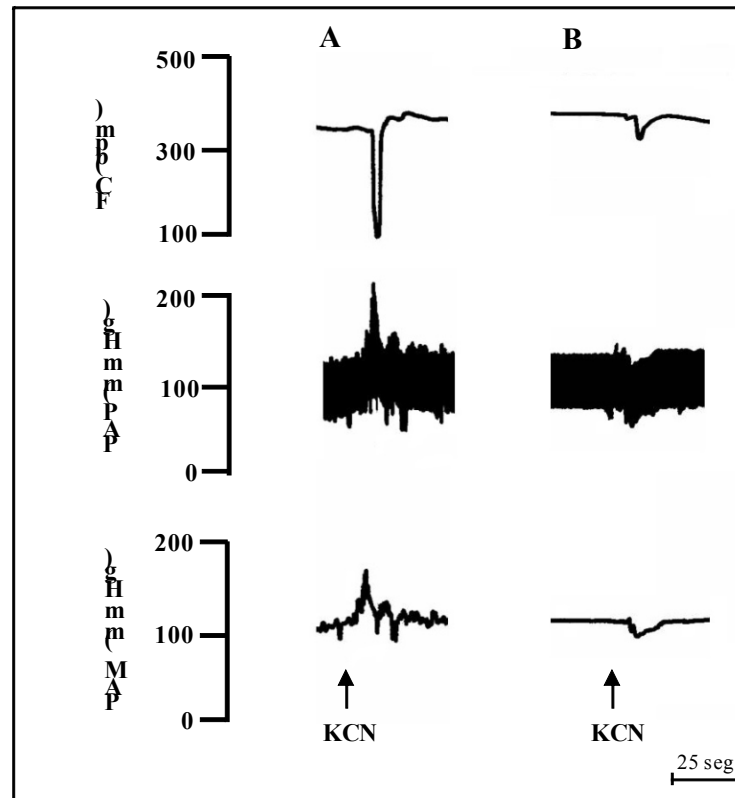


**Figura 6:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painel A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.





**Figura 7:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painel A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de bicuculina fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.

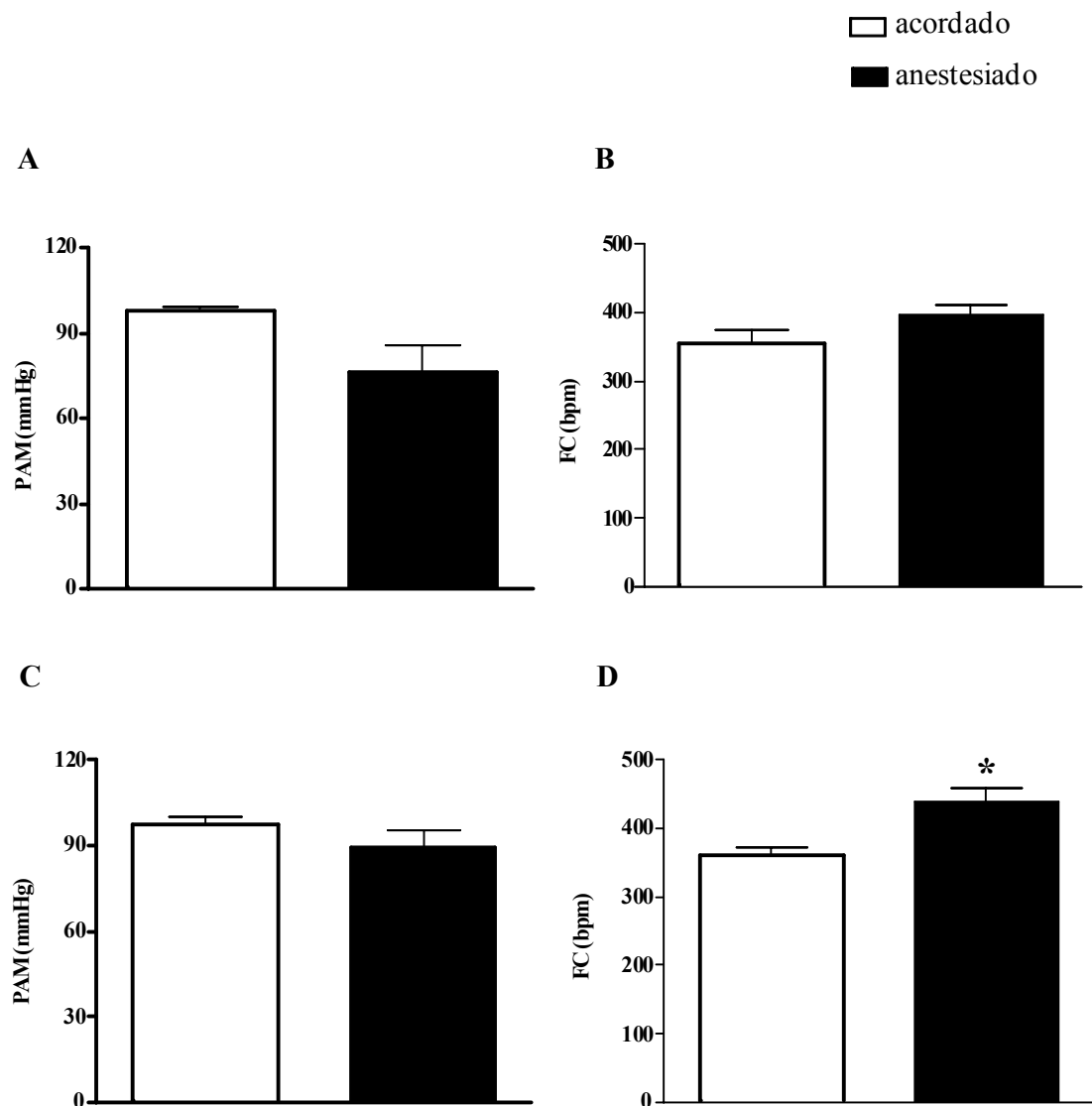


**Figura 8:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as variações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à ativação do quimiorreflexo (KCN, 80  $\mu$ g/0.05 ml/ iv) em ratos não anestesiados (painel A) e 120 minutos após a indução da anestesia com uretana [(1.2g/kg, ip), painel B].

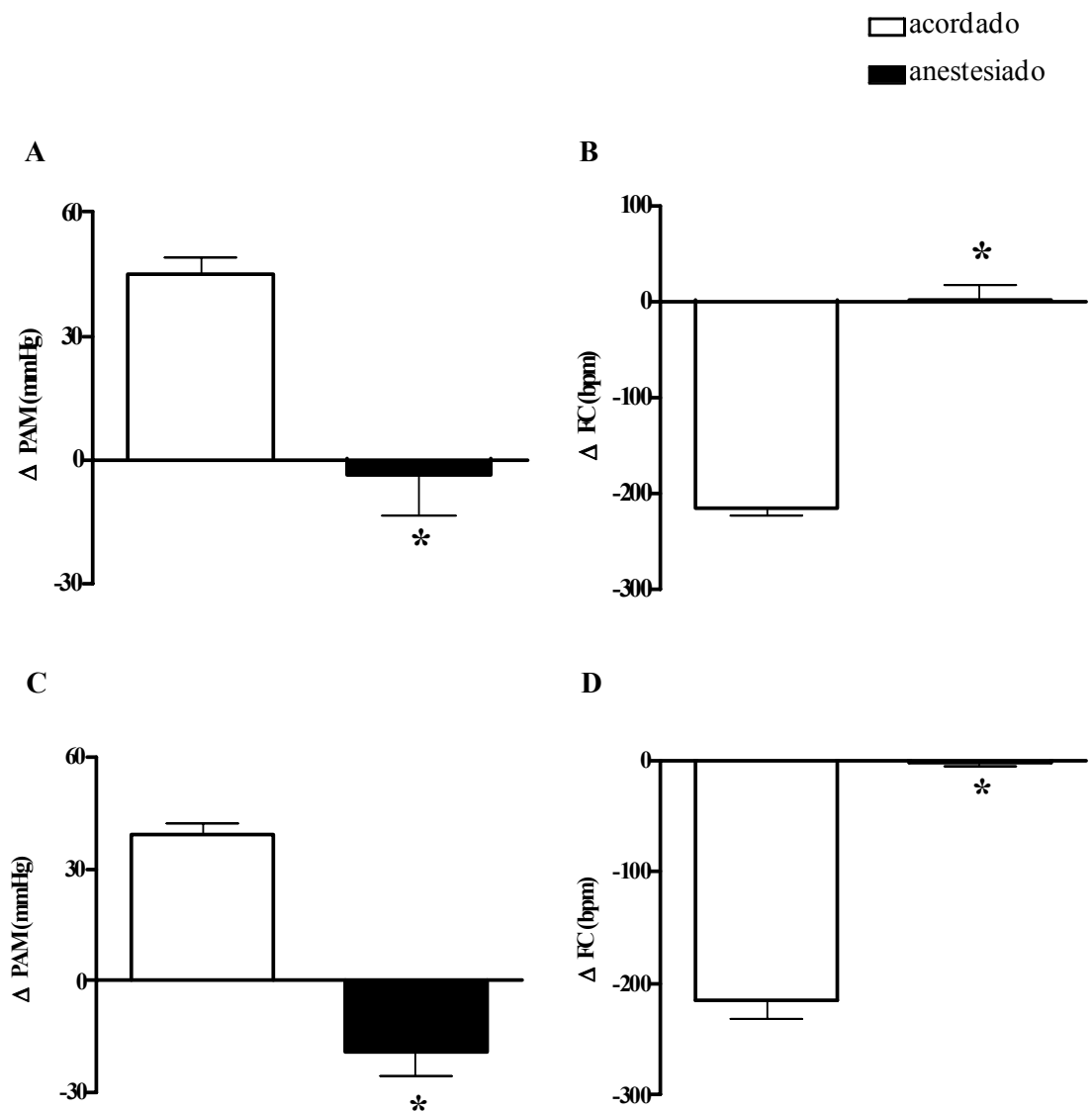
---

resultados relativos à ativação do quimiorreflexo em animais não anestesiados e aos 15 e 120 minutos após a anestesia. Aos 15 minutos após a indução da anestesia não observamos alterações significativas na PAM [ $99 \pm 1$  vs  $76 \pm 9$  mmHg (figura 9, painel A)] ou na FC [ $355 \pm 21$  vs  $398 \pm 13$  bpm (figura 9, painel B)] basal dos animais e à ativação do quimiorreflexo 15 minutos após a anestesia promoveu hipotensão [ $-4 \pm 10$  mmHg (figura 10, painel A), mas não promoveu alterações significativas na FC [ $3 \pm 15$  bpm (figura 10, painel B)] basal dos animais. Aos 120 minutos após a indução da anestesia não observamos alterações significativas na PAM basal [ $83 \pm 15$  vs  $84 \pm 15$  mmHg (figura 9, painel C)], contudo houve um aumento significativo na FC basal dos animais [ $362 \pm 10$  vs  $438 \pm 19$  bpm (figura 9, painel D)]. À ativação do quimiorreflexo 120 minutos após a anestesia promoveu hipotensão [ $-19 \pm 6$  mmHg (figura 10, painel C)] e uma atenuação significativa na resposta bradicardia [ $-2 \pm 4$  bpm (figura 10, painel D)]. Na tabela X (ver apêndice) apresentamos o conjunto dos resultados com as médias dos valores basais e das alterações na PAM e FC após à ativação do quimiorreflexo aos 15, 60, 90 e 120 minutos após a indução da anestesia com uretana (ip) dos animais em comparação com os resultados obtidos nos mesmos animais na condição acordados antes da anestesia.

Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo em animais não anestesiados e aos 15, 60, 90 e 120 minutos após a indução da anestesia com uretana (ip) encontram-se nas tabelas de XI a XVIII do apêndice.



**Figura 9:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A e C)] e frequência cardíaca basais [FC, bpm (painel B e D)] de ratos não anestesiados e aos 15 (painéis A e B) e aos 120 minutos (painéis C e D) após a indução da anestesia com uretana (1.2 g/kg ip).



**Figura 10:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A e C)] e na frequência cardíaca basais [ $\Delta$  FC, bpm (painel B e D)] em resposta à ativação do quimiorreflexo (KCN, 80  $\mu$ g/0.05 ml/ iv) em ratos não anestesiados e aos 15 (painéis A e B) e 120 minutos (painéis C e D) após a indução da anestesia com uretana (1.2 g/kg ip, barras azuis). (\*) diferente em relação ao KCN controle ( $P \leq 0.05$ ).

---

7.3) *Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes às respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras de 11 a 15. Os painéis superiores da figura 11 ilustram os centros das microinjeções bilaterais realizadas no interior (círculos fechados) do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 11 apresentam fotomicrografias de histologias positivas, de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). A figura 12 mostra os traçados, de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP e na PAM basal e as alterações cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN. As figuras 13 e 14 representam o conjunto dos resultados. A microinjeção bilateral de L-NAME (n=8) no PVN promoveu um aumento significativo na PAM basal aos 2 ( $94 \pm 2$  vs  $110 \pm 3$  mmHg), 5 ( $94 \pm 2$  vs  $109 \pm 3$  mmHg), 10 ( $94 \pm 2$  vs  $106 \pm 3$  mmHg) e aos 15 [ $94 \pm 2$  vs  $105 \pm 2$  mmHg (figura 13, painel A)] minutos e na FC basal aos 2 ( $352 \pm 11$  vs  $448 \pm 20$  bpm), 5 ( $352 \pm 11$  vs  $423 \pm 16$  bpm), 10 ( $352 \pm 11$  vs  $411 \pm 16$  bpm) e aos 15 [ $352 \pm 11$  vs  $419 \pm 15$  bpm (figura 13, painel B)] minutos. A microinjeção bilateral de L-NAME no PVN também promove a ativação do reflexo de “grooming”. Nos painéis da figura 14 podemos observar que a microinjeção bilateral de L-NAME não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $52 \pm 5$  vs  $47 \pm 6$  mmHg (painel A)] ou bradicárdica [ $-253 \pm 19$  vs  $-320 \pm 24$  bpm (painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área

---

sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção de L-NAME no PVN (figura 15, tabela XXIII do apêndice).

Os painéis da figura 11 ilustram os centros das microinjeções bilaterais de L-NAME realizadas fora dos limites do PVN (círculos abertos) no PVN medial (painel A) e posterior (painel B). A microinjeção bilateral de L-NAME (n=5) fora dos limites do PVN não promoveu alterações significativas na PAM [ $94 \pm 3$  vs  $98 \pm 3$  mmHg (figura 16, painel A)] ou na FC basais [ $343 \pm 26$  vs  $496 \pm 27$  bpm (figura 16, painel B)], bem como não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $41 \pm 3$  vs  $51 \pm 5$  mmHg) ou bradicárdica ( $-251 \pm 23$  vs  $-304 \pm 40$  bpm) à ativação do quimiorreflexo (figura 17, painéis A e B, respectivamente).

Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de L-NAME no interior ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de XIX a XXII e de XXIV a XXVII do apêndice.

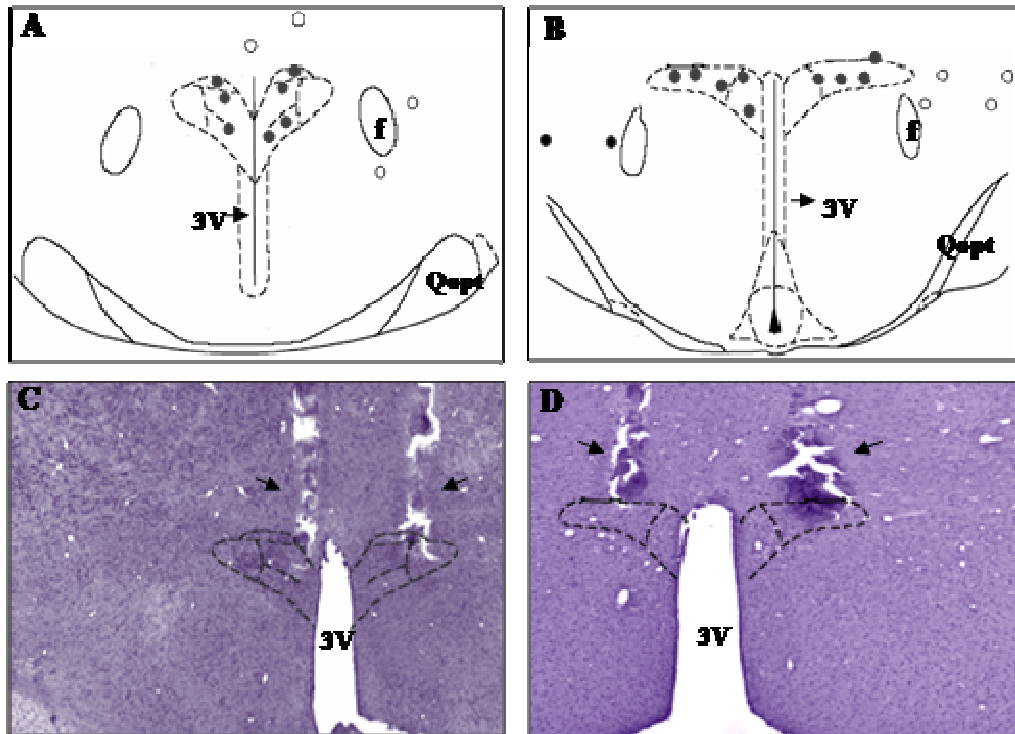
*7.4) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes às respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras 18, 19 e 20. Os painéis superiores da figura 18 (lado esquerdo) ilustram os centros das microinjeções unilateral de L-glutamato

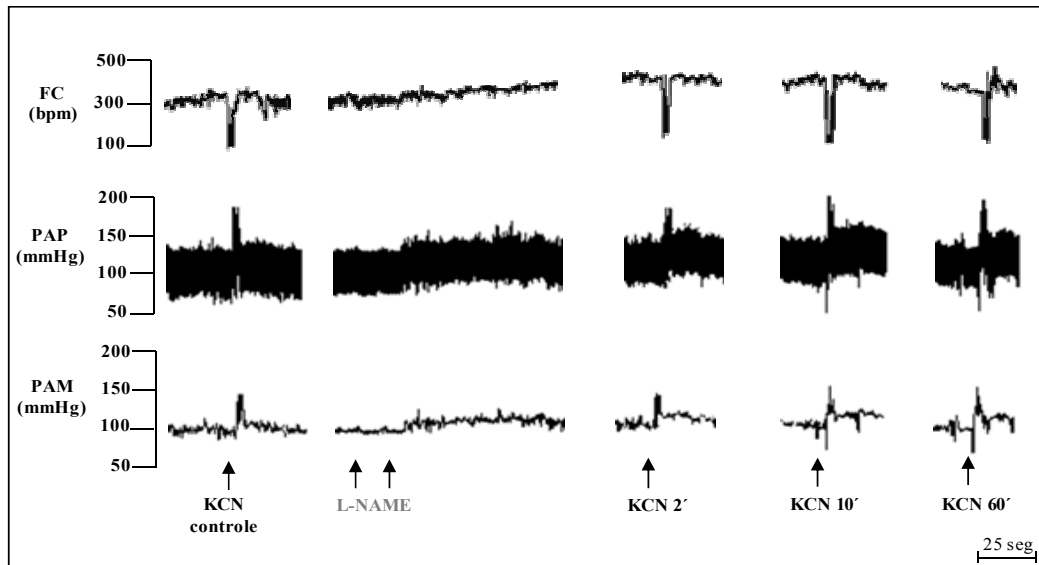
---

realizadas dentro (círculos fechado) ou fora (círculos abertos) dos limites do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 18 (lado direito) apresentam fotomicrografias de histologias positivas, de animais representativos o grupo, cujos centros das microinjeções unilaterais estão localizados na região do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Nos traçados apresentado na figura 11, temos os registros cardiovasculares, de um animal representativo do grupo, no qual realizamos a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico. Podemos observar que a microinjeção unilateral de L-glutamato no interior do PVN (n=10) promove um aumento significativo na PAM [ $95 \pm 2$  vs  $107 \pm 3$  mmHg (figura 20, painel A)] e na FC basais [ $352 \pm 13$  vs  $379 \pm 10$  bpm (figura 20, painel B)] dos animais. A microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico no PVN não promoveu alterações significativas na PAM [ $101 \pm 3$  vs  $102 \pm 2$  mmHg (figura 20, painel A)] e na FC basais [ $361 \pm 9$  vs  $365 \pm 10$  bpm (figura 20, painel B)] dos animais. Aos 15 minutos após a microinjeção ipsilateral do ácido quinurênico, a microinjeção de L-glutamato não promoveu alterações significativas na PAM [ $100 \pm 2$  vs  $103 \pm 2$  mmHg (figura 20, painel A)] ou na FC basais [ $357 \pm 11$  vs  $363 \pm 12$  bpm (figura 20, painel B)] dos animais, confirmando o bloqueio dos receptores de aminoácido excitatórios no PVN. Aos 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico, a microinjeção unilateral de L-glutamato promoveu um aumento significativo na PAM [ $96 \pm 3$  vs  $108 \pm 3$  mmHg (figura 20, painel A)] e na FC basais [ $368 \pm 11$  vs  $395 \pm 11$  bpm (figura 20, painel B)] dos animais, evidenciando a reversibilidade do bloqueio. A microinjeção unilateral de L-glutamato fora dos limites do PVN não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basais dos animais (ver tabelas de XXVIII e XXIX do apêndice).

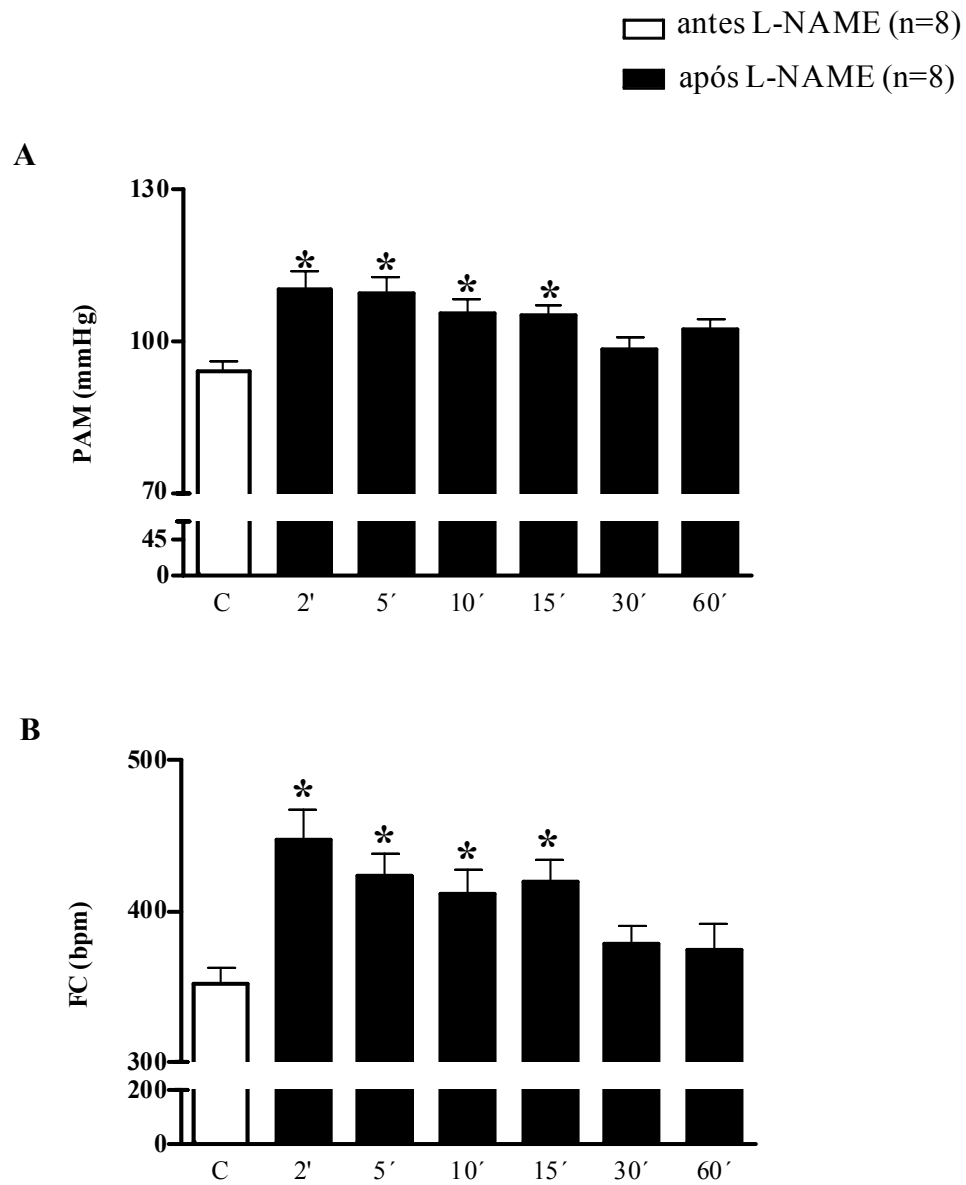




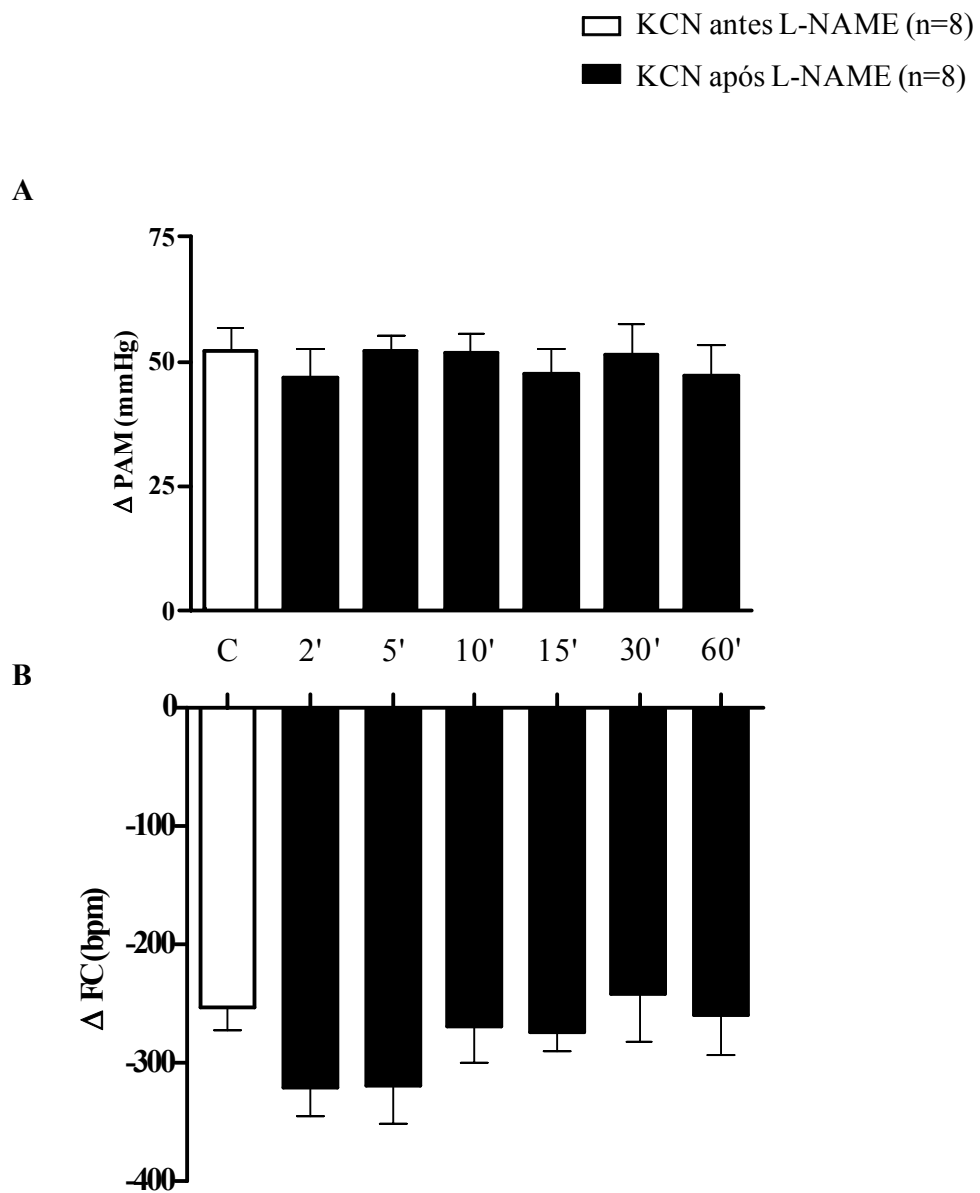
**Figura 11:** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de L-NAME no interior (círculos fechados) do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), de rato representativo do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de L-NAME. Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.



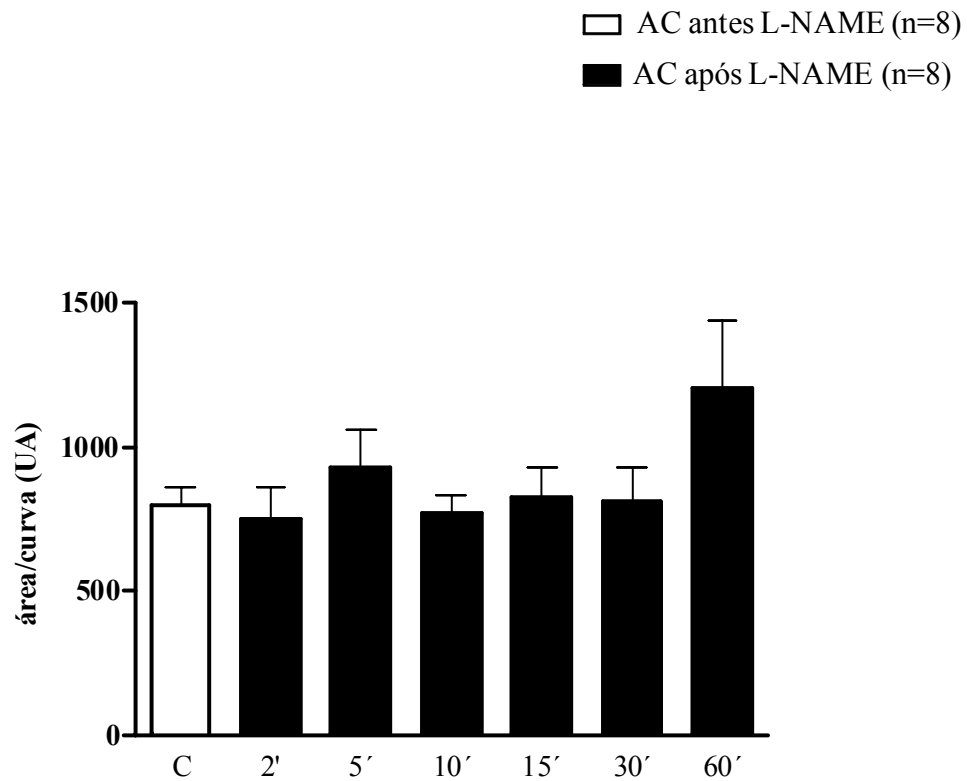
**Figura 12:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à ativação do quimiorreflexo antes [KCN controle (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] e aos 2, 10 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de L-NAME (50 pmol/ 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.



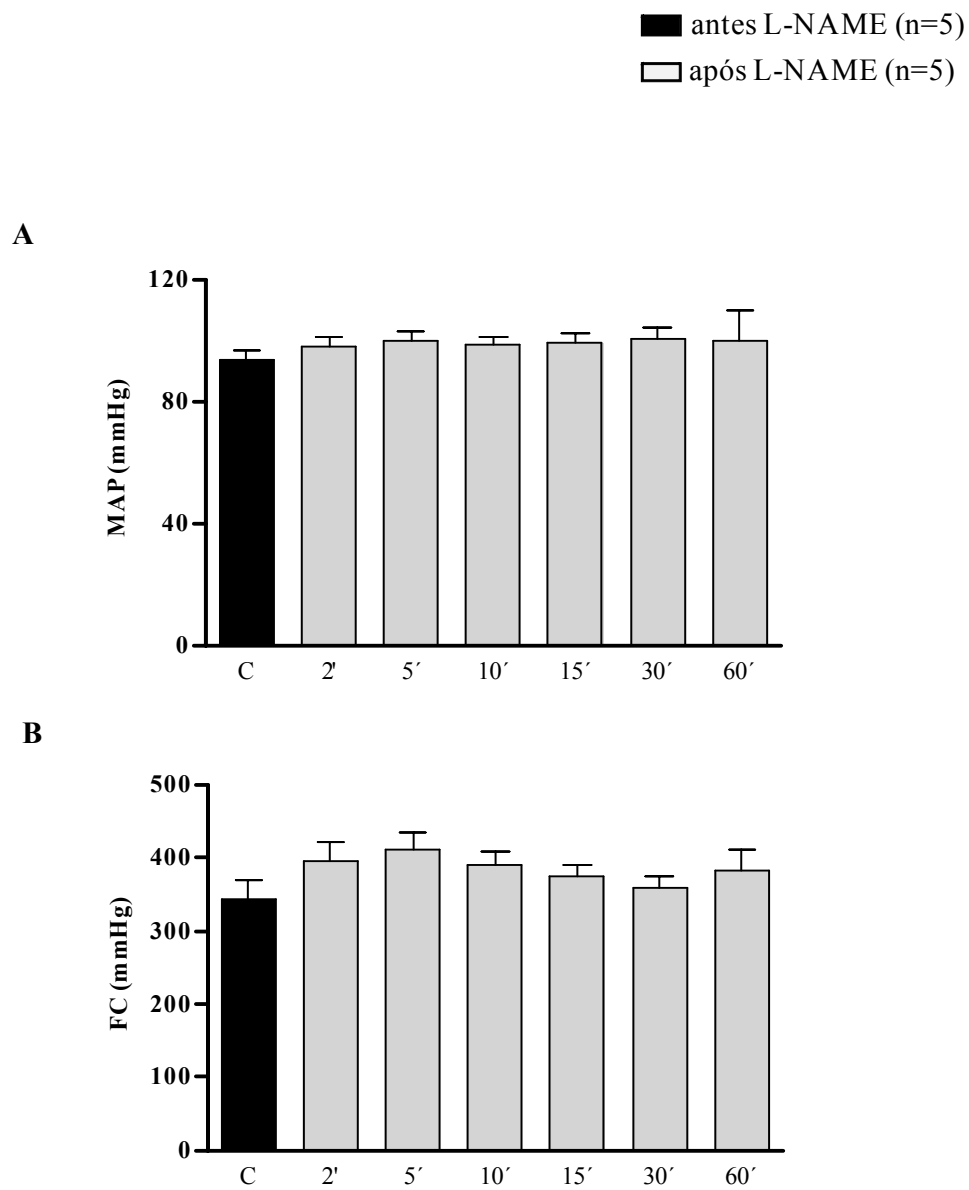
**Figura 13:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados. (\*) diferente em relação ao controle ( $P \leq 0.05$ ).



