Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Farmacologia

# Envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do núcleo leito da estria terminal na modulação do sistema cardiovascular em ratos.

Carlos Cesar Crestani

Ribeirão Preto
2009

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Farmacologia

# Envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do núcleo leito da estria terminal na modulação do sistema cardiovascular em ratos.

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em ciências. Área de concentração: Farmacologia.

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Morgan de Aguiar Corrêa**

Ribeirão Preto
2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

**FICHA CATALOGRÁFICA**
Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de Ribeirão Preto/USP

Crestani, Carlos Cesar.
Envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do núcleo leito da estria terminal na modulação do sistema cardiovascular em ratos. Ribeirão Preto, 2009.
121 p.: 31cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.
Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Corrêa, Fernando Morgan de Aguiar

1. noradrenalina. 2. pressão arterial. 3. freqüência cardíaca. 4. núcleo leito da estria terminal.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Carlos Cesar Crestani

Título: Envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do núcleo leito da estria terminal na modulação do sistema cardiovascular em ratos.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Doutor pelo curso de Pós-graduação em Ciências.
Área de concentração: Farmacologia.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof°. Dr. Fernando Morgan de Aguiar Corrêa
Instituição: FMRP-USP Assinatura:_____

Prof° Dr. José Eduardo Tanus dos Santos
Instituição: FMRP-USP Assinatura:_____

Prof° Dr. Hélio Zangrossi Júnior
Instituição: FMRP-USP Assinatura:_____

Prof° Dr. Laurival Antonio De Luca Junior
Instituição: UNESP-Araraquara Assinatura:_____

Profª. Dra. Marli Cardoso Martins-Pinge
Instituição: UEL-PR Assinatura:_____

Apoio Financeiro:

**FAPESP (processo: 06/57670-4)**

**Dedico,**

*À minha família:*

*- Minha esposa Lucinéia, pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Com amor, carinho e paciência me ajudou e me "agüentou" nos momentos mais difíceis.*

*- Aos meus pais. Minha mãe, por toda dedicação, carinho e atenção incondicional. Meu pai, por todo suporte e incentivo. Mas principalmente por me ensinarem que o caminho da honestidade e do respeito nos leva até os nossos sonhos.*

*- Ao meu irmão Eduardo pela força.*

*- À Deus, por me abençoar com a presença de cada uma dessas pessoas em minha vida, sem às quais eu não teria chegado até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Fernando Morgan, por me aceitar em seu laboratório. Durante estes anos de convivência contribuiu para minha evolução científica e intelectual através de sua atenção e paciência. Para mim o senhor é um exemplo, além de um grande cientista é um grande ser humano. Sou muito grato ao senhor por tudo.

Aos membros desta banca examinadora:

- Ao Prof. Dr. Hélio Zangrossi Jr., por aceitar participar desta banca durante suas férias, e pelas sugestões que contribuíram para melhoria deste trabalho.

- Ao Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos, por aceitar participar desta banca, e pelas sugestões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

- À Prof. Dra. Marli Cardoso Martins Pinge, que aceitou se deslocar de Londrina até Ribeirão Preto para participar desta banca, e pelas sugestões que contribuíram para melhoria deste trabalho. Mas principalmente, por ser a responsável pela minha inserção no meio científico, acompanhando minha formação desde a iniciação científica.

- Ao Prof. Laurival De Luca Jr., por aceitar participar da banca, se deslocando de Araraquara até Ribeirão Preto, e pelas sugestões que muito contribuíram para melhoria do trabalho.

À Ivanilda Fortunato, pelo cuidado com a preparação dos cortes histológicos. À Idália Aguiar, pela assistência técnica na realização dos procedimentos cirúrgicos.

À Simone Guilhaume, pela amizade e atenção, e também pelo apoio técnico.

Aos funcionários da secretária, Sônia Andrade, José Waldik Ramon e Fátima Petean, por toda competência, disponibilidade e atenção com que atendem as nossas necessidades burocráticas.

À Inês e Eliana, pela amizade e por cuidarem de nossos animais no biotério.

À Diva, pela amizade e alegria, e pelo cuidado com nosso material.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório:

- Ao Fernando Alves, por ter sido meu grande companheiro durante toda a pós-graduação, sendo um grande parceiro dentro e fora do laboratório. Um amigo que eu levo para a vida.

- Ao Leonardo Resstel, pelos ensinamentos que muito tem contribuído em minha formação, pelos auxílios, pelas colaborações, por todo incentivo e apoio, e principalmente pela amizade dentro e fora do laboratório. Mostrou-me que a dedicação e a coragem são as ferramentas para conseguirmos o que almejamos. Sou muito grato a você meu amigo.

- À Cristiane Busnardo, por toda amizade e apoio, e também pelas colaborações.

- À América Scopinho, pela amizade e discussões científicas.

- Ao Rodrigo Tavares, por todo auxílio.

- Ao Daniel Reis, Gislaine Pelosi, Milena Deolindo, Eduardo Fortaleza, Silvana Lopes, Érica Granjeiro e Teophanes Moraes Neto, pela amizade e companheirismo.

Aos amigos do departamento Felipe Villela e Daniele Aguiar, pela amizade.

Aos amigos que passaram pelo departamento, Sâmia Joca e Carlos Dias Junior.

À FAPESP e FAEPA pelo apoio financeiro.

*“O mundo é movido pela curiosidade,*

*pelas dúvidas e por questionamentos.”*

Autor desconhecido

## RESUMO

O núcleo leito da estria terminal (NLET) é uma estrutura telencefálica envolvida no controle do sistema cardiovascular. Em um estudo prévio, nós demonstramos pela primeira vez que a microinjeção de noradrenalina (NA) no NLET desencadeia aumento na pressão arterial (PA), no qual é mediado pela liberação sistêmica de vasopressina. No presente estudo, nós observamos que o pré-tratamento do NLET com crescentes doses do WB4101, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, ou do RX821002, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, parcialmente reduziram as respostas cardiovasculares observadas após a microinjeção de NA no NLET. A resposta da NA foi completamente bloqueada somente após o pré-tratamento do NLET com a combinação do WB4101+RX821002. A administração desta combinação também deslocou a curva dose-efeito para a esquerda, claramente mostrando uma potencialização do efeito do tratamento combinado com os antagonistas de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$. Estes dados evidenciam uma interação entre a ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET na mediação das respostas da NA. Nós também observamos que o pré-tratamento do NLET com propranolol, antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, ou CGP20712, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$, aumentou em 60% as respostas cardiovasculares observadas após microinjeção de NA no NLET, sugerindo que a ativação de adrenoceptores $\beta_1$ no NLET podem modular de maneira inibitória as respostas cardiovasculares desencadeadas pela ativação dos adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$.

Nós também investigamos o envolvimento dos núcleos hipotalâmicos paraventricular (NPV) e supraóptico (NSO) nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Nós observamos que o pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$, inibidor não-seletivo de sinapses, não afetou as respostas cardiovasculares da NA. Entretanto, tratamento do NPV com $CoCl_2$ bloqueou a resposta pressora desencadeada pela microinjeção de NA no NLET, sugerindo que a liberação de vasopressina em resposta á NA no NLET é mediada pela ativação de neurônios magnocelulares no NPV. Ainda, o pré-tratamento do NPV com NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA, também bloqueou as respostas cardiovasculares causadas pela administração NA no NLET, sugerindo que a ativação desses receptores no NPV está envolvida nas respostas cardiovasculares da NA no NLET.

Foi estudado o envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo. Microinjeção bilateral no NLET do WB4101 causou um aumento no ganho da resposta bradicárdica reflexa decorrente de aumentos da pressão arterial induzida pela infusão intravenosa de fenilefrina, sugerindo que a ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET tem uma influência inibitória sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo. Microinjeção bilateral no NLET do RX821002 ou de propranolol não afetou a atividade do barorreflexo. Além disso, administração do WB4101 em animais tratados intravenosamente com metilbrometo de homatropina, antagonista de receptores colinérgicos muscarínicos, não afetou a resposta bradicárdica reflexa, sugerindo que adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET controla a atividade do

barorreflexo através de uma modulação do componente parassimpático do baroreflexo

Por fim, investigamos o envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares observadas durante exercício físico dinâmico em uma esteira para roedores. Foi observado que a administração bilateral de $CoCl_2$ no NLET reduziu a resposta pressora e taquicárdica desencadeada pelo exercício físico dinâmico. Estes dados sugerem uma influência facilitatória do NLET sobre as respostas cardiovasculares observadas durante o exercício físico dinâmico.

## ABSTRACT

The bed nucleus of the stria terminalis (BST) is a telencephalic structure involved in central cardiovascular control. We have previously reported that noradrenaline (NA) microinjected into the BST elicited pressor response in unanesthetized rats, which was mediated by systemic release of vasopressin. In the present study, we observed that pretreatment of the BST with different doses of either the selective $\alpha_1$-adrenoceptor antagonist WB4101 or the selective $\alpha_2$-adrenoceptor antagonist RX821002 only partially reduced the response to NA. However, the response to noradrenaline was blocked when WB4101 and RX821002 were combined. Pretreatment with the combination also shifted the resulting dose-effect curve to the left, clearly showing a potentiating effect of the antagonist combination. These results indicate that activation of $\alpha_1$- and $\alpha_2$-adrenoceptors mediate the cardiovascular responses to NA microinjected into the BST. Also, pretreatment with different doses of either the nonselective β-adrenoceptor antagonist propranolol or the selective $\beta_1$-adrenoceptor antagonist CGP20712 increased the cardiovascular responses to NA into the BST, suggesting that activation of $\beta_1$-adrenoceptor modulates the responses mediated by activation of $\alpha_1$- and $\alpha_2$-adrenoceptors.

We also investigated involvement of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular (PVN) or supraoptic (SON) nuclei in the pressor response to NA microinjection into the BST. The SON pretreatment with the nonselective neurotransmission blocker $CoCl_2$ did not affect the NA-evoked pressor response. However, PVN pretreatment with $CoCl_2$ inhibited the pressor response to

NA microinjected into the BST, suggesting that the vasopressin release in response to NA into the BST is mediated by magnocellular neurons in the PVN. Also, PVN pretreatment with the selective non-NMDA receptor antagonist NBQX significantly reduced the pressor response to NA microinjected into the BST, indicating that activation of these receptors in the PVN is involved in the cardiovascular responses to NA administrated into the BST.

We studied involvement of BST noradrenergic neurotransmission in the modulation of bradycardiac baroreflex response. Bilateral microinjection of the selective $\alpha_1$-adrenoceptor antagonist WB4101 into the BST increased the gain of reflex bradycardia in response to mean arterial pressure increases caused by i.v. infusion of phenylephrine, suggesting that BST $\alpha_1$-adrenoceptors modulate baroreflex bradycardiac response. Bilateral microinjection of either the selective $\alpha_2$-adrenoceptor antagonist RX821002 or the nonselective β-adrenoceptor antagonist propranolol into the BST had not affected baroreflex bradycardia. Baroreflex bradycardiac responses evoked before and after BST treatment with WB4101 were no longer different when rats were pretreated intravenously with the cholinergic muscarinic receptor antagonist homatropine methyl bromide, suggesting that parasympathetic activation accounts for the effects saw after BST pharmacological manipulation.

Finally, we studied the involvement of the BST in the heart rate and arterial pressure increase evoked when rats are submitted to dynamic exercise in a rodent treadmill. Bilateral microinjection of $CoCl_2$ into the BST reduced the pressor and tachycardiac response evoked by dynamic exercise on the treadmill. These

results indicate a facilitatory influence of the BST in the exercise-evoked cardiovascular responses.

# 1.INTRODUÇÃO

O sistema cardiovascular desempenha um papel fundamental na homeostase do meio interno, garantindo uma perfusão sanguínea adequada a órgãos e tecidos, possibilitando assim o fornecimento de nutrientes e oxigênio e a excreção de metabólitos e gás carbônico.

A pressão arterial (PA) é a força motriz que garante uma perfusão tecidual adequada. A pressão arterial é continuamente regulada por mecanismos de regulação a longo e curto prazo (DAMPNEY*, et al.*, 2002). Fatores neurais e humorais, tais como a vasopressina e o sistema renina-angiotensina, promovem o ajuste da pressão arterial a longo prazo, ao controlar o volume sanguíneo e a resistência periférica (COWLEY *et al*, 1988; SZCZEPANSKA-SADOWSKA, 1996; DAMPNEY *et al*, 2005; GUYENET, 2006). Mecanismos reflexos como o barorreflexo, quimiorreflexo e o reflexo cardiopulmonar permitem um ajuste instantâneo da PA em resposta a alterações posturais, respiratórias e de volume sanguíneo (DAMPNEY, 1994; GUYENTET, 2006; MICHELINI, 2007).

Centros bulbares são os responsáveis pela manutenção do tônus pressório geral e pelo controle da PA através dos mecanismos reflexos cardiovasculares (DAMPNEY, 1994; SVED e GORDON, 1994; SAPRU, 2002). As terminações das fibras aferentes dos reflexos cardiovasculares estão localizadas no núcleo do trato solitário (NTS) (MIURA e REIS, 1969; DAMPNEY, 1994). Os neurônios da área rostroventrolateral do bulbo (RVLM) determinam o tônus simpático, participando assim na manutenção da PA e freqüência cardíaca (FC) basal (FELDBERG e GUERTZENSTEIN, 1972, DAMPNEY e MOON, 1980), além de mediar as alterações no componente simpático dos reflexos cardiovasculares (GRANATA*, et al.*, 1983). No núcleo ambíguo (NA) e no núcleo motor dorsal do

vago (NDV) estão localizados os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos (MCALLEN e SPYER, 1976), mediando o tônus parassimpático cardíaco e o componente parassimpático dos reflexos cardiovasculares (TAYLOR*, et al.*, 1999).

Além dos centros bulbares, estruturas suprabulbares também estão envolvidas na regulação do sistema cardiovascular. Foi relatado o envolvimento no controle cardiovascular de estruturas ventrais e dorsais da ponte como o núcleo braquial, o núcleo Kolliker-Fuse e o grupo de células A5; estruturas mesencefálicas como a substâncias cinzenta periaquedutal (SCP) e estruturas prosencefálicas incluindo o hipotálamo, núcleos da amígdala, regiões específicas do córtex e o núcleo leito da estria terminal (NLET) (DAMPNEY, 1994).

O NLET é uma estrutura telencefálica, que forma um contínuo rostralmente à amígdala (WELLER e SMITH, 1982). O NLET é subdividido neuro-anatomicamente em medial, lateral e ventral (MOGA*, et al.*, 1989). Por meio de extensas conexões com estruturas límbicas e com regiões bulbares (HOLSTEGE *et al.*, 1985; DONG e SWANSON, 2004; SPENCER *et al.*, 2005), o NLET tem importantes funções comportamentais, neuroendócrinas e no controle da atividade autonômica (DUNN, 1987; CIRIELLO e JANSSEN, 1993; WALKER *et al*, 2003; RESSTEL *et al*, 2008).

Dados indicam o envolvimento do NLET na regulação do sistema cardiovascular. Estimulação elétrica do NLET produz aumentos ou diminuições na pressão arterial em ratos anestesiados, de acordo com a região do NLET estimulado (DUNN e WILLIAMS, 1995). Estimulação do NLET com aminoácidos excitatórios, como glutamato e ácido D,L-homocisteico, causam respostas cardiovasculares caracterizadas por diminuição (CIRIELLO e

JANSSEN, 1993, GELSEMA*, et al.*, 1993, GIANCOLA*, et al.*, 1993, HATAM e NASIMI, 2007) ou aumento da PA (GELSEMA e CALARESU, 1987, DUNN e WILLIAMS, 1995), de acordo com a presença ou ausência de anestesia ou o sítio do NLET estimulado. Existem evidências de que a resposta de queda na PA observada após administração de glutamato no NLET é mediada pela ativação de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA e AMPA (HATAM e NASIMI, 2007), e inibição da atividade simpática (CIRIELLO e JANSSEN, 1993), através da ativação de neurônios no bulbo ventrolateral caudal (GIANCOLA*, et al.*, 1993). Além disso, foi demonstrado que a microinjeção de carbacol, um agonista colinérgico, é capaz de gerar respostas pressoras e bradicárdicas, que são mediadas pela liberação sistêmica de vasopressina (ALVES*, et al.*, 2007).

Terminações nervosas noradrenérgicas foram localizadas no NLET (PHELIX*, et al.*, 1992). Estas terminações originam do grupo de células noradrenérgicas A1, A2 e A5 (BYRUM e GUYENET, 1987, WOULFE*, et al.*, 1988, ASTON-JONES*, et al.*, 1999), e em menor extensão do A6 (MOORE, 1978). Estimulação elétrica do NLET causa liberação de noradrenalina (NA) (PHELIX*, et al.*, 1992), e os níveis extracelulares de NA no NLET são regulados por recaptação local e por ativação de adrenoceptores $\alpha_2$ (PALIJ e STAMFORD, 1992, PALIJ e STAMFORD, 1993).

Dados prévios de nosso laboratório constituem a primeira evidência da participação da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação do sistema cardiovascular (CRESTANI*, et al.*, 2007). Foi observado que a microinjeção de NA no NLET resulta em aumento da PA, acompanhado de bradicardia. Estas respostas foram bloqueadas após tratamento intravenoso (i.v.)

com um antagonista de receptores $V_1$ vasopressinérgicos, indicando o envolvimento da liberação sistêmica de vasopressina nestas respostas.

Estudos utilizando registros eletrofisiológicos e técnica de microdiálise sugeriram a presença de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET (SAWADA e YAMAMOTO, 1981, MATSUI e YAMAMOTO, 1984, FORRAY*, et al.*, 1999). Além disso, evidências farmacológicas indicaram a presença de adrenoceptores $\beta_1$ e $\beta_2$ no NLET (CECCHI*, et al.*, 2002). Apesar de estes estudos sugerirem a presença de adrenoceptores α e β no NLET, não existem evidências acerca dos adrenoceptores no NLET envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET.

A vasopressina é um peptídeo sintetizado por neurônios magnocelulares localizados no núcleo paraventricular (NPV) e supraóptico (NSO) do hipotálamo, sendo liberada para circulação periférica pela neuro-hipófise (SWAAB *et al*, 1975). Estudos neuroanatômicos mostraram conexões entre o NLET e estes dois núcleos hipotalâmicos (DONG *et al*, 2004). No entanto, não existem evidências do envolvimento dos núcleos hipotalâmicos NPV e NSO nas respostas cardiovasculares desencadeadas pela microinjeção de noradrenalina no NLET e mediadas pela liberação sistêmica de vasopressina.

Dados prévios de nosso laboratório mostraram que a microinjeção de $CoCl_2$, um bloqueador não seletivo de sinapses, no NLET reversivelmente altera a atividade do barorreflexo em ratos não anestesiados (CRESTANI*, et al.*, 2006). Os resultados mostraram que o tratamento do NLET com $CoCl_2$ causou um aumento no ganho da resposta bradicárdica reflexa decorrente de aumentos da pressão arterial, sem alterações na resposta

taquicárdica reflexa (CRESTANI*, et al.*, 2006). Estes resultados sugerem que o NLET tem uma influência inibitória sobre o baroreflexo, agindo preferencialmente na modulação do componente bradicárdico do baroreflexo. Experimentos posteriores demonstraram que a administração no NLET de um antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA ou de um inibidor seletivo da isoforma neuronial da enzima sintase do óxido nítrico (nNOS) também causou um aumento na resposta bradicárdica do barorreflexo (ALVES *et al*, 2009), indicando que a via NMDA-NO poderia mediar a influência inibitória do NLET sobre a atividade do barorreflexo. Entretanto, não existem evidências acerca do envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da atividade do barorreflexo.

Durante o exercício físico são observados aumentos na atividade simpática, PA, freqüência cardíaca (FC) e débito cardíaco (ROWELL & O'LEARY, 1990; MIKI *et al*, 2003). Estas alterações cardiovasculares são fundamentais para manter um adequado fluxo sanguíneo para os músculos em trabalho (AMARAL e MICHELINI, 1997; MICHELINI, 1998).

As respostas cardiovasculares observadas durante exercício são governadas, ao menos em parte, pelo sistema nervoso central (SNC) através de vários mecanismos neurais: o comando central (KROGH e LINDHARD, 1913; ROWELL, 1980; GANDEVIA *et al*, 1993; RAVEN *et al*, 2002; WILLIAMSON *et al*, 2006), que consiste no estímulo iniciado em estruturas telencefálicas, no qual acarreta ativação paralela de estruturas envolvidas na locomoção e no controle autonômico, determinando assim o padrão básico de atividade motora da musculatura esquelética e as respostas cardiovasculares durante o exercício

físico; mecanismos de retroalimentação a partir de receptores localizados nos músculos ativos (mecano e metaboceptores) (MCCLOSKEY e MITCHELL, 1972; HOLLANDER e BOUMAN, 1975; FISHER e WHITE, 2004), os quais estão relacionados à monitoração das alterações mecânicas e metabólicas na musculatura ativa; e mecanismos reflexos cardiovasculares (DEJOURS *et al*, 1957; ROWELL e O'LEARY, 1990; RAVEN, 2006), como o barorreflexo e o quimiorreflexo. As alterações cardiovasculares durante o exercício físico são acompanhadas por um aumento no *set-point* de regulação da PA pelos barorreceptores (ROWELL e O'LEARY, 1990; DiCARLO e BISHOP, 2001), e esta modulação do barorreflexo parece favorecer as respostas autonômicas e cardiovasculares durante o exercício (LUDBROOK e POTOCNIK, 1986; DICARLO e BISHOP, 1992).

Numerosos estudos investigaram de maneira indireta o envolvimento de estruturas do SNC nas respostas cardiovasculares ao exercício físico. Alguns estudos avaliaram em animais em repouso as respostas cardiovasculares e locomotoras desencadeadas pela estimulação de estruturas do SNC envolvidas na locomoção (WALDROP *et al*, 1996; RAVEN *et al*, 2006). Outros trabalhos avaliaram o efeito do bloqueio de estruturas específicas do SNC sobre as respostas cardiovasculares desencadeadas pela ativação de receptores na musculatura esquelética induzida pela contração estática da musculatura esquelética através de estimulação elétrica (KAUFMAN e FORSTER, 1996; POTTS, 2006). Entretanto, apenas um número limitado de estudos investigou de forma direta o envolvimento de estruturas específicas do SNC nas respostas cardiovasculares durante exercício físico dinâmico. Além disso, os estudos têm

focado no entendimento de estruturas do tronco cerebral e hipotalâmicas, não havendo informações acerca do envolvimento de estruturas telencefálicas.

Estudos utilizando exames de imagens em humanos e análise imuno-histoquímica da expressão da proteína c-Fos em animais indicaram ativação de diversas regiões prosencefálicas envolvidas no controle autonômico após contração estática da musculatura esquelética, ou após uma série de exercício físico dinâmico (GOZAL *et al*, 1995; LI *et al*, 1997; WILLIAMSON *et al*, 1999). Neste sentido, foi relatado um aumento nos níveis de RNA mensageiro para a proteína c-Fos no NLET de ratos após uma série de exercício dinâmico em uma esteira para roedores (TIMOFEEVA *et al*., 2003), indicando um envolvimento do NLET nas respostas relacionadas ao exercício físico.

Baseado nas evidências acima, as hipóteses do presente estudo são que as respostas cardiovasculares observadas após a administração de NA no NLET dependam da ativação de adrenoceptores α e/ou β do NLET, e de neurônios magnocelulares presentes no hipotálamo; que o sistema noradrenérgico do NLET está envolvido na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo; e que o NLET modula as respostas cardiovasculares observadas durante o exercício físico dinâmico.

# 2.OBJETIVOS

O presente estudo teve os seguintes objetivos:

1) Elucidar os receptores no NLET envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA, estudando a possível participação de adrenoceptores α e β;
2) Evidenciar a função desempenhada pelos núcleos hipotalâmicos paraventricular e supraóptico nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET, além de estudar a possível participação de sinapses glutamatérgicas nesses núcleos hipotalâmicos mediando essas resposta;
3) Estudar a participação da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da atividade do barorreflexo;
4) Verificar o envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico.

# 3.MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1- Animais

Foram utilizados ratos Wistar, de peso corporal variando entre 230-270g. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto e foram mantidos em caixas coletivas, com acesso livre a ração granulada e água, e submetidos à alternância de luz (12h claro/ 12h escuro). Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (processo: 166/2007)

### 3.2- Técnica de implante de cânula guia no sistema nervoso central

Os animais foram anestesiados com tribomoetanol (Aldrich Chemical Co. Inc.) na dose de 250 mg/Kg por via intraperitoneal (i.p.). Após a tricotomia, a cabeça do rato foi imobilizada em um estereotáxico (Stoelting, EUA), e foi realizada assepsia do campo cirúrgico com álcool a 70%. Para redução do sangramento durante a cirurgia, foi injetado 0,3 ml de solução de lidocaína com vasoconstritor (3% de fenilefrina, Harvey Química Farmacêutica Ind. e Comércio Ltda, Catanduva, SP). A calota craniana foi exposta por meio de uma incisão na pele de aproximadamente 1,5 cm, afastando-se completamente o periósteo. A limpeza da região foi feita utilizando-se solução salina e água oxigenada a 10%. Todas as coordenadas tiveram como referência os parâmetros obtidos do Atlas de Paxinos e Watson (1997), ajustados ao peso corporal do animal (BORGES,1999). O bregma foi utilizado como ponto de referência para a coordenada lateral.

Núcleo Leito da Estria Terminal (NLET)
Ântero-posterior: +7,7 mm em relação à interaural;
Lateral: + 4 mm a partir da sutura média;
Vertical: -5,8 mm em relação ao osso;
Incisivo = -3,2.

Núcleo Paraventricular do Hipotálamo (NPV)
Ântero-posterior: +7,2 mm em relação à interaural;
Lateral: + 0,6 mm a partir da sutura média;
Vertical: -6,8 mm em relação ao osso;
Incisivo = -3,2.

Núcleo Supra-ótico do hipotálamo (NOS)
Ântero-posterior: +7,6 mm em relação à interaural;
Lateral: +1,8 mm a partir da sutura média;
Vertical: -5,8 mm em relação ao osso;
Incisivo = -3,2.

Após o posicionamento da cânula de aço inoxidável, foi feito um orifício no crânio com auxílio de broca odontológica, por onde foi introduzida a cânula constituída por um segmento de agulha hipodérmica (26 x 0,6 mm, 23 gauge). A cânula foi fixada ao crânio com uma resina acrílica autopolimerisável (Simplex, DFL, Ind. Com., Rio de Janeiro, RJ) e pequenos parafusos foram previamente implantados na calota craniana. Um mandril com 0,2 mm de diâmetro foi introduzido na cânula, evitando a obstrução da mesma durante o período de recuperação do animal. Como medida profilática, ao final da cirurgia o animal recebeu 0,2 mL de um poli-antibiótico veterinário com estreptomicina e penicilina (Fontoura-Wyeth, São Paulo, Brasil) por via intramuscular (i.m.) para prevenir

infecção, além do anti-inflamatório flunixine meglumine (2,5mg/Kg, i.m.) (Banamine, Schering Plough, Brazil) para analgesia pós-operatória.

**3.3- Canulação da artéria e veia femorais**

Setenta e duas horas após a implantação das cânulas guias no SNC, os animais foram anestesiados novamente com tribomoetanol (250 mg/Kg, i.p.). Foram implantados cateteres na artéria femoral, e quando necessário na veia femoral. Estes vasos foram dissecados e cateteres de polietileno foram introduzidos até a artéria aorta abdominal inferior ou veia cava, respectivamente. Os cateteres foram constituídos por segmentos de polietileno PE-10 (4-5 cm) soldados a segmentos de polietileno PE-50 (12-13 cm), previamente preenchidos por solução salina e anticoagulante (15 U/mL de heparina em solução salina), e obstruídos com pino de metal. Após implantação dos cateteres, os mesmos foram exteriorizados na região dorsal do animal através de um trocater e fixados à pele por sutura cirúrgica.

O cateter arterial foi utilizado para registro da pressão arterial e o cateter venoso para injeção de drogas. Os experimentos foram realizados pelo menos 24 h após o procedimento cirúrgico para implantação do cateter na artéria femoral, permitindo a recuperação dos animais dos efeitos anestésicos. Os animais foram mantidos em caixas individuais durante todo o período pós-operatório e de realização dos experimentos. Como medida profilática, ao final da cirurgia os animais receberam novamente o anti-inflamatório flunixine meglumine

(2,5mg/Kg, i.m.) (Banamine, Schering Plough, Brazil) para analgesia pós-operatória.

### 3.4- Registro da pressão arterial e freqüência cardíaca

Antes do início dos registros, 0,1 ml de solução salina com heparina (15 U/ml) foi injetada no interior dos cateteres, evitando obstruções. O cateter implantado na artéria femoral foi conectado a um transdutor de pressão (Hewlett Packard, EUA) por um segmento de polietileno PE-50. A pressão arterial pulsátil foi registrada usando um pré-amplificador (HP7754-A, Hewlett Packard, EUA) e uma placa de aquisição de dados (MP100A, Biopac systems Inc. EUA) conectado a um computador. A pressão arterial media (PAM) e FC foram derivadas da pressão arterial pulsátil e processadas *on-line*.

### 3.5- Microinjeção de drogas no sistema nervoso central

As drogas administradas no SNC foram dissolvidas em líquido cefalorraquidiano artificial (LCA). As agulhas injetoras (33 G, Small Parts, EUA) que foram utilizadas para microinjeção das drogas foram um mm mais longa do que a cânula guia fixada ao crânio, e foram conectadas a uma seringa de 2 µl (Hamilton, EUA) através de um tubo de polietileno (PE-10). As drogas foram injetadas no volume de 100nL.

### 3.6- Estimulação baroreflexa

A estimulação dos baroreceptores foi realizada por infusão i.v. de fenilefrina (50µg/ Kg), causando aumentos na PA, utilizando-se uma bomba de infusão (K.D. Scientific, EUA) (CRESTANI *et al*, 2006; ALVES *et al*, 2009). O cateter da veia femoral foi conectado através de um tubo de polietileno (PE-50) a uma seringa de 1mL preenchida com a solução vasoativa. A seringa, por sua vez, foi montada na bomba de infusão, a qual foi programada para uma velocidade de infusão de 0,34 mL/min/Kg. Desta forma foi possível obtenção de variações na PA (aumentos na pressão arterial) entre 50 a 60 mmHg em um período de 40 a 50 segundos de infusão. A fenilefrina foi dissolvida em salina 0,9%.