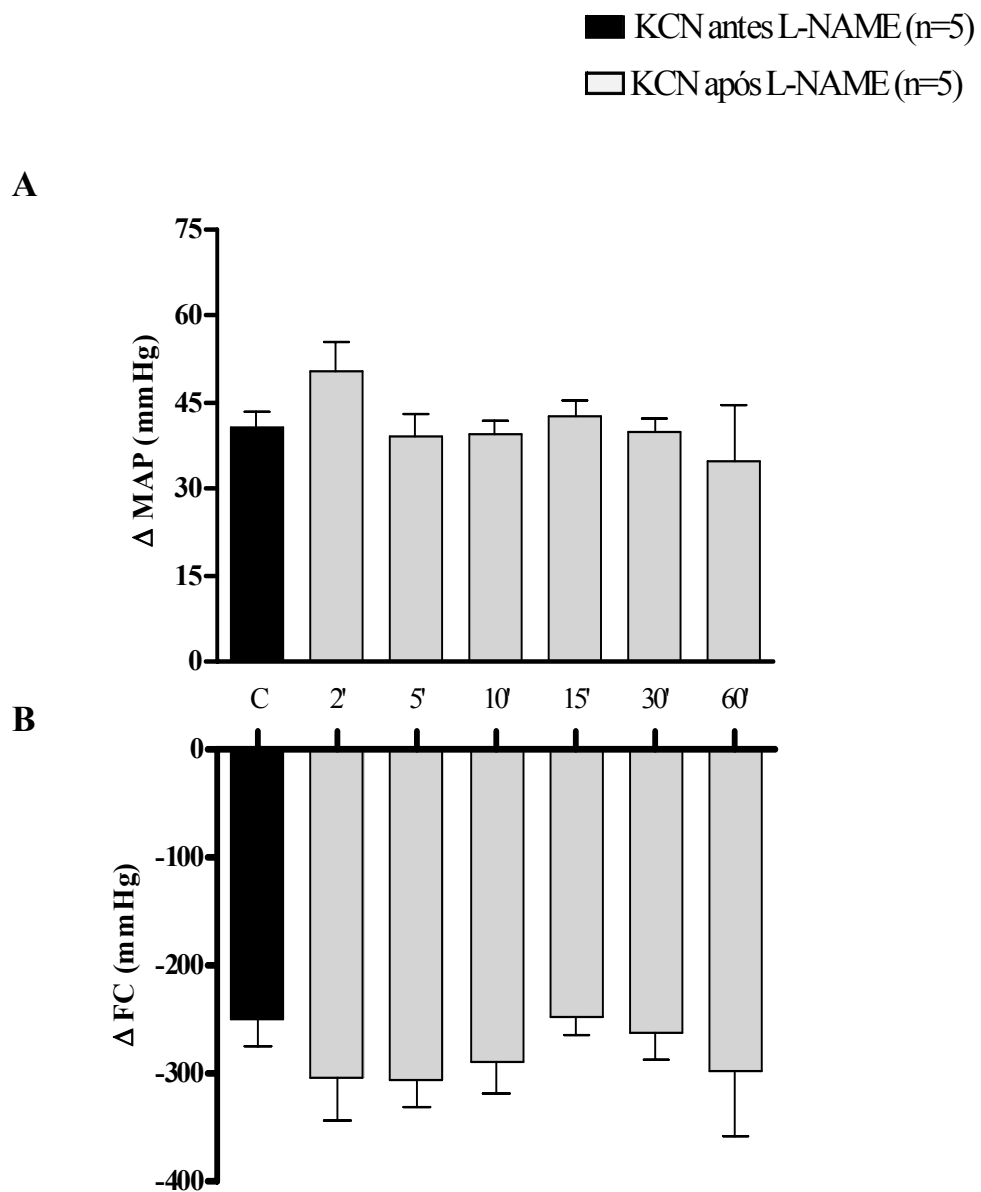
**Figura 14:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80 µg/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral L-NAME no PVN de ratos não anestesiados.



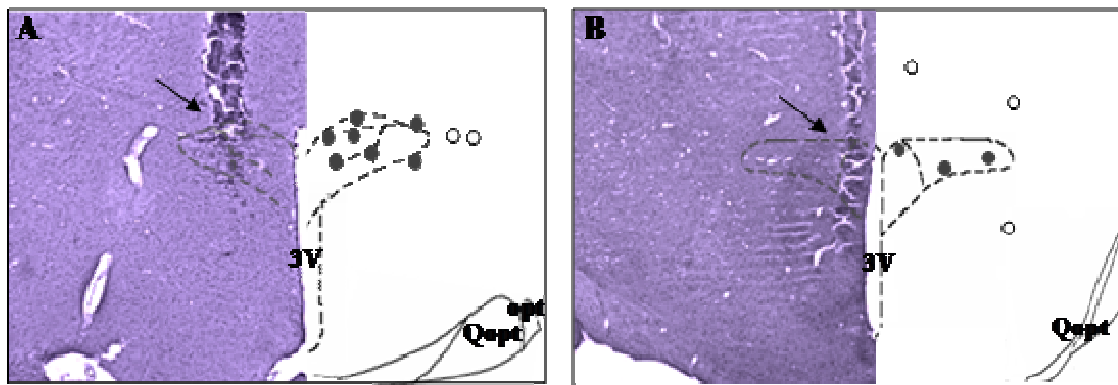
**Figura 15:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 16:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de L-NAME fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.

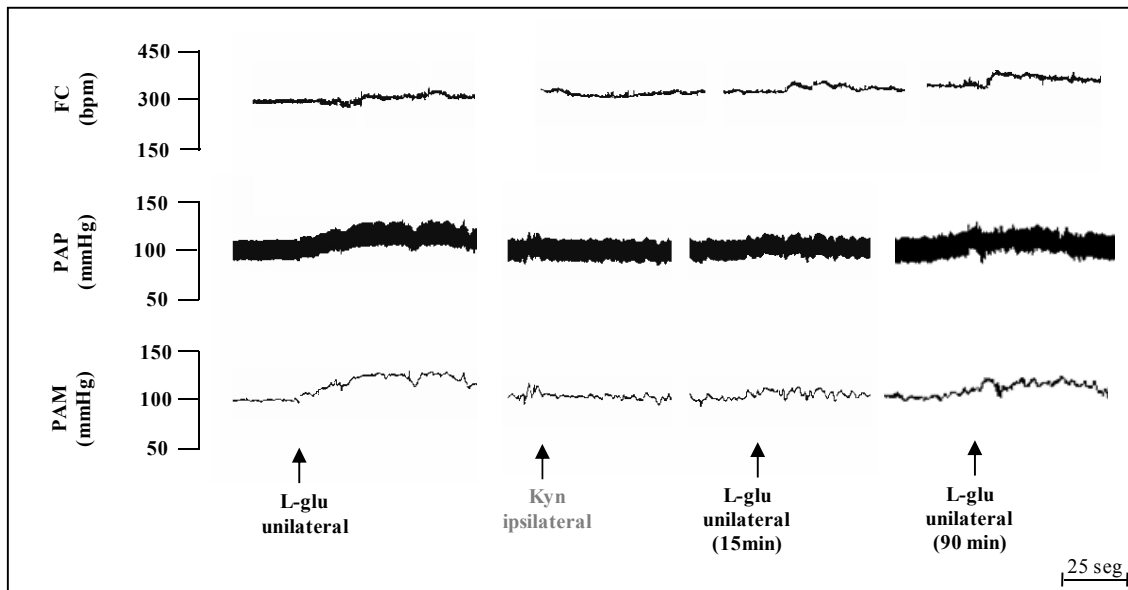


**Figura 17:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal de ratos em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80 µg/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral L-NAME fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.

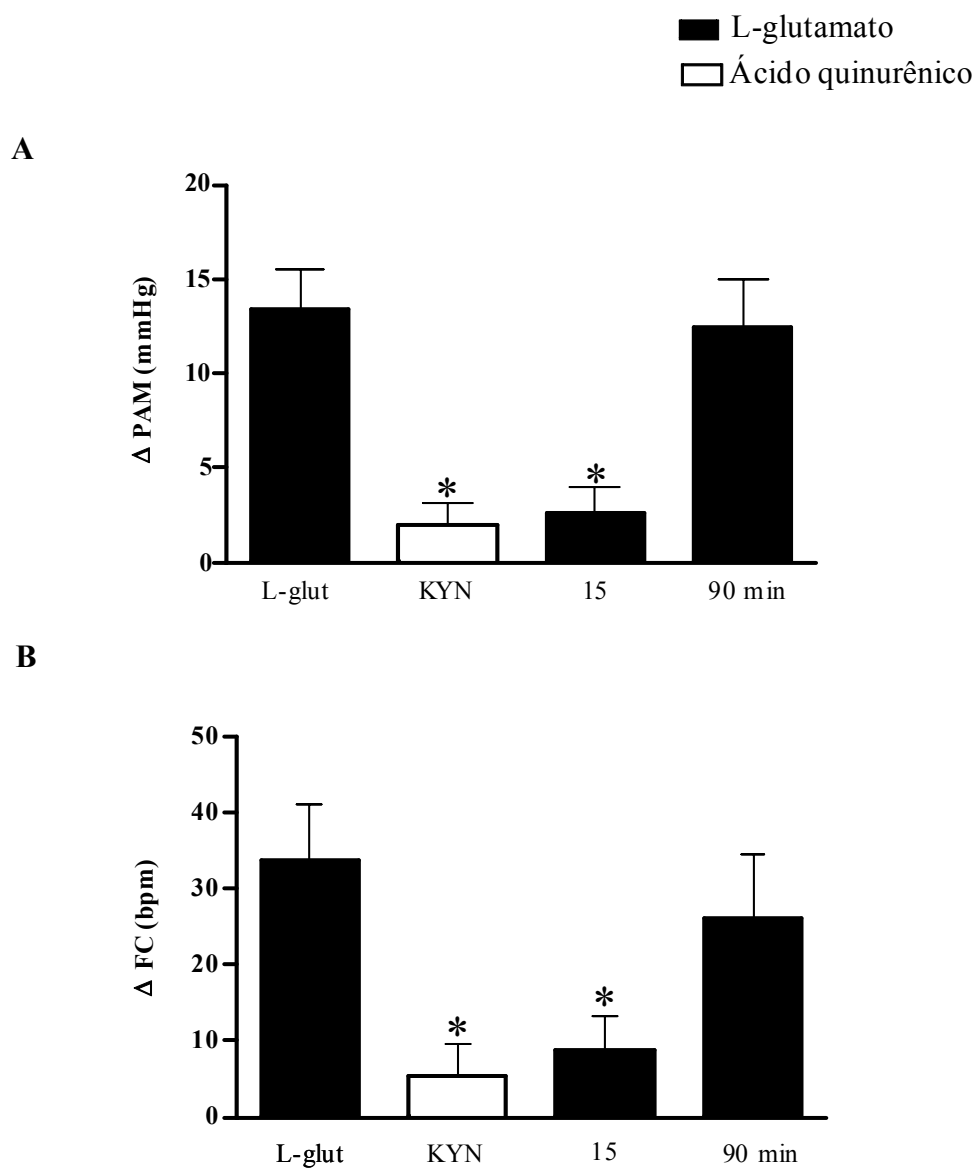


**Figura 18:** Lado esquerdo das figuras: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B), mostrando os sítios de microinjeções unilaterais de L-glutamato (setas). Lado direito das figuras: representação esquemática dos sítios de microinjeções unilaterais realizadas no interior (círculos fechados) ou fora dos limites (círculos abertos) do PVN medial (painel A) e do PVN posterior (painel B) dos animais. Qopt: quiasma óptico; opt: supra óptico; 3V: terceiro ventrículo.





**Figura 19:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à microinjeção unilateral de L-glutamato [L-glu (3.75 nmol/ 50 nl)] antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico [KYN (7.2 nmol/ 50 nl)] no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 20:** Alterações na pressão arterial [ $\Delta$  PAM, mmHg (painel A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à microinjeção unilateral de L-glutamato [3.75 nmol/50 nl (n=10)] antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico (7.2 nmol/ 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados. (\*) diferente em relação ao L-glu controle ( $P \leq 0.05$ ).

---

Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta a microinjeção unilateral de L-glutamato antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de XXVIII a XXXI do apêndice.

*7.5) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após as microinjeções bilaterais do ácido quinurênico (KYN) dentro ou fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral do ácido quinurênico no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras de 21 a 27. Os painéis superiores da figura 21 ilustram os centros das microinjeções bilaterais realizadas no interior (círculos fechados) ou fora (círculos abertos) dos limites do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 21 apresentam fotomicrografias de histologias positivas de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). A figura 22 mostra os traçados, de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP, PAM basais e as alterações cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN. O conjunto dos resultados está representado nas figuras 23 e 24. A microinjeção bilateral do ácido quinurênico (n=6) não promoveu alterações significativas na PAM basal [ $98 \pm 3$  vs  $100 \pm 3$  mmHg (figura 23, painel A)] ou na FC basal [ $330 \pm 5$  vs  $339 \pm 12$  bpm (figura 23, painel B)]. A microinjeção bilateral do ácido quinurênico no PVN não

---

promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $50 \pm 4$  vs  $42 \pm 4$  mmHg (figura 24, painel A)] ou bradicárdica [ $-252 \pm 4$  vs  $-285 \pm 16$  bpm (figura 24, painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral do ácido quinurênico no PVN (figura 25, tabela XXVI do apêndice).

A microinjeção do ácido quinurênico fora dos limites do PVN medial e posterior (n=7) não promoveu alterações significativas na PAM [ $91 \pm 3$  vs  $98 \pm 4$  mmHg (figura 26, painel A)] ou na FC basal [ $353 \pm 14$  vs  $370 \pm 14$  bpm (figura 26, painel B)] dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $50 \pm 6$  vs  $39 \pm 8$  mmHg) ou bradicárdica ( $-138 \pm 35$  vs  $-272 \pm 13$  bpm) à ativação do quimiorreflexo (figura 27, painéis A e B, respectivamente).

Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral do ácido quinurênico dentro ou fora dos limites no PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de XXXII a XXXV e de XXXVII a XL do apêndice.

---

7.6) *Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 1, 3, 5, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes às respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras 28 a 32. Os painéis superiores da figura 28 ilustram os centros das microinjeções bilaterais realizadas no interior (círculos fechados) ou fora (círculos abertos) dos limites do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 28 apresentam fotomicrografias de histologias positivas de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). A figura 29 mostra os traçados, de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP, PAM basal e nas alterações cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN. O conjunto dos resultados mostrou que a microinjeção bilateral de PPADS (n=6) no PVN promoveu um aumento significativo na PAM basal após 1 ( $99 \pm 2$  vs  $112 \pm 2$  mmHg) e aos 3 minutos ( $99 \pm 2$  vs  $112 \pm 2$  mmHg) (figura 30, painel A)] e na FC basal após 1 minuto [ $332 \pm 8$  vs  $375 \pm 8$  bpm (figura 30, painel B)], contudo não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $53 \pm 4$  vs  $56 \pm 8$  mmHg (figura 31, painel A)] e bradicárdica [ $-245 \pm 13$  vs  $-286 \pm 14$  bpm (figura 31, painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN (figura 32, tabela XLV do apêndice). A microinjeção do PPADS fora dos limites do PVN medial e posterior (n=4) não promoveu alterações significativas na PAM [ $97 \pm 5$  vs  $97 \pm 3$  mmHg (figura

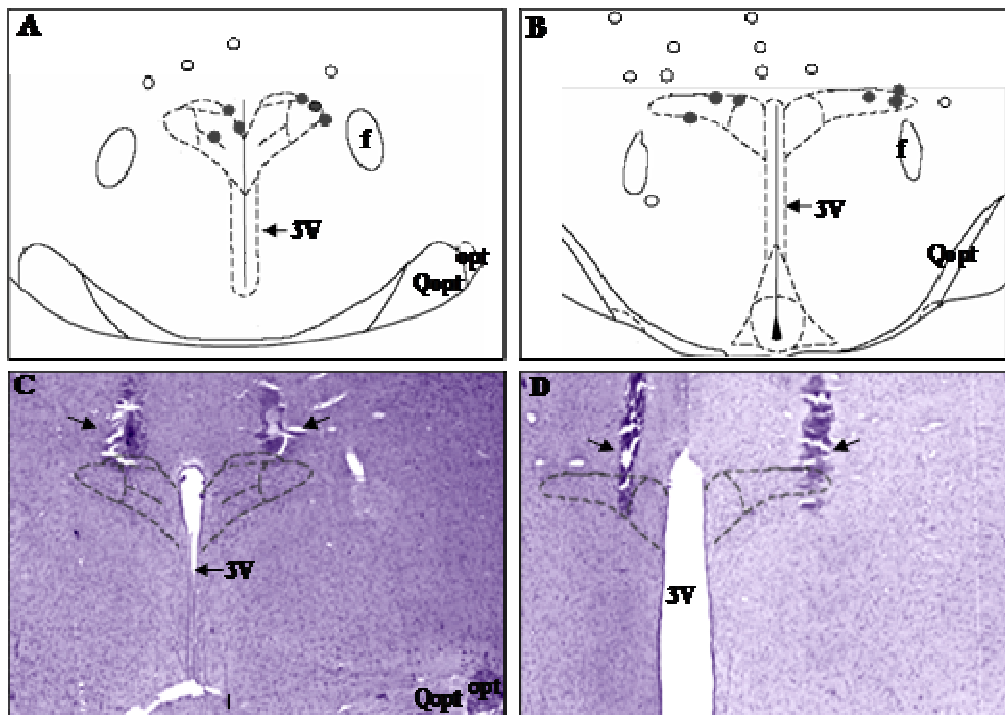
---

33, painel A)] ou na FC basal [ $378 \pm 34$  vs  $361 \pm 26$  bpm (figura 33, painel B)] dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $52 \pm 4$  vs  $63 \pm 6$  mmHg) ou bradicárdica ( $-279 \pm 26$  vs  $-266 \pm 22$  bpm) à ativação do quimiorreflexo (figura 34, painéis A e B, respectivamente).

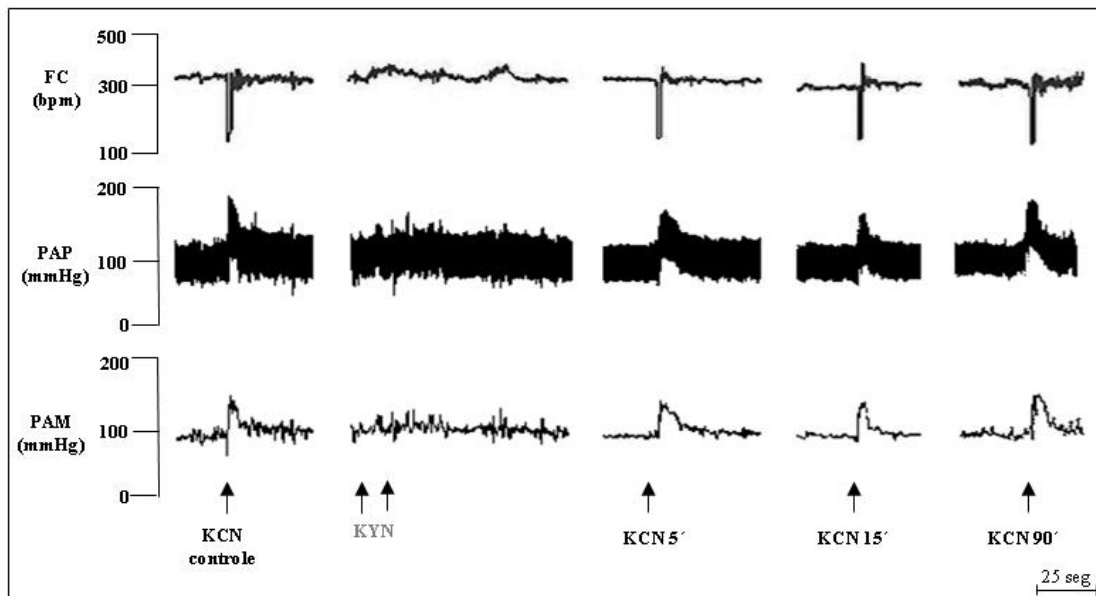
Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no interior e fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de XLI a XLIV e de XLVI a XLIX do apêndice.

*7.7) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 1, 3, 5, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel KYN + PPADS no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras 35 a 39. Os painéis superiores da figura 35 ilustram os centros das microinjeções bilaterais realizadas no interior (círculos fechados) ou fora (círculos abertos) do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). Os painéis inferiores da figura 35 apresentam fotomicrografias de histologias positivas, de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). A figura 36 mostra os traçados, de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP, PAM basal e as alterações cardiovasculares à ativação do

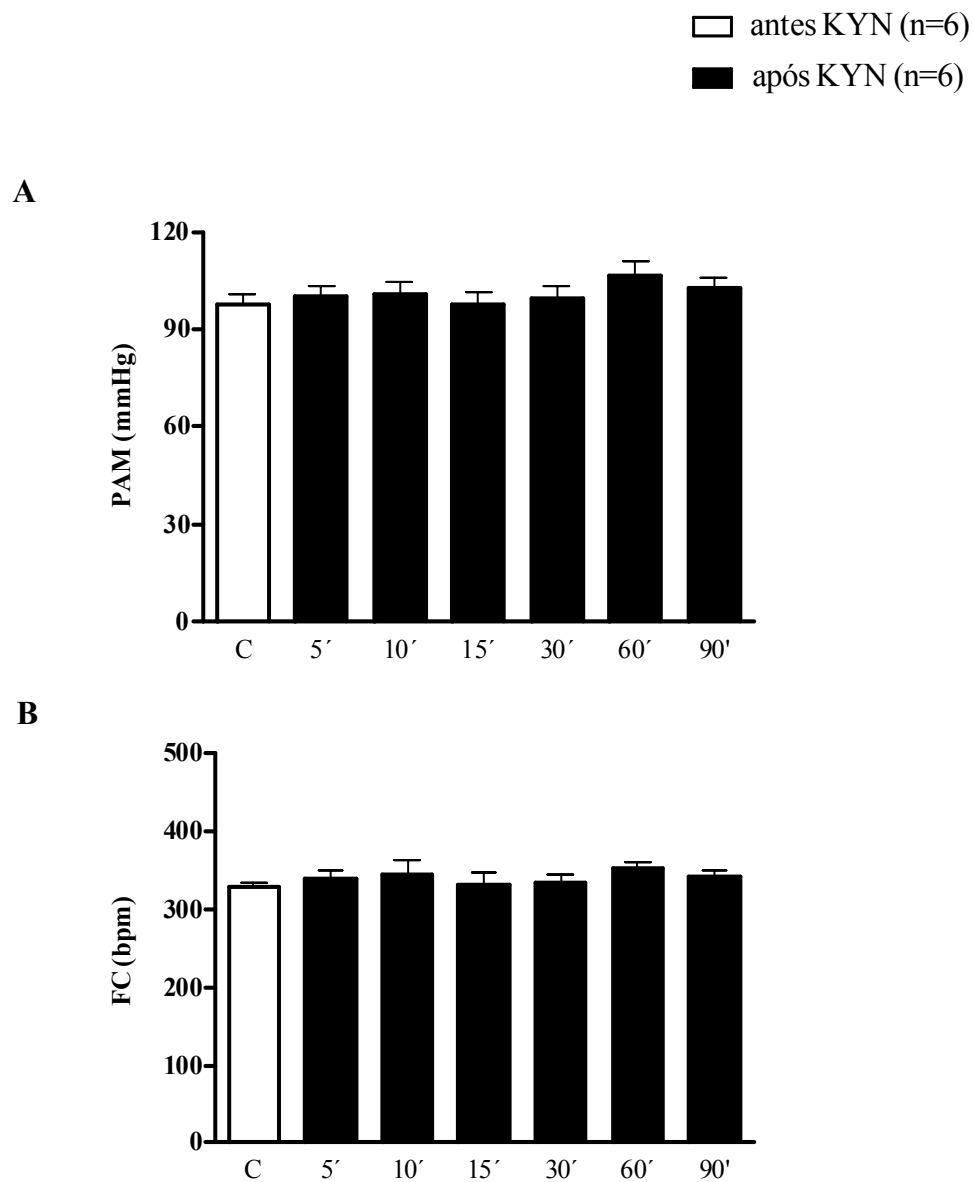


**Figura 21:** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de ácido quinurênico no interior (círculos fechados) e fora dos limites (círculos abertos) do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D) de ratos, representativos do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de ácido quinurênico (setas). Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.

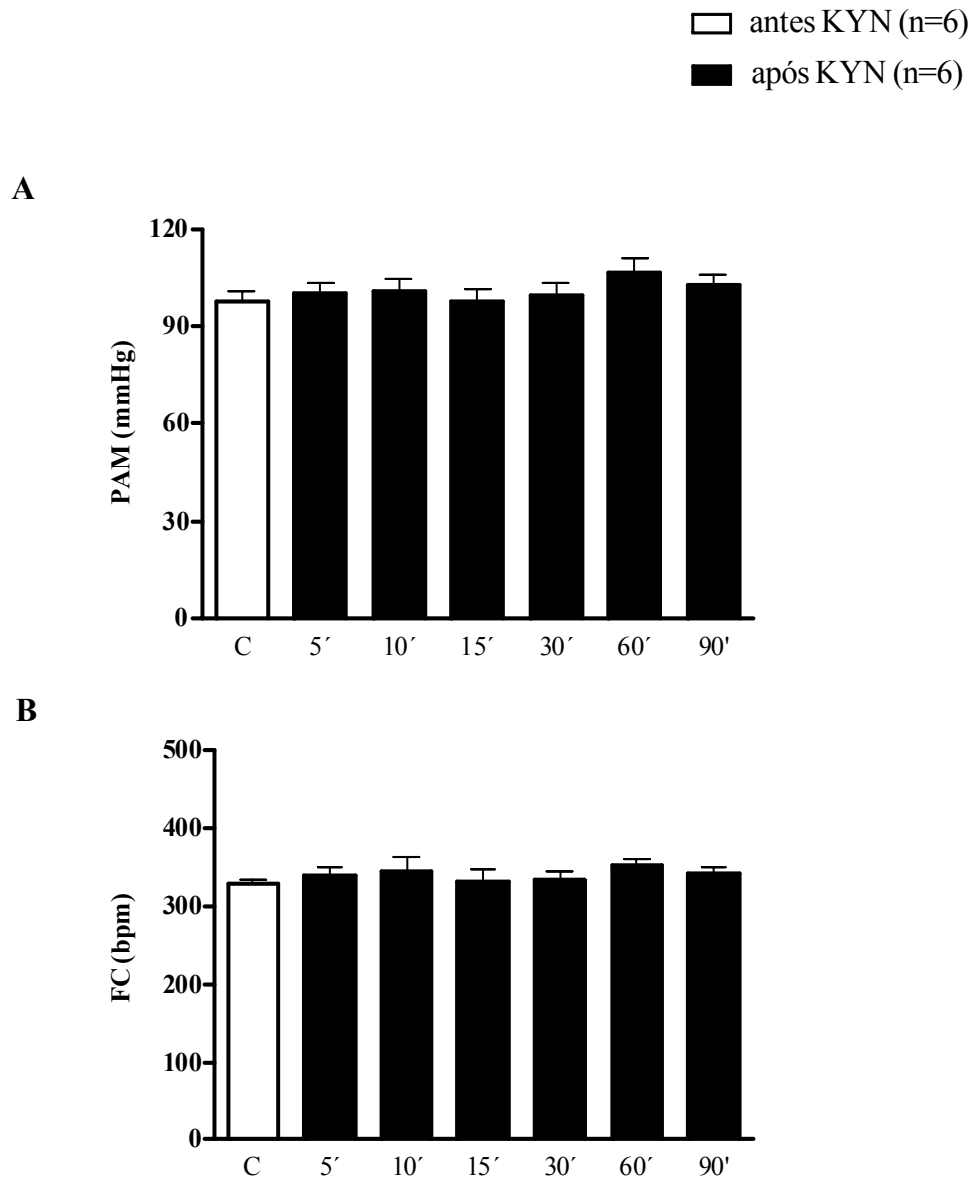


**Figura 22:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) em resposta à microinjeção bilateral de ácido quinurênico [KYN (7.2 nmol/ 50 nl)] no PVN antes (KCN controle) e aos 5, 15 e 90 minutos após a ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] em ratos não anestesiados.

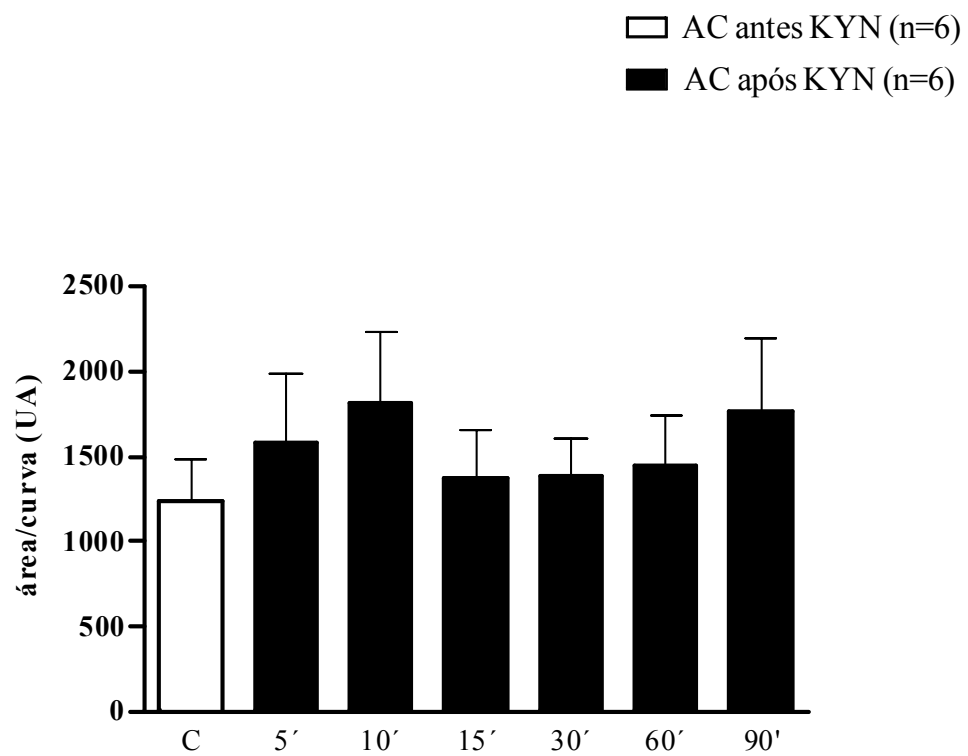




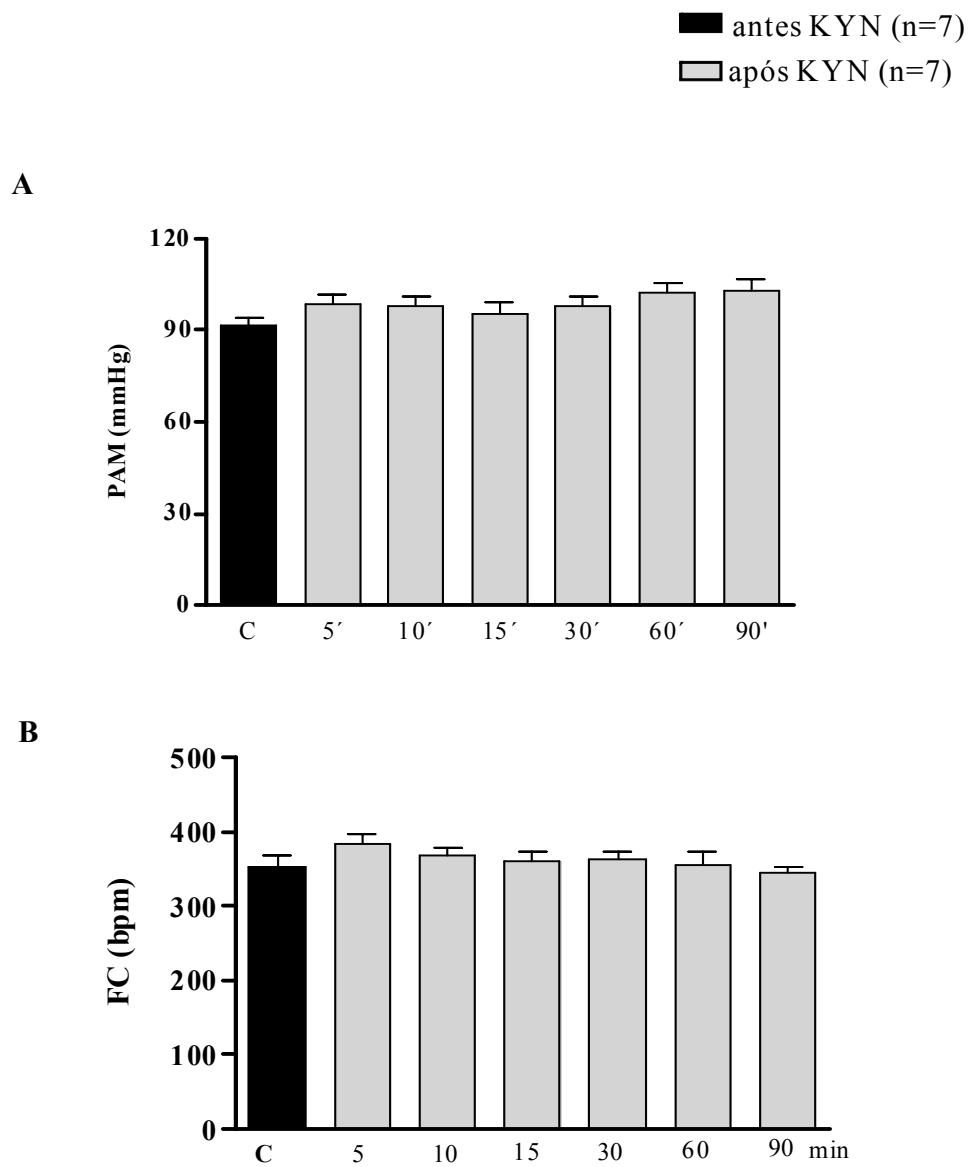
**Figura 23:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico (KYN) no PVN de ratos não anestesiados.



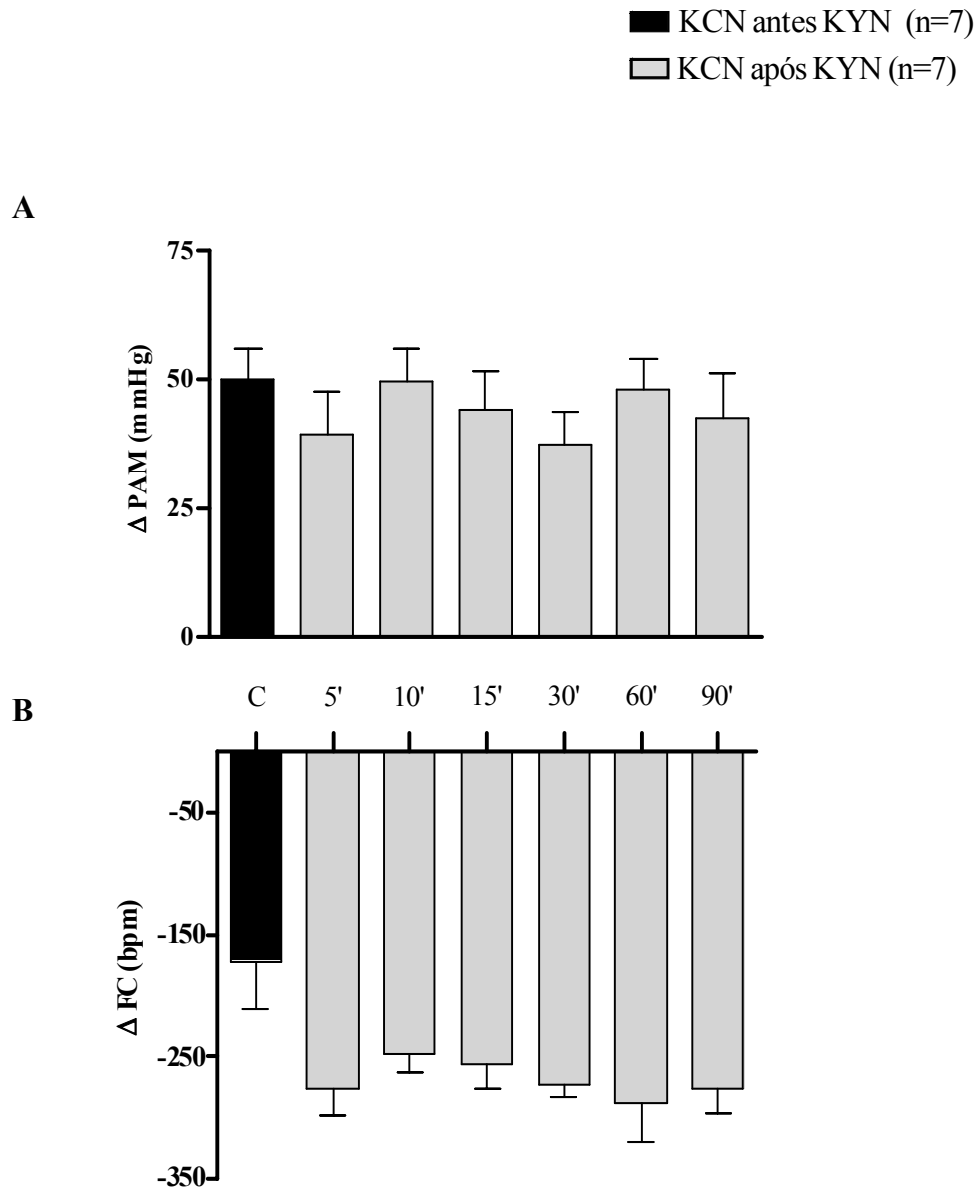
**Figura 24:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.