### 3.7- Drogas utilizadas

- Cloreto de noradrenalina (SIGMA, EUA)
- Cloreto de Cobalto ($CoCl_2$), bloqueador não-seletivo de sinapses (SIGMA, EUA)
- WB4101, antagonista seletivo dos adrenoceptores $\alpha_1$ (SIGMA, EUA)
- RX821002, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$ (SIGMA, EUA)
- Propranolol, antagonista não-seletivo de adrenoceptores β (SIGMA, EUA)
- CGP20712, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$ (TOCRIS, EUA)
- ICI188,551, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$ (TOCRIS, EUA)
- LY235959, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA (TOCRIS, EUA)
- NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA (TOCRIS, EUA)

- Metilbrometo de homatropina, antagonista de receptores muscarínicos colinérgicos (SIGMA, EUA)

-Tribromoetanol (SIGMA, EUA)

- Uretana (SIGMA, EUA)

**3.8- Determinação anatômica dos sítios de injeção das drogas**

Ao final de cada experimento, os animais foram anestesiados com uretana na dose de 1,2 g/kg intraperitoneal, antes do início da perfusão. Foi injetado o corante azul de Evan a 1% no local da microinjeção da droga no SNC. Em seguida, os ratos foram submetidos à abertura da caixa torácica para exposição do coração. Para facilitar a perfusão cerebral, a aorta descendente foi bloqueada com uma pinça hemostática. Uma incisão foi feita na aurícula direita para o escoamento do sangue e do perfusado, e uma agulha para perfusão foi introduzida no ventrículo esquerdo. A perfusão foi realizada inicialmente com 20 mL de solução fisiológica de NaCl 0,9%, seguida por 20 mL de solução tamponada de formalina 10%.

Posteriormente, os cérebros foram retirados da caixa craniana e pós-fixados na respectiva solução de perfusão. Os cérebros foram seccionados com o auxílio de um criostato. Foram feitas várias secções na região do NLET, NPV e NSO, nas quais foram coradas com vermelho neutro a 1% e analisadas utilizando-se o Atlas de Paxinos e Watson (1997) como referência.

### 3.9- Análise Estatística

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Os valores basais de PAM e FC e as respostas cardiovasculares máximas no estudo da participação do NPV e/ou NOS nas respostas cardiovasculares à administração de NA no NLET foram comparados utilizando o teste t de *Student* pareado (antes do tratamento vs após tratamento). Análise de regressão não-linear foi utilizada para estudar o efeito da administração de diferentes doses dos antagonistas de adrenoceptores no NLET sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA. Análise de variância (ANOVA) de duas vias (tempo vs tratamento) foi usada para comparar curvas temporais de variações da PA e FC. ANOVA de duas vias (tratamento vs intensidade) também foi utilizado para análise das respostas cardiovasculares em cada velocidade de exercício.

Para o estudo da participação da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo, a análise foi feita relacionando os pontos de aumento da PAM (10, 20, 30 e 40 mmHg) com a variação reflexa da FC correspondente. Utilizando os pontos obtidos da correlação na variação da PA e FC durante as infusões de fenilefrina foram traçadas curvas de regressão linear e comparados os valores de inclinação da curva antes e 10 e 60 minutos após tratamento farmacológico do NLET. ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Dunnett, foi utilizada para análise estatística dos valores de inclinação das curvas.

# 4.PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Todos os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânula guia direcionada às estruturas já referidas do SNC, e mantidos em recuperação por 72 h. Os experimentos foram realizados 24 h após a cirurgia de implantação do cateter na artéria femoral. Os animais foram mantidos em caixas individuais na sala de experimentação por 60 minutos antes do início dos experimentos.

**4.1- Estudo dos adrenoceptores envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados.**

Estes experimentos foram realizados em dois dias, a fim de evitar o fenômeno da taquifilaxia. No primeiro dia os animais receberam uma microinjeção de NA (10nmol/ 100nL, CRESTANI *et al*, 2007) no NLET. Após 24 h a NA foi microinjetada 10 minutos após a microinjeção dos antagonistas ou veículo no NLET.

*4.1.1- Efeito do pré-tratamento do NLET com WB4101 ou RX821002 sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados.*

Este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento dos adrenoceptores α nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Para tanto, foi utilizado diferentes doses (10, 15 e 25 nmol/100nL) do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, WB4101; e do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, RX821002.

*4.1.2- Efeito do pré-tratamento do NLET com propranolol, CGP20712 ou ICI188,551 sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.*

Este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento de adrenoceptores β nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Para tanto, foi utilizado diferentes doses (5, 15 e 25 nmol/100nL) do antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, propranolol; do antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$, CGP20712; e do antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$, ICI188,552.

**4.2- Estudo do envolvimento dos núcleos hipotalâmicos paraventricular (NPV) e supraóptico (NSO) nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados.**

Estes experimentos foram realizados em dois dias, a fim de evitar o fenômeno da taquifilaxia. No primeiro dia os animais receberam uma microinjeção de NA (10nmol/ 100nL, CRESTANI *et al*, 2007) no NLET. Após 24 h a NA foi microinjetada no NLET 10 minutos após a microinjeção das drogas ou de veículo no NPV ou NSO do hipotálamo. A microinjeção de veículo ou das drogas nestas estruturas hipotalâmicas foi realizada ipsilateral ao sítio de injeção no NLET. O envolvimento do NPV e do NSO foi avaliado em animais diferentes.

*4.2.1- Efeito do pré-tratamento do NPV ou do NSO com $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.*

Este experimento teve por objetivo verificar a possível presença de sinapses no NPV e/ou NSO mediando as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Para tanto, foi utilizado o bloqueador não-seletivo de sinapses, $CoCl_2$ (1nmol/100nL) (CRESTANI *et al*, 2006; TAVARES *et al*, 2009). A microinjeção do $CoCl_2$ nestas estruturas hipotalâmicas foi ipsilateral ao sítio de injeção no NLET. Além disso, o tratamento do NPV e NSO foi realizado em animais diferentes.

*4.2.2- Efeito do pré-tratamento do NPV com LY235959 ou NBQX sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.*

Uma vez confirmada a presença de sinapses no NPV mediando as respostas cardiovasculares para microinjeção de NA no NLET, este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento de receptores glutamatérgicos no NPV nesta mediação. Para tanto, foi utilizado o antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA, LY235959 (2nmol/ 100nL) (BUSNARDO *et al*, 2009); e o antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA, NBQX (2nmol/ 100nL) (BUSNARDO *et al*, 2009). A microinjeção dos antagonistas glutamatérgicos no NPV foi ipsilateral ao sítio de injeção no NLET.

**4.3- Estudo do envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da atividade do barorreflexo.**

Nestes experimentos foram realizadas infusões de fenilefrina para determinação dos valores controles de atividade bradicárdica do barorreflexo. Em seguida, foram microinjetados os antagonistas noradrenérgicos ou veículo bilateralmente no NLET, e 10 e 60 minutos após foi realizada nova infusão de fenilefrina. As doses dos antagonistas de adrenoceptores foram selecionadas a partir das curvas de inibição geradas no estudo anterior.

*4.3.1- Efeito do pré-tratamento do NLET com WB4101, RX821002 ou propranolol sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo em ratos não anestesiados.*

Este experimento teve por objetivo verificar o envolvimento de adrenoceptores do NLET na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo. Para tanto, foi administrado o antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, WB4101 (15nmol/ 100nL); o antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, RX821002 (15nmol/ 100nL) ou o antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, propranolol (15nmol/ 100nL).

*4.3.2- Efeito do pré-tratamento intravenoso (i.v.) com metilbrometo de homatropina e da microinjeção bilateral de WB4101 no NLET sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo em ratos não anestesiados.*

Este experimento teve por objetivo estudar o envolvimento do componente parassimpático do baroreflexo na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo pelos adrenoceptores $\alpha_1$ do NLET. Para isto, os

animais foram pré-tratados intravenosamente com o antagonista de receptores colinérgicos muscarínicos, metilbrometo de homatropina (1.5 mg/ Kg), o qual não atravessa a barreira hematoencefálica. Dez minutos após, foram realizadas infusões de fenilefrina antes, para obtenção dos valores controle da atividade do barorreflexo, e 10 minutos após a microinjeção bilateral de WB4101 (15nmol/ 100nL) no NLET.

**4.4- Estudo do envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico em ratos.**

Antes dos procedimentos cirúrgicos, todos os animais utilizados nestes protocolos foram inicialmente submetidos a 4-5 sessões de 10 minutos de corrida em uma esteira para roedores (Insight, Brasil), com velocidade crescente de 0,3 a 0,8 km/h e 0% de inclinação, para seleção dos animais com capacidade de andar/correr na esteira e adaptação ao ambiente da esteira. Em seguida, os animais foram submetidos às cirurgias de implantes de cânula guia no NLET e implantação de cateter na artéria femoral, como descrito acima.

No dia do experimento, os animais foram submetidos a testes de exercício físico dinâmico agudo, que consistiram de corrida na esteira em três níveis de intensidade (0,4, 0,8 e 1 km/h), cada estágio tendo a duração de dois minutos, com 0% de inclinação (DUFLOTH *et al*, 1997; BRAGA *et al*, 2000). Após um período de descanso de 60 minutos, veículo ou $CoCl_2$ foi microinjetado no NLET, e decorridos 10 minutos os animais foram submetidos novamente ao teste físico. Os protocolos experimentais são similares àqueles descritos anteriormente

(DUFLOTH *et al*, 1997; BRAGA *et al*, 2000). Um grupo de animais foi colocado na esteira, e permaneceu em repouso no ambiente da esteira por seis minutos.

*4.4.1 – Efeito do pré-tratamento do NLET com $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares do exercício físico dinâmico em ratos.*

Este experimento teve por objetivo verificar a possível participação do NLET nas respostas cardiovasculares desencadeadas pelo exercício físico dinâmico. Para tanto, foi utilizado o bloqueador não-seletivo de sinapses, $CoCl_2$ (1 nmol/ 100nL) (CRESTANI *et al*, 2006).

*4.4.2 – Efeito do pré-tratamento do NLET com veículo ou $CoCl_2$ no teste de campo aberto.*

Este experimento teve por objetivo verificar se o tratamento do NLET com $CoCl_2$ afeta a atividade motora dos animais. Dez minutos após administração de veículo ou $CoCl_2$ no NLET os animais foram colocados individualmente no centro de uma arena circular feito com plástico transparente (76.5 cm de diâmetro, com uma parede de 49 cm de altura). A distância percorrida pelos animais foi medida durante 10 minutos. Atividade exploratória durante o teste foi filmada e analisada posteriormente com a ajuda do programa *Ethovision (*versão 1.9, Noldus, Holanda*)*

# 5.RESULTADOS

**5.1- Efeito do pré-tratamento do NLET com WB4101 e/ou RX821002 sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.**

**Veículo -** Pré-tratamento do NLET com LCA (100nL, n=5) não afetou as respostas pressora (33±3 vs 35±3 mmHg; t= 0.56, p>0.05) e bradicárdica (-35±6 vs -32±5, t=0.3, p>0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados.

**WB4101 -** A microinjeção no NLET do WB4101, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, não afetou os valores basais de PAM (98±3 vs 99±4 mmHg; t= 0.06, p>0.05) e FC (341±12 vs 345±5 bpm; t=0.3; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses do WB4101 (10, 15 e 25nmol/100nL; n=4 para cada dose) causou uma redução dose-dependente nas respostas pressora ($r^2$=0.87, *df*=9, *p*<0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.89, *df*=9, *p*<0.05) desencadeada pela microinjeção de NA no NLET (Figura 1). A maior dose de WB4101 causou somente uma redução parcial na resposta pressora (38±2%) e bradicárdica (38±3%) à microinjeção de NA no NLET (Figura 1).

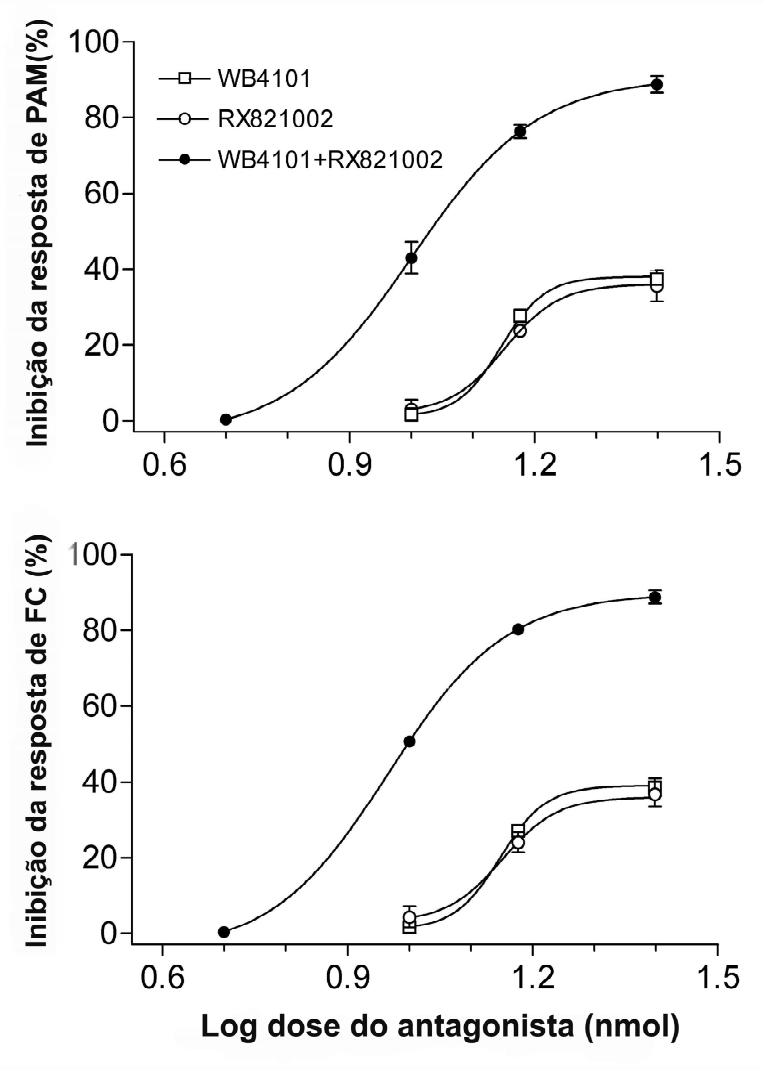


**Figura 1-** Percentual de inibição da resposta de pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) à microinjeção de noradrenalina no NLET após o pré-tratamento do NLET com diferentes doses do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, WB4101 (10, 15 e 25nmol/100nL), do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, RX821002 (10, 15 e 25nmol/100nL) ou da combinação do WB4101+RX821002 (5, 10, 15 e 25nmol/100nL). As curvas foram geradas utilizando análise de regressão não-linear. Os símbolos representam a média e as linhas verticais os erros padrões das médias.

**RX821002 -** A microinjeção no NLET do RX821002, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, não afetou os valores basais de PAM (98±2 vs 97±4 mmHg; t= 0.06, p>0.05) e FC (332±14 vs 341±8 bpm; t=0.7; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses do RX821002 (10, 15 e 25nmol/100nL; n=4 para cada dose) causou uma redução dose-dependente nas respostas pressora ($r^2$=0.81, *df*=9, *p*<0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.80, *df*=9, *p*<0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET (Figura 1). A maior dose de RX821002 causou somente uma redução parcial na resposta pressora (35±4%) e bradicárdica (37±3%) (Figura 1). A redução máxima das respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET que foram observadas após pré-tratamento do NLET com RX821002 não foi significativamente diferente da redução máxima causada pelo tratamento do NLET com WB4101 (MAP: p>0.05; HR: p>0.05).

**WB4101+RX821002 -** A microinjeção no NLET da combinação do WB4101+RX821002 não afetou os valores basais de PAM (95±2 vs 97±1 mmHg; t=0.7, p>0.05) e FC (349±8 vs 355±12 bpm; t=0.5; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses da combinação do WB4101+RX821002 (5, 10, 15 e 25nmol/100nL; n=3 para 5nmol e n=4 para as outras doses) causou uma redução dose-dependente nas respostas pressora ($r^2$=0.91, *df*=10, *p*<0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.99, *df*=10, *p*<0.05) observada após microinjeção de NA no NLET (Figura 1). A maior dose da combinação do WB4101+RX821002 bloqueou a resposta pressora (89±4%) e bradicárdica (88±3%) à microinjeção de NA no NLET (Figura 1). O bloqueio máximo causado pelo pré-tratamento do NLET com a combinação do WB4101+RX821002 foi maior do que o tratamento do NLET com cada

antagonista individualmente (MAP: F=76, p<0.0001; HR: F=94, p<0.0001). Registros representativos mostrando as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET, e o efeito do pré-tratamento do NLET com a maior dose utilizada do WB4101, RX821002 ou da combinação do WB4101+RX821002 sobre estas respostas são apresentados na Figura 2.

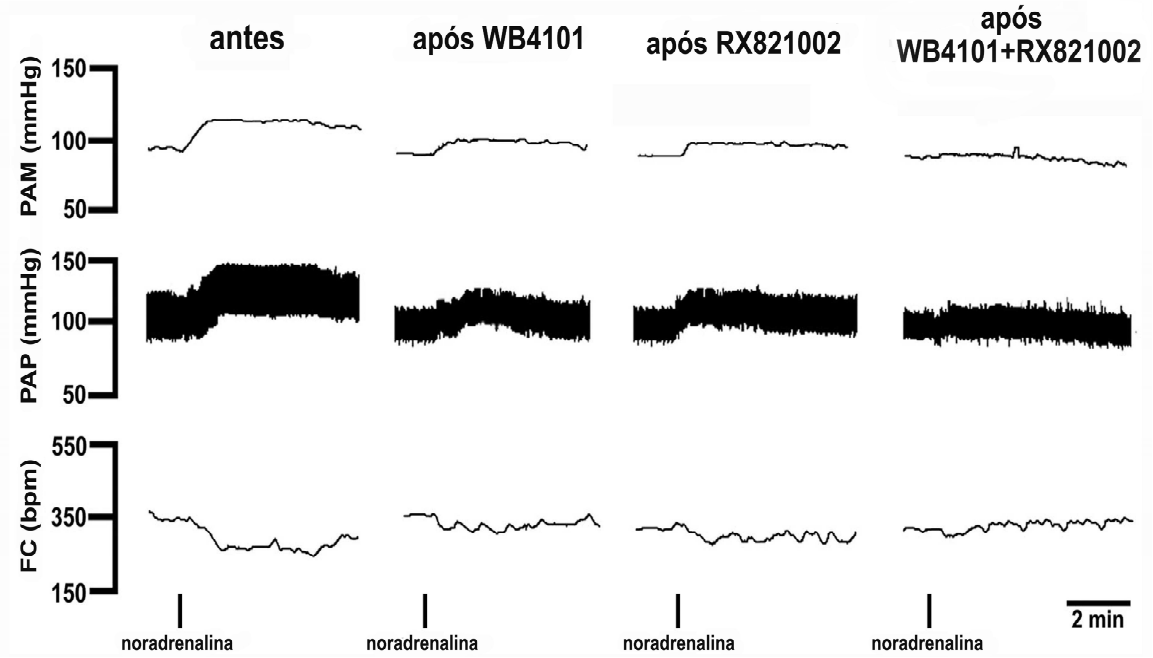


**Figura 2-** Registros representativos das variações na pressão arterial média (PAM), pressão arterial pulsátil (PAP) e freqüência cardíaca (FC) em resposta a microinjeção de noradrenalina (10nmol/100nL) no NLET antes e após pré-tratamento do NLET de diferentes animais com WB4101 (25nmol/100nL), RX821002 (25nmol/100nL) ou WB4101+RX821002 (25nmol/100nL).

**5.2- Efeito do pré-tratamento do NLET com propranolol, CGP20712 ou ICI188,551 sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.**

**Propranolol -** A microinjeção no NLET de propranolol, antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, não afetou os valores basais de PAM (100±4 vs 102±5 mmHg; t=0.4, p>0.05) e FC (334±8 vs 337±13 bpm; t=0.3; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses de propranolol (2.5, 7.5 and 12.5 nmol; n=4 para cada dose) causou um aumento dose-dependente nas respostas pressora ($r^2$=0.85, *df*=9, *p*<0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.87, *df*=9, *p*<0.05) à microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados (Figura 3). Os aumentos máximos foram 64±7% e 56±4% para a resposta pressora e bradicárdica, respectivamente (Figura 3).

**CGP20712 -** A microinjeção no NLET do CGP20712, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$, não afetou os valores basais de PAM (100±4 vs 97±4 mmHg; t= 0.5, p>0.05) e FC (339±10 vs 345±8 bpm; t=0.5; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses do CGP20712 (2.5, 7.5 and 12.5 nmol; n=4 para cada dose) causou um aumento dose-dependente nas respostas pressora ($r^2$=0.81, *df*=9, p<0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.79, *df*=9, p<0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET (Figura 3). Os aumentos máximos foram 63±5% e 52±4% para a resposta pressora e bradicárdica, respectivamente (Figura 3). Figura 4 mostra um registro representativo ilustrando o efeito do pré-tratamento do NLET com CGP20712 sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados.

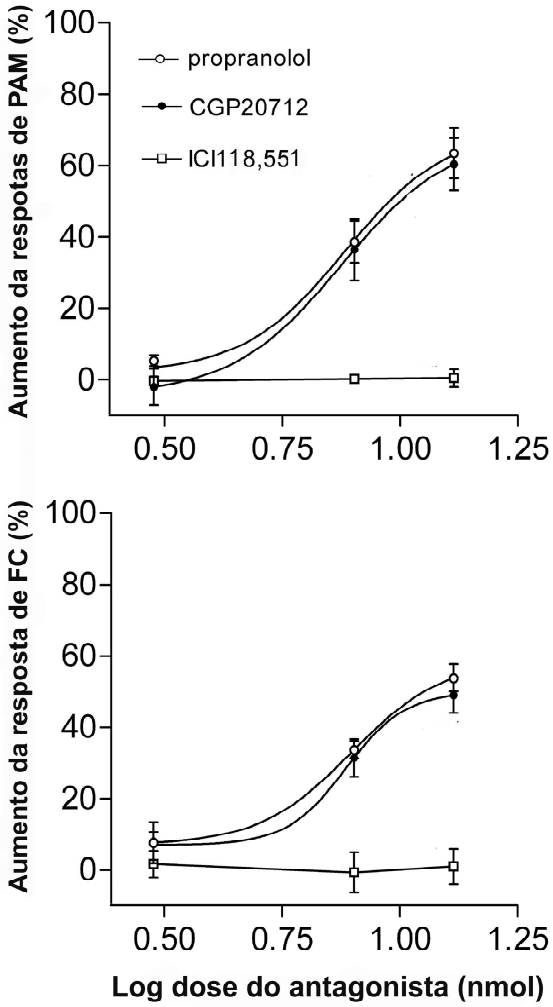


**Figura 3-** Percentual de aumento da resposta de pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) para a microinjeção de noradrenalina no NLET após o pré-tratamento do NLET com diferentes doses do antagonista não-seletivo de adrenoceptores β propranolol (2.5, 7.5 e 12.5 nmol/100nL), do antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$ CGP20712 (2.5, 7.5 e 12.5 nmol/100nL) ou do antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$ ICI118,551 (2.5, 7.5 e 12.5 nmol/100nL). As curvas foram geradas utilizando análise de regressão não-linear. Os símbolos representam a média e as linhas verticais os erros padrões das médias.

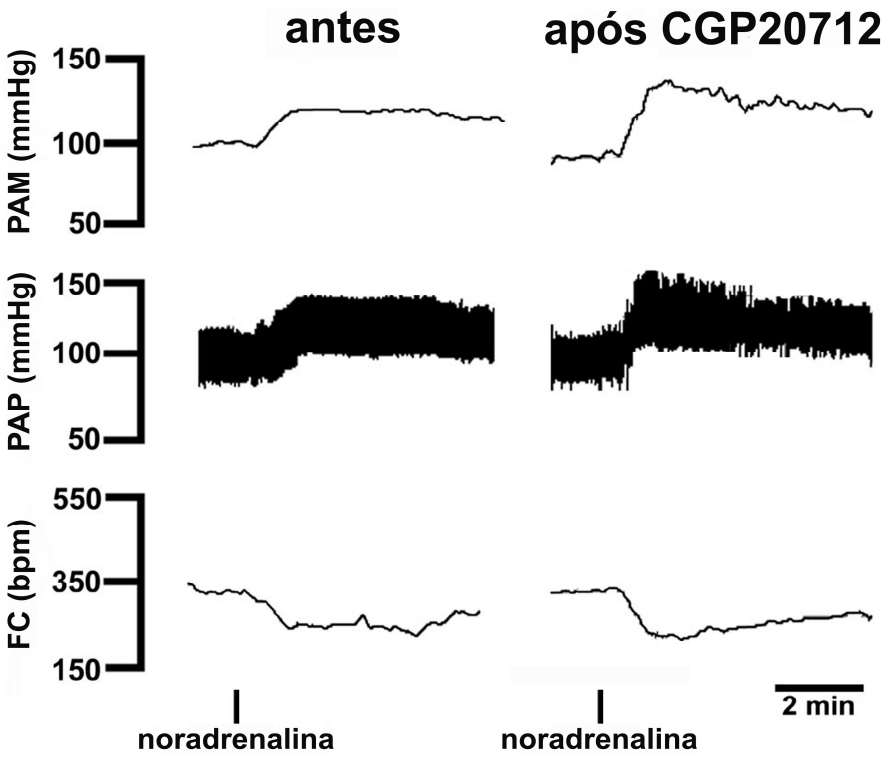


**Figura 4-** Registros representativos das variações na pressão arterial média (PAM), pressão arterial pulsátil (PAP) e freqüência cardíaca (FC) em resposta à microinjeção de noradrenalina (10nmol/100nL) no NLET antes e após pré-tratamento do NLET com CGP20712 (12.5nmol/100nL).

**ICI118,551 -** A microinjeção no NLET do ICI118,551, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$, não afetou os valores basais de PAM (99±4 vs 98±3 mmHg; t= 0.2, p>0.05) e FC (341±7 vs 336±6 bpm; t=0.8; p>0.05). Pré-tratamento do NLET com diferentes doses do ICI118,551 (2.5, 7.5 and 12.5 nmol; n=4 para cada dose) não afetou as respostas pressora ($r^2$=0.01, *df*=9, *p*>0.05) e bradicárdica ($r^2$=0.02, *df*=9, *p*>0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET de ratos não-anestesiados (Figura 3).

Representação diagramática dos sítios de injeção no NLET de todos animais utilizados no estudo dos adrenoceptores envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET, e uma fotomicrografia representativa da secção coronal do cérebro de um dos animais utilizados neste conjunto de experimentos são apresentadas na Figura 5.

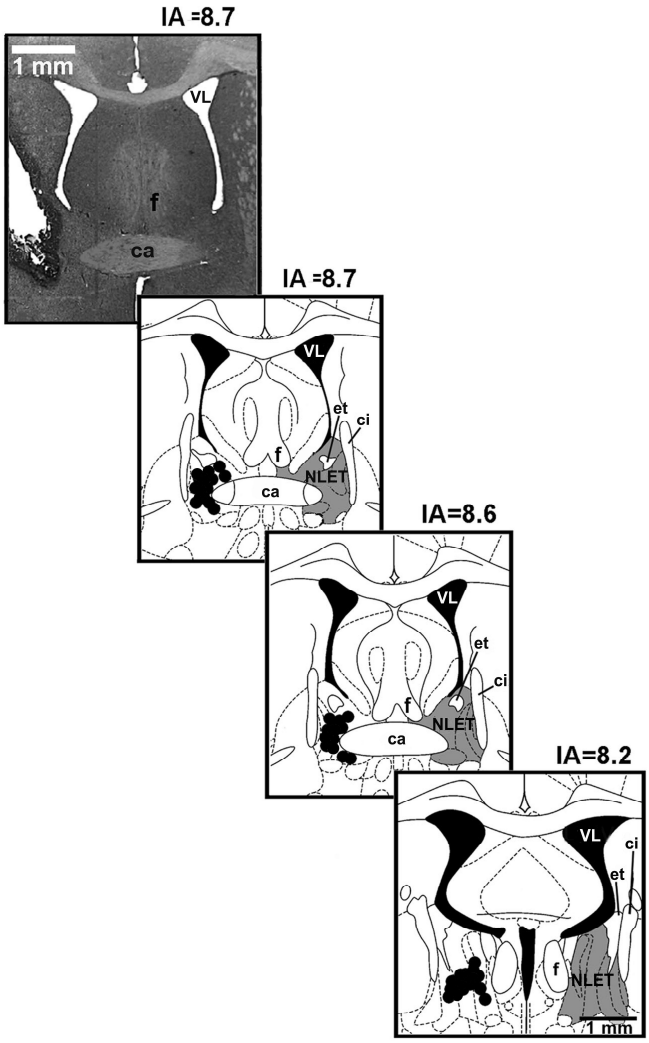


**Figura 5-** Fotomicrografia e representação diagramática (Modificada de Paxino e Watson, 1997) indicando os sítios de injeção de todos animais utilizados nos experimentos que estudaram os adrenoceptores envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de noradrenalina no NLET de ratos não-anestesiados. ca- comissura anterior; ci- cápsula interna; et- estria terminal; f- fornix; IA- inter-aural; NLET- núcleo leito da estria terminal e VL- ventrículo lateral.

**5.3- Efeito do pré-tratamento do NPV ou do NSO com $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares para microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.**

A microinjeção de NA (10nmol/ 100nL) no NLET causou resposta pressora e bradicárdica. Nenhum efeito cardiovascular foi observado quando NA foi administrada em estruturas adjacentes ao NLET, como a comissura anterior, a cápsula interna, o fornix ou a estria terminal (PAM: 96±2 vs 98±1, t=1, p>0.05 e FC: 347±7 vs 354±5; t=0,8, p>0.05, n=10). Representação diagramática dos sítios de injeção de NA no NLET e em estruturas adjacentes ao NLET de todos os animais utilizados no estudo da participação do NPV e/ou NSO sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET, e uma fotomicrografia representativa mostrando o sitio de injeção no NLET de um dos animais utilizados neste conjunto de experimentos é apresentado na Figura 6.

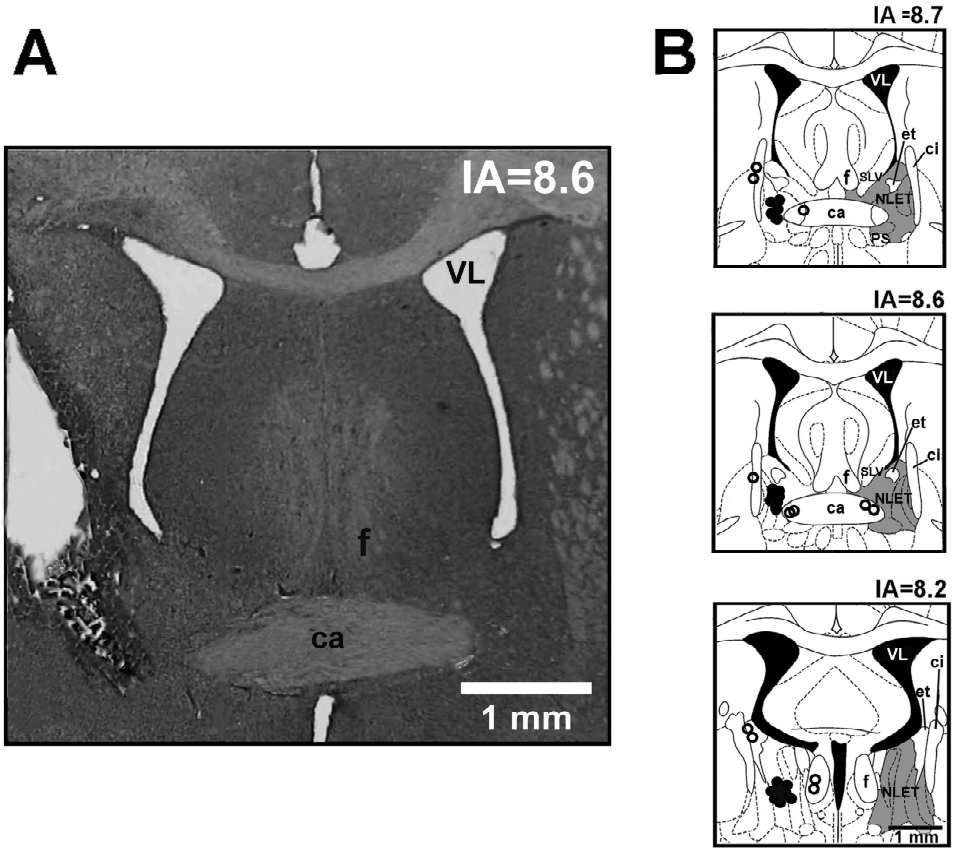


**Figura 6- A)** Fotomicrografia do cérebro de um rato representativo mostrando o sitio de injeção de NA no NLET. **B)** Representações diagramáticas (modificada de Paxinos e Watson, 1997) indicando os sítios de microinjeção de NA no NLET (círculos pretos) e em estruturas adjacentes ao NLET (círculos brancos) de todos os animais utilizados no estuda da participação do NPV e/ou NOS nas respostas cardiovasculares a microinjeção de NA no NLET. ca- comissura anterior, cc- corpo caloso, ci- cápsula interna, et- estria terminal, f-fornix, IA- interaural e VL- ventrículo lateral.