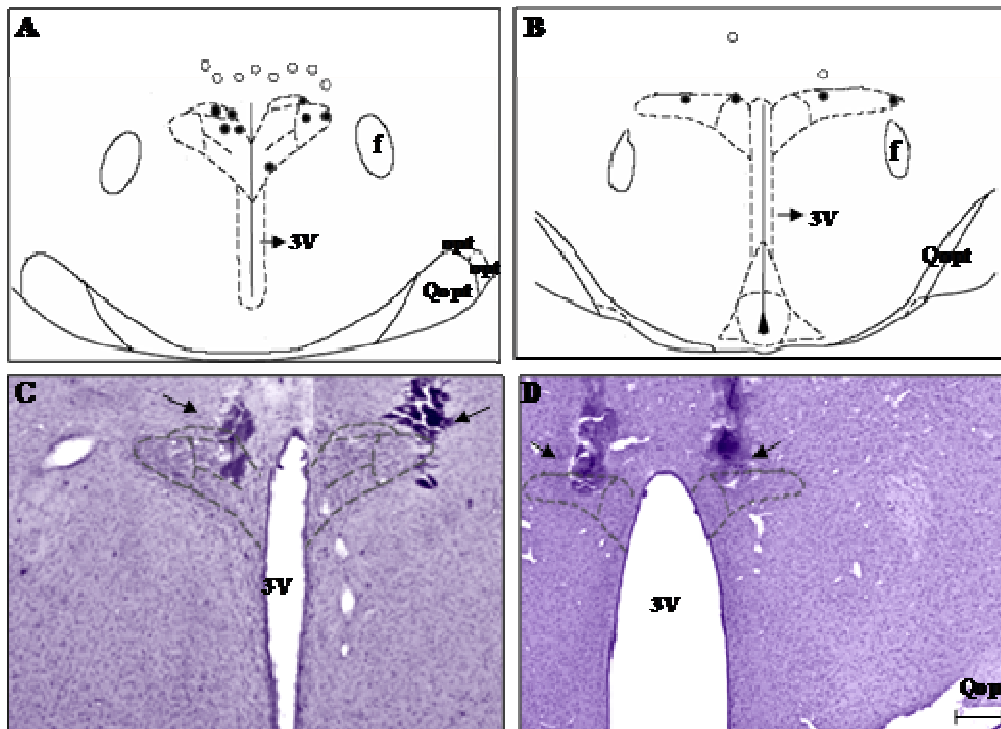
**Figura 25:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 5, 10 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.



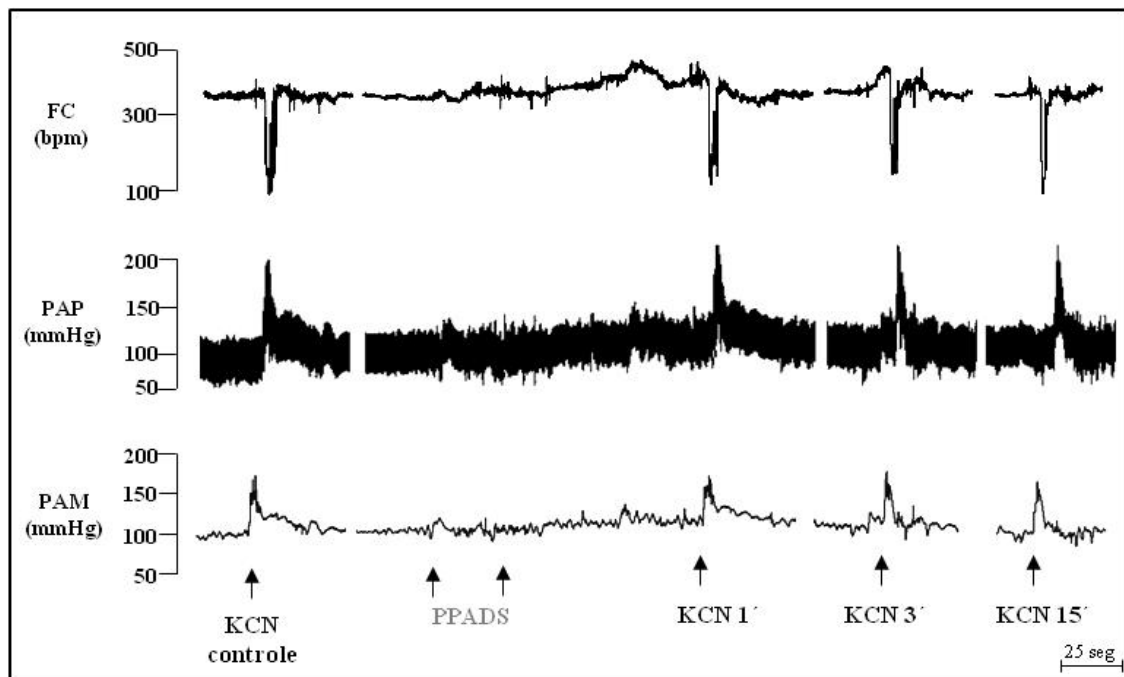
**Figura 26:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após à microinjeção bilateral de ácido quinurênico (KYN) fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.



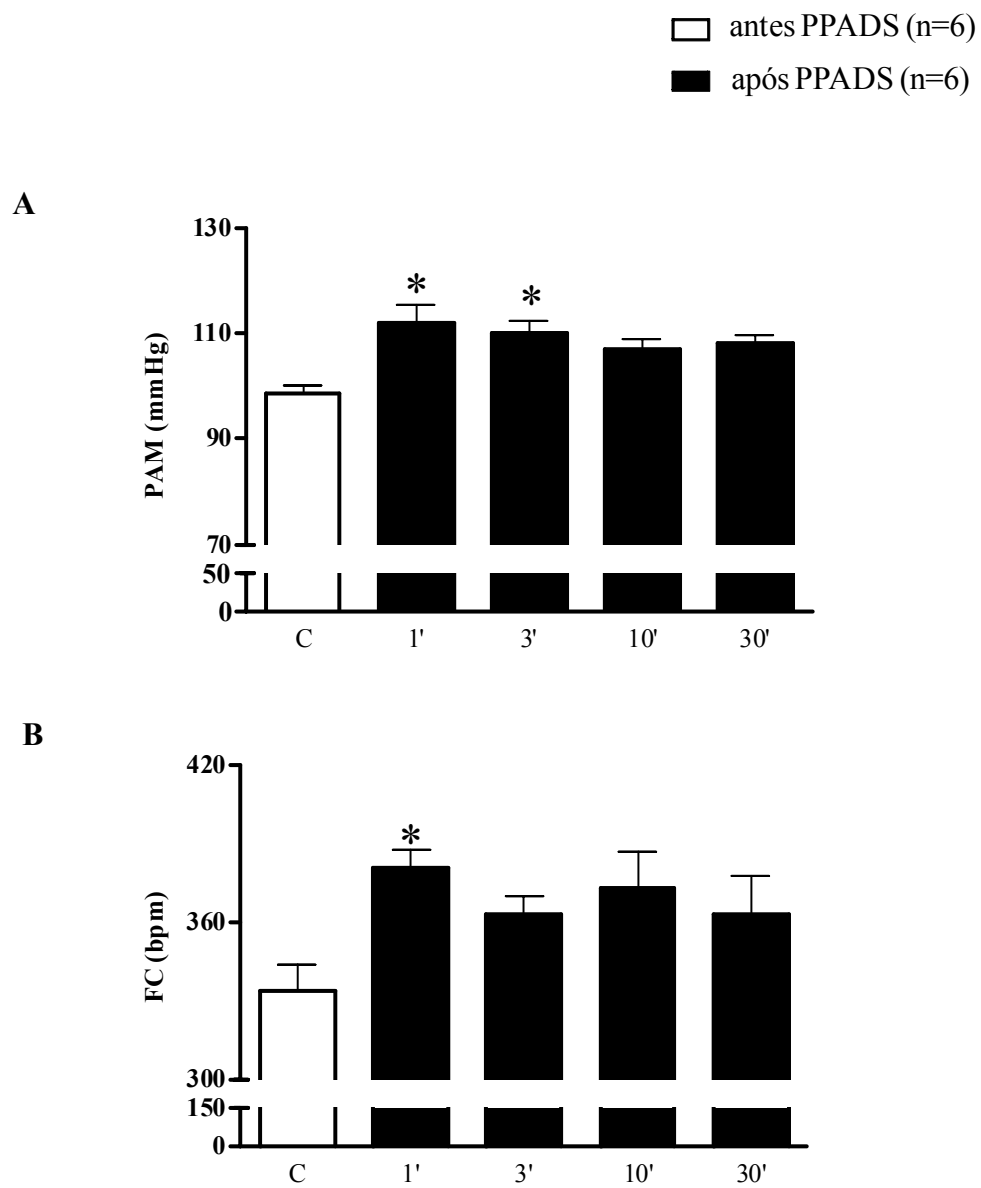
**Figura 27:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] antes (controle c) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de ácido quinurênico fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 28** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de PPADS no interior (círculos fechados) e fora (círculos abertos) dos limites do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), de ratos representativos do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de PPADS (setas). Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.

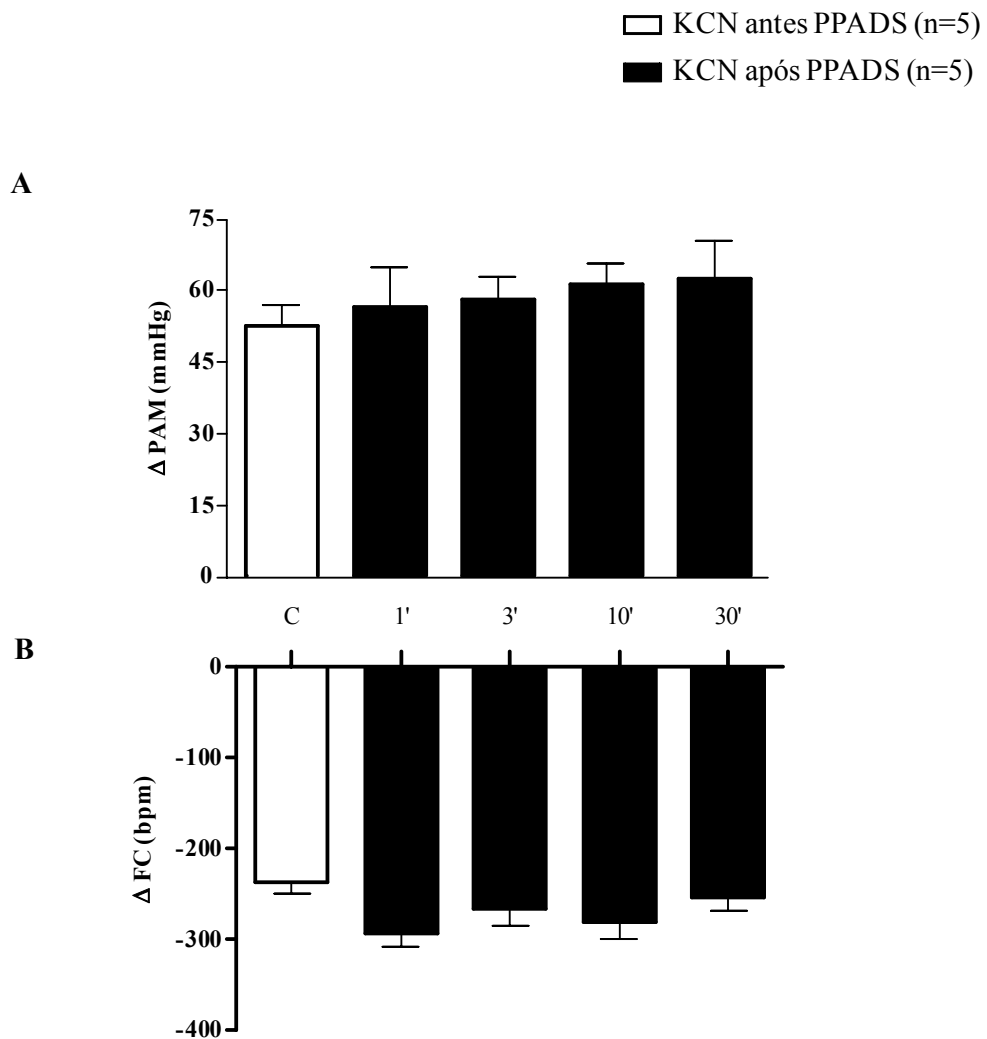


**Figura 29:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à ativação do quimiorreflexo antes [KCN controle (80  $\mu\text{g}/0.05\text{ ml}/\text{iv}$ )] e aos 1, 3, 15 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS (0.25 nmol/50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.

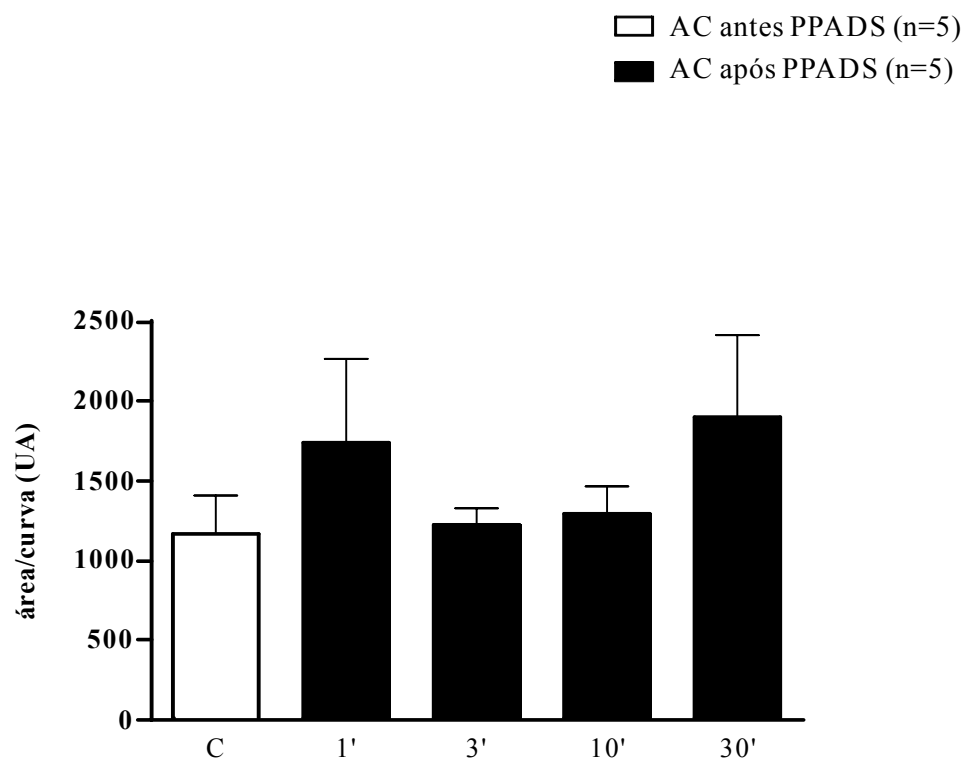


**Figura 30:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados. \* diferente em relação ao controle ( $p < 0.05$ ).

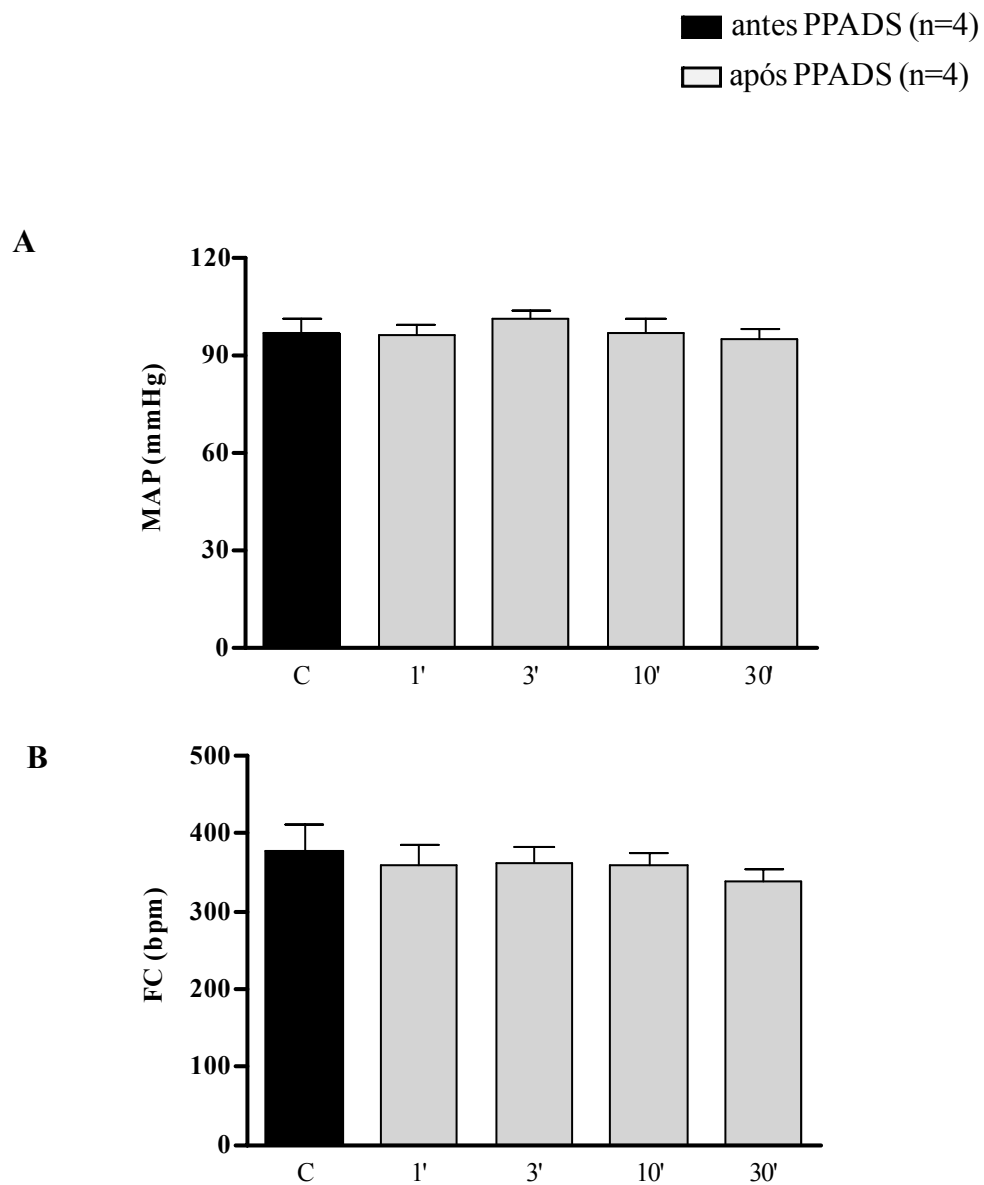




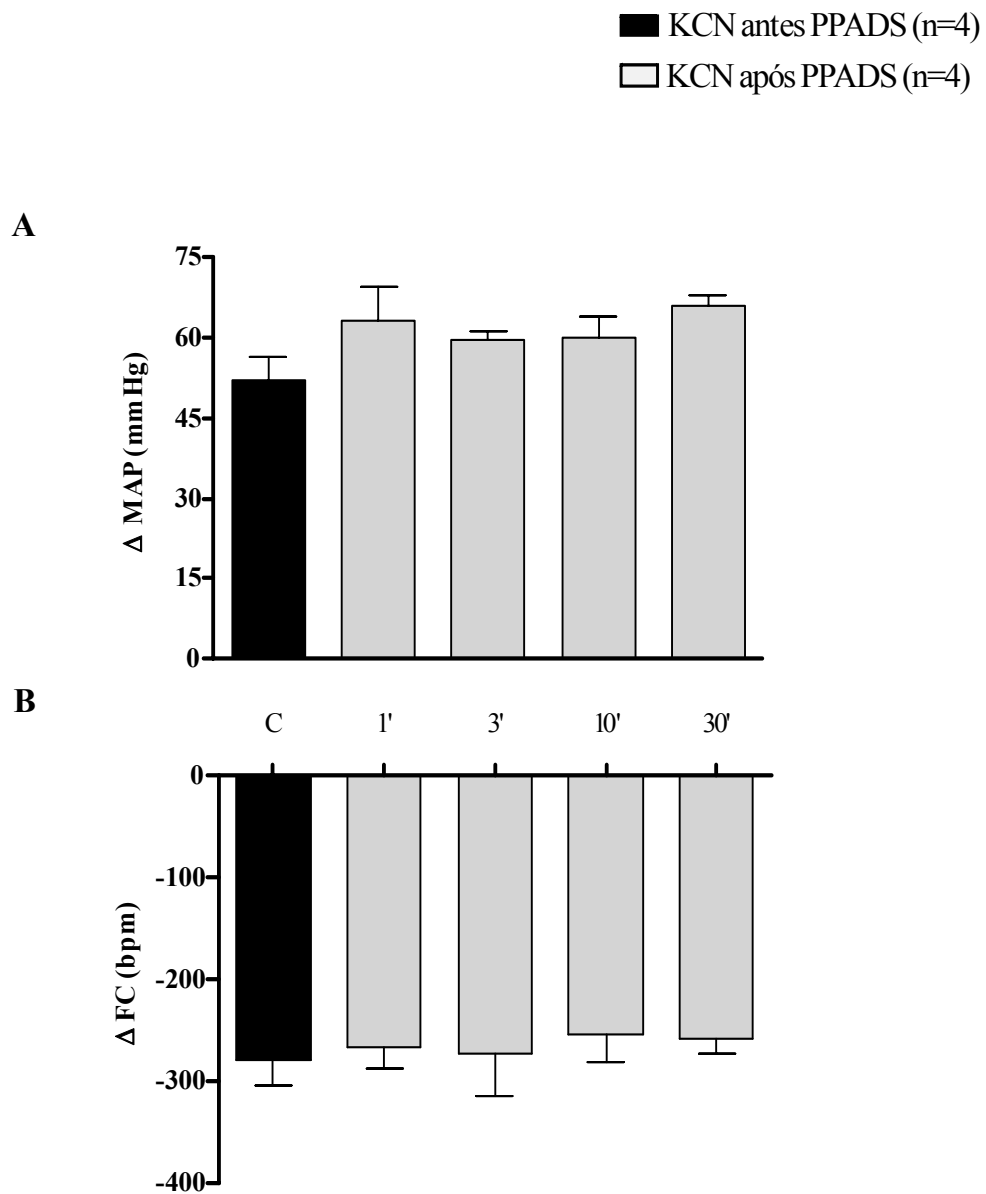
**Figura 31:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta PAM$ , mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta FC$ , bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 32:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 33** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 1, 3, 10, e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.



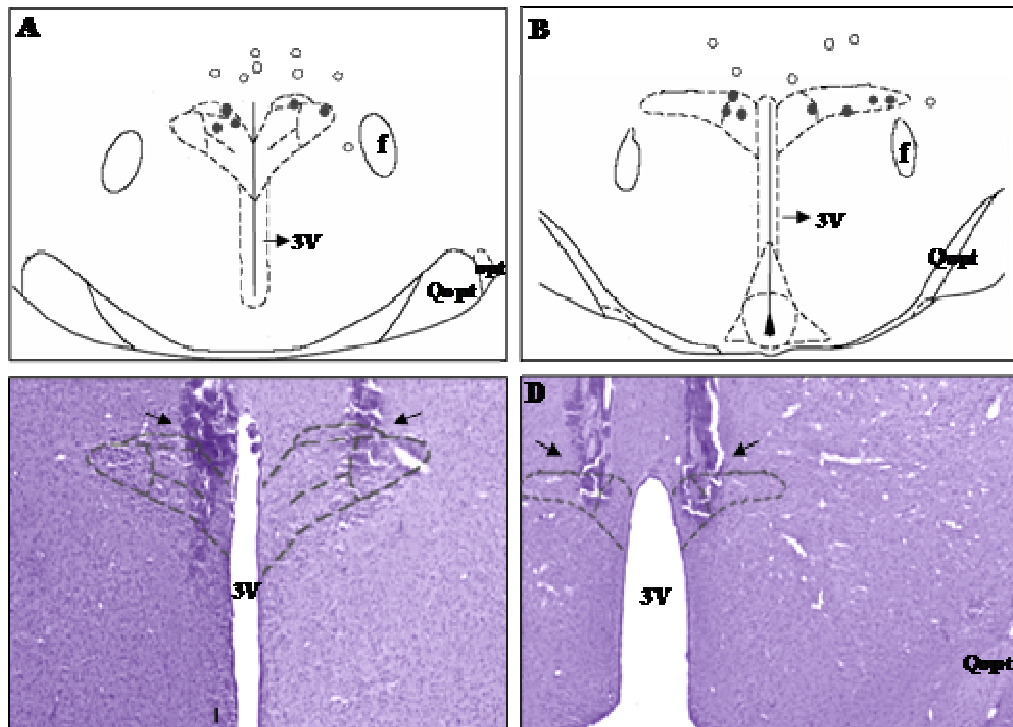
**Figura 34:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de PPADS fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.

---

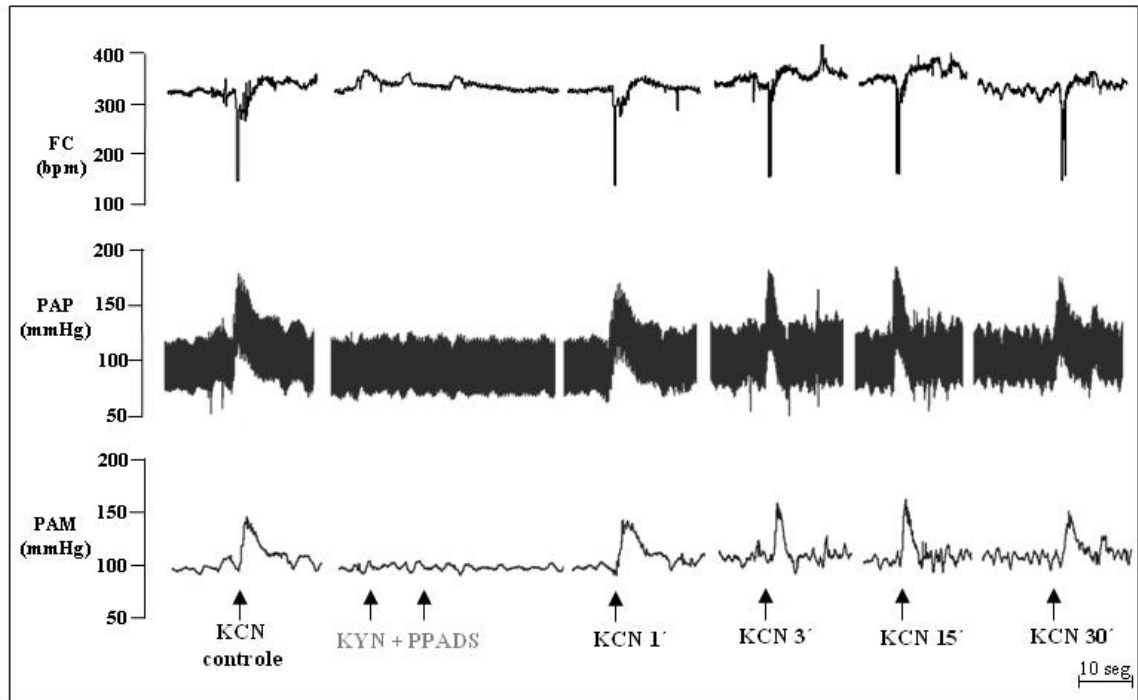
quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral do coquetel (PPADS + KYN) no PVN. O conjunto dos resultados mostrou que a microinjeção bilateral de PPADS + KYN (n=7) não promoveu alterações significativas na PAM basal [ $93 \pm 1$  vs  $99 \pm 3$  mmHg (figura 37, painel A)] ou na FC basal [ $357 \pm 11$  vs  $380 \pm 11$  bpm (figura 37, painel B)]. A microinjeção bilateral de PPADS + KYN no PVN também não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $58 \pm 4$  vs  $49 \pm 4$  mmHg (figura 38, painel A)] ou bradicárdica [ $-252 \pm 17$  vs  $-273 \pm 13$  bpm (figura 38, painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área sobre a curva [unidades arbitrárias (UA)] da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção de PPADS + KYN no PVN (figura 39, tabela LIV do apêndice).

A microinjeção do coquetel PPADS + KYN fora dos limites do PVN medial e posterior (n=7) não promoveu alterações significativas na PAM [ $96 \pm 2$  vs  $99 \pm 4$  mmHg (figura 40, painel A)] ou na FC basal [ $349 \pm 15$  vs  $353 \pm 27$  bpm (figura 40, painel B)] dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ( $66 \pm 8$  vs  $68 \pm 2$  mmHg) ou bradicárdica ( $-239 \pm 20$  vs  $-259 \pm 19$  bpm) à ativação do quimiorreflexo (figura 41, painéis A e B, respectivamente).

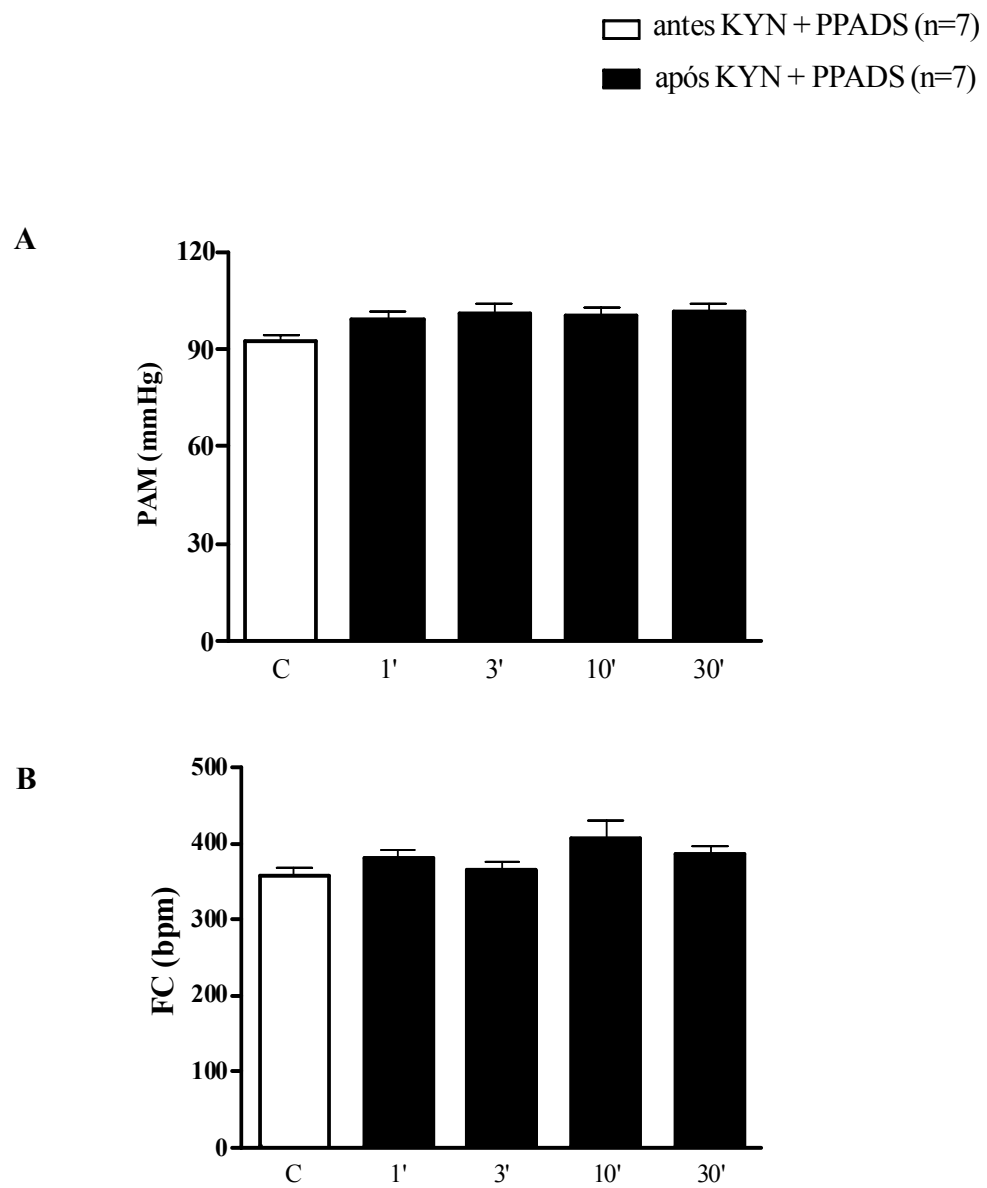
Os valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 1, 3, 10, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no interior e fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de L a LIII e de LV a LVIII do apêndice.



**Figura 35:** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de PPADS + KYN (círculos fechados) no interior do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), de ratos representativos do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais do coquetel PPADS + KYN (setas). Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.