*5.3.1- Efeito do pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares para microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.*

Microinjeção de LCA (100nL, n=5) no NSO não afetou os valores basais de PAM (96±3 vs 97±2 mmHg, t=1, p>0.05) ou FC (345±10 vs 346±7 bpm, t=0.4, p>0.05). O tratamento com LCA também não afetou as respostas pressora (31±4 vs 30±3 mmHg; t=0.3, p>0.05) e bradicárdica (-35±4 vs -34±3 bpm; t=0.5, p>0.05) para a administração de NA no NLET (Figura 7).

Microinjeção no NSO de $CoCl_2$ (1nmol/100nL, n=6), bloqueador não-seletivo de sinapses, não afetou os valores basais de PAM (94±4 vs 97±3 mmHg, t=0.5, p>0.05) ou FC (344±10 vs 336±7 bpm, t=0.6, p>0.05). O pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$ também não afetou a resposta pressora (30±3 vs 29±2 mmHg; t=0.2, p>0.05) e bradicárdica (-34±3 vs -34±5 bpm; t=0.1, p>0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET (Figura 7). Análise das curvas temporais das respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET também não indicaram efeito do tratamento do NSO com $CoCl_2$ ($\Delta$PAM: F=0.1, p>0.05 e $\Delta$FC: F=0.6, p>0.05), porém indicaram um significante efeito sobre o tempo ($\Delta$PAM: F=32, p<0.0001 e $\Delta$FC: F=31, p<0.0001) (Figura 8).

Registros representativos mostrando as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET antes e após o tratamento do NSO com $CoCl_2$ é apresentado na Figura 9. Além disso, representação diagramática dos sítios de injeção de veículo e $CoCl_2$ no NSO, e uma fotomicrografia representativa mostrando o sítio de injeção no NSO de um dos animais utilizados no estudo é apresentado na Figura 10.

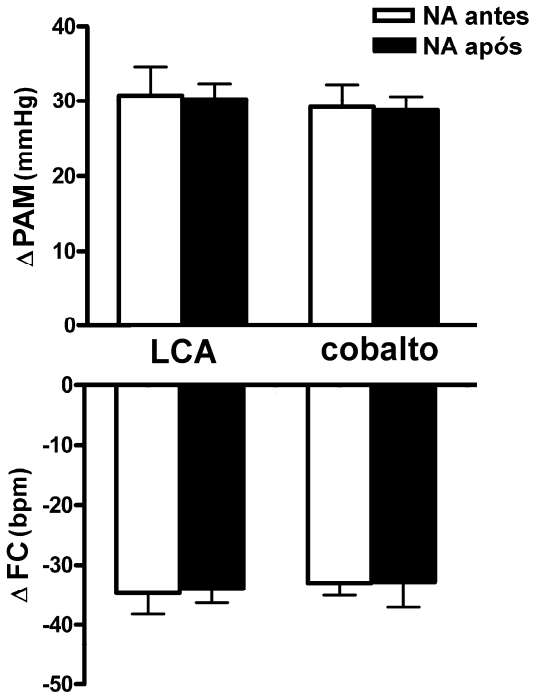


**Figura 7-** Variação máxima da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) em resposta à microinjeção de NA no NLET antes (colunas brancas) ou após (colunas pretas) pré-tratamento do NSO com veículo (LCA) ou $CoCl_2$ (cobalto). Colunas representam a média e as barras o erro padrão da média (EPM).

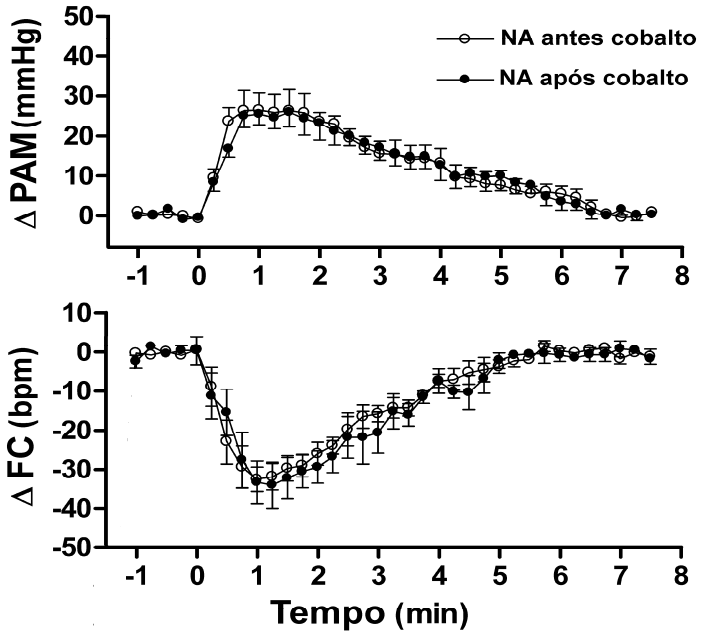


**Figura 8-**_ Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) ao longo do tempo antes (círculos brancos) ou após (círculos pretos) pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$ (cobalto). Dados foram analisados utilizando ANOVA de duas vias (tratamento vs tempo).

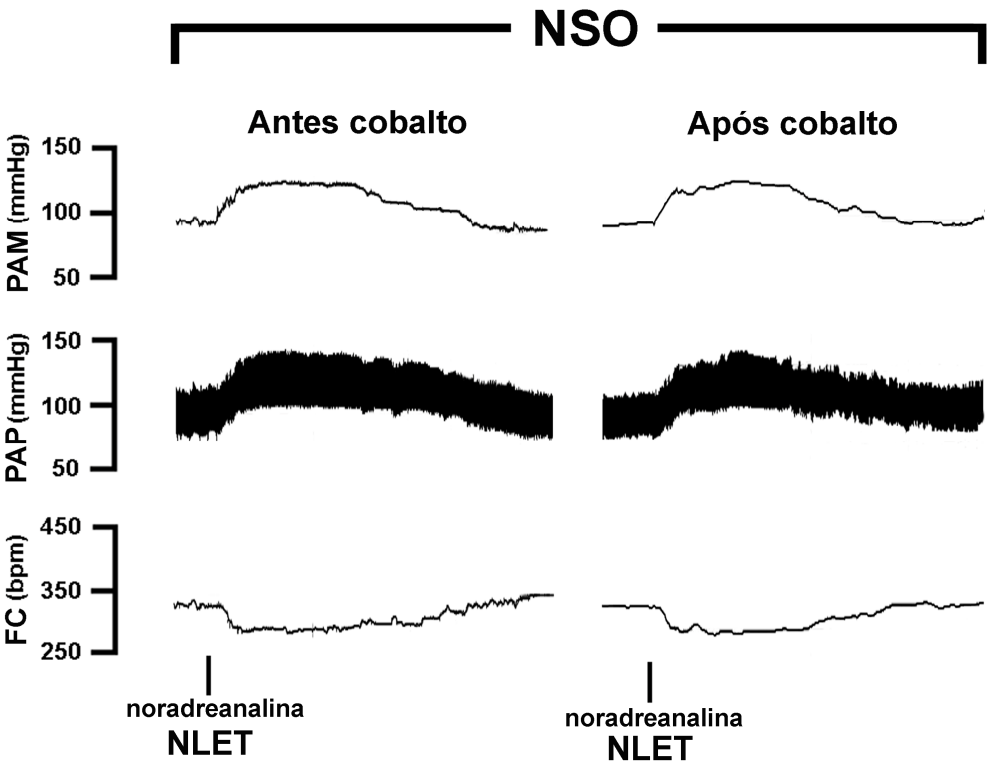


**Figura 9-** Registros representativos mostrando variações na PAM, pressão arterial pulsátil (PAP) e FC em resposta à microinjeção de NA no NLET antes e após pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$.

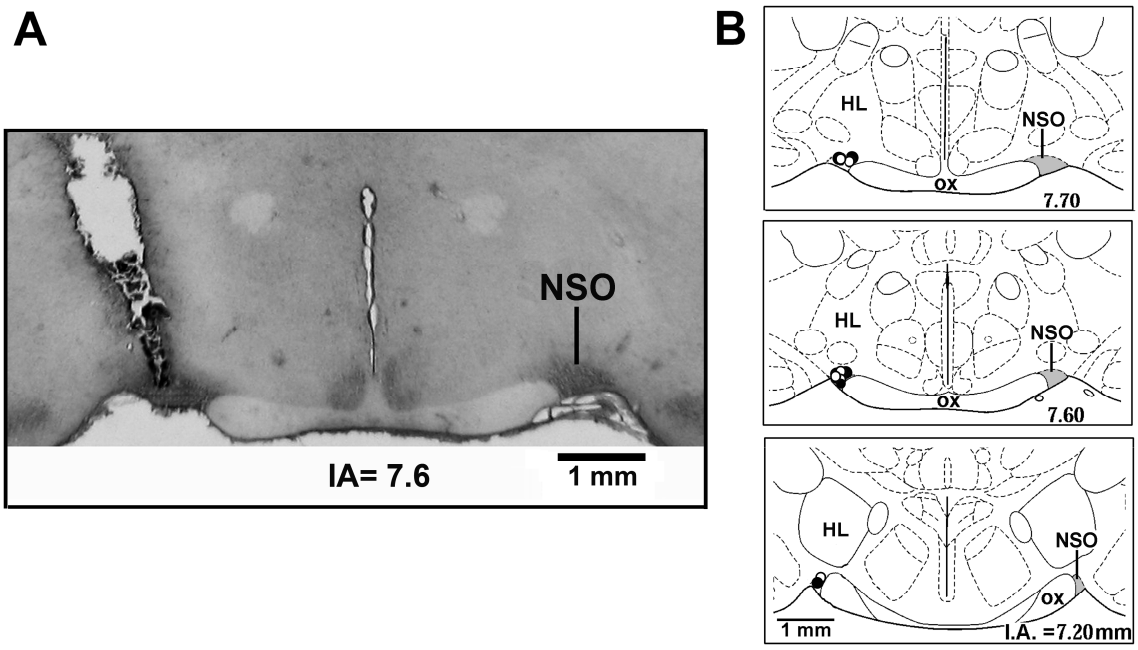


**Figura 10- A)** Fotomicrografia do cérebro de um rato representativo mostrando o sitio de injeção no NOS. **B)** Representações diagramáticas (modificada de Paxinos e Watson, 1997) indicando os sítios de microinjeção de veículo (círculos brancos) e $CoCl_2$ (círculos pretos) no NSO. HL- hipotálamo lateral, IA- inter-aural, NSO- núcleo supraóptico.

*5.3.2- Efeito do pré-tratamento do NPV com $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares para microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.*

Microinjeção de LCA (100nL, n=5) no NPV não afetou os valores basais de PAM (95±4 vs 92±4 mmHg, t=0.6, p>0.05) ou FC (343±6 vs 346±12 bpm, t=0.3, p>0.05). O tratamento com LCA também não afetou as respostas pressora (33±5 vs 31±3 mmHg; t=0.4, p>0.05) e bradicárdica (-36±4 vs -35±3 bpm; t=0.3, p>0.05) para a administração de NA no NLET (Figura 11).

Microinjeção no NPV de $CoCl_2$ (0,1nmol/100nL, n=6) não afetou os valores basais de PAM (92±5 vs 94±4 mmHg, t=0.4, p>0.05) ou FC (333±6 vs 339±8 bpm, t=0.6, p>0.05). Entretanto, o pré-tratamento do NPV com $CoCl_2$ significantemente reduziu a resposta pressora (32±4 vs 7±2 mmHg; t=6, p<0.05) e bradicárdica (-39±7 vs -6±2 bpm; t=7, p<0.05) para microinjeção de NA no NLET (Figura 11). Análise das curvas temporais das respostas cardiovasculares da NA também indicaram efeito do tratamento do NPV com $CoCl_2$ ($\Delta$PAM: F=118, p<0.0001; $\Delta$FC: F=75, p<0.0001), um significante efeito sobre o tempo ($\Delta$PAM: F=33, p< 0.0001; $\Delta$FC: F=14, p<0.0001) e uma interação entre tratamento e tempo ($\Delta$PAM: F=14, p<0.0001; $\Delta$FC: F=12, p<0.0001) (Figura 12). Registros representativos mostrando as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET antes e após o tratamento do NPV com $CoCl_2$ é apresentado na Figura 13.

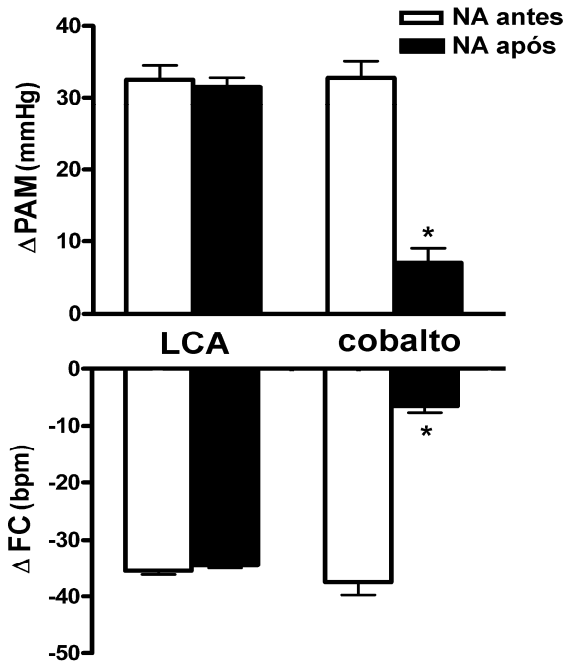


**Figura 11-** Variação máxima da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) em resposta à microinjeção de NA no NLET antes (colunas brancas) ou após (colunas pretas) pré-tratamento do NPV com veículo (LCA) ou $CoCl_2$ (cobalto). Colunas representam a média e as barras o erro padrão da média (EPM). *p<0.05, teste-t de *Student*.

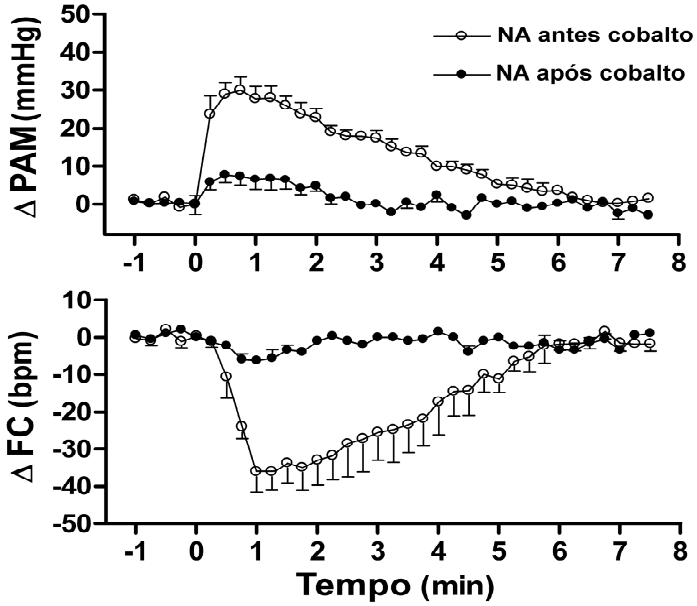


**Figura 12-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) ao longo do tempo antes (círculos brancos) ou após (círculos pretos) pré-tratamento do NPV com $CoCl_2$ (cobalto). Dados foram analisados utilizando ANOVA de duas vias (tratamento vs tempo).

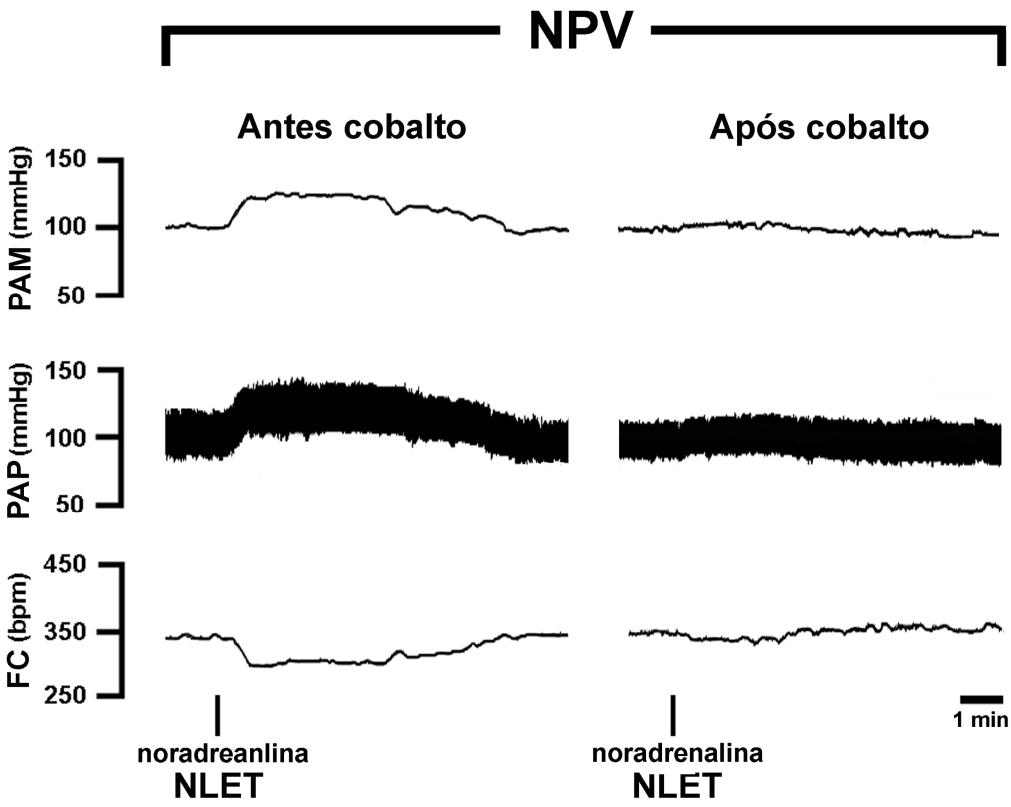


**Figura 13-** Registros representativos mostrando variações na PAM, pressão arterial pulsátil (PAP) e FC em resposta à microinjeção de NA no NLET antes e após pré-tratamento do NPV com $CoCl_2$.

**5.4- Efeito do pré-tratamento do NPV com LY235959 ou NBQX sobre as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET de ratos não anestesiados.**

**LY235959 -** Microinjeção no NPV de LY235959 (2nmol/100nL, n=5), antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA, não afetou os valores basais de PAM (91±6 vs 91±4 mmHg, t=0.6, p>0.05) e FC (344±6 vs 344±10 bpm). O pré-tratamento do NPV com LY235959 também não afetou a resposta pressora (30±4 vs 31±2 mmHg; t=0.1, p>0.05) e bradicárdica (-35±6 vs-37±2 bpm; t=0.2, p>0.05) observadas após microinjeção de NA no NLET (Figura 14). Análise das curvas temporais das respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET também não indicaram efeito do tratamento do NPV com LY235959 ($\Delta$PAM: F=0.1, p>0.05; $\Delta$FC: F=0.2, p>0.05), porém indicaram um significante efeito do tempo ($\Delta$PAM: F=76, p< 0.0001; $\Delta$FC: F=36, p<0.001) (Figura 15).

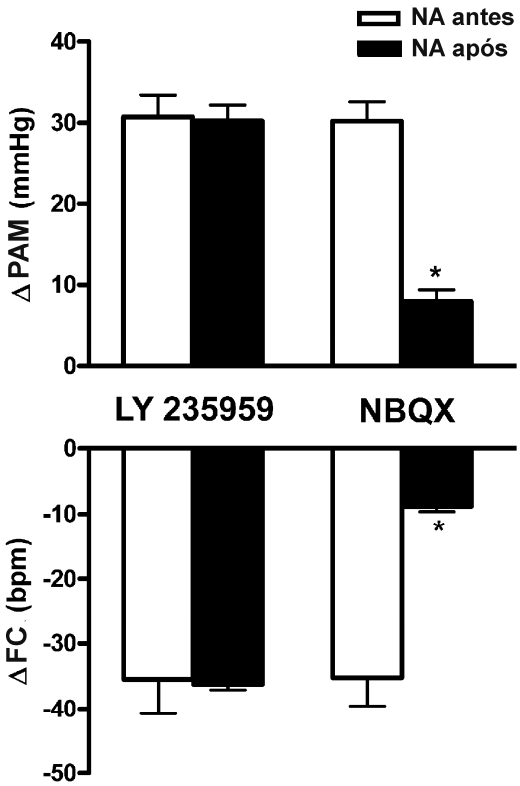


**Figura 14-** Variação máxima da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) em resposta à microinjeção de NA no NLET antes (colunas brancas) ou após (colunas pretas) pré-tratamento do NPV com LY235959, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA, ou NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA. Colunas representam a média e as barras o erro padrão da média (EPM). *p<0.05, teste-t de *Student*.

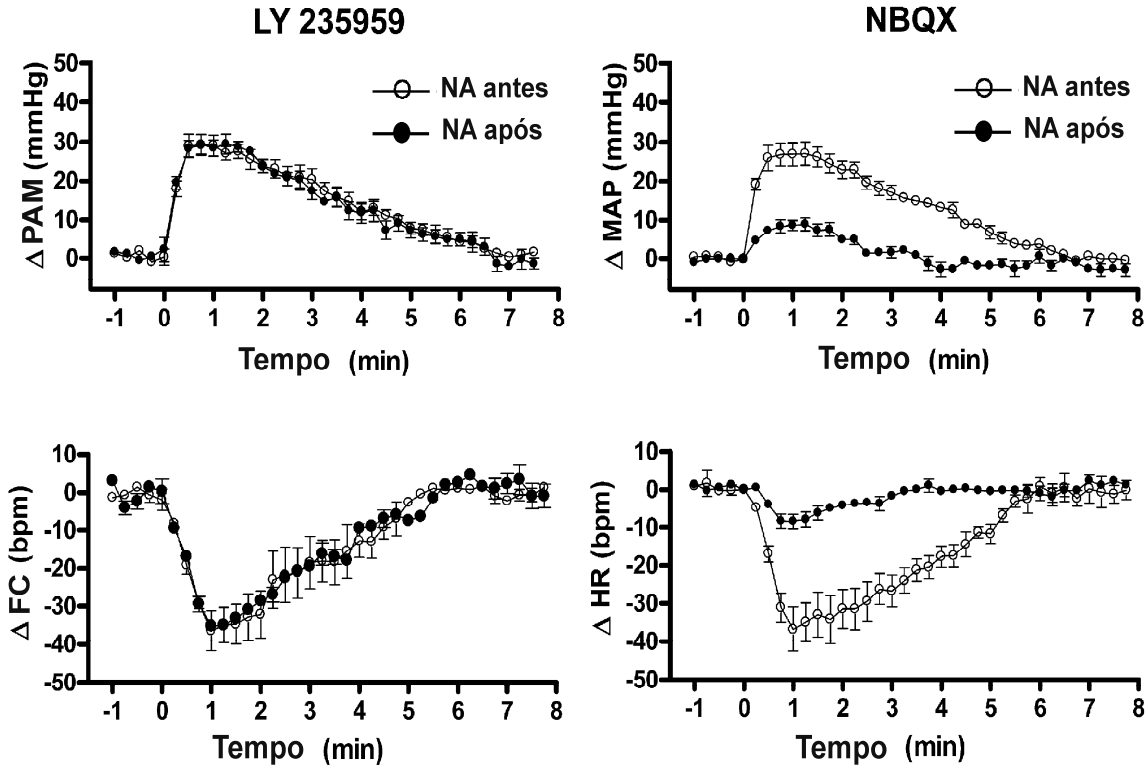


**Figura 15-**_ Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) ao longo do tempo antes (círculos brancos) ou após (círculos pretos) pré-tratamento do NPV com LY235959, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA, ou NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA). Dados foram analisados utilizando ANOVA de duas vias (tratamento vs tempo).

**NBQX -** Microinjeção no NPV de NBQX (2nmol/100nL, n=5), antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA, não afetou os valores basais de PAM (96±4 vs 97±3 mmHg, t=0.1, p>0.05) ou FC (336±6 vs 341±10 bpm, t=0.6, p>0.05). Entretanto, o pré-tratamento do NPV com NBQX significantemente reduziu a resposta pressora (31±3 vs 8±2 mmHg; t=8, p<0.001) e bradicárdica (-36±5 vs -8±1 bpm; t=7, p<0.003) observadas após microinjeção de NA no NLET (Figura 14). Análise das curvas temporais das respostas cardiovasculares da NA também indicaram efeito do tratamento do NPV com NBQX (ΔPAM: F=187, p<0.0001; ΔFC: F=105, p<0.0001), um significante efeito do tempo (ΔPAM: F=60, p< 0.0001; ΔFC: F=30, p<0.0001) e uma interação entre tratamento e tempo (ΔPAM: F=19, p<0.0001; ΔFC: F=16, p<0.0001) (Figura 15).

Registros representativos mostrando as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET antes e após o tratamento do NPV com NBQX é apresentado na Figura 16. Além disso, representação diagramática dos sítios de injeção de veículo, $CoCl_2$, LY235959 e NBQX no NPV, e uma fotomicrografia representativa mostrando o sítio de injeção no NPV de um dos animais utilizados neste conjunto de experimentos é apresentado na Figura 17.

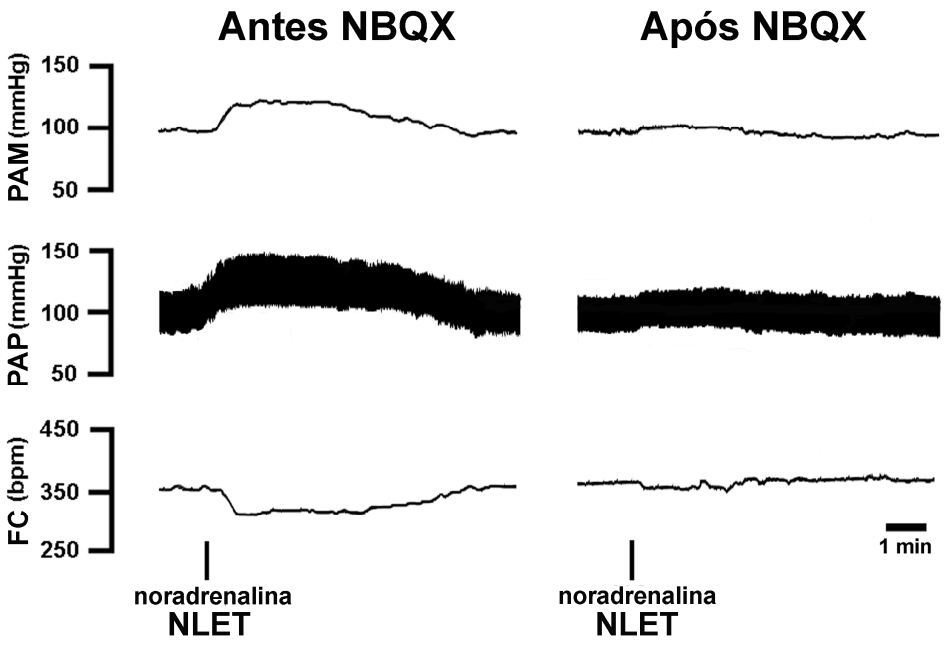


**Figura 16-** Registros representativos mostrando variações na PAM, pressão arterial pulsátil (PAP) e FC em resposta à microinjeção de NA no NLET antes e após pré-tratamento do NPV com NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA.

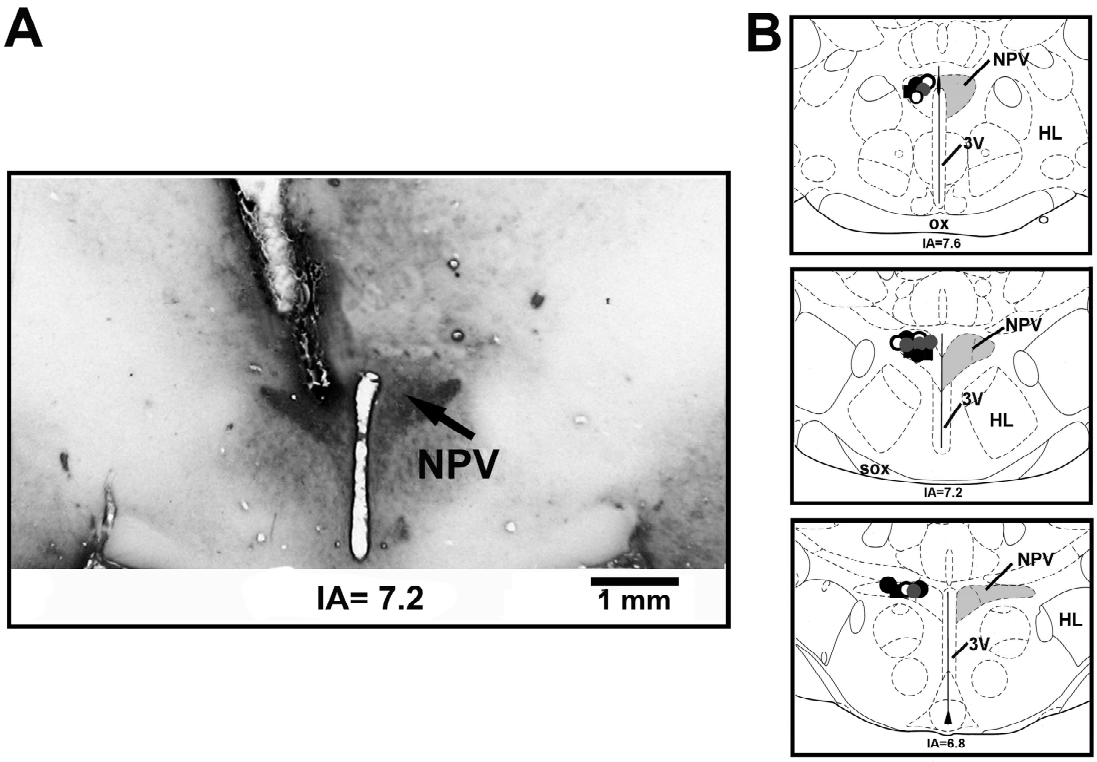


**Figura 17- A)** Fotomicrografia do cérebro de um rato representativo mostrando o sitio de injeção no NPV. **B)** Representações diagramáticas (modificada de Paxinos e Watson, 1997) indicando os sítios de microinjeção de veículo (círculos brancos), $CoCl_2$ (círculos pretos), LY235959 (quadrados pretos) e NBQX (quadrados cinzas) no NPV. NPV – núcleo paraventricular do hipotálamo, HL- hipotálamo lateral, IA- inter-aural, 3V- terceiro ventrículo, OX – quiasma óptico.