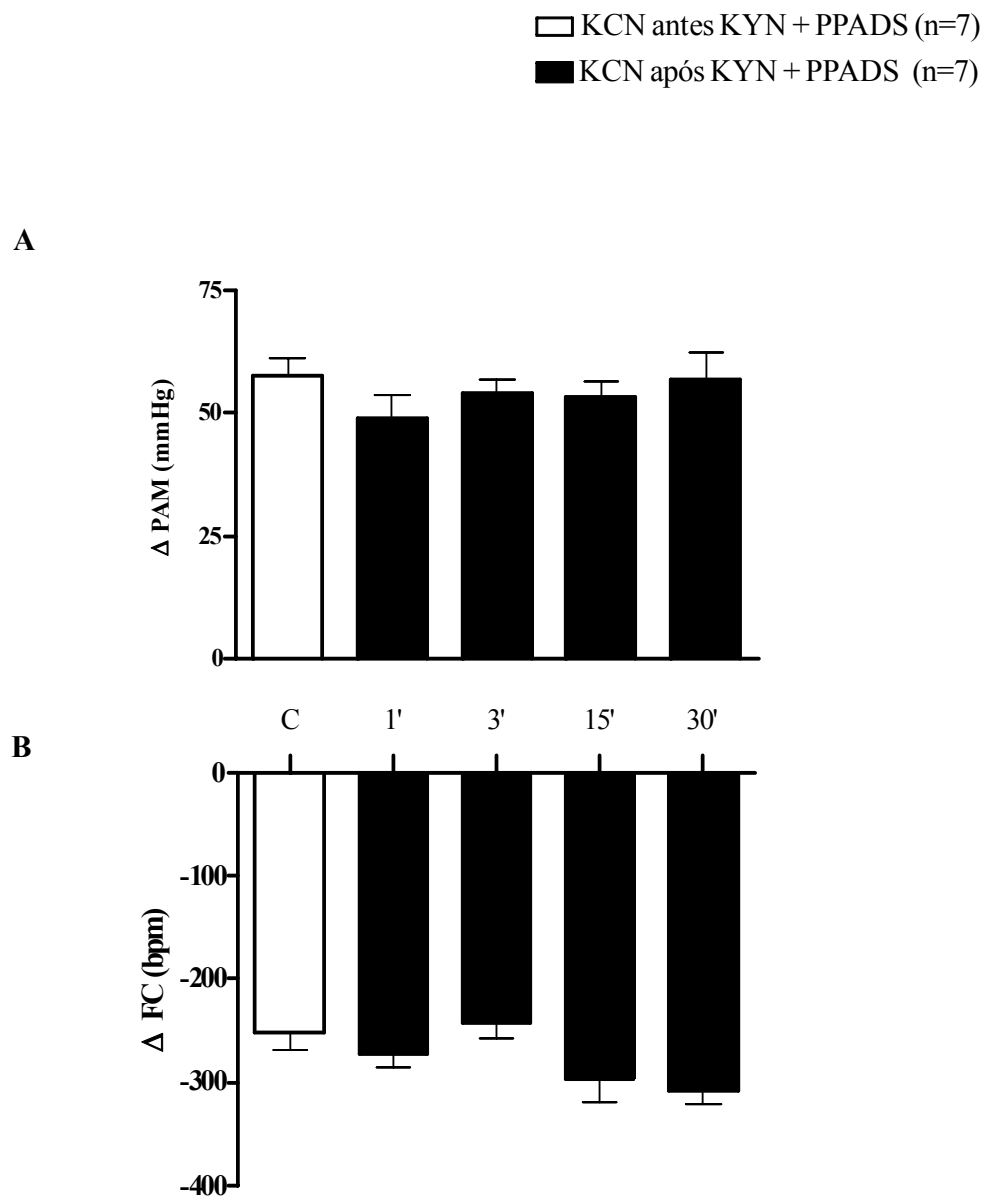


**Figura 36:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à ativação do quimiorreflexo antes [KCN controle (80  $\mu\text{g}/0.05 \text{ ml}/\text{iv}$ )] e aos 1, 3, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS (0.25 nmol/50 nl) + ácido quinurênico [KYN (7.2 nmol)] no PVN de ratos não anestesiados.

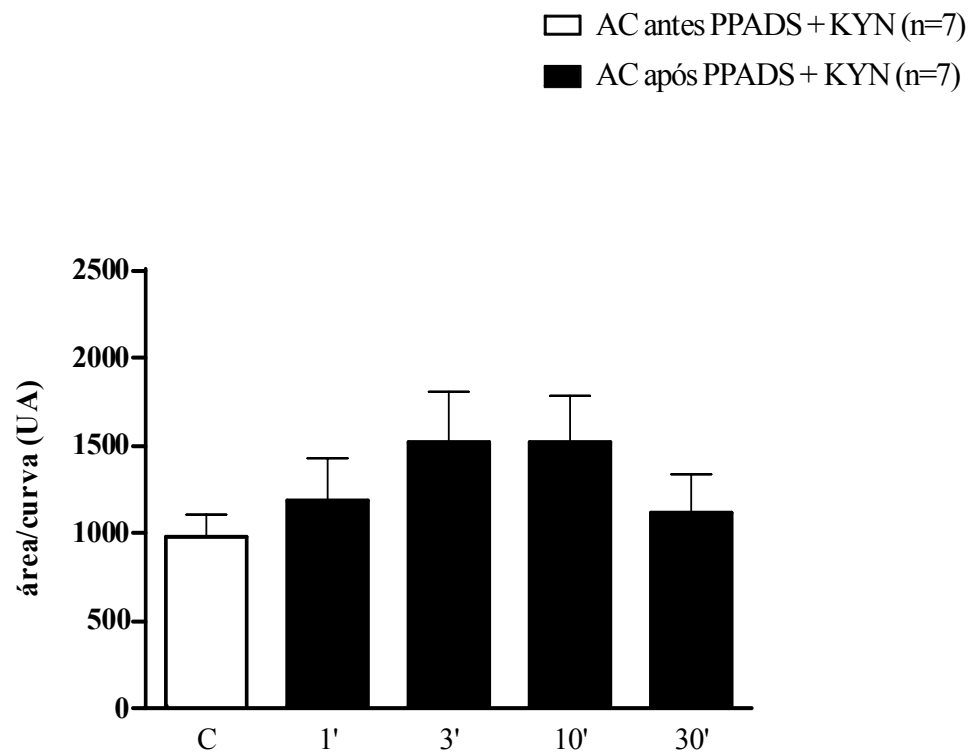


**Figura 37:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados.

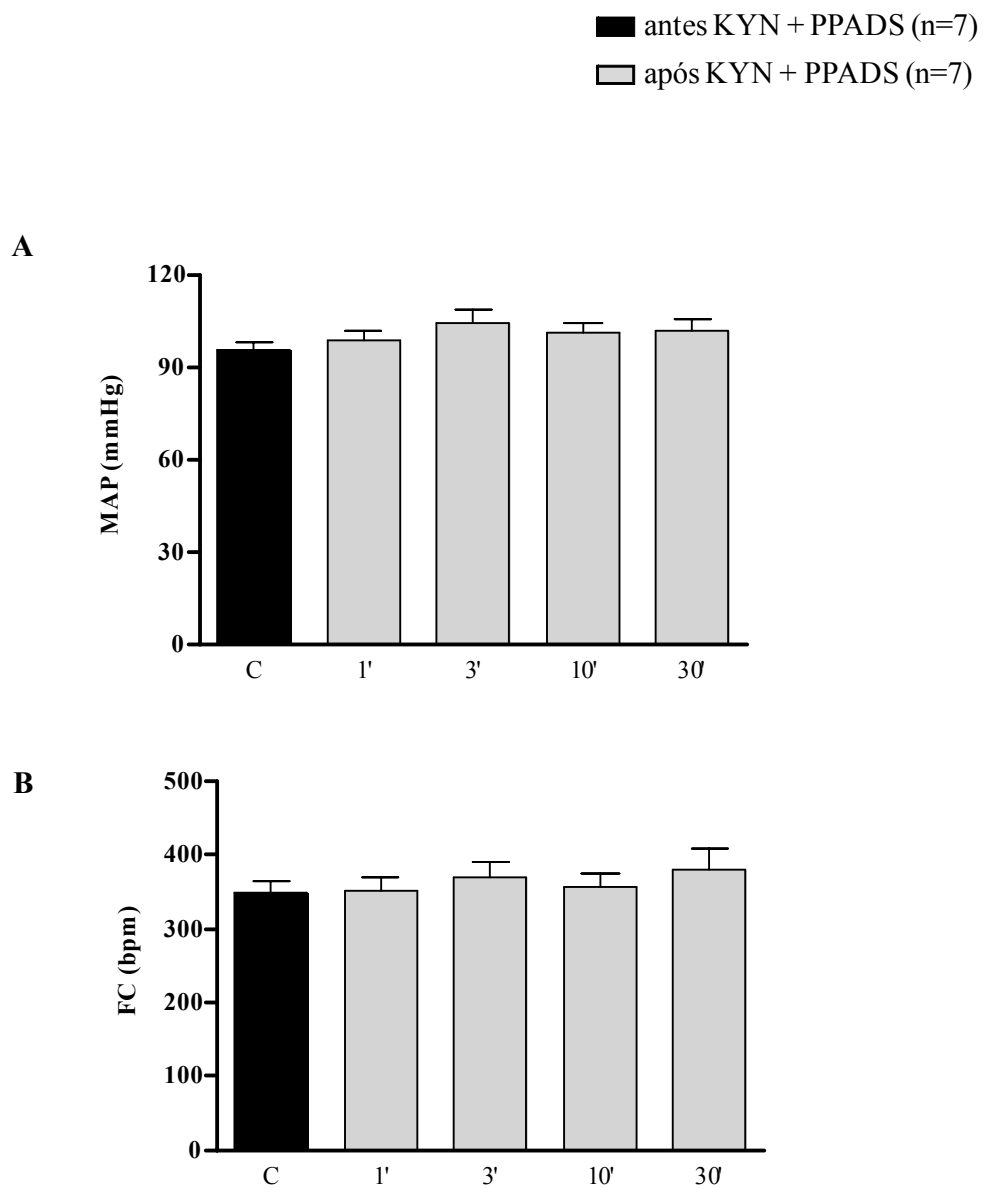




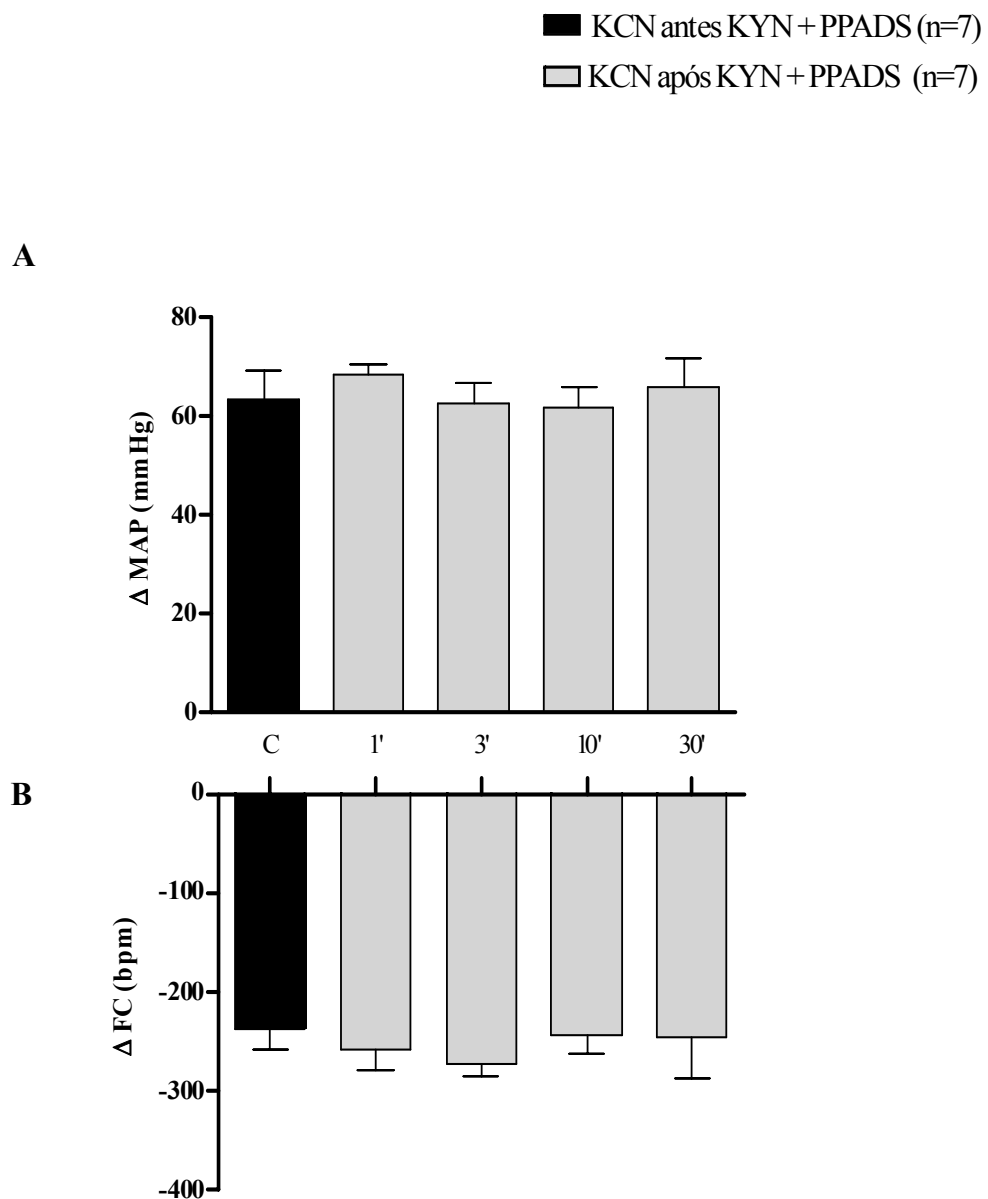
**Figura 38:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 39:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS+ KYN no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 40:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 41:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel PPADS + KYN fora dos limites do PVN de ratos não anestesiados.

---

*7.8) Respostas cardiovasculares a microinjeção unilateral de bicuculina antes e após a microinjeção ipsilateral de lidocaína no PVN de ratos não anestesiados.*

Nos gráficos da figura 42 podemos observar que 2 minutos após a microinjeção unilateral de lidocaína (2%, 50 nl) ocorreu a atenuação da resposta pressora (figura 42, painel A) e taquicardia (figura 42, painel B) à microinjeção ipsilateral de bicuculina (50 pmol/50 nl) no PVN; a reversão da resposta foi observada aos 40 minutos após a microinjeção unilateral de lidocaína (ver tabelas de LIX e LX do apêndice).

*7.9) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de lidocaína (50 nl) no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras de 43 a 46. Os painéis superiores da figura 43 ilustram os centros das microinjeções bilaterais de lidocaína [50 nl (círculos fechados)] realizadas no PVN medial (painel A) e posterior (painel B) dos animais. Os painéis inferiores da figura 43 apresentam fotomicrografias de histologias positivas, de animais representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). O conjunto dos resultados encontra-se nos gráficos das figuras 44 e 45. Os resultados mostram que a microinjeção bilateral de lidocaína [50 nl (n=8)] não promoveu alterações significativas na PAM basal [ $99 \pm 3$  vs  $100 \pm 4$  mmHg (figura 44, painel A)] ou na FC basal [ $354 \pm 16$  vs  $377 \pm 17$  bpm (figura 44, painel B)]. A microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN

---

também não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $52 \pm 5$  vs  $53 \pm 4$  mmHg (figura 45, painel A)] ou bradicárdica [ $-254 \pm 29$  vs  $-277 \pm 19$  bpm (figura 45, painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN (figura 46, tabela LXV do apêndice).

As médias dos valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de LXI a LXIV do apêndice.

*7.10) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de lidocaína (100 nl) no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras 43 (painéis superiores), 47, 48, 49 e 50. Os painéis superiores da figura 43 ilustram os centros das microinjeções bilaterais realizadas no interior (triângulos fechados) do PVN medial (painel A) e posterior (painel B). A figura 47 mostra os traçados, de um animal representativo do grupo, com as variações na FC, PAP, PAM basal e as alterações cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção de lidocaína (2%, 100nl) no PVN. O conjunto dos resultados mostrou que a microinjeção bilateral de lidocaína [100 nl

---

(n=6)] não promoveu alterações significativas na PAM basal [ $99 \pm 3$  vs  $106 \pm 5$  mmHg (figura 48, painel A)] ou na FC basal [ $345 \pm 8$  vs  $351 \pm 17$  bpm (figura 48, painel B)]. A microinjeção bilateral de lidocaína (100 nl) no PVN também não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $49 \pm 7$  vs  $39 \pm 9$  mmHg (figura 49, painel A)] e bradicárdica [ $-257 \pm 7$  vs  $-176 \pm 51$  bpm (figura 49, painel B)] à ativação do quimiorreflexo. Também não observamos alterações significativas na análise da área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN (figura 50, tabela LXX do apêndice).

As médias dos valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de LXVI a LXIX do apêndice.

*7.11) Respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de salina (0.9%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.*

Os resultados referentes as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção bilateral de salina (0.9%) no PVN de ratos não anestesiados podem ser observados nas figuras 51 a 53. Os painéis superiores da figura 51 ilustram os centros das microinjeções bilaterais (círculos fechados) realizadas no interior do PVN medial (painel A) e posterior (painel B) dos animais. Os painéis inferiores da figura 51 apresentam fotomicrografias de histologias positivas, de animais

---

representativos do grupo, cujos centros das microinjeções estão localizados na região do PVN medial (painel C) e posterior (painel D). O conjunto dos resultados mostrou que a microinjeção bilateral de salina [0.9 % (n=5)] não promoveu alterações significativas na PAM basal [ $102 \pm 5$  vs  $99 \pm 7$  mmHg (figura 52, painel A)] ou na FC basal [ $366 \pm 16$  vs  $371 \pm 24$  bpm (figura 52, painel B)]. A microinjeção bilateral de salina (0.9%) no PVN também não promoveu alterações significativas nas respostas pressora [ $56 \pm 7$  vs  $54 \pm 7$  mmHg (figura 53, painel A)] e bradicárdica [ $-288 \pm 24$  vs  $-306 \pm 20$  bpm (figura 53, painel B)] à ativação do quimiorreflexo.

As médias dos valores individuais da PAM e da FC basal, bem como das alterações na PAM e na FC em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de salina (0.9%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados encontram-se nas tabelas de LXXI a LXXIV do apêndice.

*7.12) Peso, ingestão de ração, ingestão água e excreção de urina antes e após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas:*

O conjunto dos resultados referentes ao peso, a ingestão de ração, a ingestão de água e a excreção de urina antes e após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas (n= 12) encontra-se nos painéis da figura 50 (valores normalizados para 100 g de peso). Os resultados mostraram que o implante de cânulas-guia não promoveu alterações significativas no ganho de peso (g) dos animais [apêndice tabela LXXV (figura 54, painel A)], contudo promoveu uma redução significativa na ingestão de ração 24 h ( $11 \pm 1$  vs  $4 \pm 1$  gramas) e 48 h [ $11 \pm 1$  vs  $7 \pm 1$ , gramas (figura 54, painel B)], na ingestão de água 24 h [ $19 \pm 1$  vs  $11 \pm 2$  ml (figura 54,



---

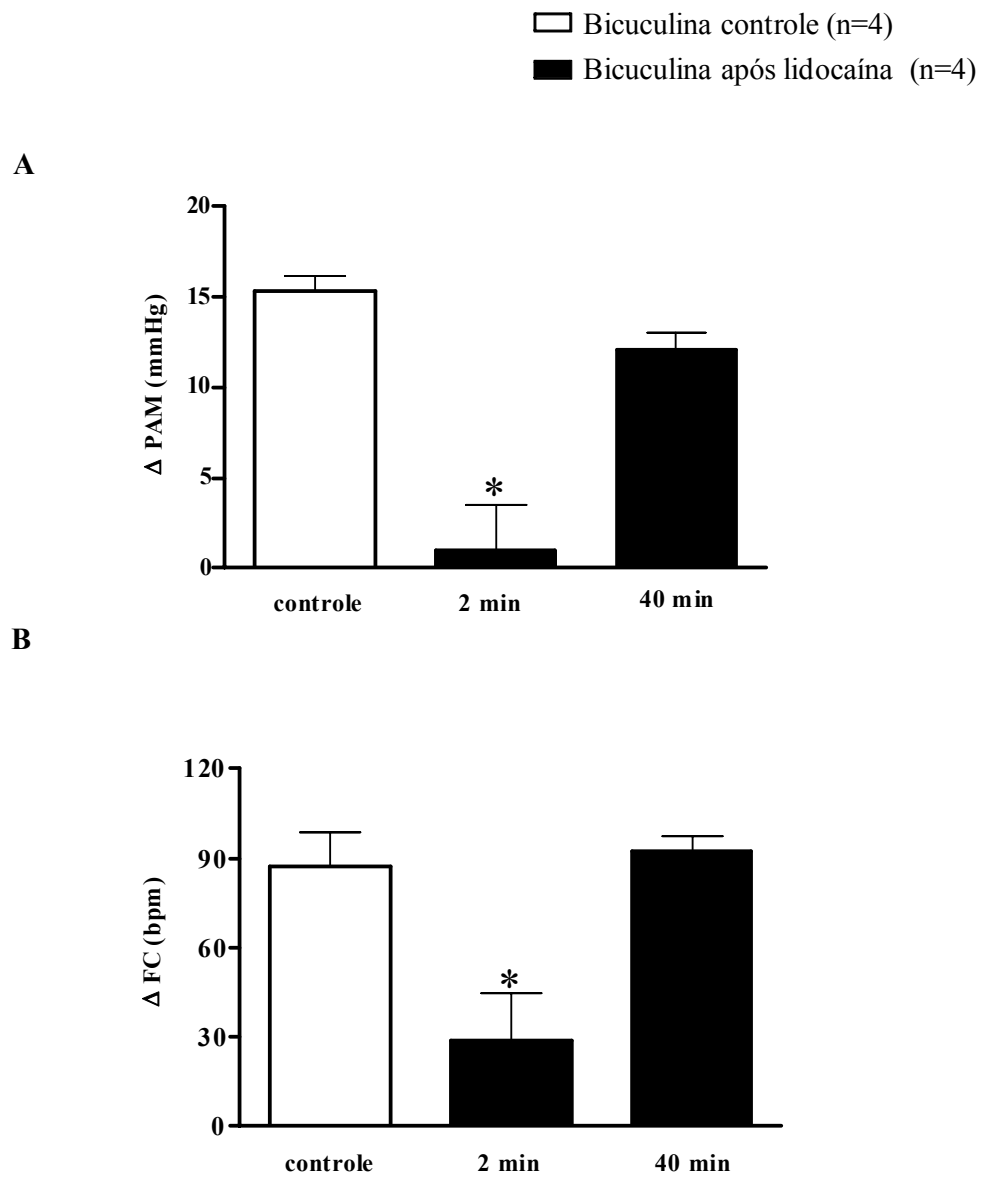
painel C)] e na excreção de urina 24 h [ $5 \pm 1$  vs  $2 \pm 0.3$  ml (figura 54, painel D)] após o implante de cânulas guia em direção ao PVN dos animais.

As médias dos valores individuais do peso, ingestão de ração, água e excreção de urina 24-72 h antes e 24- 96 h após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN de ratos alojados em gaiolas metabólicas encontram-se nas tabelas de LXXV a LXXVIII do apêndice.

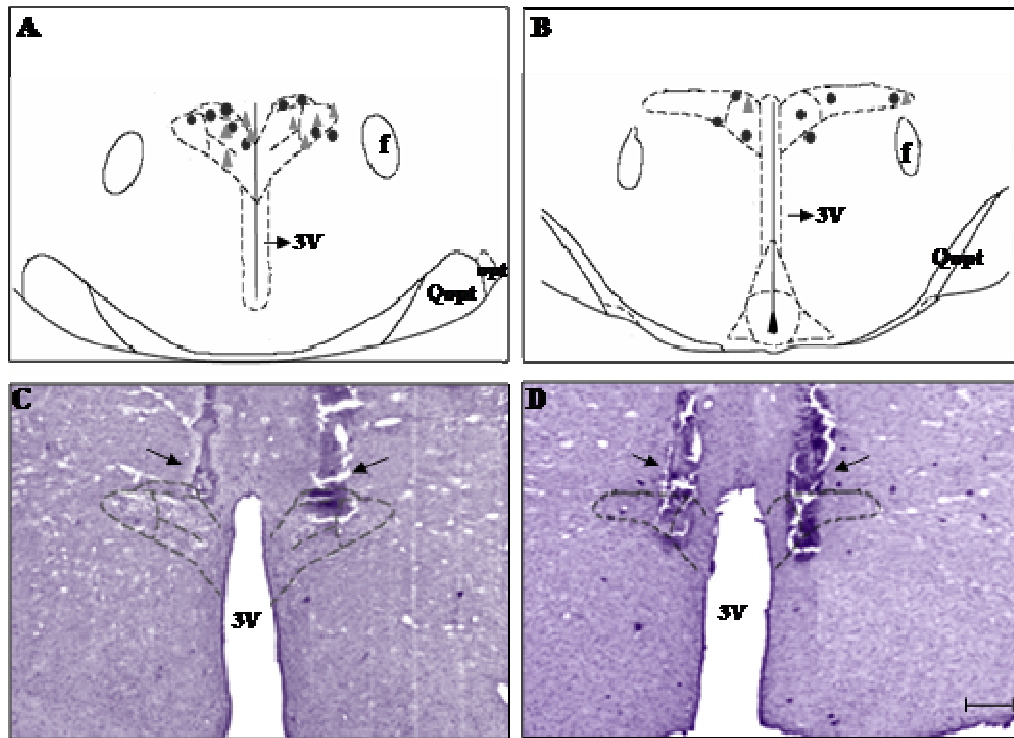
*7.13) Peso, ingestão de ração, ingestão de água e excreção de urina antes e após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas:*

O conjunto dos resultados referentes ao peso, a ingestão de ração, a ingestão de água e a excreção de urina antes e após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas (n= 5) encontra-se nos painéis da figura 55 (valores normalizados para 100 g peso). Os resultados indicam que a anestesia (tribrometanol 2.5% 10 ml/kg ip) não promoveu alterações significativas no ganho de peso (g) dos animais [apêndice tabela LXXIX (figura 55, painel A)] ou na ingestão de água (figura 55, painel C)] dos animais, contudo promoveu uma redução significativa na ingestão de ração 24 h [ $9 \pm 1$  vs  $5 \pm 1$  gramas (figura 55, painel B)] e na excreção de urina 24 h [ $3 \pm 0.3$  vs  $2 \pm 0.4$  ml (figura 55, painel D)] após a anestesia (ip) dos animais.

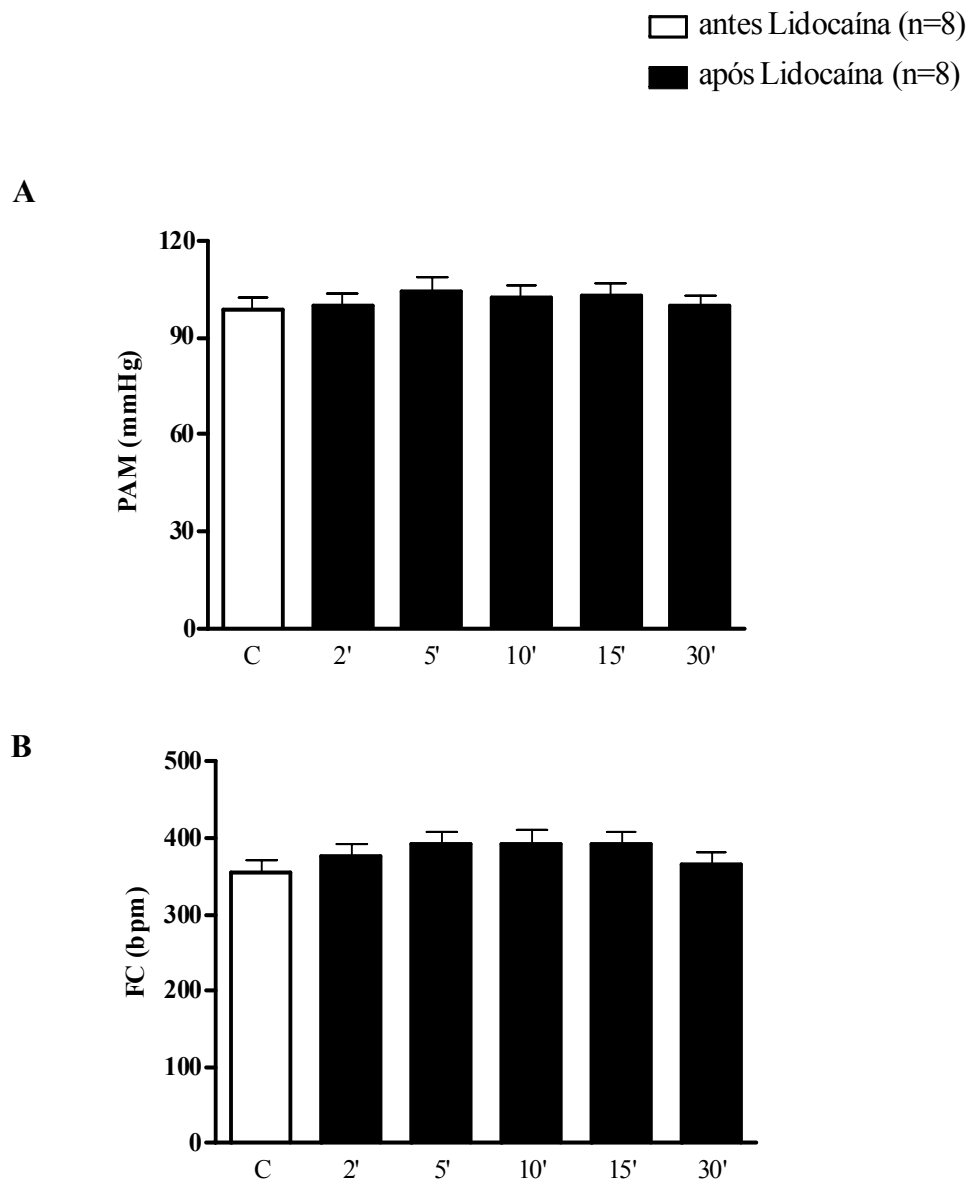
As médias dos valores individuais do peso, ingestão de ração, água e excreção de urina 24-72 h antes e 24-96 h após a anestesia (ip) de ratos alojados em gaiolas metabólicas encontram-se nas tabelas de LXXIX a LXXXII do apêndice.



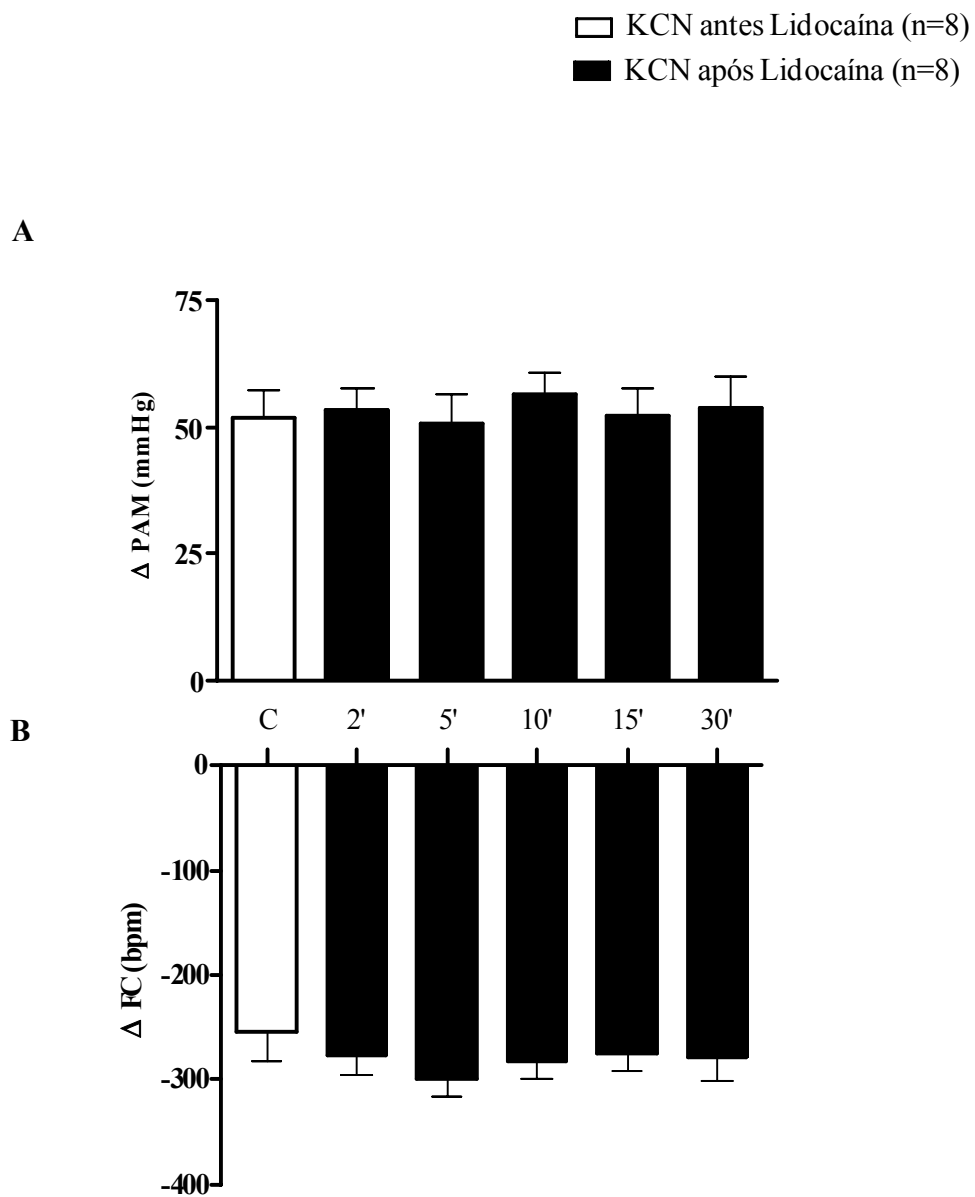
**Figura 42:** Alterações na pressão arterial [ $\Delta$  PAM, mmHg (painel A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à microinjeção unilateral de bicuculina (50 nmol/50 nl) antes e aos 2 e 40 minutos após a microinjeção ipsilateral de lidocaína (2% /50 nl) no PVN de ratos não anestesiados.



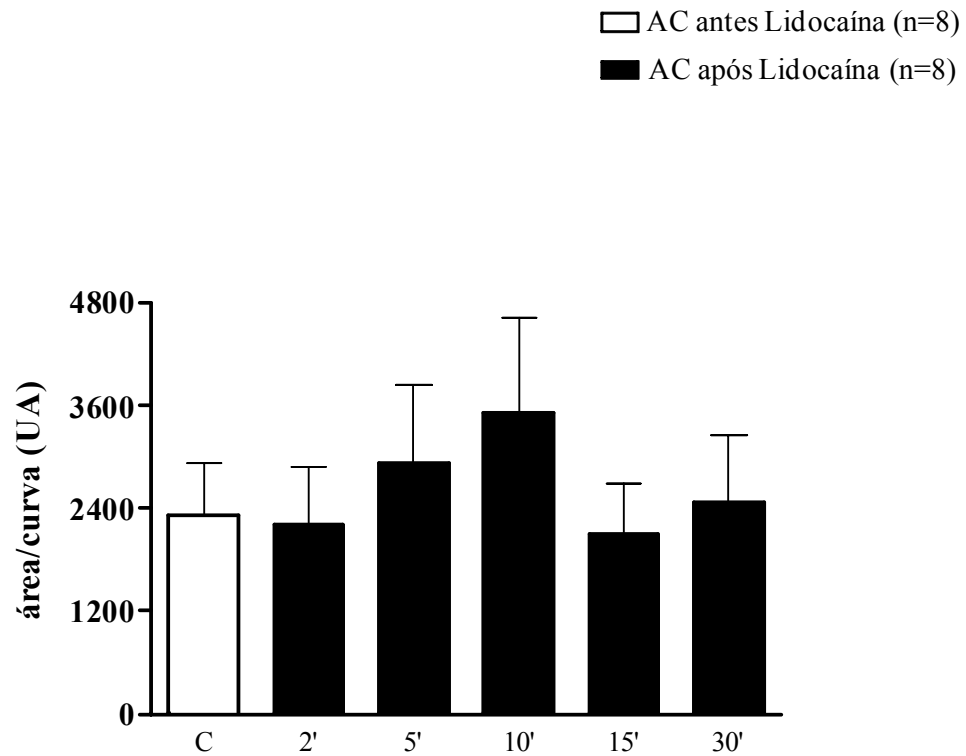
**Figura 43** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de lidocaína [2%, 50 nl (círculos fechados)] e de lidocaína [2% 100 nl (triângulos fechados)] no PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), de ratos representativos do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de lidocaína [2% (setas)]. Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.