**5.5- Efeito do pré-tratamento do NLET com WB4101, RX821002 ou propranolol sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo em ratos não anestesiados.**

**Veículo -** Microinjeção bilateral de LCA no NLET (100nL, n=5) não afetou os valores basais de PAM (98±6 vs 99±7 mmHg; t=0.4; p>0.05) e FC (340±11 vs 348±10 bpm; t=0.6; p>0.05). Além disso, tratamento do NLET com LCA também não afetou a resposta bradicárdica do barorreflexo (-1.5±0.3 vs -1.6±0.3 bpm/mmHg, t=0.3, p>0.05).

**WB4101 -** Microinjeção bilateral no NLET do WB4101 (15nmol/ 100nL, n=5), antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, não afetou os valores basais de PAM (100±4 vs 98±5 mmHg; t= 0.3; p> 0.05) e FC (345±10 vs 356±16 bpm; t= 0.5; p> 0.05). O ganho da curva de regressão linear para diminuição da FC como uma função do aumento na PAM 10 minutos após a microinjeção de WB4101 no NLET foi aumentada quando comparada com a curva controle (-1.1±0.2 vs -2.1±0.3 bpm/ mmHg; F=5, p<0.05) (Figura 18). O efeito do WB4101 foi reversível, e a resposta bradicárdica do barorreflexo retornou para os níveis controle 60 minutos após microinjeção do WB4101 no NLET (-1.3±0.2 bpm/ mmHg; p>0.05) (Figura 18). Quando WB4101 foi administrado em estruturas ao redor do NLET, como a comissura anterior, fornix e a cápsula interna, não foram observadas alterações significativas na resposta bradicárdica do barorreflexo (-1.3±0.3 vs -1.2±0.4 bpm/mmHg; F=0.1; p>0.05). Um registro representativo mostrando o efeito da microinjeção bilateral de WB4101 no NLET sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo é apresentada na Figura 19.

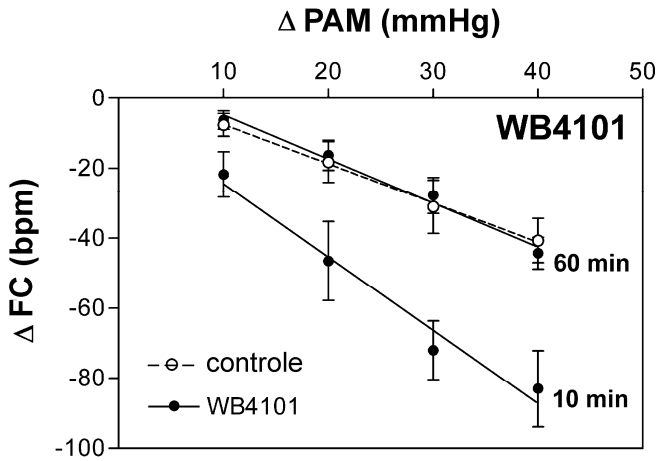


**Figura 18-** Curva de regressão linear mostrando a resposta cardíaca do barorreflexo em resposta a aumentos da PAM causado pela infusão i.v. de fenilefrina antes (controle, círculos brancos) e 10 ou 60 minutos (círculos pretos) após a microinjeção bilateral no NLET do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$ WB4101 (15nmol/100nL) em animais não-anestesiados. Os valores de $r^2$ foram 0.7 antes e 0.7 e 0.8 10 e 60 minutos após administração de WB4101 no NLET, respectivamente.

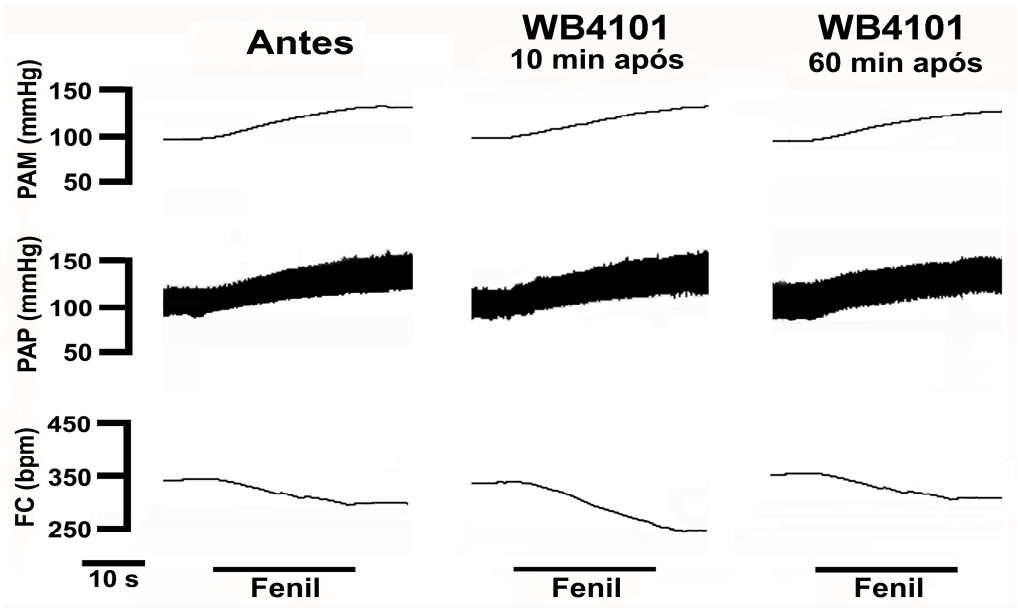


**Figure 19-** Registros representativos de um animal tratado com WB4101, ilustrando a resposta bradicárdica do barorreflexo em resposta a aumentos de PAM causado pela infusão i.v. de fenilefrina antes e 10 ou 60 minutos após a microinjeção do WB4101 (15nmol/100nL) no NLET. PAM- pressão arterial média; PAP- pressão arterial pulsátil; FC- freqüência cardíaca.

**RX821002 -** Microinjeção bilateral no NLET do RX821002 (15nmol/ 100nL, n=5), antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, não alterou os valores basais de PAM (99±4 vs 98±3 mmHg; t= 0.2; p> 0.05) e FC (345±10 vs 350±12 bpm; t= 0.3; p> 0.05). A microinjeção de RX821002 no NLET também não afetou significativamente o ganho da curva de regressão linear para variações na FC como uma função de aumentos na PAM (-1.3±0.3 vs -1.4±0.2 bpm/ mmHg, F=0.1; p> 0.05) (Figura 20).

**Propranolol -** Microinjeção bilateral no NLET de propranolol (15nmol/ 100nL, n=5), antagonista seletivo de adrenoceptores β, não alterou os valores basais de PAM (98±4 vs 96±5 mmHg; t= 0.6; p> 0.05) e FC (347±11 vs 348±9 bpm; t= 0.1; p> 0.05). A microinjeção de propranolol no NLET também não afetou significativamente a regressão linear para variações na FC como uma função de aumentos na PAM (-1.4±0.3 vs -1.4±0.3 bpm/ mmHg, F=0.04; p> 0.05) (Figura 21).

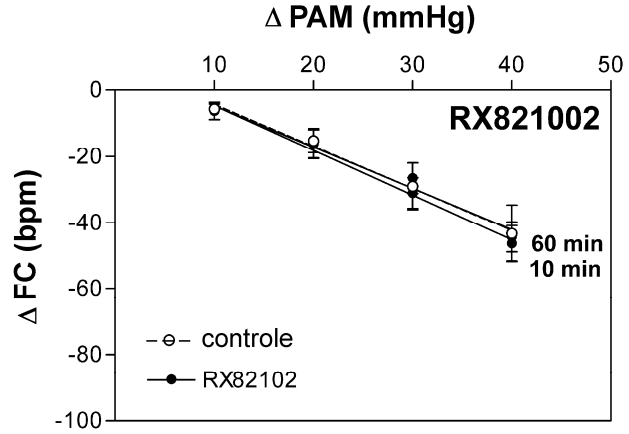


**Figura 20-** Curva de regressão linear mostrando a atividade baroreflexa cardíaca em resposta a aumentos da PAM causado pela infusão i.v. de fenilefrina antes (controle, círculos brancos) e 10 ou 60 minutos (círculos pretos) após a microinjeção bilateral no NLET do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$ RX821002 (15nmol/100nL) em animais não-anestesiados. Os valores de $r^2$ foram 0.7 antes e 0.8 e 0.8 10 e 60 minutos após administração de propranolol no NLET, respectivamente.

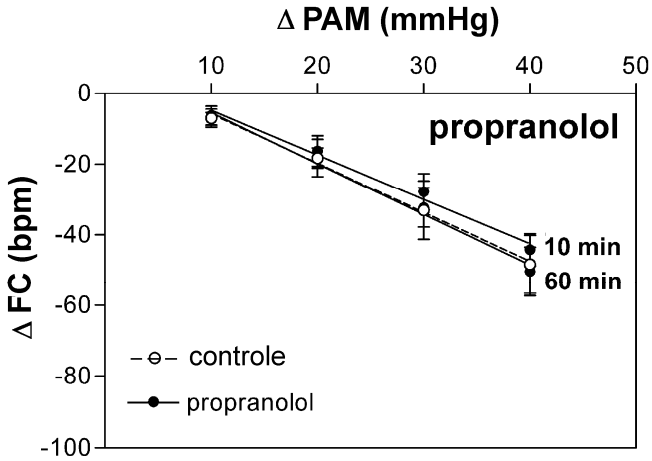


**Figura 21-** Curva de regressão linear mostrando a atividade baroreflexa cardíaca em resposta a aumentos da PAM causado pela infusão i.v. de fenilefrina antes (controle, círculos brancos) e 10 ou 60 minutos (círculos pretos) após a microinjeção bilateral no NLET do antagonista não-seletivo de adrenoceptores β propranolol (15nmol/100nL) em animais não-anestesiados. Os valores de $r^2$ foram 0.7 antes e 0.7 e 0.8 10 e 60 minutos após administração de propranolol no NLET, respectivamente.

**5.6- Efeito do pré-tratamento intravenoso (i.v.) com metilbrometo de homatropina e da microinjeção bilateral de veículo ou WB4101 no NLET sobre a resposta bradicárdica do barorreflexo em animais não anestesiados**

**Veículo -** O tratamento i.v. com metilbrometo de homatropina, antagonista não-seletivo de receptores colinérgicos muscarínicos, não afetou os valores basais de PAM (95±2 vs 96±3 mmHg, t=0.5, p>0.05), porém significativamente aumentou os valores basais de FC (353±12 vs 421±6 bpm, t=7, p<0.05). O tratamento i.v. com metilbrometo de homatropina causou uma redução no ganho da curva de regressão linear para a resposta de FC como uma função do aumento na PAM, comparado com os valores controle (-1.4±0.1 vs -0.5±0.2 bpm/mmHg, F=18, p<0.001). Após tratamento com metilbrometo de homatropina, o ganho da curva de regressão linear para a resposta de FC como uma função do aumento na PAM 10 minutos após injeção de LCA no NLET não foi diferente quando comparada com curva obtida antes do tratamento do NLET com LCA (-0.4±0.1 vs -0.5±0.2 bpm/mmHg, t=0.3, p>0.05).

**WB4101 -** O tratamento i.v. com metilbrometo de homatropina não afetou os valores basais de PAM (98±1 vs 99±2 mmHg, t=0.8, p>0.05), porém significativamente aumentou os valores basais de FC (352±4 vs 430±6 bpm, t=11, p<0.05). O tratamento i.v. com metilbrometo de homatropina causou uma redução no ganho da curva de regressão linear para a resposta de FC como uma função do aumento na PAM, comparado com os valores controle (-1.5±0.1 vs -0.4±0.2 bpm/mmHg, F=21, p<0.001) (Figura 22). Após tratamento com metilbrometo de homatropina, o ganho da curva de regressão linear para a resposta de FC como

uma função do aumento na PAM 10 minutos após microinjeção bilateral de WB4101 no NLET não foi diferente quando comparada com curva obtida antes do tratamento do NLET com WB4101 (-0.4±0.2 vs -0.5±0.1 bpm/mmHg, t=0.7, p>0.05) (Figura 22).

Representação diagramática dos sítios de injeção no NLET de todos animais utilizados no estudo da participação da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo, e uma fotomicrografia representativa da secção coronal do cérebro de um dos animais utilizados neste conjunto de experimentos são apresentadas na Figura 23.

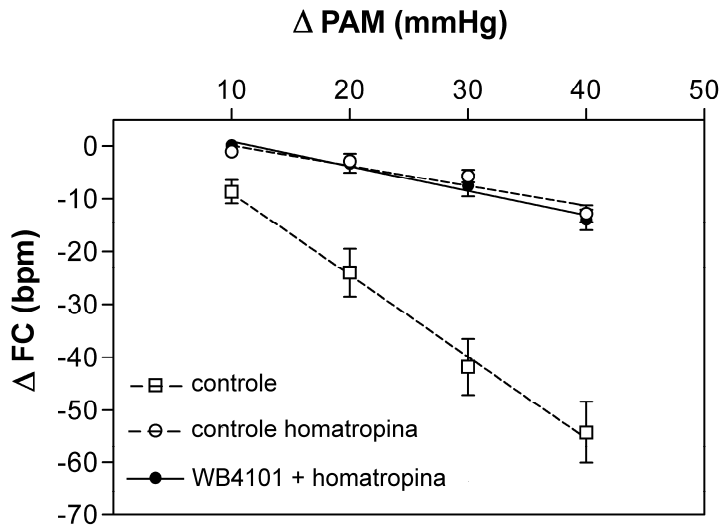


**Figura 22-** Curva de regressão linear mostrando a atividade cardíaca do barorreflexo em resposta a aumentos da PAM causado pela infusão i.v. de fenilefrina na condição controle (quadrados brancos) e em animais pré-tratados intravenosamente com o bloqueador parassimpático cardíaco metilbrometo de homatropina (1.5 mg/Kg) antes (controle homatropina, círculos brancos) e 10 minutos após (WB4101+homatropina, círculos pretos) a microinjeção bilateral no NLET do antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$ WB4101 (15nmol/100nL). Os valores de $r^2$ foram 0.8 para o grupo controle e 0.7 e 0.8 para os grupos controle homatropina e WB4101+homatropina, respectivamente.