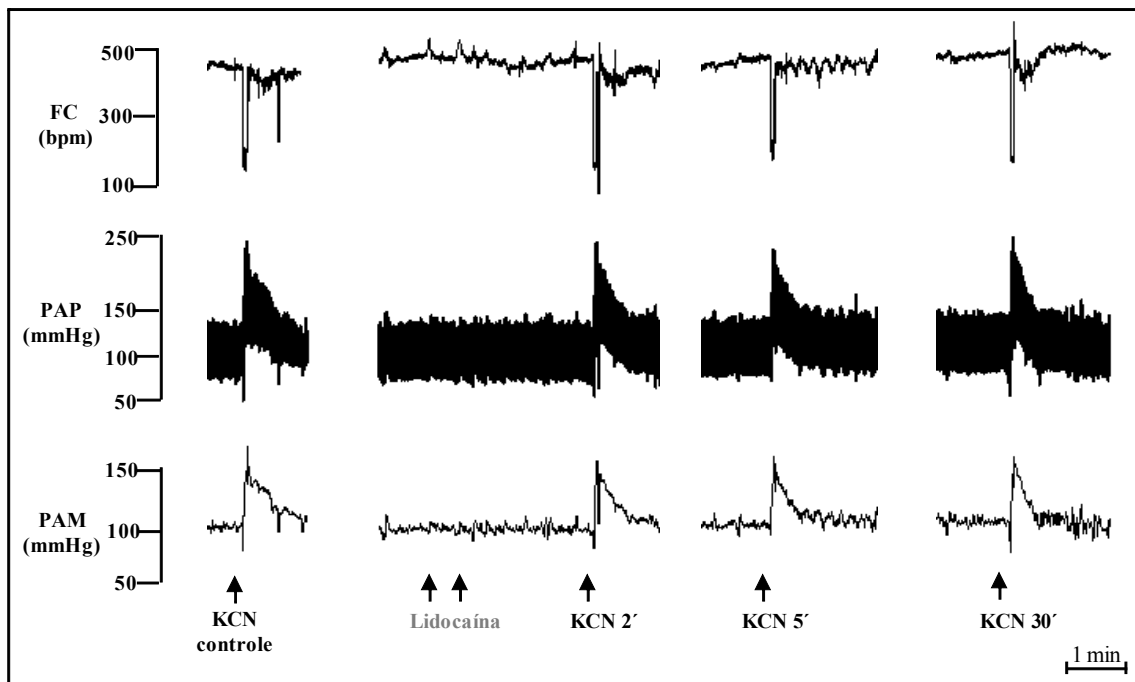
**Figura 44:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN de ratos não anestesiados.



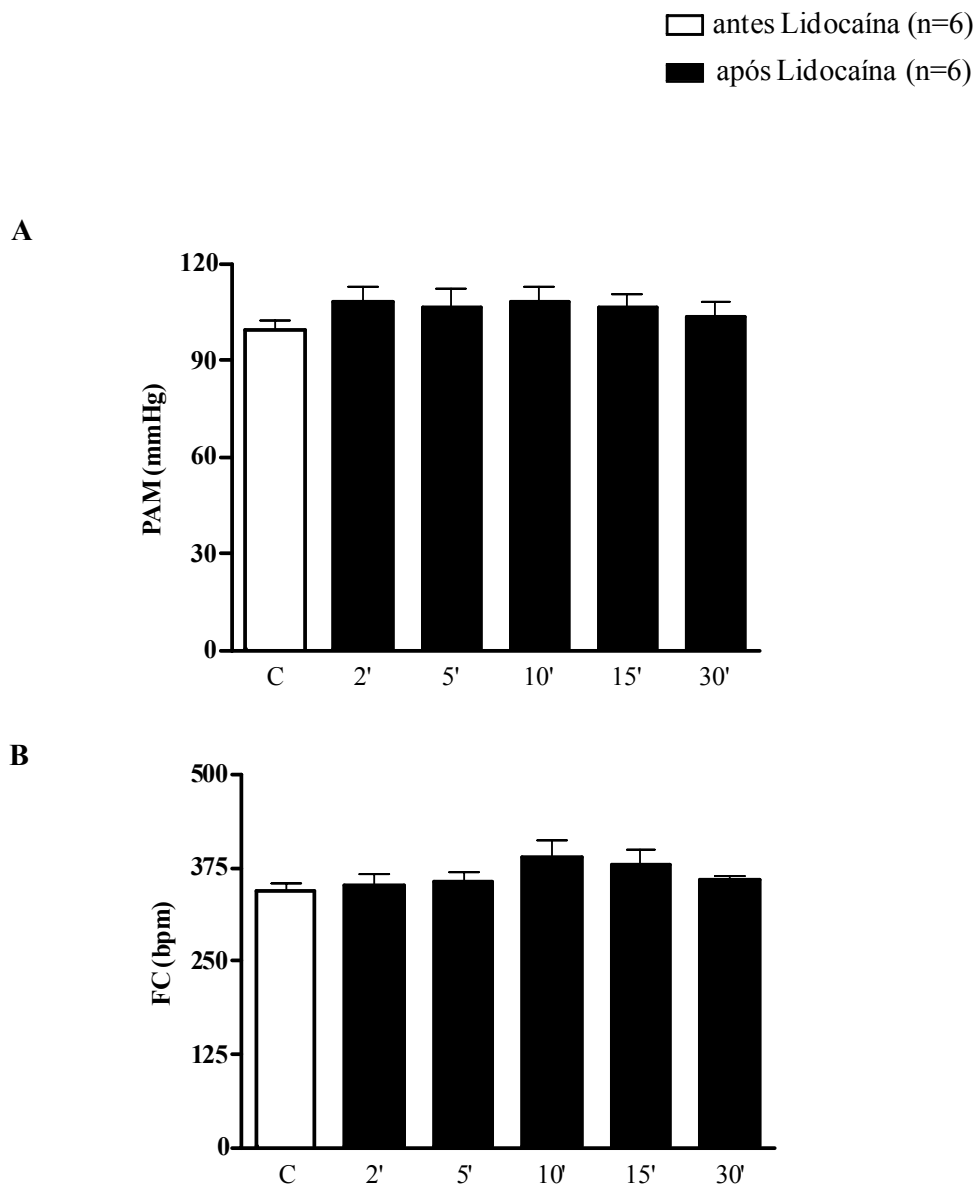
**Figura 45:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 46:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN de ratos não anestesiados.

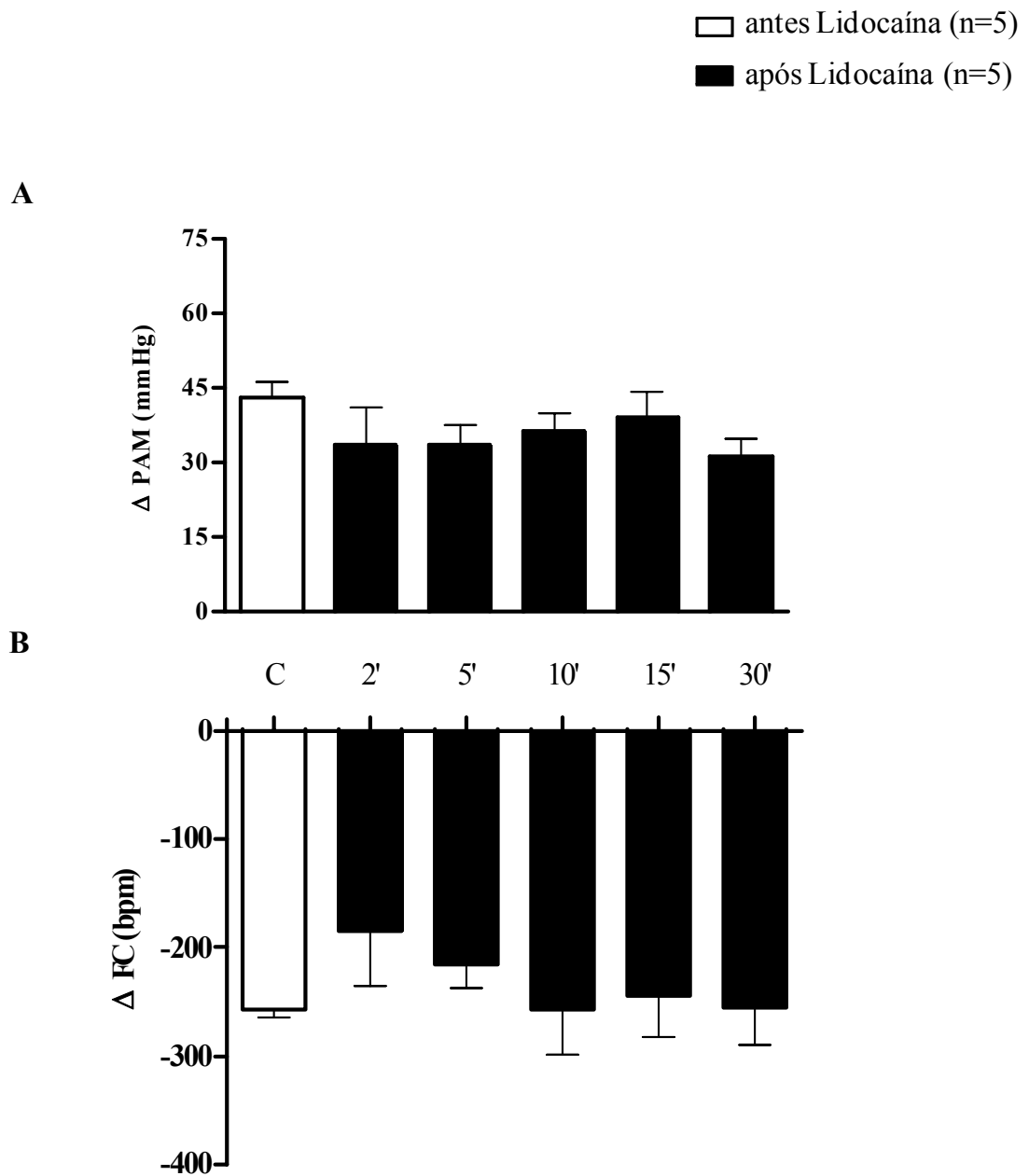


**Figura 47:** Traçado de um animal, representativo do grupo, mostrando as alterações na frequência cardíaca (FC, bpm), pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg) e na pressão arterial média (PAM, mmHg) à microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN antes (KCN controle) e aos 2, 5 e 30 minutos após a ativação do quimiorreflexo [KCN (80  $\mu$ g/0.05 ml/iv)] em ratos não anestesiados.

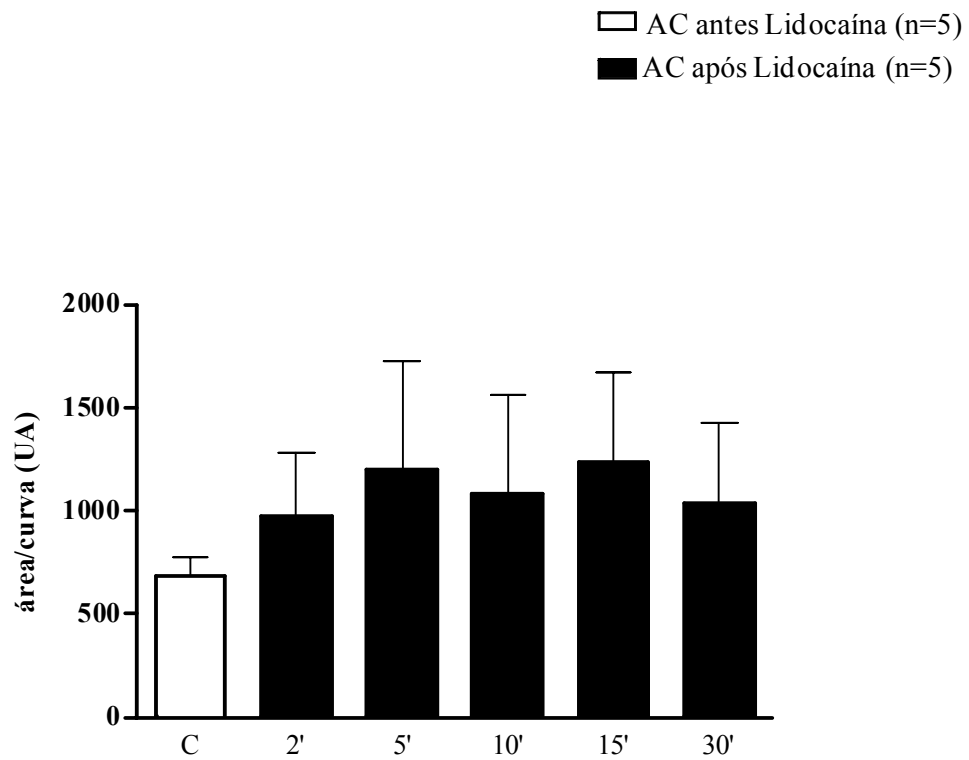


**Figura 48:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painéis A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN de ratos não anestesiados.

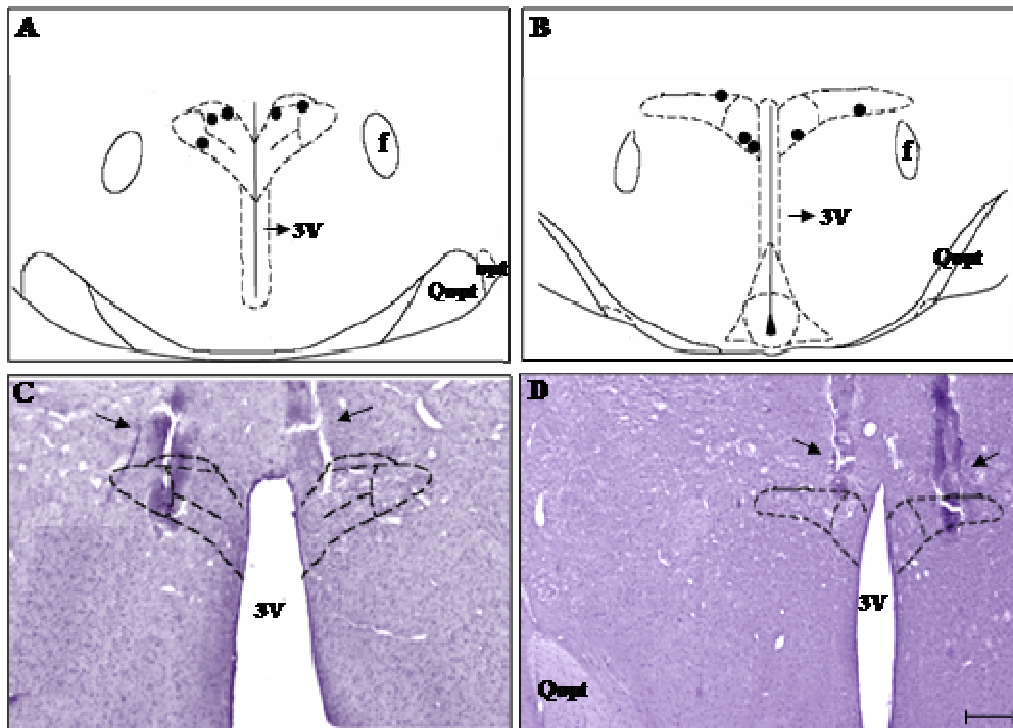




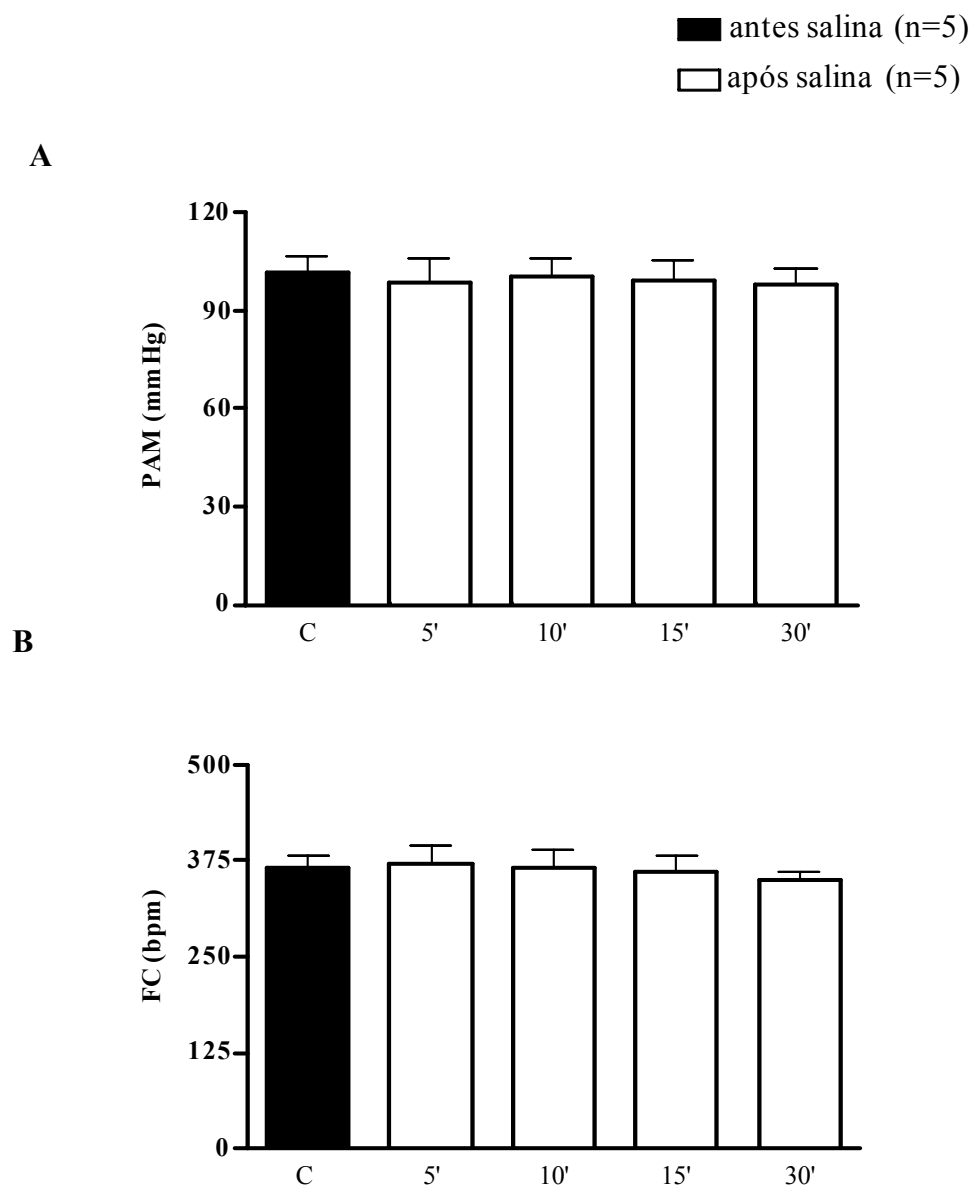
**Figura 49:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painéis A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados.



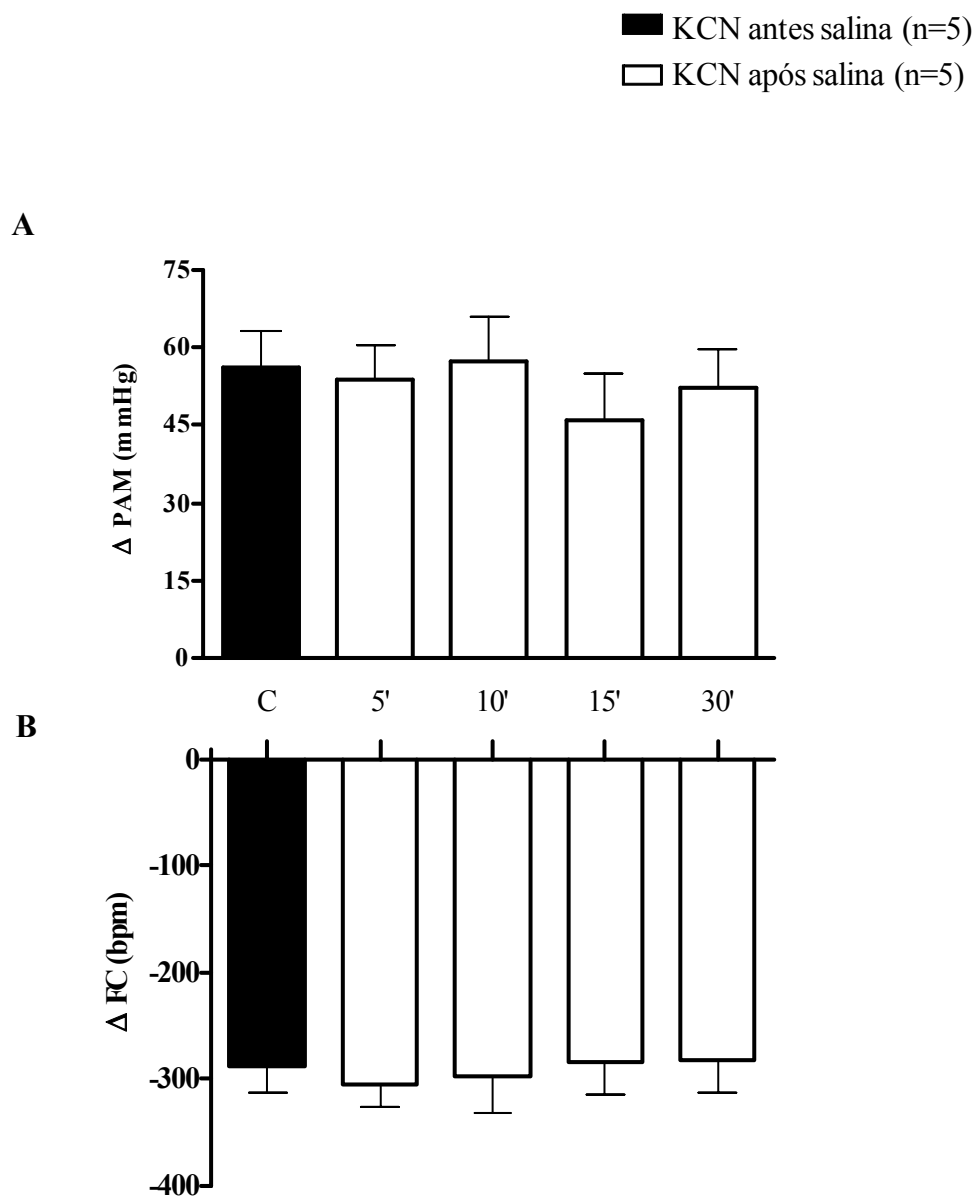
**Figura 50:** Alterações na área sobre a curva (UA, unidades arbitrárias) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN de ratos não anestesiados.



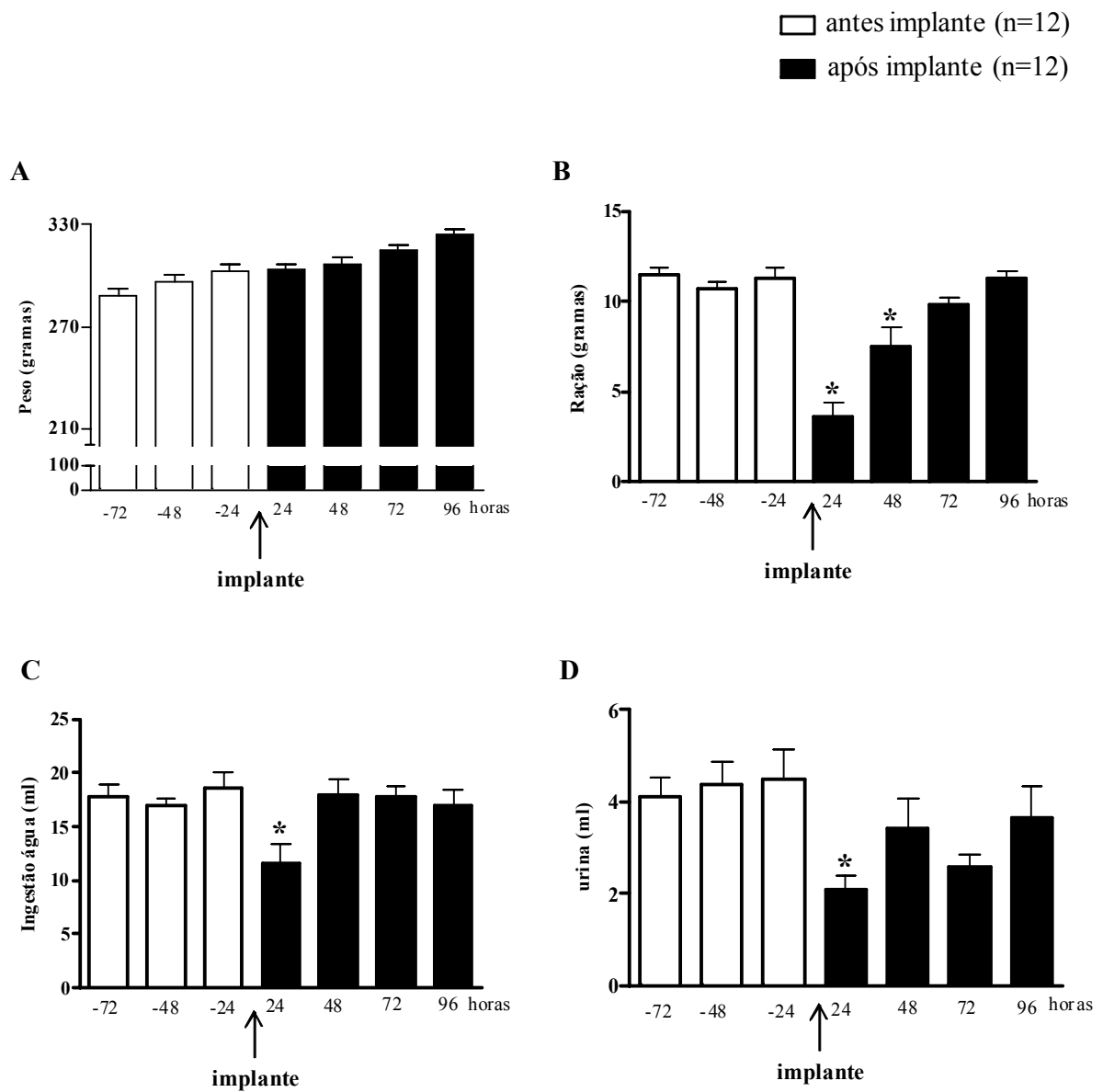
**Figura 51:** Painéis superiores: representação esquemática dos sítios de microinjeções bilaterais de salina (0.9%) no interior (círculos fechados) do PVN medial (bregma -1.8 mm, painel A) e do PVN posterior (bregma -2.12 mm, painel B). Painéis inferiores: fotomicrografias (2.5x) de secções transversais do PVN medial (painel C) e do PVN posterior (painel D), de ratos representativos do grupo, mostrando os sítios de microinjeções bilaterais de salina [0.9% (setas)]. Opt: supra óptico; Qopt: quiasma óptico; f: fórnix; 3V: terceiro ventrículo; barra: 200  $\mu$ m.



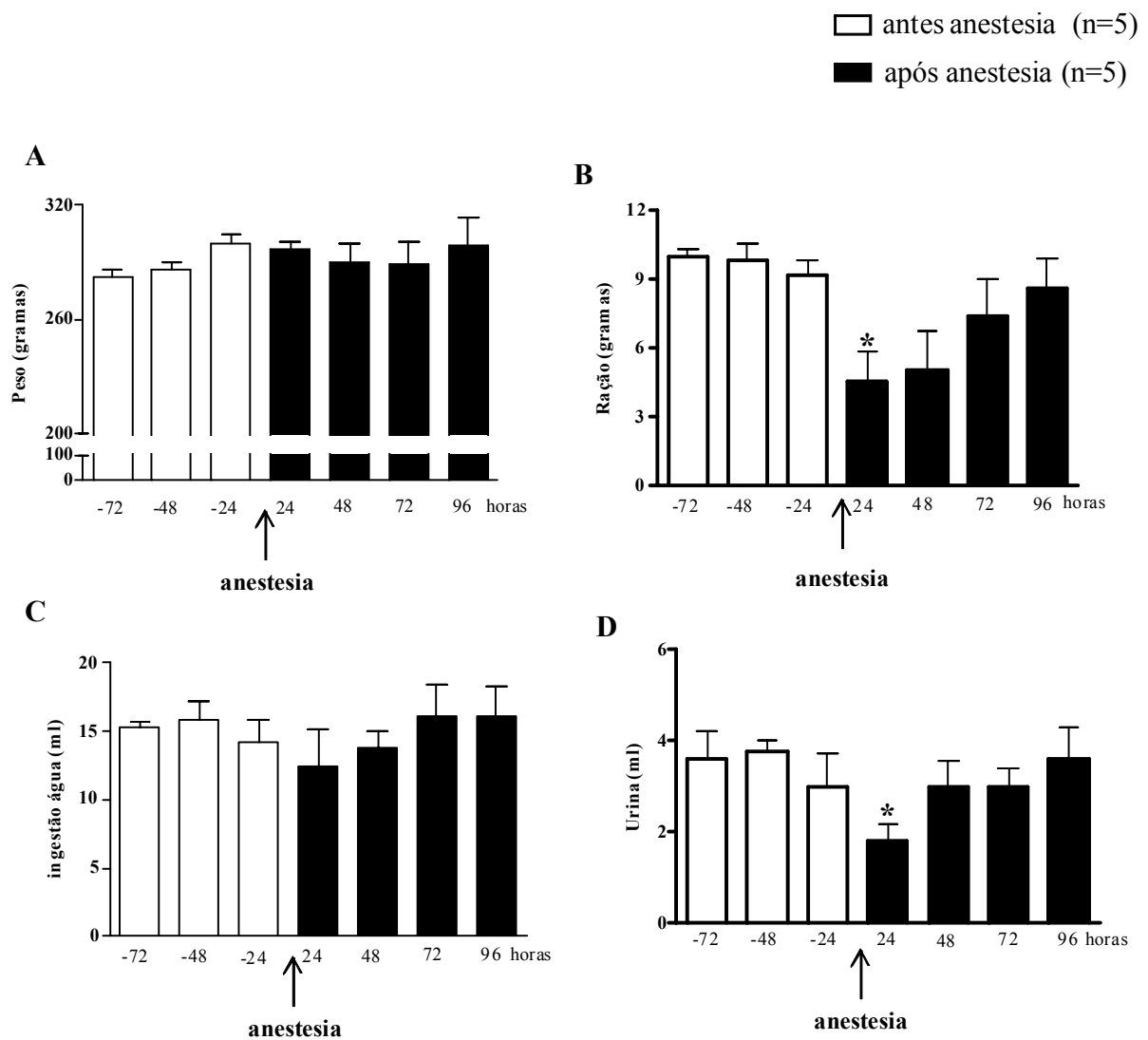
**Figura 52:** Pressão arterial média [PAM, mmHg (painel A)] e frequência cardíaca [FC, bpm (painel B)] basal antes (controle c) e aos 5, 10, 15, e 30 minutos após a microinjeção bilateral de salina (0.9%) no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 53:** Alterações na pressão arterial média [ $\Delta$  PAM, mmHg (painel A)] e na frequência cardíaca [ $\Delta$  FC, bpm (painel B)] basal em resposta à ativação do quimiorreflexo antes (controle c) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de salina no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 54:** Alterações no peso (painel A), ingestão de ração (painel B), ingestão de água (painel C) e excreção de urina (painel D) de ratos 24 a 72 horas antes (barras brancas) e 24 a 72 horas (barras pretas) após o implante bilateral de cânulas guia em direção ao PVN. Os valores dos gráficos ração, ingestão de água e urina estão normalizados para 100g de peso. (\*) diferente em relação ao controle ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 55:** Alterações no peso (painel A), ingestão de ração (painel B), ingestão de água (painel C) e excreção de urina (painel D) de ratos 24 a 72 horas antes (barras brancas) e 24-96 horas após a anestesia ip (barras pretas) dos animais. Os valores dos gráficos ração, ingestão de água e urina estão normalizados para 100g de peso. (\*) diferente em relação ao controle ( $P \leq 0.05$ ).

## *8. DISCUSSÃO*



O núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) é parte importante do hipotálamo envolvida principalmente com o controle neuroendócrino e autonômico (Pakovitz, 1999; Swanson e Sawchenko, 1980). No presente estudo, destacamos os sub-núcleos pré-autonômicos medial (bregma -1.8 mm) e posterior (bregma -2.12 mm) do PVN, os quais possuem neurônios que enviam projeções para importantes áreas do sistema nervoso central envolvidas com a geração e modulação da atividade simpática, tais como o NTS e a RVLM (Ricardo e Koh, 1978; Pyner e Coote, 2000; Stern e cols., 2003). Estudos prévios do nosso laboratório evidenciaram que a lesão eletrolítica do PVN promoveu uma diminuição significativa na resposta pressora à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados (Oliván e cols. 2001). Corroborando com esses achados, estudos recentes do nosso laboratório mostraram que após o estímulo intermitente do quimiorreflexo promoveu um aumento significativo na expressão da proteína Fos em neurônios do PVN que enviam projeções para a RVLM, sugerindo o envolvimento do PVN no componente simpato-excitatório do quimiorreflexo (Cruz e cols., 2008). Embora diferentes estudos tenham evidenciado a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo, sobretudo na modulação do componente simpato-excitatório desse reflexo, os neurotransmissores e neuromoduladores no PVN envolvido com a modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo, não haviam sido caracterizados em animais não anestesiados. No presente estudos analisamos a participação de mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos, purinérgicos do PVN nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

---

8.1) *Participação dos receptores GABA<sub>A</sub> no PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.*

No presente estudo a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basal. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios existentes na literatura realizados em animais anestesiados (Zhang e Patel, 1998) e em animais não anestesiados (Martin e Haywood, 1991; Schelenker e cols. (2001). As alterações cardiovasculares encontradas em nossos experimentos foram restritas as microinjeções de bicuculina realizadas no PVN medial e posterior, uma vez que a microinjeção de bicuculina fora dos limites do PVN não promove alterações significativas na PAM ou na FC basal dos animais

Estudos de Chen e cols. (2003) e de Li e cols. (2006) mostraram que as respostas cardiovasculares observadas após a microinjeção de bicuculina no PVN de ratos anestesiados foram abolidas pela prévia microinjeção de antagonistas dos receptores ionotrópicos de L-glutamato e estudos de eletrofisiologia mostraram que o aumento nas correntes excitatórias pós-sinápticas observados após a microinjeção de bicuculina nas células do PVN que se projetam para a RVLM são abolidas pela prévia aplicação de AP-5 ou CNQX (antagonistas NMDA e não NMDA, respectivamente) ao banho (Li e cols., 2006). Os estudos citados sugerem que os neurônios pré-autonômicos do PVN são ativados por mecanismos glutamatérgicos, os quais estão sob inibição tônica GABAérgica. Dessa forma, o antagonismo dos receptores GABA<sub>A</sub> promoveria a desinibição dos neurônios glutamatérgicos, os quais, por sua vez, ativariam neurônios do PVN que se projetam para a RVLM ou CIL, resultando no aumento da PAM basal e da FC basal.

---

A microinjeção de bicuculina no PVN, além das alterações cardiovasculares, também promoveu a ativação do reflexo de “grooming” (auto-limpeza) nos animais. Vários estudos documentaram a participação do PVN (eixo hipotálamo-hipófise-adrenal) em respostas ao estresse, o que inclui o reflexo de “grooming” (Kurk e cols., 1988; Herman e cols., 2002<sup>a,b</sup>). Estudos de Herman e cols. (2002<sup>a,b</sup>) mostraram que as respostas ao estresse envolvem interneurônios GABAérgicos do PVN. Embora diferentes estudos confirmem a participação dos receptores GABAérgicos do PVN na modulação tônica autonômica cardiovascular (Zhang e Patel, 1998; Schelenker e cols., 2001), consideramos que as alterações cardiovasculares observadas após a microinjeção de bicuculina no PVN, também podem ser em parte consequência da ativação do reflexo de “grooming”.

Nossos resultados mostraram que a microinjeção bilateral de bicuculina no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. No entanto, nossos resultados diferem de estudos prévios existentes na literatura conduzidos em ratos anestesiados, os quais mostraram que a microinjeção de bicuculina (50 pmol/50 nl) no PVN potencializou a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo (Reddy e cols., 2005). Essas diferenças encontradas podem estar relacionadas ao uso do anestésico, uma vez que estudos de Franchini e Krieger (1993) documentaram que diferentes anestésicos promovem alterações significativas nas repostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.

8.2) *Efeito do anestésico uretana sobre as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.*

Nesse protocolo utilizamos a mesma concentração de uretana (1.2 g/Kg ip) e uma concentração de KCN (80 µg/ kg/ iv) semelhante àquela utilizada por Reddy e cols. [2005 (75 µg/ kg/ iv)]. Entretanto, nossos resultados mostraram que à ativação do quimiorreflexo 15 minutos após a indução da anestesia promoveu resposta de hipotensão e não promoveu alterações significativas na FC basal dos animais, diferente dos resultados obtidos por Reddy e cols. (2005), mostrando que à ativação do quimiorreflexo em ratos anestesiados com uretana promoveu respostas pressora e bradicárdica. No entanto, a resposta pressora obtida após estímulo do quimiorreflexo em animais anestesiados com uretana ( $18 \pm 2$  mmHg), foi de menor magnitude em comparação com as respostas pressora obtida ( $\Delta \sim 50$  mmHg) no presente trabalho com ratos anestesiados.

Embora diferentes estudos tenham documentado o efeito depressor da uretana no SNC (Machado e Bonagamba, 1992; Fernandes e cols., 2003; Kannan e Yamashita, 1989), os mecanismos de ação desse anestésico são pouco conhecidos. Nesse sentido, estudos recentes do nosso laboratório (Accorsi-Mendonça e cols., 2007) mostraram que o anestésico uretana possui um efeito inibidor sobre as correntes espontâneas GABAérgicas nos neurônios do NTS. No entanto, os mecanismos de ação da uretana sobre a neurotransmissão no PVN permanecem por ser elucidados. Deste modo, em nossos experimentos o quimiorreflexo também foi ativado aos 60, 90 e 120 minutos após a indução da anestesia dos animais com uretana (ip). Contudo, à ativação do quimiorreflexo aos 60, 90 e 120 minutos após a uretana (iv) promoveu hipotensão e uma atenuação significativa na bradicardia. Embora nossos resultados tenham sido diferentes daqueles encontrados por Reddy e cols. (2005), estamos de acordo com os resultados de

Franchini e Krieger (1993), os quais documentaram que em animais anestesiados com uretana à ativação do quimiorreflexo promove respostas de hipotensão e uma atenuação significativa na resposta bradicárdica. Além disso, Kannan e Yamashita (1989) mostraram que a uretana promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares a microinjeção de L-glutamato no PVN, sugerindo que a uretana afeta a neurotransmissão no PVN, resultando em alterações na modulação cardiovascular exercida por esse núcleo.

*8.3) Participação do óxido nítrico no PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.*

Estudos de Buxton e cols. (1993) mostraram que em altas concentrações o L-NAME (100 mM) atua como antagonista dos receptores muscarínicos, por isso, no presente estudo utilizamos o L-NAME em dose inferior (1 mM) àquela utilizada nos estudos de Buxton e cols. (1993). No entanto, em relação aos parâmetros cardiovasculares basais, trabalhos existentes na literatura que fizeram a microinjeção de L-NAME em concentrações elevadas [1M (Zhang e cols., 1997; Zhang e Patel, 1998)] no PVN encontraram resultados semelhantes aos trabalhos que fizeram a microinjeção de doses de L-NAME no PVN correspondentes ao  $K_i$  da droga [0.1 mM (Yang e Coote, 2003)].

No presente estudos, a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basal. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios existentes na literatura realizados em

---

animais anestesiados (Zhang e cols., 1997; Zhang e Patel, 1998; Li e cols., 2001; Li e Patel; 2003) e não anestesiados (Yang e Coote, 2003). As alterações cardiovasculares encontradas em nossos experimentos foram restritas as microinjeções de L-NAME realizadas no PVN medial e posterior, uma vez que a microinjeção dessa droga fora dos limites do PVN não promove alterações significativas na PAM ou na FC basal.

Estudos *in vitro* (Li e cols., 2003; Stern e col., 2003) mostraram que a inibição da enzima NO-sintase no PVN promove aumento na frequência de disparo dos neurônios do PVN que enviam projeções para a RVLM ou complexo dorso-vagal, sugerindo que o óxido nítrico atue promovendo a inibição tônica dos neurônios pré-autonômicos do núcleo paraventricular. Em condições basais, o óxido nítrico no PVN exerce um efeito simpato-inibitório, o qual é mediado por mecanismos GABAérgicos, uma vez que o aumento na PAM e FC basal observados após a microinjeção de L-NAME no PVN foram abolidos pela prévia microinjeção de bicuculina (Zhang e Patel, 1998). Os mecanismos pelos quais o óxido nítrico modula a liberação gabaérgica no PVN foram recentemente reportados por Yang e cols. (2007); os autores sugerem que o NO promova um aumento na produção de guanosina monofosfato cíclico (GMPc), a qual ativa a proteína quinase C promovendo a liberação de GABA em neurônios pré-autonômicos do PVN que se projetam para a CIL.

Estudos de Li e cols. (2001) e Li e Patel, (2003) documentaram que as respostas cardiovasculares a microinjeção de L-NMMA (inibidor não específico da NO-sintase) no PVN foram inibidas pela prévia microinjeção de AP-5, sugerindo que o aumento na PAM e FC basais observados após a inibição não específica da NO-sintase no PVN é mediada pelo glutamato. Estudos de Li e cols. (2001) sugeriram que a ativação de receptores glutamatérgicos no PVN promova a liberação de óxido nítrico, o qual atuaria inibindo

diretamente os neurônios pré-autonômicos do PVN ou indiretamente por meio da liberação de GABA. Assim como a microinjeção de bicuculina, a microinjeção de L-NAME no PVN também promoveu a ativação do reflexo de “grooming”, sugerindo que a interação existente entre os mecanismos nitrérgicos e GABAérgicos do PVN pode não estar restrita a modulação tônica autonômica do sistema cardiovascular, mas também atuando na modulação das respostas comportamentais a ativação do reflexo de grooming.

Os resultados do presente estudo, corroborando com prévios estudos existentes na literatura (Martin e Haywood, 1991; Schelenker e cols., 2001; Yang e Coote, 2003), evidencia a participação dos mecanismos GABAérgicos e nitrérgicos do PVN na manutenção da pressão arterial e da frequência cardíaca basais em animais não anestesiados. A importância desses mecanismos no PVN para a manutenção do tônus simpático é evidente em certas fisiopatologias. Em animais com infarto do miocárdio (Allen e cols., 2002; Li e Pan, 2007) ou hipertensos (Zhang e cols., 2001) há uma redução na atividade dos mecanismos GABAérgicos e nitrérgicos do PVN promovendo conseqüentemente a desinibição glutamatérgica. Os estudos sugerem que esse desequilíbrio entre os mecanismos GABAérgicos e nitrérgicos do PVN contribuem para o aumento na atividade simpática encontrada em animais com essas fisiopatologias.

Nossos resultados mostraram que a microinjeção bilateral de L-NAME no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados, sugerindo que o óxido nítrico no PVN não participe da modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. No entanto, estudos anteriores de Reddy e cols., (2007) observaram um aumento significativo na resposta pressora á ativação do quimiorreflexo após a microinjeção bilateral de L-NMMA no PVN de ratos anestesiados com uretana.

Possivelmente nossos resultados diferem dos resultados obtidos por Reddy e cols. (2007) porque nossos experimentos foram conduzidos em animais não anestesiados. Nesse sentido, nossos estudos mostram que o anestésico uretana promove alterações significativas nas respostas cardiovasculares a ativação do quimiorreflexo, corroborando com prévios estudos existentes na literatura (Franchini e Krieger, 1993). Além disso, estudos de Kannan e Yamashita (1989) mostraram que as respostas cardiovasculares á estimulação elétrica do PVN foram significativamente alteradas ou mascaradas após a anestesia dos animais com uretana, sugerindo que a uretana pode promover alterações na neurotransmissão no PVN.

#### *8.4) Efeito da microinjeção unilateral de glutamato antes e após a microinjeção ipsilateral do ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.*

A dose de ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl) utilizada no presente estudo foi escolhida a partir de estudos prévios da literatura realizados por Chen e cols. (2003), os quais avaliaram as alterações cardiovasculares observadas após a microinjeção bilateral de KYN no PVN de ratos anestesiados. A dose de KYN foi inicialmente escolhida a partir de estudos conduzidos em animais anestesiados porque não encontramos na literatura estudos semelhantes realizados em animais não anestesiados. Deste modo, a efetividade da dose de 7.2 nmol/50 nl do KYN em bloquear os receptores inotrópicos de glutamato no PVN de ratos não anestesiados, foi devidamente testada no presente estudo. Os resultados mostraram que a microinjeção unilateral de L-glutamato no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basal dos animais, corroborando com estudos prévios da literatura realizados por Martin e Haywood (1992) em ratos não anestesiados. A microinjeção ipsilateral de KYN na dose de 7.2 nmol/50 nl



---

no PVN não alterou os parâmetros cardiovasculares basais, porém bloqueou a resposta pressora a microinjeção unilateral de L-glutamato. Aos 90 minutos após o ácido quinurênico, a resposta cardiovascular promovida pelo L-glutamato estava de volta a valores semelhantes ao controle, evidenciando a reversibilidade do bloqueio. Esse protocolo confirma a eficácia do ácido quinurênico na dose de 7.2 nmol/50 nl em antagonizar de forma reversível os receptores ionotrópicos de glutamato no PVN.

*8.5) Participação dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.*

Nossos resultados mostraram que a microinjeção bilateral de ácido quinurênico no PVN não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basal dos animais, sugerindo que os receptores ionotrópicos glutamatérgicos no PVN não participam da modulação tônica autonômica cardiovascular. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios existentes na literatura realizados em animais anestesiados (Li e cols., 2006) e não anestesiados (Scopinho e cols., 2008). Estudos de Li e cols. (2006) mostraram por meio da técnica de “patch clamp” que a bicuculina aumenta a frequência das correstes excitatórios pós-sinápticas de neurônios do PVN que se projetam para a RVLM,. Além disso, estudos de Roychowdhury e cols. (2006) mostraram que o L-NAME em cultura organotípica de células do PVN reduz significativamente o aumento na concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular observada após a aplicação de glutamato na cultura de células. Os estudos de Li e cols. (2006) e de Roychowdhury (2006) sugerem que os mecanismos glutamatérgicos no PVN estejam sobre inibição GABAérgica e nitrérgica. Nesse contexto, diferentes estudos existentes na literatura, conduzidos em animais

---

anestesiados, sugerem existir uma interação entre os mecanismos simpato-excitatórios glutamatérgicos e os simpato-inibitórios GABAérgicos e nitrérgicos do PVN contribuindo para a manutenção do tônus simpático (Li e cols., 2001; Chen e cols., 2003; Li e Patel, 2003).

Em relação ao quimiorreflexo, nossos resultados mostraram que a microinjeção bilateral do KYN no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas pressora ou bradicárdica à ativação do quimiorreflexo, sugerindo que os receptores ionotrópicos de glutamato no PVN não estão envolvidos com a modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Diferente dos nossos resultados, estudos prévios de Kubo e cols. (1997) observaram uma atenuação significativa na resposta pressora à estimulação dos quimiorreceptores carotídeos após a microinjeção de KYN no PVN. No entanto, esses estudos foram conduzidos em ratos anestesiados e com transecção da medula espinhal. Como já discutido, os anestésicos alteram as repostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo, o que pode comprometer os resultados obtidos nessas condições. Além disso, os estudos de Kubo e cols. (1997) sugerem um envolvimento vasopressinérgico na resposta pressora à ativação do quimiorreflexo. Entretanto, estudos do nosso laboratório realizados em animais não anestesiados mostraram que o bloqueio periférico dos receptores V1 não alterou a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo, a qual foi atenuada apenas após o bloqueio dos receptores  $\alpha_1$  periféricos (Fernandes e cols. 2005), indicando que a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo é mediada pelo sistema nervoso simpático.

---

8.6) *Participação dos receptores purinérgicos do PVN na modulação autonômica cardiovascular e nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.*

Nossos resultados mostraram que a microinjeção de PPADS no PVN de ratos não anestesiados produziu um aumento significativo na PAM e na FC basais dos animais. As alterações cardiovasculares encontradas em nossos experimentos foram restritas as microinjeções de PPADS realizadas no PVN medial e posterior, uma vez que a microinjeção dessa droga fora dos limites do PVN não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basais. Nossos resultados sugerem o envolvimento dos receptores purinérgicos do PVN na modulação tônica do sistema cardiovascular. Nesse sentido, estudos de Cham e cols. (2007) sugerem que os receptores P2X do PVN participam da modulação da atividade simpática, uma vez que as diferentes subunidades P2X1 a P2X6, majoritariamente a subunidade P2X3, dos receptores purinérgicos, estão presentes nos neurônios do PVN que se projetam para a RVLM. Contudo, a resposta pressora observada no presente estudo após a microinjeção de PPADS no PVN pode ser mediada pela liberação de vasopressina periférica, uma vez que estudos recentes mostraram que o ATP promove a liberação de vasopressina nos terminais hipofisário por meio da ativação dos receptores P2X2 e P2X3 (Knott e cols., 2008).

Nossos resultados mostraram que a microinjeção do antagonista não seletivo P2X, PPADS, no PVN não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados, sugerindo que os receptores purinérgicos do PVN não participam da modulação das respostas cardiovasculares a ativação do quimiorreflexo.

---

Estudos recentes do nosso laboratório (Braga e cols., 2007) documentaram a participação dos receptores purinérgicos na neurotransmissão do quimiorreflexo, mostrando que o duplo bloqueio dos receptores purinérgicos e ionotrópicos de glutamato no NTS, promoveu uma diminuição significativa na resposta simpato-excitatória à ativação do quimiorreflexo (Braga e cols., 2007). No entanto, a microinjeção apenas do PPADS ou do ácido quinurênico no NTS não alteram a resposta pressora à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados (Haibara e cols, 1999; Braga e cols., 2007). Nesse contexto, os estudos de Braga e cols. (2007) sugerem existir uma interação entre os receptores purinérgicos e ionotrópicos de glutamato no NTS atuando na modulação da resposta simpato-excitatória à ativação do quimiorreflexo. Diferentes estudos sugerem que o ATP e o Glutamato no SNC atuam como co-transmissores (Gu e Macdermott, 1997; Shigemoti e Kato, 2004). Estudos “in vitro” mostraram que a ativação pré-sináptica dos receptores P2X, através do influxo de  $Ca^{2+}$ , promove um aumento significativo nas correntes glutamatérgicas espontâneas de neurônios do NTS (Shigetomi e Kato, 2004). Essa interação entre o ATP e glutamato também é encontrada em diferentes núcleos hipotalâmicos. Estudos de Roychowdhury e cols. (2006) mostraram que o ATP em cultura organotípica de células do PVN promoveu um aumento significativo na concentração do  $Ca^{2+}$  intracelular e estudos de imunohistoquímica (Atkinson e cols., 2004) observaram a co-localização da subunidade P2X7 com o VGlut2 (transportador vesicular de glutamato) em células de diferentes núcleos hipotalâmicos. Considerando essa interação existente entre os mecanismos glutamatérgicos e purinérgicos no hipotálamo e com base nos estudos de Braga e cols. (2007), no protocolo seguinte realizamos à ativação do quimiorreflexo antes e após a microinjeção do coquetel PPADS e ácido quinurênico no PVN.

---

Os resultados mostraram que a microinjeção do coquetel (PPADS + KYN) no PVN não promoveu alterações significativas na PAM, FC basais ou nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Podemos observar que a microinjeção apenas do PPADS produziu um aumento significativo nos parâmetros cardiovasculares basais, contudo esse antagonista em associação com o ácido quinurênico não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basais dos animais, sugerindo existir uma interação direta ou indireta entre os mecanismos purinérgicos e glutamatérgicos no PVN, os quais parecem atuar na modulação da PAM e FC basais. Nesse sentido, diferentes estudos sugerem que o ATP e o GABA atuem como co-transmissores em diferentes áreas do SNC, incluindo o hipotálamo (Hwan e Role, 2002; Robertson e cols., 2001). Estudos de “patch clamp” sugerem que o ATP atuando em seus receptores P2X pré-sinápticos promova um aumento na concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular resultando na liberação de GABA na fenda pós-sináptica (Donato e cols., 2008). Estudos de Li e cols. (2006) mostraram que o GABA atua modulando a neurotransmissão glutamatérgica no PVN, o qual, por sua vez atua na modulação dos neurônios pré-autonômicos do PVN que se projetam para a RVLM. Nesse contexto, sugerimos que a microinjeção de PPADS no PVN promoveria a inibição da liberação de GABA resultando na desinibição glutamatérgica. O glutamato por sua vez ativaria os neurônios pré-autonômicos do PVN promovendo conseqüentemente o aumento na PAM e na FC basais, como observados, após a microinjeção de PPADS no PVN. Dessa forma, a microinjeção do coquetel (PPADS + KYN) não promoveria alterações significativas nos parâmetros cardiovasculares basais, porque embora o PPADS indiretamente promoveria a desinibição glutamatérgica, os receptores ionotrópicos de glutamato estariam bloqueados pelo ácido quinurênico. Nossa hipótese para a interação entre os mecanismos glutamatérgicos e purinérgicos no PVN está esquematizada na figura 56.

8.7) *Participação do PVN nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.*

Todos os resultados discutidos até o momento foram obtidos por meio de microinjeções bilaterais realizadas no volume de 50 nl. Considerando a equação de difusão de uma droga proposta por Nicholson (1985), o volume de 50 nl difunde-se em um raio de aproximadamente 385  $\mu\text{m}$ . Embora a difusão de uma droga no SNC dependa de suas propriedades físico-químicas e concentração inicial, de acordo com os cálculos teóricos de Nicholson e cols. (1985), consideramos que o volume de 50 nl microinjetado no PVN, pode não ter sido suficiente para atingir todo o PVN, uma vez que o atlas de Paxinos e Watson (2007) determina que os neurônios pré-autonômicos do PVN ocupem uma extensão antero-posterior de aproximadamente 0.7 mm. Portanto, no protocolo seguinte, para verificarmos se o volume de 50 nl microinjetado no PVN seria suficiente para promover alterações nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados, realizamos a microinjeção bilateral do anestésico local lidocaína (2 %) no volume de 50 e de 100 nl no PVN de ratos não anestesiados.

Nossos estudos mostraram que a microinjeção de lidocaína (2%) no PVN no volume de 50 ou de 100 nl também não promoveram alterações significativas na PAM ou na FC basal. Estudos de Olivan e cols., 2001 mostraram que a lesão eletrolítica do PVN não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basal de ratos não anestesiado, sugerindo que o PVN não está envolvido com a modulação tônica cardiovascular, assim como também não está envolvido com a modulação do barorreflexo. No entanto, como discutido anteriormente, nossos resultados mostraram que a microinjeção de bicuculina, L-NAME e PPADS no PVN promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basais dos animais, sugerindo que o PVN participe da modulação tônica autonômica do sistema cardiovascular, estando em acordo com

---

estudos prévios da literatura conduzidos em animais não anestesiados (Martin e Haywood, 1991; Schelenker e cols., 2001; Yang e Coote, 2003). Além disso, estudos funcionais evidenciaram a participação do PVN nas vias neurais do barorreflexo (Shimokawa e cols., 1998; Shih e cols., 1995). Embora diferentes estudos tenham documentado a participação do PVN na modulação tônica autonômica do sistema cardiovascular, incluindo a neuromodulação do barorreflexo e quimiorreflexo, pouco ainda é conhecido sobre os mecanismos de neurotransmissão pelos quais esse núcleo hipotalâmico atua. Os resultados controversos sugerem a necessidade de mais estudos com a finalidade de entendermos os mecanismos de neurotransmissão no PVN envolvidos com a neuromodulação tônica autonômica do sistema cardiovascular.

Nossos estudos, ainda mostraram que a microinjeção bilateral de lidocaína (2%) no PVN nos volumes de 50 ou 100 nl não promovem alterações significativas na resposta pressora ou bradicardica à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Entretanto diferentes estudos da literatura, utilizando diferentes metodologias evidenciaram a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo (Olivan e cols., 2001; Berquim e cols., 2000<sup>a, b</sup>; Cruz e cols., 2008) e como já citado, estudos funcionais do nosso laboratório documentaram que a lesão eletrolítica do PVN promoveu uma redução significativa na resposta pressora à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados (Olivan e cols., 2001). Os estudos de Oliván e cols. (2001) descrevem que apenas a lesão total, mas não a lesão parcial do PVN, promoveu a atenuação significativa da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo. Nesse sentido, a histologia representativa de Oliván e cols. (2001) sugere que a extensão da lesão eletrolítica promovida poderia ter atingido também áreas adjacentes ao PVN, como o núcleo dorso-medial do hipotálamo (DMH). O DMH é um importante núcleo hipotalâmico que participa da modulação autonômica cardiovascular ao estímulo de

---

estresse emocional (Horiuchi e cols., 2008; DiMico e cols., 2002). A microinjeção de mucimol (agonista GABA<sub>A</sub>) no núcleo DMH não promoveu alterações significativas na PAM ou na FC basal de ratos não anestesiados (Rusyniak e cols., 2008), entretanto promoveu uma redução significativa nas respostas pressora e taquicárdica ao estímulo de estresse por jato de ar (DiMico e cols., 2002). O núcleo DMH poderia estar envolvido na modulação da resposta comportamental à ativação do quimiorreflexo. Nesse sentido, estudos de Berquim e cols. (2002<sup>a</sup>) observaram um aumento significativo na expressão da proteína Fos no núcleo DMH de ratos submetidos à hipóxia moderada (10% O<sub>2</sub>). Considerando que a lesão eletrolítica realizada pelos estudos de Oliven e cols. (2001) tenha atingido áreas adjacentes ao PVN, como o núcleo DMH, a atenuação da resposta pressora observada após a ativação do quimiorreflexo poderia ser atribuída à lesão promovida no núcleo DMH e não à lesão do PVN, uma vez que a microinjeção de lidocaína (2%) no volume de 50 ou 100 nl no PVN não promove alterações significativas na resposta pressora à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.

Os estudos de Cruz e cols., 2008 e de Berquim e cols., 2000<sup>a, b</sup>, evidenciaram a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo em ratos não anestesiados, através da expressão da proteína Fos após o estímulo intermitente do quimiorreflexo (Cruz e cols., 2008) ou após períodos de hipóxia moderada (Berquim e cols., 2000<sup>a, b</sup>). Estudos de Huang e cols. (2007) observaram uma diminuição significativa na expressão da NO-sintase no PVN de ratos submetidos à hipóxia crônica intermitente, os autores sugerem que essas alterações poderiam estar envolvidas com o aumento na pressão arterial observado nos animais após os períodos de hipóxia crônica intermitente. O PVN parece ser importante para a modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos submetidos a períodos ou episódios intermitentes de hipóxia.



---

Nesse sentido, os estudos de Antunes e cols. (2005) mostraram que na preparação tronco-cérebro isolados, a qual não inclui o PVN, a resposta simpato-excitatória a ativação do quimiorreflexo está preservada. Assim sendo, no presente estudos, a microinjeção de lidocaína no PVN, não promoveria alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo. Desta forma, ainda que existam evidências da participação do PVN na resposta simpato-excitatória do quimiorreflexo, essa região do hipotálamo, parece não ser essencial para o processamento dessa resposta, especialmente em ratos não anestesiados.

*8.8) Efeito do implante de cânulas-guia em direção ao PVN e da anestesiada (ip) no peso, na ingestão de ração, na ingestão de água e na excreção de urina dos animais.*

Embora diferentes estudos tenham documentado a participação do PVN nas vias neurais do quimiorreflexo, no presente estudo a microinjeção de diferentes antagonistas e inibidores no PVN não promoveram alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Por esse motivo avaliamos se o implante de cânulas-guia em direção ao PVN e a anestesia (ip) dos animais realizada um dia antes dos experimentos para a canulação da artéria e veia femoral dos animais não estariam promovendo alterações no equilíbrio eletrolítico dos animais, as quais poderiam mascarar possíveis alterações promovidas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo após as microinjeções dos diferentes antagonistas no PVN de ratos não anestesiados.

O PVN é conhecido como um importante núcleo do SNC envolvido com a modulação do equilíbrio eletrolítico (Covian e Antunes-Rodrigues, 1963; Badoer e Merolli, 1998; Antunes-Rodrigues e cols, 2004). A lesão do hipotálamo anterior

(incluindo o PVN) ou medial promove alterações significativas na ingestão de água e de sódio (Covian e Antunes-Rodrigues, 1963). No entanto, em nossos experimentos as cânulas-guia foram implantadas na região do hipocampo, precisamente na região da área CA3 e giro denteado, as quais se encontram cerca de 3 mm dorsal ao PVN (figura 57), ou seja, as cânulas-guia implantadas no SNC dos animais, não promoveram nenhum tipo de lesão hipotalâmica. Os resultados mostraram alterações significativas na ingestão de ração, de água e na excreção de urina dos animais no 1º e 2º dias após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN, contudo no 4º dia os parâmetros analisados já haviam retornado ao nível controle, sugerindo que as alterações observadas nos primeiros dias após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN poderiam ser atribuídas à anestesia (ip) utilizada para a cirurgia e/ou aos procedimentos cirúrgicos empregados.

No protocolo seguinte avaliamos o efeito da anestesia (ip) sobre o peso, ingestão de água, ingestão de ração e na excreção de urina dos animais. Os resultados mostraram que a anestesia (tribromoetanol, ip) promoveu alterações significativas na ingestão de água e na excreção de urina no 1º e 2º dias, contudo no 4º dia os parâmetros analisados já haviam retornado ao nível controle, sugerindo que as alterações na ingestão de água e na excreção de urina observados nos primeiros dias após o implante de cânulas-guia em direção ao PVN poderiam em parte estar relacionadas a anestesia dos animais.

O tribromoetanol é utilizado para a anestesia de ratos antes dos procedimentos cirúrgicos, uma vez que esse anestésico produz um relaxamento muscular adequado, rápida indução e recuperação dos animais. Apesar dos efeitos colaterais produzidos, estudos recentes mostraram que o uso do tribromoetanol (ip) não afetou a FC basal, a pressão arterial sistólica ou pressão arterial diastólica de camundongos (Chu e cols., 2006) e embora nossos resultados tenham mostrado que o tribromoetanol (ip) promova

alterações na ingestão de água e excreção de urina 24-48 horas após a anestesia, o registro basal dos parâmetros cardiovasculares dos animais 24 h após a anestesia com tribromoetanol (ip) para a canulação da artéria e veia femoral, não foram alterados em nossos experimentos. No entanto, não podemos afirmar que as alterações observadas na ingestão de água e excreção de urina 24-48 horas após a anestesia dos animais não poderiam de alguma forma comprometer os resultados obtidos no presente estudo.

#### 8.9) *Considerações finais:*

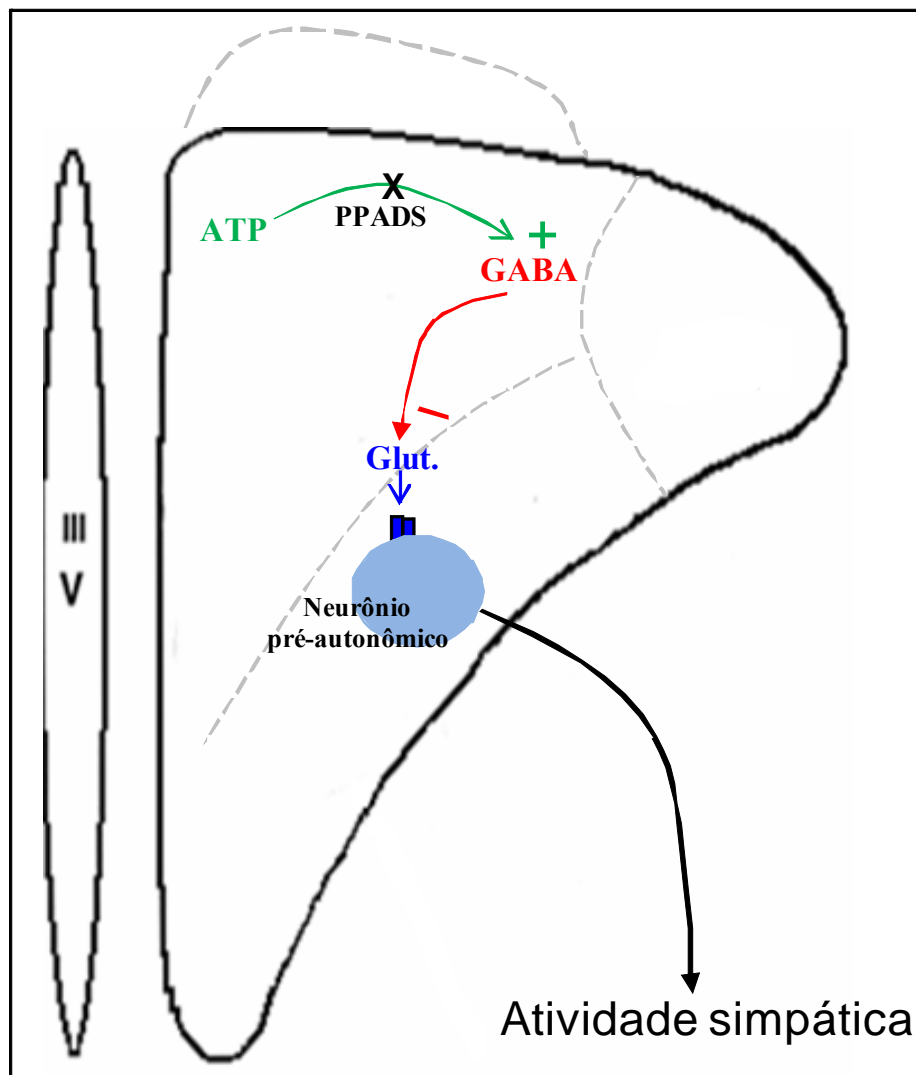
No presente estudo, o antagonismo dos receptores GABA<sub>A</sub>, ionotrópicos de glutamato, purinérgicos e a inibição não seletiva da NO-sintase não alteraram as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. No entanto, algumas considerações devem ser feitas:

1) O presente analisou a participação de diferentes neurotransmissores do PVN na modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Entretanto a ativação desse reflexo promove também importantes alterações respiratórias. Desta forma, não descartamos a participação do PVN através de mecanismos GABAérgicos, glutamatérgicos, nitrérgicos e purinérgicos na modulação das respostas respiratórias à ativação dos quimiorreceptores periféricos. Nesse sentido, os neurônios do PVN possuem conexão com importantes áreas do sistema nervoso central envolvidas com a modulação ventilatória; como o complexo pré-Bötzinger (Mack e cols., 2007). Diferentes estudos sugerem que os mecanismos glutamatérgicos e gabaérgicos do PVN estão envolvidos com a modulação da frequência respiratória basal (Yeh e cols., 1997; Schelenker e cols., 2001). Estudos de Mack e cols. (2007) mostraram que o

---

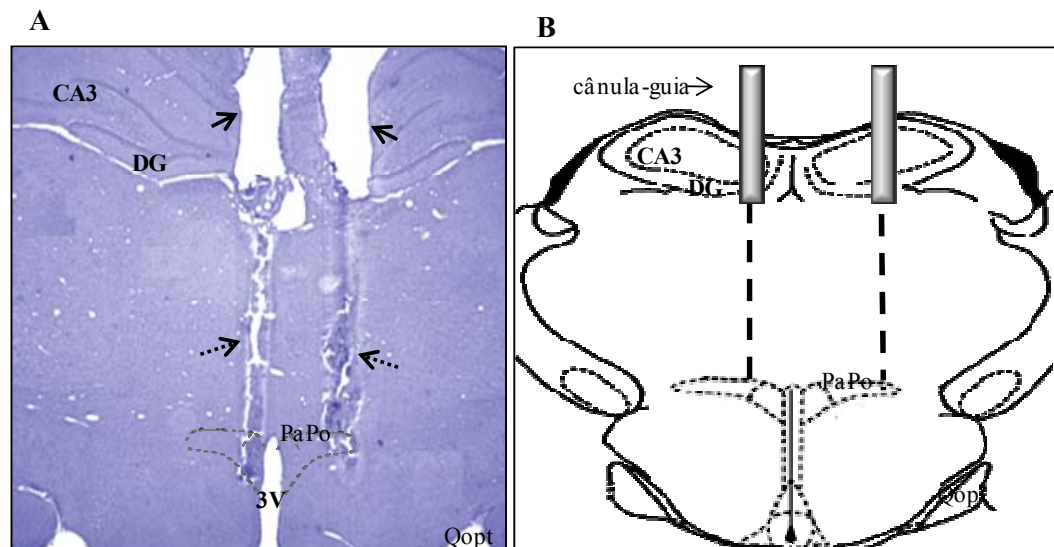
aumento na resposta eletromiográfica do diafragma à microinjeção de bicuculina no PVN foi atenuada após o antagonismo dos receptores ocitocinérgicos localizados no complexo pré-Bötzinger. Os autores sugerem que o PVN participe da modulação respiratória através da liberação de ocitocina nos neurônios do complexo pré-Bötzinger. Nesse sentido, estudos recentes do nosso laboratório (Cruz e cols., 2008) mostraram que o estímulo intermitente do quimiorreflexo promove um aumento significativo na expressão da proteína Fos em neurônios do PVN da região peri-lateral magnocelular, aonde estão localizados preferencialmente neurônios ocitocinérgicos (Swanson e Sawchenko, 1980).

2) O presente estudo sugere que os mecanismos gabaérgicos, glutamatérgicos, nitrérgicos e purinérgicos do PVN não estão envolvidos com a modulação das respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados. Nesse contexto, consideramos a participação de outros neurotransmissores do PVN na modulação dessas respostas cardiovasculares. Diferentes estudos existentes na literatura sugerem a participação da substância P (Womack et al., 2007), serotonina (Bell et al., 1999), angiotensina (Li e cols., 2006; Li e Patel, 2003) e da noradrenalina (Harland e cols., 1989) no PVN na modulação cardiovascular e estudos de Harland e cols. (1989) mostraram que a microinjeção de noradrenalina no PVN de ratos não anestesiados produz respostas pressora e bradicárdica, similares as respostas cardiovasculares obtidas após à ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.



Modificado de Li e cols., 2001

**Figura 56:** Representação esquemática de uma hipótese para os possíveis mecanismos de neurotransmissão envolvidos com o aumento na PAM e FC basais observados após a microinjeção bilateral de PPADS no PVN e para a ausência de alterações cardiovasculares significativas após a microinjeção de PPADS e ácido quinurênico no PVN de ratos não anestesiados.



**Figura 57:** Painei A: fotomicrografias (2.5x) de uma secção transversais do cérebro de um rato, no qual as cânulas-guia (setas inteiras) foram implantadas bilateralmente na região do hipocampo para a realização de microinjeções de drogas no PVN posterior (PaPo) do animal. As setas pontilhada indicam o trajeto percorrido pela microinjetora. Painei B: Representação de um corte transversal do cérebro de um rato (modificado de Paxinos e Watson, 1986), no qual ilustramos as cânulas-guias posicionadas em direção ao PVN posterior (PaPo). Os traços pontilhados representam o trajeto percorrido pela microinjetora para atingir o PVN. CA3: região CA3 do hipocampo; DG: giro denteado; PaPo: parvocelular posterior; Qopt: quiasma óptico; 3V: terceiro ventrículo.

## *9. CONCLUSÕES*

Os resultados sugerem que os mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos e purinérgicos do PVN estão envolvidos com a modulação tônica autonômica do sistema cardiovascular, visto que a microinjeção de bicuculina, L-NAME ou PPADS no PVN promoveu um aumento significativo nos parâmetros cardiovasculares basais de ratos não anestesiados. Além disso, nossos resultados mostraram que os mecanismos glutamatérgicos do PVN não estão envolvidos com a modulação tônica autonômica do sistema cardiovascular, visto que a microinjeção do ácido quinurênico no PVN não promoveu alterações significativas nos parâmetros cardiovasculares basais de ratos não anestesiados. Nossos resultados, mostraram também que os mecanismos GABAérgicos, nitrérgicos, glutamatérgicos e purinérgicos do PVN não participam da modulação das repostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo, visto que a microinjeção de bicuculina, L-NAME, ácido quinurênico ou do PPADS no PVN não promoveram alterações significativas nas repostas cardiovasculares a ativação do quimiorreflexo em ratos não anestesiados.



## *10. SUMÁRIO*

- 
1. A microinjeção bilateral de bicuculina [50 pmol/50 nl (antagonista GABA<sub>A</sub>)] no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basal, mas não alterou as respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo;
  2. A ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) em animais não anestesiados promove hipertensão e bradicardia e após a indução da anestesia (uretana, ip) à ativação do quimiorreflexo promoveu hipotensão e uma atenuação significativa na resposta bradicárdica.
  3. A microinjeção bilateral de L-NAME [(50 pmol/50 nl), inibidor não seletivo da NO-sintase] no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basal, mas não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.
  4. A microinjeção unilateral de L-glutamato (3.75 nmol/50 nl) no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basais, sendo essa resposta bloqueada pela microinjeção ipsilateral de ácido quinurênico [7.2 nmol/50nl (antagonista não seletivo dos receptores ionotrópicos de L-glutamato)] no PVN. Aos 90 minutos após o ácido quinurênico, as respostas cardiovasculares produzida pelo L-glutamato já haviam retornado a valores semelhantes ao controle, mostrando a reversibilidade do bloqueio.
  5. A microinjeção bilateral de PPADS [0.25 nmol/50 nl (antagonista P2)] no PVN de ratos não anestesiados promoveu um aumento significativo na PAM e na FC basais, contudo não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo;
  6. A microinjeção bilateral do coquetel PPADS (0.25 nmol) + KYN (7.2 nmol/50 nl) no PVN de ratos não anestesiados não promoveu alterações significativas na PAM ou na

FC basal dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo;

7. A microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados não promoveu alterações significativas na PAM e na FC basal dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.

8. A microinjeção bilateral de lidocaína (2%, 100 nl) no PVN de ratos não anestesiados não promoveu alterações significativas na PAM e na FC basal dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.

9. A microinjeção bilateral de salina (0.9%, 50 nl) no PVN de ratos não anestesiados não promoveu alterações significativas na PAM e na FC basal dos animais, bem como não promoveu alterações significativas nas respostas cardiovasculares à ativação do quimiorreflexo.

10. O implante de cânulas-guia em direção ao PVN promoveu uma alteração significativa na ingestão de água, de ração e na excreção de urina dos animais nos primeiros dias após o implante.

11. A anestesia (tribromoetanol, ip) dos animais promoveu uma alteração significativa na ingestão de ração e excreção de urina dos animais, nas primeiras horas após a anestesia, sugerindo que as alterações observadas após o implante de cânulas-guia podem ser atribuídas ao uso do anestésico (tribromoetanol, ip).

## *11.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

**Accorsi-Mendonça, D.; Leão R. M.; Aguiar J. F.; Varanda, W. A.; Machado, B. H.** Urethane inhibits the GABAergic neurotransmission in the nucleus of the solitary tract of rat brain stem slices. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 292: R396-R402, 2007.

**Aicher, S.A; Saravay, R.H.; Cravo, S.; Jeske, I.; Morrison,S.F.; Reis, D.J.; Milner, T.A**– Monosynaptic projections from the nucleus tractus solitarii to c1 adrenergic neurons in the rostral ventrolateral medulla: comparison with input from the caudal ventrolateral medulla. J Comp Neurol 373: 62-75, 1996.

**Antunes-Rodrigues, J.; De Castro, M.; Elias, L.L K., Valença, M.M.; Mccann, S.M.** Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism Physiol. Rev. 84: 169-208, 2004

**Antunes, V.R.; Braga, V.A.,; Machado, B.H.** - Autonomic and respiratory responses to microinjection of ATP into the intermediate or caudal nucleus tractus solitarius in the working heart-brainstem preparation of the rat. Clin Exp Pharmacol Physiol. 32(5-6):467-72, 2005

**Atkinson, L.; Batten, T.F.; Moores, T.S.; Varoqui, H.; Erickson, J.D.; Deuchars, J.**- Differential co-localization of the P2X7 receptor subunit with vesicular glutamate transporters VGLUT1 and VGLUT2 in rat CNS. Neuroscience. 123 (3):761-768, 2004.

**Badoer, E.; Merolli, J.**- Neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus that project to the rostral ventrolateral medulla are activated by haemorrhage. Brain Res 791: 317-320, 1998.

**Bains, J., Ferguson, A.** -Nitric oxide regulates NMDA-driven GABAergic inputs to type II neurons of the rat paraventricular nucleus. J Physiol 499 (3), 733–746, 1997.

**Bairam, A.; Frenette, J.; Dauphin, C.; Carroll, J.L.; Khandiian, E.W.** - Expression of dopamine D1-receptor mRNA in the carotid body of the adults rabbits, cats and rats. Neuroscience Research 31(2): 147-154, 1998.

**Barros, R.C.H.; Bonagamba, L.G.H.; Okamoto-Canesin, R.; Oliveira, M.; Branco, L.G.S.; Machado, B.H.** - Cardiovascular response to chemoreflex activation with potassium cyanide or hypoxic hypoxia in awake rats. Auton Neurosci 31; 97(2):110-5, 2002.

**Bao, G.; Randhawa, P.M.; Fletcher, E.C.**- Acute blood pressure elevation during repetitive hypocapnic and eucapnic hypoxia in rats. J Appl Physiol 82 (4): 1071-1078, 1997.

**Bell, A.A.; Butz, B.L.; Alper, R.H.**- Cardiovascular responses produced by microinjection of serotonin-receptor agonists into the paraventricular nucleus in conscious rats. J. Cardiovasc. Pharmacol. 33: 175-80, 1999.

**Berquim, P.; Bodineau, L.; Gros, F.; Larnicol, N.**- Brainstem and hypothalamic areas involved in respiratory chemoreflex: a Fos study in adult rats. Brain Res 857: 30-40, 2000<sup>a</sup>.

**Berquim, P.; Cayetanot, F.; Gros, F. A.; Larnicol, N.**- Postnatal changes in Fos-like immunoreactivity evoked by hypoxia in the rat brainstem and hypothalamus. Brain Res 877 (2):131-8, 2000: 148- 159, 2000<sup>b</sup>.

**Biscoe, T.J.; Duncheon, M.R.** - Cellular basis of transduction in the carotid chemoreceptors. American Journal Physiology 258 (6 Pt 1): L 271-278, 1990.

**Braga, V.A.; Soriano, R.N.; Bracciali A.L.; de Paula, P.M., Bonagamba, L.G.; Paton J.F., Machado, B.H.-** Involvement of L-glutamate and ATP in the neurotransmission of the sympathoexcitatory component of the chemoreflex in the commissural nucleus tractus solitarii of awake rats and in the working heart-brainstem preparation, *J. Physiol.* 581 (pt 3), 1129–1145, 2007

**Burnstock, G.; Kennedy, C.-** Is there a basis for distinguishing two types of P2-purinoceptor? *Gen Pharmacol: Vascular System* 16: 433–440, 1985.

**Buxton, I.L.; Cheek, D.J.; Eckman, D.; Westfall, D.P.; Sanders, K.M.; Keef, K.D.-** NG-nitro L-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ Res* 72 (2): 387-95, 1993.

**Cham, J.L.; Owens, N.C.; Barden, J.A.; Lawrence, A.J.; Badoer E.-** P2X purinoceptor subtypes on paraventricular nucleus neurons projecting to the rostral ventrolateral medulla in the rat, *Exp. Physiol.* 91: 403-11, 2006.

**Chen, G.H.; Haywood, J.R.; Toney, G.M.-** Sympathoexcitation by PVN-injected bicuculline requires activation of excitatory amino acid receptors. *Hypertension.* 42 [part 2]: 725-731, 2003.

**Chu, D.K.; Jordan, M.C.; Kim J.K.; Couto, M.A.; Roos, K.P.-** Comparing isoflurane with tribromoethanol anesthesia for echocardiographic phenotyping of transgenic mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 45 (4) 8-13, 2006.

**Colombari, E.; Bonagamba L.G.; Machado, B.H.-** Mechanisms of pressor and bradycardic response to L-glutamate microinjected into the NTS of conscious rats. *American Journal Physiology* 266(3 Pt 2): R 730-738, 1994.

**Comroe, J. R. Jr.** - The location and function of the chemoreceptors of the aorta. *Am. J. Physiol.* 127: 176-190, 1939.

**Covian, M.R.; Antunes-Rodrigues, J.** - Specific alterations in sodium chloride intake after hypothalamic lesions in the rat. *Am. J. Physiol.* 205(5): 922-966, 1963.

**Cruz J.C; Bonagamba L.G.H.; Machado B.H.; Biancardi V.C.; Stern J.E.**- Intermittent activation of peripheral chemoreceptor in awake rats induces Fos expression in RVLM- projecting neurons in the PVN (*Neuroscience*, 2008).

**Cruz, J.C.; Bonagamba, L. G.; Stern, J. E.; Machado, B. H.** - Fos expression in the NTS and PVN neurons in response to chemoreflex activation in awake rats. *The FASEB Journal*, A667-A668, 2004.

**Cunningham, E. T; Jr; Bohn, M. C.; Sawchenko P.E.** - Organization of adrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol* 292:651-667, 1990.

**Decavel, C.; Van den pol A.N.**-GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *J Comp Neurol* 302(4):1019-37, 1990.

**DiMicco, J.A.; Samuels, B.C.; Zaretskaia, M.V.; Zaretsky, D.V.**- The dorsomedial hypothalamus and the response to stress Part renaissance, part revolution. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 469– 480, 2002.

**Donato, R.; Rodrigues, R.J.; Takahashi, M.; Tsai, M.C.; Soto, D.; Miyagi, K., Villafuertes, R.G.; Cunha, R.A.; Edwards, F.A.**- GABA release by basket cells onto



Purkinje cells, in rat cerebellar slices, is directly controlled by presynaptic purinergic receptors, modulating Ca(2+) influx. Cell Calcium, 2008.

**Fernandes, K. B. P.; Crippa, G. E.; Tavares R. F.; Antunes-Rodrigues, J.; Corrêa, F. M. A.** - Mechanisms involved in the pressor response to noradrenaline injection into the cingulate cortex of unanesthetized rats. Neuropharmacology 44 (6) 757-763, 2003.

**Fernandes, L.G.; Antunes, V.R.; Bonagamba, L.G.; Machado, B.H.**- Pressor response to chemoreflex activation in awake rats: role of vasopressin and adrenal medulla, Physiol. Behav. 84: 39-44, 2005

**Franchini, k. G.; Krieger, E. M.** - Cardiovascular response of conscious rats to carotid body chemoreceptors stimulation by intravenous KCN. J Auton Nerv Syst 42: 63-70, 1993.

**Goren, M. Z.; Onat, F.; Berkman, K.**- Participation of NMDA and kainate receptors of paraventricular nucleus in cardiovascular responses to glutamate receptor agonist. Eur J Pharmacol 388: 7–84, 2000.

**Gu, J.G.; MacDermott, A.B.**- Activation of ATP P2X receptors elicits glutamate release from sensory neuron synapses. Nature. 1389 (6652): 749-53, 1997.

**Haibara A.S., Tamashiro E., Oliven, M.V. Bonagamba L.G., Machado B.H.**- Involvement of the parabrachial nucleus in the pressor response to chemoreflex activation in awake rats, Auton. Neurosci. 31: 60-67, 2002.

**Haibara, A.S.; Colombari, E.; Chianca-jr. D.A; Machado, B.H.** – NMDA receptors in the nucleus tractus solitarii are involved in the bradycardic but not in the pressor response to carotid chemoreceptor activation. Am J Physiol 269: H1421-H1427, 1995.

**Haibara A.S.; Bonagamba, L.H.G.; Machado, B.H.-** Sympathoexcitatory neurotransmission of the chemoreflex in the NTS of awake rats. Am J Physiol 276: R69-R80, 1999.

**Harland, D.; Gardiner, S.M.; Bennett, T. -** Paraventricular nucleus injections of noradrenaline: cardiovascular effects in conscious Long-Evans and Brattleboro rats. Brain Res. 496, 14-24, 1989.

**Herman, J.P.; Eyigor, O.; Ziegler D.R.; Jennes L.-** Expression of ionotropic glutamate receptor subunit in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. J Comp Neurol 422:352–362, 2000.

**Herman, J.P.; Cullinan W.E.; Ziegler D.R.; Tasker J.G.-** Role of the paraventricular nucleus microenvironment in stress integration. Eur J Neurosci 16(3):381-5, 2002<sup>a</sup>.

**Herman, J.P.; Tasker J.G.; Ziegler D.R.; Cullinan W.E. -** Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration: glutamate-GABA connections. Pharmacol Biochem Behav 71(3):457-68, 2002 <sup>b</sup>.

**Horiuchi, J.; McDowall, L.M.; Dampney, R.A. -** Role of 5-HT(1A) receptors in the lower brainstem on the cardiovascular response to dorsomedial hypothalamus activation. Auton Neurosci. 142(1-2):71-76, 2008

**Horn, T.; Smith, P.M.; Mclaughlin, B.E.; Bauce, L.; Marks, G.S.; Pittman, Q. J.; Ferguson, A.V.-** Nitric oxide actions in paraventricular nucleus: cardiovascular and neurochemical implications. Am J Physiol 266: R306–R313, 1994.

**Huang, J; Renaud, T.; Ji, E; Tong, J; Weiss, W.** - Chronic intermittent hypoxia modulates NO-sintase mRNA and protein expression in the rat hypothalamus. Respiratory Physiology Neurobiolog, 158 (1): 30-38, 2007.

**Jiang, R. G.; Eyzaquirre, C.-** Effects of hypoxia and putative transmitters on  $[Ca^{2+}]_i$  of rat glomus cells. Brain Research. 995 (2):285-296, 2004.

**Jiang H.Y.; Jin Q.H. Li Y.J.; Xu D.Y.; Jin Y.Z.; Jin X.J.** - Effect of microinjection of atrial natriuretic peptide into the paraventricular nucleus on baroreflex sensitivity in conscious rats. Sheng Li Xue Bao 57 (2):175-80, 2005.

**Jo, Y.H.; Role, L.W.** - Coordinate Release of ATP and GABA at *In Vitro* Synapses of Lateral Hypothalamic Neurons. The Journal of Neuroscience, 22 (12): 4794–4804, 2002.

**Kannan, H.; Yamashita, H.** - Connection of neurons in the regions of the nucleus tractus solitarius with the hypothalamic paraventricular nucleus: their possible involvement in neural control of the cardiovascular system in the rats. Brain Res 329: 205-212, 1985.

**Kannan, H.; Yamashita, H.** - Increase in sympathetic by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. Am J Physiol 56: R1325-R1330, 1989.

**Kooy, D.V.D.; Koda, L.Y.; Mcginty, J. F.; Gerfen, C. R.; Bloom, F.E.-** The organization of projections from the cortex, amygdala and hypothalamus to the nucleus of solitary tract in rat. J Comp Neurol 224: 1-24, 1984.

**Knott, T.K.; Marrero, H.G.; Custer, E.E.; Lemos, J.R.-** Endogenous ATP potentiates only vasopressin secretion from neurohypophysial terminals J Cell Physiol. 217 (1): 155-61, 2008.

**Koshiya, N.; Guyenet, P.G.**- NTS neurons with carotid chemoreceptor inputs arborize in the rostral ventrolateral medulla. Am J Physiol 270(6 pt 2):R1273-8, 1996.

**Kruk, M.R.; Westphal, K.G.; Van Erp, A.M.; Van Asperen, J.; Cave, B.J.; Slater, E.; de Koning, J.; Haller, J.** - The hypothalamus: cross-roads of endocrine and behavioural regulation in “grooming” and aggression. Neurosci Biobehav Rev. 23(2):163-77, 1998.

**Kubo, T.; Yanagihara, Y.; Yamaguchi, H.; Fukumori, R.**- Excitatory amino acid receptors in the paraventricular hypothalamic nucleus mediate pressor response induced by carotid body chemoreceptor stimulation in rats. Clin Exp Hypertens 19:1117–1134, 1997.

**Li, De-pei; Chen, S.R.; Pan, H.L.**- Nitric oxide inhibits spinally projecting paraventricular neurons through potentiation of presynaptic GABA release. Neurophysiology 88: 2664–2674, 2002

**Li, Y-Fan; Mayhan, W.G.; Patel, K.P.**- NMDA-mediated increase in renal sympathetic nerve discharge within the PVN: role of nitric oxide Am J Physiol 281: H2328–H2336, 2001.

**Li, Y-Fan; Patel, K.P.**- Paraventricular nucleus of the hypothalamus and elevated sympathetic activity in heart failure: the altered inhibitory mechanisms. Acta Physiol Scand 177, 17–26, 2003.

**Li, Y-Fan; Zhang W; Stern J.E.** - Nitric oxide inhibits the firing activity of hypothalamic paraventricular neurons that innervate the medulla oblongata: role of GABA. Neuroscience 118 (3): 585-601, 2003.

**Li, Y-Fan; Keshia, L.J.; Stern, J.E.; Brandon, R.; Patel, K.**- Interaction between glutamate and GABA systems in the integration of sympathetic outflow by the

paraventricular nucleus of the hypothalamus Am J Physiol Heart Circ Physiol 291: H2847–H2856, 2006.

**Lowey, A.D.** - Central Autonomic Pathways. *In: Central Regulation of Autonomic Functions* (Ed. by Loewy, AD and Spyer, KM). Oxford University Press. New York, 1990.

**Machado, B.H., Bonagamba, L.G.H.** - Microinjection of L-glutamate into the nucleus tractus solitarii increases arterial pressure in conscious rats, Brain. Res. 576, 131-138, 1992.

**Mack, S.O.; Wu, M.; Kc, P., Haxhiu, M.A.**- Stimulation of the hypothalamic paraventricular nucleus modulates cardiorespiratory responses via oxytocinergic innervation of neurons in pre-Botzinger complex. J Appl Physiol. 102(1):189-99, 2007.

**Martin, D.S.; Haywood, J.R.**- Cardiovascular responses to bicuculline in *the* paraventricular nucleus of the rat Hypertension. 18 (1): 48-55, 1991.

**Martin, D.S.; Haywood, J.R.**- Sympathetic nervous system activation by glutamate injections into the paraventricular nucleus. Brain Res. 577(2): 261-7, 1992.

**Mauad, H.; Machado, B. H.**- Pressor response to unilateral carotid chemoreceptor activation is not affected by ipsilateral antagonist of excitatory amino acid receptors in the rostral ventrolateral medulla of awake rats. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical 91: 26-31, 2001.

**Moga, M.M.; Saper C.B.**- Neuropeptide-immunoreactive neurons projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus in the rat. The Journal of Comparative Neurology 346: 137-150, 1994.

**Moreira T.S.; Takakura A.C.; Colombari E.; Guyenet P.G.-** Central chemoreceptors and sympathetic vasomotor outflow, J. Physiol. 577: 369–386, 2006.

**Nicholson, C.-** Diffusion from an injected volume of a substance in the brains tissue with arbitrary volume fraction and tortuosity. Brain Res. 333: 325-329, 1985.

**Olivan, M.V.; Bonagamba, L.G.H.; Machado, B.H.-** Involvement of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the pressor response to chemoreflex activation in awake rats. Brain Res 895(1-2):16172, 2001.

**Palkovits, M.-** Interconnections between the neuroendocrine hypothalamus and the central autonomic system. Neuroendocrinology 20, 270–295, 1999.

**Paxinos, G.; Watson, C. -** The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York, 2<sup>th</sup> edition, 1986.

**Paxinos, G.; Watson, C. -** The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York, 6<sup>th</sup> edition, 2007

**Pyner, S; Coote, G.H. -**Identification of branching paraventricular neurons of the hypothalamus that project to the rostroventrolateral medulla and spinal cord. Neuroscience 100(3):549-56, 2000.

**Reddy, M.K; Patel, K.P.; Schultz, H.D.-** Differential role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in modulating the sympathoexcitatory component of peripheral and central chemoreflex, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 289: R789-R797, 2005

**Reddy, M. K.; Schultz, H. D.; Zheng, H.; Patel, K. P.**- Altered nitric oxide mechanism within the paraventricular nucleus contributes to the augmented carotid body chemoreflex in heart failure, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 292: H149-157, 2007.

**Ricardo, J.A.; Koh, E.T.** - Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to hypothalamus amygdala and other forebrain structures in the rat. Brain Res 153: 1-26, 1978.

**Roychowdhury, S.; Noack, J.; Engelmann, M.; Wolf, G.; Horn, T.F.** - AMPA receptor-induced intracellular calcium response in the paraventricular nucleus is modulated by nitric oxide: calcium imaging in a hypothalamic organotypic cell culture. Nitric Oxide 14(4): 290-299.

**Rusyniak, D.E.; Zaretskaia, M.V.; Zaretsky, D.V.; DiMicco, J.A.**-Microinjection of muscimol into the dorsomedial hypothalamus suppresses MDMA-evoked sympathetic and behavioral responses. Brain Res. 21; 1226: 116-23, 2008.

**Sawchenko, P.E.; Swanson, L.W.**- The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. J Comp Neurol. 218 (2): 121-44, 1983

**Schelenker, E.; Barnes, L.; Hansen, S.; Martin, D.** - Cardiorespiratory and metabolic response to injection of bicuculline into the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) of conscious rats. Brain Res 895: 33-40, 2001.

**Scopinho, A.A., Tavares, R.F., Busnardo C., Corrêa, F.M.**- Non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in the paraventricular nucleus of hypothalamus mediate the pressor response evoked by noradrenaline microinjected into the lateral septal area in rats. J Neurosci Res. 86 (14): 3203-3211, 2008.

**Shafton, A.D; Ryan, A.; Badoer, E.** - Neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus send collaterals to the spinal cord and to the rostral ventrolateral medulla in the rat. Brain Res, 801 (1-2): 239-243, 1998.

**Shigetomi, E.; Kato, F.** - Action potential-independent release of glutamate by Ca<sup>2+</sup> entry through presynaptic P2X receptors elicits postsynaptic firing in the brainstem autonomic. J Neurosci 24: 3125–3135, 2004

**Shih, C.D.; Chan, S.H.; Chan, J.Y.** - Participation of hypothalamic paraventricular nucleus in locus ceruleus-induced baroreflex suppression in rats. Am J Physiol. 269 (1 Pt 2): H46-52, 1995.

**Spyer, K.M.**- The central nervous organization of reflex circulatory control. In: Central regulation of autonomic functions, edited by Arthur C. Loewy and K.M. Spyer, New York Oxford, 1990.

**Stern J.E; Li Y; Zhang, W.** -Nitric oxide: a local signalling molecule controlling the activity of pre-autonomic neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Acta Physiol Scand 177 (1): 37-42, 2003.

**Sun, M.K.; Young, B.S.; Hackett, J.T.; Guyenet, P.G.** - Reticulospinal pacemaker neurons of the rat rostralventrolateral medulla with putative sympathoexcitatory function: an intracellular study in vitro. Brain Res 442:229-239, 1988.

**Swanson, L.W.; Sawchenko, P.E.**- Paraventricular Nucleus: a site for integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. Neuroendocrinology 31 (6): 410-7, 1980.



**Womack, M.D.; Morris, R.; Gent, T.C.; Barrett-Jolley R.**- Substance P targets sympathetic control neurons in the paraventricular nucleus, *Circ. Res.* 100: 1650-1658, 2007.

**Yang, Z.; Coote J.H.** - Role of GABA and NO in the paraventricular nucleus-mediated reflex inhibition of renal sympathetic nerve activity following stimulation of right atrial receptors in the rat. *Exp Physiol* 88 (3): 335-42, 2003.

**Yeh, E.R.; Erokwu, B.; LaManna, J.C.; Haxhiu, M.A.**- The paraventricular nucleus of the hypothalamus influences respiratory timing and activity in the rat. *Neuros Lett* 232 (2) 63-66, 1997.

**Zhang, K.; Mayhan, W.G.; Patel, K.P.**- Nitric oxide within the paraventricular nucleus mediates changes in renal sympathetic nerve activity. *Am J Physiol* 273 (3 pt 2): R864-72, 1997.

**Zhang, K.; Patel, K.P.** -.Effect of nitric oxide within the paraventricular nucleus on renal sympathetic nerve discharge: role of GABA. *Am J Physiol* 275(3 pt 2):R728-34, 1998

## *12. APÉNDICE*

**Tabela I-** Pressão arterial média basal (PAM mmHg) antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>60 min</b>
<b>43</b>	100	115	100	100	-	-
<b>65</b>	90	115	110	100	90	90
<b>72</b>	105	130	120	115	105	120
<b>87</b>	95	100	100	105	100	100
<b>144</b>	95	100	95	90	90	95
<b>154</b>	85	100	100	105	85	110
<b>159</b>	90	130	115	100	105	110
<b>média</b>	<b>94</b>	<b>113</b>	<b>106</b>	<b>102</b>	<b>96</b>	<b>104</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela II-** Frequência cardíaca basal (FC bpm) antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>60 min</b>
<b>43</b>	330	460	450	370	-	-
<b>65</b>	380	480	480	480	430	400
<b>72</b>	340	480	420	450	400	-
<b>87</b>	340	400	390	390	390	370
<b>144</b>	390	350	340	-	350	380
<b>154</b>	330	460	400	440	360	390
<b>159</b>	340	440	400	370	360	370
<b>média</b>	<b>350</b>	<b>439</b>	<b>411</b>	<b>417</b>	<b>382</b>	<b>382</b>
<b>EPM</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	<b>12</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela III-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30</b>	<b><math>\Delta</math> 60 min</b>
<b>43</b>	60	70	65	70	-	-
<b>65</b>	65	40	40	55	60	55
<b>72</b>	55	55	60	50	65	55
<b>87</b>	55	55	50	50	45	55
<b>144</b>	40	50	45	35	45	-
<b>154</b>	30	40	45	30	30	-
<b>159</b>	40	20	25	20	20	15
<b>média</b>	<b>49</b>	<b>47</b>	<b>47</b>	<b>44</b>	<b>44</b>	<b>45</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>10</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>4</b>

**Tabela IV-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30</b>	<b><math>\Delta</math> 60 min</b>
<b>43</b>	-230	-360	-360	-250	-	-
<b>65</b>	-240	-350	-370	-350	-310	-260
<b>72</b>	-210	-340	-310	-280	-400	-
<b>87</b>	-90	-50	-220	-190	-130	-280
<b>144</b>	-290	-230	-245	-	-290	-250
<b>154</b>	-210	-270	-400	-130	-220	-390
<b>159</b>	-220	-330	-120	-240	-250	-370
<b>média</b>	<b>-213</b>	<b>-276</b>	<b>-289</b>	<b>-240</b>	<b>-267</b>	<b>-310</b>
<b>EPM</b>	<b>23</b>	<b>42</b>	<b>38</b>	<b>31</b>	<b>37</b>	<b>29</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela V-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>43</b>	969	931	-	1002	1196
<b>65</b>	1057	507	491	684	1320
<b>72</b>	1415	1698	1350	1304	1721
<b>87</b>	1016	677	680	715	704
<b>144</b>	655	500	300	359	-
<b>154</b>	1194	313	512	239	320
<b>159</b>	1202	1641	837	252	478
<b>Média</b>	<b>1073</b>	<b>895</b>	<b>695</b>	<b>651</b>	<b>957</b>
<b>EPM</b>	<b>90</b>	<b>212</b>	<b>151</b>	<b>152</b>	<b>221</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>6</b>



**Tabela VIII-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60 min
45	55	40	50	75	40	50
86	45	75	60	50	60	55
122	35	20	20	15	15	25
153	25	45	25	30	25	40
<b>média</b>	<b>40</b>	<b>45</b>	<b>39</b>	<b>43</b>	<b>35</b>	<b>43</b>
<b>EPM</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>10</b>	<b>7</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela IX-** Alterações na Frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **bicuculina (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60 min
45	-200	-120	-200	-200	-130	-150
86	-260	-200	-250	-70	-250	-150
122	-150	-80	-60	-40	-50	-130
153	-350	-350	-290	-100	-	-250
<b>média</b>	<b>-240</b>	<b>-188</b>	<b>-200</b>	<b>-103</b>	<b>-143</b>	<b>-170</b>
<b>EPM</b>	<b>43</b>	<b>60</b>	<b>50</b>	<b>35</b>	<b>58</b>	<b>27</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>

**Tabela X:** Média dos valores basais e de variação da pressão arterial média (PAM mmHg) e da frequência cardíaca (FC bpm) basal após à ativação do quimiorreflexo (KCN, iv) em animais não anestesiados e aos 15, 60, 90 e 120 minutos após a anestesia (uretana, ip).

<b>15min (n=5)</b>	<b>PAM basal</b>	<b>FC basal</b>	<b><math>\Delta</math>PAM (KCN)</b>	<b><math>\Delta</math>FC (KCN)</b>
<i>não anestesiado</i>	99 $\pm$ 1	355 $\pm$ 21	45 $\pm$ 4	-215 $\pm$ 9
<i>anestesiado</i>	76 $\pm$ 9	398 $\pm$ 13	-4 $\pm$ 10*	3 $\pm$ 15*
<b>60 min (n=6)</b>				
<i>não anestesiado</i>	98 $\pm$ 3	337 $\pm$ 17	43 $\pm$ 3	-232 $\pm$ 16
<i>anestesiado</i>	89 $\pm$ 6	408 $\pm$ 15*	-9 $\pm$ 8*	-3 $\pm$ 6*
<b>90 min (n=5)</b>				
<i>não anestesiado</i>	96 $\pm$ 2	334 $\pm$ 17	42 $\pm$ 2	-210 $\pm$ 21
<i>anestesiado</i>	98 $\pm$ 1	416 $\pm$ 21*	-10 $\pm$ 12*	-16 $\pm$ 8*
<b>120 min (n=6)</b>				
<i>não anestesiado</i>	83 $\pm$ 15	362 $\pm$ 10	39 $\pm$ 3	-215 $\pm$ 17
<i>anestesiado</i>	84 $\pm$ 15	438 $\pm$ 19*	-19 $\pm$ 6*	-2 $\pm$ 2*

\* diferente em relação ao respectivo controle não anestesiado ( $p \geq 0.05$ ).



**Tabela XI-** Valores da pressão arterial média (PAM mmHg) basal, bem como das variações na PAM ( $\Delta$  mmHg) basal à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **15 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordados		anestesiado (15 min)	
	PAM basal	$\Delta$ PAM	PA basal	$\Delta$ PAM
<b>107</b>	95	45	90	5
<b>108</b>	100	45	90	-20
<b>109</b>	100	35	50	20
<b>110</b>	100	55	75	-20
<b>média</b>	<b>99</b>	<b>45</b>	<b>76</b>	<b>-4</b>
<b>EPM</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela XII-** Valores da pressão arterial média (FC bpm) basal, bem como das variações na FC ( $\Delta$ , FC) basal à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **15 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordado		anestesiado (15 min)	
	FC basal	$\Delta$ FC	FC basal	$\Delta$ FC
<b>107</b>	300	-200	400	10
<b>108</b>	360	-200	420	-30
<b>109</b>	360	-230	410	40
<b>110</b>	400	-230	360	-10
<b>média</b>	<b>355</b>	<b>-215</b>	<b>398</b>	<b>3</b>
<b>EPM</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>13</b>	<b>15</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela XIII-** Valores da pressão arterial média (PAM mmHg) basal, bem como das variações na PAM ( $\Delta$  mmHg) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **60 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip).**

Rato	acordado		anestesiado (60 min)	
	PAM basal	$\Delta$ PAM	PAM basal	$\Delta$ PAM
112	100	50	90	20
115	100	50	100	-20
116	90	45	80	-15
127	105	45	100	-20
128	100	35	65	-30
145	90	35	100	10
<b>média</b>	<b>98</b>	<b>43</b>	<b>89</b>	<b>-9</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela XIV-** Valores da frequência cardíaca (FC bpm) basal, bem como das variações na FC ( $\Delta$  bpm) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **60 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip).**

Rato	acordado		anestesiado (60 min)	
	FC basal	$\Delta$ FC	FC basal	$\Delta$ FC
112	300	-200	450	20
115	400	-300	420	10
116	360	-210	410	-10
127	300	-200	350	-20
128	310	-230	430	-15
145	350	-250	390	0
<b>média</b>	<b>337</b>	<b>-232</b>	<b>408</b>	<b>-3</b>
<b>EPM</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>15</b>	<b>7</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela XV-** Valores da pressão arterial média (PAM mmHg) basal, bem como das variações na PAM ( $\Delta$  mmHg) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **90 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordado		anestesiado (90 min)	
	PAM basal	$\Delta$ PAM	PAM basal	$\Delta$ PAM
147	100	45	100	15
148	100	50	95	-40
158	100	40	100	25
159	90	40	100	-40
160	90	35	95	-10
<b>média</b>	<b>96</b>	<b>42</b>	<b>98</b>	<b>-10</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela XVI-** Valores da frequência cardíaca (FC bpm) basal, bem como da variação das FC ( $\Delta$  bpm) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **90 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordado		anestesiado (90 min)	
	FC basal	$\Delta$ FC	FC basal	$\Delta$ FC
147	380	-280	400	-20
148	300	-200	450	-10
158	320	-150	430	-30
159	310	-200	450	-30
160	360	-220	350	10
<b>média</b>	<b>334</b>	<b>-210</b>	<b>416</b>	<b>-16</b>
<b>EPM</b>	<b>17</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>8</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela XVII-** Valores da pressão arterial média (PAM mmHg) basal, bem como das variações na PAM ( $\Delta$  mmHg) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **120 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordado		anestesiado (120 min)	
	PAM basal	$\Delta$ PAM	PAM basal	$\Delta$ PAM
<b>130</b>	90	45	100	-25
<b>129</b>	100	35	100	-25
<b>132</b>	10	35	10	-35
<b>141</b>	100	30	110	10
<b>161</b>	100	40	100	-25
<b>162</b>	100	50	85	-15
<b>média</b>	<b>83</b>	<b>39</b>	<b>84</b>	<b>-19</b>
<b>EPM</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela XVIII-** Valores da frequência cardíaca (FC bpm) basal, bem como das variações na FC ( $\Delta$  bpm) basal após à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] em animais acordados e aos **120 minutos após a anestesia com uretana (1.2g/kg ip)**.

Rato	acordado		anestesiado (120 min)	
	FC basal	$\Delta$ FC	FC basal	$\Delta$ FC
<b>130</b>	350	-200	500	0
<b>129</b>	320	-160	450	10
<b>132</b>	380	-190	460	0
<b>141</b>	370	-270	450	0
<b>161</b>	370	-220	370	0
<b>162</b>	380	-250	400	-20
<b>média</b>	<b>362</b>	<b>-215</b>	<b>438</b>	<b>-2</b>
<b>EPM</b>	<b>9</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>4</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela XIX-** Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60 min</b>
<b>284</b>	90	-	107	102	102	94	97
<b>289</b>	99	109	109	104	105	105	108
<b>294</b>	87	-	102	103	100	98	-
<b>324</b>	100	117	114	107	107	102	102
<b>325</b>	89	113	-	109	110	92	106
<b>326</b>	91	103	111	102	101	96	100
<b>344</b>	105	121	124	122	116	110	109
<b>351</b>	90	99	98	95	99	90	94
<b>Média</b>	<b>94</b>	<b>110</b>	<b>109</b>	<b>106</b>	<b>105</b>	<b>98</b>	<b>102</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

**Tabela XX-** Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60 min</b>
<b>284</b>	355	-	377	361	382	338	351
<b>289</b>	371	532	459	402	494	416	414
<b>294</b>	335	-	369	376	376	388	-
<b>324</b>	341	409	403	387	405	333	367
<b>325</b>	315	429	-	377	379	359	332
<b>326</b>	348	444	422	450	424	374	360
<b>344</b>	328	399	467	473	458	391	331
<b>351</b>	419	472	461	465	432	425	462
<b>Média</b>	<b>352</b>	<b>448</b>	<b>423</b>	<b>411</b>	<b>419</b>	<b>378</b>	<b>374</b>
<b>EPM</b>	<b>11</b>	<b>20</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>18</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

**Tabela XXI-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	controle	$\Delta$ 2	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60 min
284	69	-	48	60	50	83	59
289	55	43	63	59	52	47	50
294	53	-	58	54	48	52	-
324	36	29	44	46	53	55	38
325	43	44	-	36	20	24	16
326	71	67	59	57	65	52	48
344	40	36	42	36	35	40	51
351	50	61	51	65	57	59	68
<b>Média</b>	<b>52</b>	<b>47</b>	<b>52</b>	<b>52</b>	<b>48</b>	<b>52</b>	<b>47</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

**Tabela XXII-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 2	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60
284	-205	-	-215	-279	-240	-258	-193
289	-270	-430	-363	-264	-343	-294	-316
294	-291	-	-248	-298	-280	-320	-
324	-257	-268	-301	-111	-257	-249	-276
325	-188	-304	-	-286	-202	-59	-173
326	-264	-303	-320	-174	-276	-290	-269
344	-201	-274	-467	-382	-281	-91	-172
351	-350	-343	-326	-353	-317	-377	-420
<b>Média</b>	<b>-253</b>	<b>-320</b>	<b>-320</b>	<b>-268</b>	<b>-275</b>	<b>-242</b>	<b>-260</b>
<b>EPM</b>	<b>19</b>	<b>24</b>	<b>31</b>	<b>31</b>	<b>15</b>	<b>39</b>	<b>34</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

**Tabela XXIII-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60 min</b>
<b>284</b>	753	-	793	985	914	1110	2125
<b>289</b>	656	-	1228	880	916	878	1059
<b>294</b>	1210	-	-	747	972	784	-
<b>324</b>	643	472	496	586	495	538	899
<b>325</b>	873	622	-	530	420	440	256
<b>326</b>	778	655	822	770	739	672	920
<b>344</b>	676	892	1413	-	1360	-	1387
<b>351</b>	804	1108	822	905	802	1296	1807
<b>Média</b>	<b>799</b>	<b>750</b>	<b>929</b>	<b>772</b>	<b>827</b>	<b>817</b>	<b>1208</b>
<b>EPM</b>	<b>65</b>	<b>112</b>	<b>136</b>	<b>63</b>	<b>104</b>	<b>116</b>	<b>236</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

**Tabela XXIV-** Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60 min</b>
<b>286</b>	106	-	-	108	108	109	-
<b>288</b>	90	98	105	103	102	102	120
<b>321</b>	89	90	92	94	90	88	86
<b>340</b>	93	106	105	99	93	98	108
<b>352</b>	92	98	98	94	99	95	94
<b>Média</b>	<b>94</b>	<b>98</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>98</b>	<b>98</b>	<b>102</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>8</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela XXV-** Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60 min</b>
<b>286</b>	338	-	-	364	343	342	-
<b>288</b>	320	363	354	377	356	332	336
<b>321</b>	371	373	436	367	368	349	351
<b>340</b>	265	372	394	384	378	349	383
<b>352</b>	420	476	462	464	432	424	465
<b>Média</b>	<b>343</b>	<b>396</b>	<b>412</b>	<b>391</b>	<b>375</b>	<b>359</b>	<b>384</b>
<b>EPM</b>	<b>26</b>	<b>27</b>	<b>24</b>	<b>19</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>29</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>



**Tabela XXVI-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 2</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30</b>	<b><math>\Delta</math> 60 min</b>
<b>286</b>	41	-	-	32	43	35	-
<b>288</b>	35	39	30	39	39	34	15
<b>321</b>	38	64	46	39	37	42	-
<b>340</b>	37	48	37	41	52	47	46
<b>352</b>	52	51	44	47	43	41	43
<b>Média</b>	<b>41</b>	<b>51</b>	<b>39</b>	<b>40</b>	<b>43</b>	<b>40</b>	<b>35</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>10</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>

**Tabela XXVII-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a microinjeção bilateral de **L-NAME (50 pmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 2</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30</b>	<b><math>\Delta</math> 60 min</b>
<b>286</b>	-269	-	-	-293	-266	-270	-
<b>288</b>	-196	-296	-354	-315	-228	-214	-300
<b>321</b>	-279	-217	-319	-210	-207	-277	-211
<b>340</b>	-196	-292	-237	-244	-228	-213	-217
<b>352</b>	-313	-412	-314	-383	-307	-342	-465
<b>Média</b>	<b>-251</b>	<b>-304</b>	<b>-306</b>	<b>-289</b>	<b>-247</b>	<b>-263</b>	<b>-298</b>
<b>EPM</b>	<b>23</b>	<b>40</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>18</b>	<b>24</b>	<b>59</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela XXVIII-** Valore da pressão arterial média (PAM mmHg) basal e das alterações na PAM ( $\Delta$  mmHg) basal em resposta à microinjeção **unilateral de L-glutamato (3.75 nmol/50 nl)** antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	L-glu			KYN			L-glu 15 min			L-glu 90 min		
	antes	após	$\Delta$ PAM	antes	após	$\Delta$ PAM	antes	após	$\Delta$ PAM	antes	após	$\Delta$ PAM
189	91	107	16	94	94	-	98	105	7	87	117	30
199	103	122	19	102	102	-	-	-	-	-	-	-
200	95	111	16	103	103	-	99	99	-	94	103	9
209	107	123	16	108	107	-1	112	117	5	105	120	15
211	92	108	16	94	96	2	91	102	3	95	110	15
213	93	104	11	103	101	-2	104	107	3	-	-	-
224	93	97	4	100	101	1	100	101	1	105	110	5
231	94	97	3	100	110	10	104	100	-4	104	111	7
234	93	105	12	-	-	-	98	99	1	94	102	8
238	90	97	7	82	89	7	96	95	-1	86	93	7
<b>média</b>	<b>95</b>	<b>107</b>	<b>12</b>	<b>101</b>	<b>102</b>	<b>0,4</b>	<b>100</b>	<b>103</b>	<b>4</b>	<b>96</b>	<b>108</b>	<b>15</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

**Tabela XXIX-** Valores da frequência cardíaca (FC bpm) basal e das alterações na FC ( $\Delta$  bpm) basal em resposta à microinjeção unilateral de **L-glutamato (3.75 nmol/50 nl)** antes e aos 15 e 90 minutos após a microinjeção ipsilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	L-glu			KYN			L-glu pós KYN			1h:30 L-glu		
	antes	após	$\Delta$ FC	antes	após	$\Delta$ FC	antes	após	$\Delta$ FC	antes	após	$\Delta$ FC
189	331	339	8	328	315	-13	328	319	-9	321	338	17
199	407	445	38	404	403	1	-	-	-	-	-	-
200	302	375	73	380	368	-12	374	390	16	346	405	59
209	311	350	39	397	405	8	365	394	29	410	414	4
211	340	396	44	328	328	-	333	352	19	352	414	62
213	356	390	34	340	344	4	326	321	-5	-	-	-
224	346	392	46	334	331	-3	338	341	3	360	414	54
231	320	340	20	352	376	24	353	355	2	370	361	-9
234	389	387	-2	394	393	1	429	431	2	415	430	15
238	414	379	66	352	387	35	363	361	2	366	383	17
<b>média</b>	<b>352</b>	<b>379</b>	<b>37</b>	<b>361</b>	<b>365</b>	<b>5</b>	<b>357</b>	<b>363</b>	<b>7</b>	<b>368</b>	<b>395</b>	<b>27</b>
<b>EPM</b>	<b>13</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>10</b>
<b>n</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>



**Tabela XXXII-** Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90 min</b>
<b>228</b>	94	-	-	87	89	90	92
<b>235</b>	105	107	110	111	114	119	112
<b>257</b>	90	93	95	93	100	104	101
<b>263</b>	105	104	103	101	97	106	102
<b>266</b>	89	96	91	92	97	108	106
<b>329</b>	103	-	106	103	102	113	-
<b>Média</b>	<b>98</b>	<b>100</b>	<b>101</b>	<b>98</b>	<b>100</b>	<b>107</b>	<b>103</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela XXXIII-** Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90 min</b>
<b>228</b>	341	-	-	303	302	321	316
<b>235</b>	326	322	334	327	356	370	361
<b>257</b>	324	318	312	291	311	344	344
<b>263</b>	348	375	336	339	322	368	335
<b>266</b>	314	364	340	341	375	370	361
<b>329</b>	324	318	409	395	337	345	-
<b>Média</b>	<b>330</b>	<b>339</b>	<b>346</b>	<b>333</b>	<b>334</b>	<b>353</b>	<b>343</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>12</b>	<b>16</b>	<b>15</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>8</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela XXXIV-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60	$\Delta$ 90 min
228	57	-	-	-	57	66	-
235	56	54	41	48	38	48	56
257	55	40	47	46	43	52	44
263	35	39	47	32	51	51	69
266	57	36	55	58	67	52	48
329	42	-	33	21	42	34	-
<b>Média</b>	<b>50</b>	<b>42</b>	<b>45</b>	<b>41</b>	<b>50</b>	<b>51</b>	<b>54</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>4</b>

**Tabela XXXV-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60	$\Delta$ 90 min
228	-242	-	-	-232	-261	-265	-214
235	-264	-260	-301	-299	-329	-313	-328
257	-252	-272	-240	-189	-247	-305	-251
263	-252	-282	-285	-257	-252	-308	-272
266	-259	-347	-272	-294	-276	-305	-313
329	-241	-264	-330	-337	-256	-287	-
<b>Média</b>	<b>-252</b>	<b>-285</b>	<b>-286</b>	<b>-268</b>	<b>-270</b>	<b>-297</b>	<b>-276</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>15</b>	<b>22</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>21</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela XXXVI-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral do **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90 min</b>
<b>228</b>	608	-	-	897	1075	1505	957
<b>235</b>	1357	1530	3152	2105	2214	-	-
<b>257</b>	1243	2353	1644	1325	1641	2368	2122
<b>263</b>	1277	921	1503	990	1258	1151	1191
<b>266</b>	2282	2585	2165	2293	1512	1641	2790
<b>329</b>	672	513	572	599	603	526	-
<b>Média</b>	<b>1240</b>	<b>1580</b>	<b>1807</b>	<b>1368</b>	<b>1384</b>	<b>1438</b>	<b>1765</b>
<b>EPM</b>	<b>247</b>	<b>399</b>	<b>423</b>	<b>280</b>	<b>223</b>	<b>302</b>	<b>424</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>



**Tabela XXXIX-** Alterações na pressão arterial média ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção de bilateral **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60	$\Delta$ 90 min
233	46	49	53	28	33	34	24
243	54	61	75	63	56	52	69
260	46	29	28	33	31	46	44
274	22	25	32	12	22	28	23
282	55	41	46	50	46	58	52
336	56	-	48	56	15	45	-
349	72	67	64	65	59	74	-
<b>média</b>	<b>50</b>	<b>45</b>	<b>49</b>	<b>44</b>	<b>37</b>	<b>48</b>	<b>42</b>
<b>EPM</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>9</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>5</b>

**Tabela XL-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos após a microinjeção bilateral de **ácido quinurênico (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30	$\Delta$ 60	$\Delta$ 90 min
233	-82	-291	-296	-207	-195	-229	-209
243	-164	-297	-272	-273	-303	-303	-299
260	-43	-225	-188	-180	-235	-267	-243
274	-93	-310	-296	-220	-242	-258	-398
282	-64	-289	-344	-305	-322	-294	-291
336	-246	-235	-334	-231	-	-284	-
349	-273	-257	-282	-249	-241	-279	-
<b>Média</b>	<b>-138</b>	<b>-272</b>	<b>-287</b>	<b>-238</b>	<b>-256</b>	<b>-273</b>	<b>-288</b>
<b>EPM</b>	<b>35</b>	<b>12</b>	<b>19</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>9</b>	<b>32</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>5</b>



**Tabela XLI**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>380</b>	96	114	118	109	109
<b>388</b>	101	114	109	110	110
<b>543</b>	105	124	114	109	-
<b>555</b>	99	112	112	111	105
<b>559</b>	96	100	105	100	-
<b>534</b>	94	109	102	103	-
<b>Média</b>	<b>99</b>	<b>112</b>	<b>110</b>	<b>107</b>	<b>108</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>3</b>

**Tabela XLII**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>380</b>	346	368	356	360	383
<b>388</b>	362	393	361	364	371
<b>543</b>	304	381	340	336	-
<b>555</b>	325	362	375	385	335
<b>559</b>	320	349	345	327	-
<b>534</b>	332	398	382	419	-
<b>Média</b>	<b>332</b>	<b>375</b>	<b>360</b>	<b>365</b>	<b>363</b>
<b>EPM</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>14</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>3</b>

**Tabela XLIII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
<b>380</b>	65	89	52	56	57
<b>388</b>	43	56	66	65	78
<b>543</b>	44	50	42	46	-
<b>555</b>	55	43	68	66	52
<b>559</b>	57	44	62	73	-
<b>Média</b>	<b>53</b>	<b>56</b>	<b>58</b>	<b>61</b>	<b>62</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>8</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>

**Tabela XLIV-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
<b>380</b>	-239	-269	-259	-271	-268
<b>388</b>	-199	-310	-233	-307	-270
<b>543</b>	-260	-263	-252	-235	-
<b>555</b>	-249	-328	-321	-312	-224
<b>559</b>	-276	-259	-254	-224	-
<b>Média</b>	<b>-245</b>	<b>-286</b>	<b>-264</b>	<b>-270</b>	<b>-254</b>
<b>EPM</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>18</b>	<b>15</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>

**Tabela XLV-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>380</b>	-	1329	1199	1700	1593
<b>388</b>	659	3779	1213	927	3384
<b>543</b>	969	777	1324	1386	-
<b>555</b>	1250	1526	858	862	1035
<b>559</b>	1783	1306	1525	1605	1577
<b>Média</b>	<b>1165</b>	<b>1743</b>	<b>1224</b>	<b>1296</b>	<b>1897</b>
<b>EPM</b>	<b>239</b>	<b>524</b>	<b>108</b>	<b>172</b>	<b>512</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela XLVI**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>402</b>	90	92	100	95	92
<b>404</b>	109	104	104	110	-
<b>405</b>	99	99	106	95	98
<b>560</b>	90	91	95	87	-
<b>Média</b>	<b>97</b>	<b>97</b>	<b>101</b>	<b>97</b>	<b>95</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

**Tabela XLVII**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol )** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>402</b>	316	323	340	335	326
<b>404</b>	378	332	338	338	-
<b>405</b>	471	436	430	407	353
<b>560</b>	346	352	336	353	-
<b>Média</b>	<b>378</b>	<b>361</b>	<b>361</b>	<b>358</b>	<b>340</b>
<b>EPM</b>	<b>34</b>	<b>26</b>	<b>23</b>	<b>17</b>	<b>14</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

**Tabela XLVIII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
402	-	81	55	59	68
404	57	56	60	54	-
405	56	64	62	72	64
560	44	52	62	56	-
<b>Média</b>	<b>52</b>	<b>63</b>	<b>60</b>	<b>60</b>	<b>66</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

**Tabela XLIX-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **PPADS (0.25 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
402	-252	-295	-273	-264	-273
404	-265	-210	-180	-181	-
405	-355	-307	-381	-268	-245
560	-243	-252	-254	-304	-
<b>Média</b>	<b>-279</b>	<b>-266</b>	<b>-272</b>	<b>-254</b>	<b>-259</b>
<b>EPM</b>	<b>26</b>	<b>22</b>	<b>42</b>	<b>26</b>	<b>14</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

**Tabela L**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>355</b>	96	105	112	103	105
<b>356</b>	97	111	105	106	105
<b>365</b>	88	96	96	91	94
<b>367</b>	94	100	108	106	97
<b>368</b>	90	92	94	93	-
<b>372</b>	95	98	97	102	-
<b>383</b>	88	92	97	101	106
<b>Média</b>	<b>93</b>	<b>99</b>	<b>101</b>	<b>100</b>	<b>101</b>
<b>EPM</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>5</b>

**Tabela LI**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>355</b>	365	368	362	378	387
<b>356</b>	350	401	347	388	373
<b>365</b>	346	368	356	360	383
<b>367</b>	364	366	362	367	355
<b>368</b>	355	386	390	399	419
<b>372</b>	405	431	416	515	-
<b>383</b>	311	338	319	451	404
<b>Média</b>	<b>357</b>	<b>380</b>	<b>365</b>	<b>408</b>	<b>387</b>
<b>EPM</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>21</b>	<b>9</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>

**Tabela LII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
355	65	33	55	43	55
356	71	54	66	62	65
365	53	55	45	48	37
367	51	52	47	66	67
368	50	46	53	56	-
372	46	36	54	52	-
383	67	67	59	46	60
<b>Média</b>	<b>58</b>	<b>49</b>	<b>54</b>	<b>53</b>	<b>57</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>5</b>

**Tabela LIII-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10, e 30 minutos após a microinjeção do bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
355	-320	-285	-251	-271	-345
356	-263	-297	-270	-298	-284
365	-239	-269	-259	-271	-268
367	-271	-276	-260	-295	-318
368	-190	-206	-201	-204	-348
372	-275	-318	-282	-387	-
383	-205	-263	-170	-354	-282
<b>Média</b>	<b>-252</b>	<b>-273</b>	<b>-242</b>	<b>-297</b>	<b>-308</b>
<b>EPM</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>23</b>	<b>14</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>

**Tabela LIV-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>365</b>	1402	751	838	2172	2278
<b>367</b>	661	792	2859	800	533
<b>368</b>	764	665	802	751	1122
<b>372</b>	1176	1056	1542	1525	794
<b>380</b>	500	1547	1629	1779	1254
<b>383</b>	1274	997	936	1070	1018
<b>388</b>	1038	2464	2037	2537	808
<b>Média</b>	<b>974</b>	<b>1182</b>	<b>1520</b>	<b>1519</b>	<b>1115</b>
<b>EPM</b>	<b>128</b>	<b>241</b>	<b>284</b>	<b>260</b>	<b>214</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>



**Tabela LV**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>366</b>	94	99	105	98	-
<b>369</b>	103	116	125	120	109
<b>371</b>	103	105	105	101	102
<b>376</b>	92	97	110	103	103
<b>402</b>	87	88	93	92	89
<b>404</b>	95	95	94	97	111
<b>405</b>	96	90	98	98	99
<b>Média</b>	<b>96</b>	<b>99</b>	<b>104</b>	<b>101</b>	<b>102</b>
<b>EPM</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>

**Tabela LVI**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30 min</b>
<b>366</b>	349	338	341	358	-
<b>369</b>	339	343	356	404	348
<b>371</b>	290	329	-	334	315
<b>376</b>	389	428	392	-	405
<b>402</b>	326	311	309	329	302
<b>404</b>	337	320	365	310	449
<b>405</b>	411	401	455	410	462
<b>Média</b>	<b>349</b>	<b>353</b>	<b>370</b>	<b>358</b>	<b>380</b>
<b>EPM</b>	<b>15</b>	<b>17</b>	<b>20</b>	<b>17</b>	<b>28</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>

**Tabela LVII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10 e 30 minutos após a microinjeção bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
366	54	69	67	68	-
369	-	77	67	70	-
371	-	70	-	68	82
376	87	-	-	73	69
402	-	67	71	60	73
404	70	61	61	46	53
405	52	66	47	46	53
<b>Média</b>	<b>66</b>	<b>68</b>	<b>63</b>	<b>62</b>	<b>66</b>
<b>EPM</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>5</b>

**Tabela LVIII-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 1, 3, 10, e 30 minutos após a microinjeção do bilateral do coquetel **PPADS (0.25 nmol ) + KYN (7.2 nmol/50 nl)** fora dos limites do PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 1	$\Delta$ 3	$\Delta$ 10	$\Delta$ 30 min
366	-184	-237	-268	-252	-
369	-305	-256	-268	-302	-64
371	-205	-252	-	-253	-209
376	-307	-361	-316	-	-349
402	-252	-232	-225	-249	-258
404	-175	-198	-263	-161	-281
405	-244	-278	-294	-249	-317
<b>Média</b>	<b>-239</b>	<b>-259</b>	<b>-272</b>	<b>-244</b>	<b>-246</b>
<b>EPM</b>	<b>20</b>	<b>19</b>	<b>13</b>	<b>19</b>	<b>41</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>



**Tabela LXI**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15, e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2% /50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>378</b>	102	95	97	100	101	106
<b>386</b>	113	108	109	106	103	108
<b>413</b>	94	93	92	95	98	97
<b>418</b>	107	120	128	120	122	104
<b>419</b>	85	93	91	-	89	89
<b>421</b>	92	97	102	94	92	92
<b>424</b>	106	107	116	109	115	112
<b>437</b>	92	88	99	93	102	90
<b>Média</b>	<b>99</b>	<b>100</b>	<b>104</b>	<b>102</b>	<b>103</b>	<b>100</b>
<b>EPM</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

**Tabela LXII**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2% /50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>378</b>	349	379	383	366	371	395
<b>386</b>	394	416	424	434	418	393
<b>413</b>	424	395	417	464	435	429
<b>418</b>	394	460	469	418	480	381
<b>419</b>	337	342	384	-	355	352
<b>421</b>	320	322	339	369	345	329
<b>424</b>	326	376	377	381	388	345
<b>437</b>	291	322	356	307	336	309
<b>Média</b>	<b>354</b>	<b>377</b>	<b>394</b>	<b>391</b>	<b>391</b>	<b>367</b>
<b>EPM</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>18</b>	<b>14</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

**Tabela LXIII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 2</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30</b>
<b>378</b>	53	55	69	61	49	50
<b>386</b>	29	35	48	50	47	40
<b>413</b>	77	69	73	73	68	78
<b>418</b>	50	52	48	49	64	76
<b>419</b>	51	58	54	-	56	54
<b>421</b>	53	52	32	52	48	28
<b>424</b>	35	39	27	41	22	45
<b>437</b>	66	67	55	69	65	60
<b>Média</b>	<b>52</b>	<b>53</b>	<b>51</b>	<b>56</b>	<b>52</b>	<b>54</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

**Tabela LXIV-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção de bilateral **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 2</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30 min</b>
<b>365</b>	-253	-284	-287	-259	-272	-360
<b>386</b>	-81	-264	-297	-274	-234	-251
<b>413</b>	-367	-272	-299	-371	-311	-369
<b>418</b>	-310	-402	-408	-302	-366	-293
<b>419</b>	-240	-243	-272	-	-249	-298
<b>421</b>	-287	-260	-249	-261	-219	-181
<b>424</b>	-259	-265	-290	-284	-300	-234
<b>437</b>	-232	-224	-289	-223	-250	-244
<b>Média</b>	<b>-254</b>	<b>-277</b>	<b>-299</b>	<b>-282</b>	<b>-275</b>	<b>-279</b>
<b>EPM</b>	<b>29</b>	<b>19</b>	<b>17</b>	<b>17</b>	<b>17</b>	<b>23</b>
<b>n</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

**Tabela LXV-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>378</b>	3926	5255	6767	6752	4934	5849
<b>386</b>	506	508	621	1008	778	759
<b>413</b>	3178	2078	2311	2028	2463	1854
<b>418</b>	4146	906	3896	4134	1965	2801
<b>419</b>	638	2331	782	-	892	751
<b>421</b>	964	710	845	707	687	722
<b>437</b>	2910	3741	5209	6499	3032	4607
<b>Média</b>	<b>2324</b>	<b>2218</b>	<b>2919</b>	<b>3521</b>	<b>2107</b>	<b>2478</b>
<b>EPM</b>	<b>597</b>	<b>664</b>	<b>920</b>	<b>1098</b>	<b>583</b>	<b>778</b>
<b>n</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>7</b>



**Tabela LXVIII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 2	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30 min
461	80	68	68	63	66	58
483	41	27	29	44	39	36
484	41	54	37	27	26	38
487	40	38	44	32	43	27
497	38	8	21	32	30	23
574	55	40	37	46	57	-
<b>Média</b>	<b>49</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>41</b>	<b>44</b>	<b>36</b>
<b>EPM</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>

**Tabela LXIX-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

Rato	$\Delta$ controle	$\Delta$ 2	$\Delta$ 5	$\Delta$ 10	$\Delta$ 15	$\Delta$ 30 min
461	-251	-325	-247	-310	-264	-272
483	-252	-	-274	-435	-360	-256
484	-240	-83	-190	-169	-86	-155
487	-290	-241	-238	-196	-237	-238
497	-260	-53	-124	-177	-222	-359
571	-248	-224	-225	-254	-297	-
<b>Média</b>	<b>-257</b>	<b>-176</b>	<b>-215</b>	<b>-257</b>	<b>-234</b>	<b>-256</b>
<b>EPM</b>	<b>7</b>	<b>51</b>	<b>22</b>	<b>42</b>	<b>37</b>	<b>33</b>
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>



**Tabela LXX-** Área sobre a curva (UA) da resposta pressora à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80 µg/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **lidocaína (2%, 100 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>461</b>	-	2108	3251	2973	2847	2179
<b>483</b>	602	521	504	690	511	481
<b>484</b>	668	1167	1103	429	652	641
<b>487</b>	936	701	588	564	787	-
<b>497</b>	545	372	586	769	1409	859
<b>Média</b>	<b>688</b>	<b>974</b>	<b>1206</b>	<b>1085</b>	<b>1241</b>	<b>1040</b>
<b>EPM</b>	<b>86</b>	<b>313</b>	<b>522</b>	<b>476</b>	<b>430</b>	<b>387</b>
<b>n</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tabela LXXI**– Pressão arterial média (PAM mmHg) basal antes (controle) e aos 5, 10, 15, e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **salina (0.9%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>378</b>	102	106	99	96	94
<b>418</b>	115	113	110	117	106
<b>419</b>	88	79	85	79	82
<b>421</b>	92	97	-	96	95
<b>424</b>	111	-	107	108	112
<b>Média</b>	<b>102</b>	<b>99</b>	<b>100</b>	<b>99</b>	<b>98</b>
<b>EPM</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>5</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela LXXII**– Frequência cardíaca (FC bpm) basal antes (controle) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção bilateral de **salina (0.9%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b>controle</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>30 min</b>
<b>378</b>	417	420	447	428	389
<b>418</b>	393	402	393	383	363
<b>419</b>	342	336	342	338	331
<b>421</b>	339	324	323	330	329
<b>424</b>	340	-	327	324	330
<b>Média</b>	<b>366</b>	<b>371</b>	<b>366</b>	<b>361</b>	<b>348</b>
<b>EPM</b>	<b>16</b>	<b>24</b>	<b>24</b>	<b>20</b>	<b>12</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela LXXIII-** Alterações na pressão arterial média basal ( $\Delta$  PAM mmHg) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção de **salina (0.9%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30 min</b>
<b>378</b>	63	55	67	67	49
<b>418</b>	65	67	-	51	-
<b>419</b>	69	58	45	58	62
<b>421</b>	53	35	-	38	49
<b>424</b>	30	-	40	-	29
<b>Média</b>	<b>56</b>	<b>54</b>	<b>51</b>	<b>54</b>	<b>47</b>
<b>EPM</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

**Tabela LXXIV-** Alterações na frequência cardíaca ( $\Delta$  FC bpm) basal em resposta à ativação do quimiorreflexo [KCN iv (80  $\mu$ g/0.05 ml)] antes (controle) e aos 2, 5, 10, 15 e 30 minutos após a microinjeção de **salina (0.9%, 50 nl)** no PVN medial e posterior de ratos não anestesiados.

<b>Rato</b>	<b><math>\Delta</math> controle</b>	<b><math>\Delta</math> 5</b>	<b><math>\Delta</math> 10</b>	<b><math>\Delta</math> 15</b>	<b><math>\Delta</math> 30 min</b>
<b>365</b>	-332	-362	-348	-339	-301
<b>418</b>	-323	-297	-296	-302	-269
<b>419</b>	-226	-310	-316	-263	-231
<b>421</b>	-233	-239	-171	-177	-225
<b>424</b>	-327	-321	-358	-340	-389
<b>Média</b>	<b>-288</b>	<b>-306</b>	<b>-298</b>	<b>-284</b>	<b>-283</b>
<b>EPM</b>	<b>24</b>	<b>20</b>	<b>34</b>	<b>30</b>	<b>30</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela LXXV:** Pesos (gramas) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-72 horas antes e 24-96 horas após o implante bilateral de cânulas-guia (5.5 mm diâmetro) cerca de 3 mm acima do PVN.

Rato	-72	-48	-24	implante PVN			
				24	48	72	96 horas
1	299	311	316	310	323	330	335
2	304	310	317	311	319	319	324
3	300	299	316	306	302	312	314
4	300	311	315	314	324	329	328
5	300	309	309	309	295	312	315
6	300	310	316	305	320	320	327
7	291	292	291	299	303	312	-
8	267	268	272	286	290	290	-
9	276	287	300	297	293	318	-
10	273	291	292	304	301	305	-
11	285	297	292	312	300	314	-
12	269	276	295	295	312	321	-
<b>média</b>	<b>289</b>	<b>297</b>	<b>303</b>	<b>304</b>	<b>307</b>	<b>315</b>	<b>324</b>
<b>EPM</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>n</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>6</b>

**Tabela LXXVI:** Ingestão de ração (gramas/ normalizado para 100 g peso) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-72 horas antes e 24-96 horas após o implante bilateral de cânulas-guia (5.5 mm diâmetro) cerca de 3 mm acima do PVN.

Rato	-72	-48	-24	implante PVN			
				24	48	72	96 horas
1	11	12	-	-	-	9	11
2	11	10	-	-	-	8	11
3	11	13	-	-	-	-	-
4	12	10	11	-	-	-	11
5	11	11	12	1	-	-	-
6	11	10	10	2	-	-	-
7	11	8	8	7	10	10	-
8	10	10	11	3	8	10	-
9	12	11	12	3	7	10	-
10	14	11	12	3	5	10	-
11	14	10	13	7	-	10	-
12	10	13	13	3	-	12	-
<b>média</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>11</b>
<b>EPM</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>0,6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0,4</b>	<b>0,2</b>
<b>n</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>3</b>

**Tabela LXXII:** Ingestão de água (ml/ normalizado para 100 g peso) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-72 horas antes e 24-96 horas após o implante bilateral de cânulas-guia (5.5 mm diâmetro) cerca de 3 mm acima do PVN.

Rato	-72	-48	-24	implante PVN			
				24	48	72	96 horas
1	19	18	-	11	18	15	16
2	20	17	-	11	16	12	17
3	-	22	-	12	19	16	14
4	18	16	18	13	19	18	24
5	14	12	16	8	5	20	16
6	15	15	15	7	17	13	15
7	15	14	14	16	25	23	-
8	16	15	24	10	24	22	-
9	18	19	17	7	19	20	-
10	24	19	22	10	16	20	-
11	23	19	26	29	20	19	-
12	14	17	15	5	18	16	-
<b>média</b>	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	<b>11</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	<b>17</b>
<b>EPM</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>6</b>

**Tabela LXXVIII:** Excreção de urina (ml/ normalizado para 100 g peso) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-72 horas antes e 24-96 horas após o implante bilateral de cânulas-guia (5.5 mm diâmetro) cerca de 3 mm acima do PVN.

Rato	-72	-48	-24	implante PVN			
				24	48	72	96 horas
1	5	-	-	-	-	3	3
2	5	4	-	3	2	-	3
3	3	6	-	3	-	-	-
4	3	4	-	-	-	-	5
5	2	4	6	1	-	-	-
6	-	1	1	1	-	-	-
7	4	4	4	3	5	2	-
8	3	6	6	1	5	4	-
9	4	3	4	2	3	2	-
10	5	5	4	3	2	3	-
11	7	7	7	2	-	2	-
12	4	4	4	2	-	2	-
<b>média</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>EPM</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>0,3</b>	<b>1</b>	<b>0,3</b>	<b>1</b>
<b>n</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>3</b>



**Tabela LXXXI:** Ingestão de água (ml/ normalizado para 100 g peso) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-48 horas antes e 24-96 horas após a anestesia intraperitoneal dos animais com tribromoetanol (1ml/100g).

Rato	-72	-48	-24	anestesia (ip)			
				24	48	72	96 horas
1	14	13	13	16	11	15	14
2	15	15	11	17	17	17	19
3	15	19	13	2	12	24	23
4	17	19	20	14	13	10	12
5	15	13	14	13	16	14	12
<b>média</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>14</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>16</b>
<b>EPM</b>	<b>0,4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabela LXXXII:** Excreção de urina (ml/ normalizado para 100 g peso) dos animais alojados em gaiolas metabólicas individuais 24-72 horas antes e 24-96 horas após a anestesia (hora zero) intraperitoneal dos animais com tribromoetanol (1ml/100g).

Rato	-48	-24	0	anestesia (ip)			
				24	48	72	96 horas
1A	2	3	-	1	2	3	2
2A	3	4	2	2	2	3	4
3A	3	4	2	1	3	2	3
4A	5	-	5	2	5	-	6
5A	5	4	3	3	3	4	3
<b>média</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>EPM</b>	<b>1</b>	<b>0,3</b>	<b>1</b>	<b>0,4</b>	<b>0</b>	<b>0,4</b>	<b>1</b>
<b>n</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>5</b>





# 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](#)