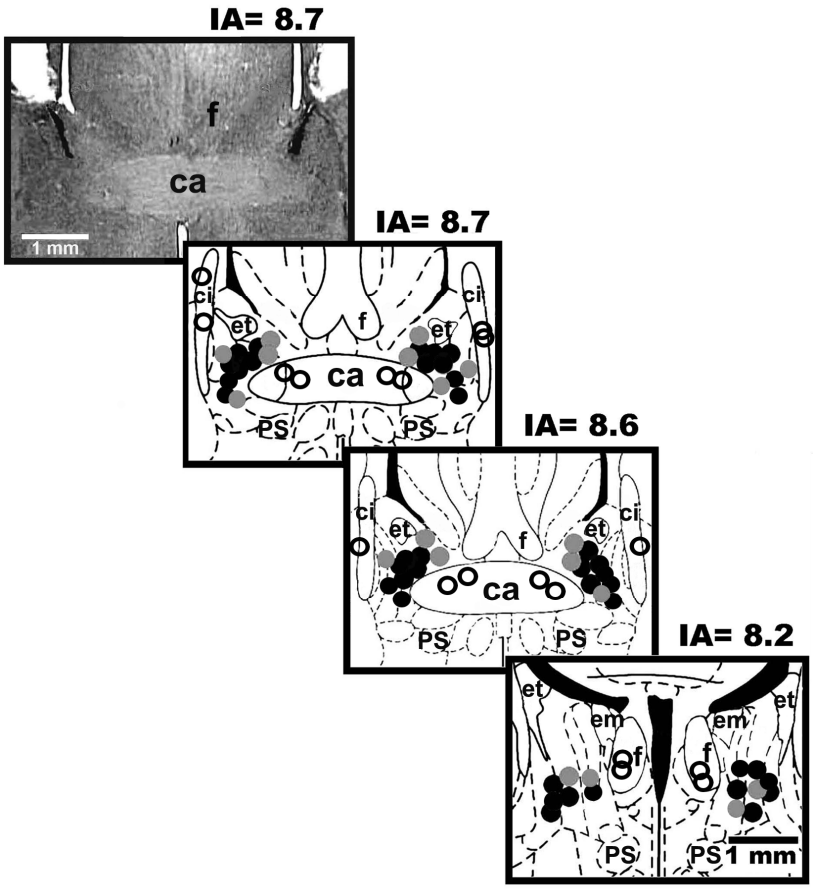


**Figura 23-** Fotomicrografia e representação diagramática (Modificada de Paxino e Watson, 1997) indicando os sítios de injeção de veículo (círculos cinzas), dos antagonistas de adrenoceptores (círculos pretos) e injeções de WB4101 em regiões adjacentes ao NLET (círculos brancos) de todos animais utilizados nos experimentos que estudaram a participação da neurotransmissão noradrenérgica do NELT na modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo. ca- comissura anterior; ci- cápsula interna; em- estria medular; et- estria terminal; f- fornix; IA- inter-aural; PS- núcleo paraestriatal.

**5.7- Efeito do pré-tratamento do NLET com veículo ou $CoCl_2$ sobre as respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico em ratos.**

Exercício físico dinâmico em três diferentes velocidades (0,4, 0,8 e 1 km/h, dois minutos cada velocidade) em uma esteira para roedores causou aumento na PAM, que foi dependente do nível de exercício ($F= 8$, $P<0.0001$, $n=6$) (Figura 24). As alterações na PAM foram acompanhadas por aumento na FC, que também foi dependente do nível de exercício ($F= 10$, $P<0.0001$, $n=6$) (Figura 24). Quando os animais foram colocados na esteira e esta foi mantida desligada ($n=5$), permitindo que os animais ficassem em repouso no ambiente da esteira, análise estatística não indicou alterações significativas na PAM ($F= 0.1$, $P>0.05$) ou FC ($F= 1.5$, $P>0.05$), quando comparados com os valores basais (Figura 24).

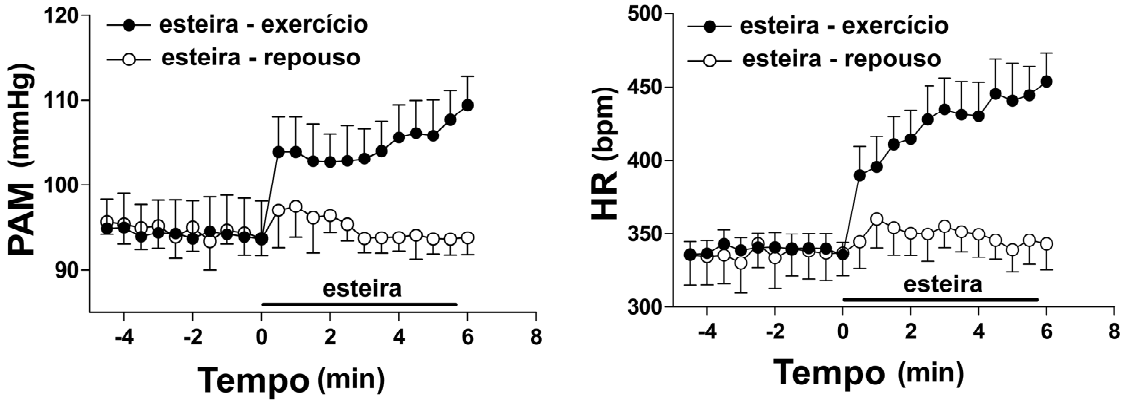


**Figura 24** - Variações de PAM e FC ao longo do tempo em um grupo de animais submetido ao teste de exercício físico na esteira (esteira – exercício, n=6), e em um grupo de animais que permaneceu em repouso no ambiente da esteira (esteira – repouso, n=5). O ínicio do exercício foi no tempo zero, e o exercício consistiu de corrida em três velocidades (0,4, 0,8 e 1 km/h, dois minutos em cada intensidade) com 0% de inclinação. Animais que permaneceram em repouso na esteira foram colocados na esteira no t=0. O exercício físico na esteira causou aumento na PAM ($P<0.0001$) e FC ($P<0.0001$). No entanto, não foram observadas alterações significativas na PAM ($P>0.05$) e FC ($P>0.05$) nos animais que permaneceram em repouso na esteira.

**Veículo -** Microinjeção bilateral de LCA (100nL, n=5) no NLET não afetou os valores basais de PAM (97±2 vs 96±4 mmHg, t= 0.4, p>0.05) ou FC (354±7 vs 369±9 bpm, t= 1, p>0.05). Análise das respostas de FC em cada velocidade não indicou efeito do tratamento do NLET com LCA (F= 0.6; p>0.05), porém indicou um significante efeito da intensidade de exercício (F= 13, p<0.01) (Figura 25). Do mesmo modo, tratamento do NLET com LCA não afetou a reposta de aumento na PAM (F=2.6; p>0.05), porém a análise indicou um significante efeito da intensidade de exercício (F=3.9, p<0.04) (Figura 25). Análise temporal das respostas cardiovasculares desencadeadas pelo exercício físico dinâmico na esteira indicou um significante efeito do tempo (∆PAM: F= 28, p<0.0001 e ∆FC: F= 130, p<0.0001), porém não mostrou um efeito do tratamento do NLET com LCA (∆PAM: F= 2, P>0.05 e ∆HR: F= 0.8, p>0.05) (Figure 26).

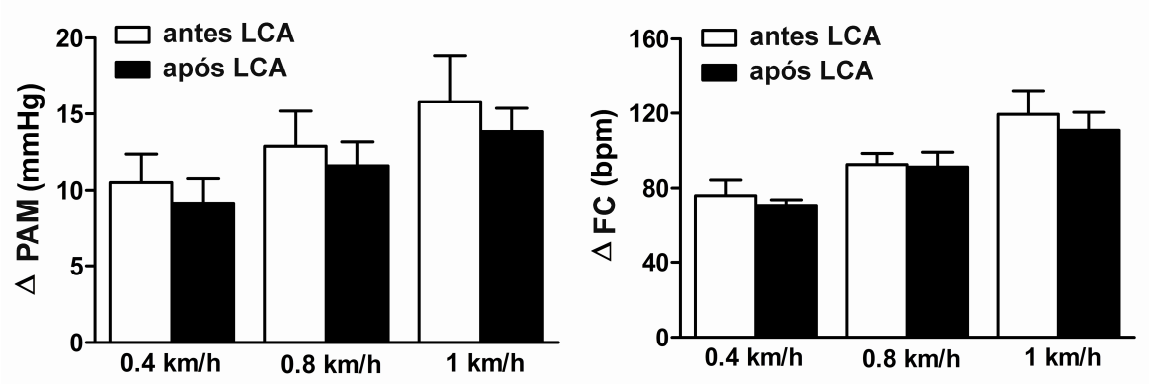


**Figura 25-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) durante três níveis de exercício (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes (colunas brancas) e após (colunas pretas) administração de veículo no NLET.

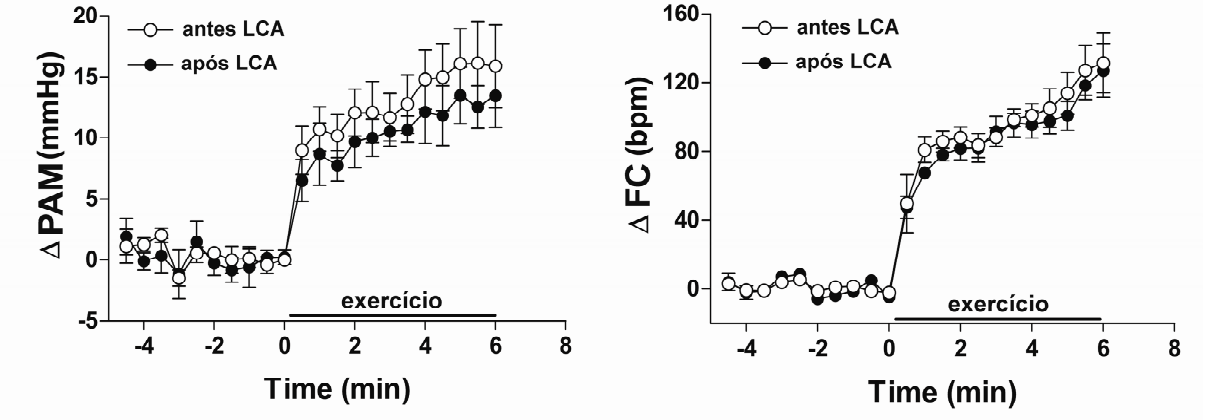


**Figura 26-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) ao longo do tempo em animais submetidos ao teste de exercício físico na esteira em três velocidades (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes (círculo brancos) e após (círculos pretos) administração de veículo no NLET.

**$CoCl_2$ -** Microinjeção bilateral de $CoCl_2$ (1nmol/ 100nL, n=6) no NLET não afetou os valores basais de PAM (96±8 vs 92±6 mmHg, t= 1, p>0.05) ou FC (342±14 vs 366±10 bpm, t= 1.5, p>0.05). Entretanto, análise das respostas de FC em cada velocidade indicou um significante efeito do tratamento do NLET com $CoCl_2$ nas três velocidades (F= 45; p<0.0001), um significante efeito da intensidade de exercício (F= 7.8, p<0.01), porém não indicou interação entre os fatores (F= 0.6; p>0.05) (Figura 27). Análise também indicou um significante efeito do tratamento do NLET com $CoCl_2$ na resposta da PAM na velocidade de 0,4 km/h (F= 7; p<0.01) e um efeito da intensidade de exercício (F= 8, p<0.01), porém não indicou interação entre os fatores (F= 0.5; P>0.05) (Figura 27). Análise temporal das respostas cardiovasculares desencadeadas pelo exercício físico dinâmico na esteira indicou um significante efeito do tratamento do NLET com $CoCl_2$ sobre as respostas da PAM (F= 5, p<0.05) e FC (F= 43, p<0.0001), um significante efeito do tempo para as respostas de PAM (F=45, p<0.0001) e FC (F= 63, p<0.0001), e uma interação entre tratamento e tempo para a resposta da FC (PAM: F= 1.2; P>0.05; FC: F= 8, P<0.0001) (Figure 28). Registros representativos mostrando as respostas cardiovasculares ao exercício físico antes e após o tratamento do NLET com $CoCl_2$ são apresentados na Figura 29. Quando $CoCl_2$ foi administrado em estruturas adjacentes ao NLET, nenhum efeito foi observado nas respostas de PAM (∆PAM: 12±2 vs 10±2 em 0.4 km/h; 14±2 vs 15±3 em 0.8 km/h e 18±3 vs 19±4 em 1 km/h; F=0.5; p>0.05, n=4) e FC (∆FC: 68±4 vs 67±6 em 0.4 km/h, 90±6 vs 101±9 em 0.8 km/h and 104±13 vs 109±10 em 1 km/h; F= 0.8; p>0.05, n=4) nas três velocidades, porém análise indicou um significante efeito da

intensidade de exercício nas respostas de PAM ($F= 4$, $p<0.05$) e FC ($F= 11$, $P<0.05$).

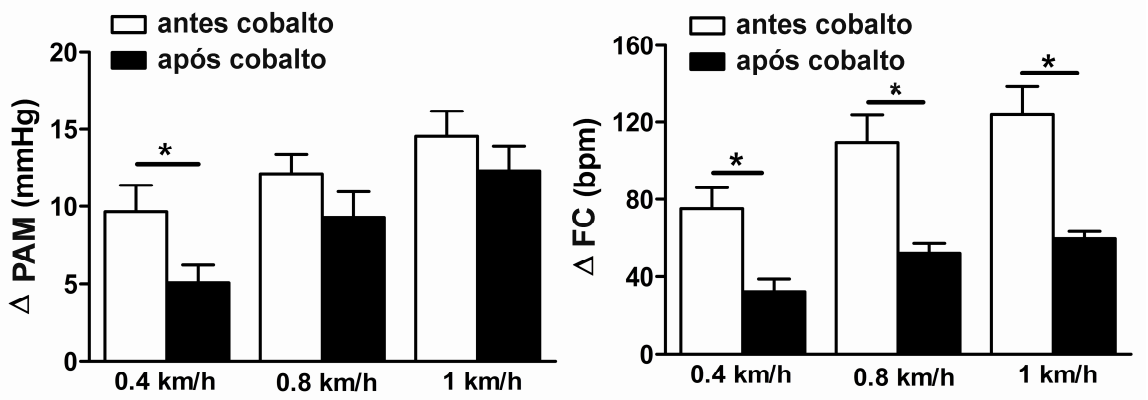


**Figura 27-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) durante três níveis de exercício (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes (colunas brancas) e após (colunas pretas) administração de $CoCl_2$ no NLET. *p<0.01, ANOVA de duas vias (tratamento vs intensidade de exercício), seguido pelo pós-teste de Bonferroni.

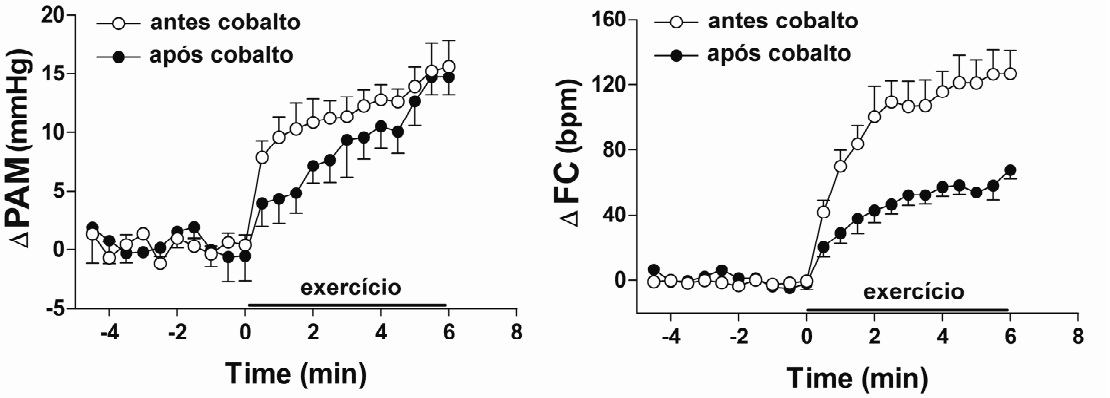


**Figura 28-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) ao longo do tempo em animais submetidos ao teste de exercício físico na esteira em três velocidades (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes (círculo brancos) e após (círculos pretos) administração de $CoCl_2$ no NLET.

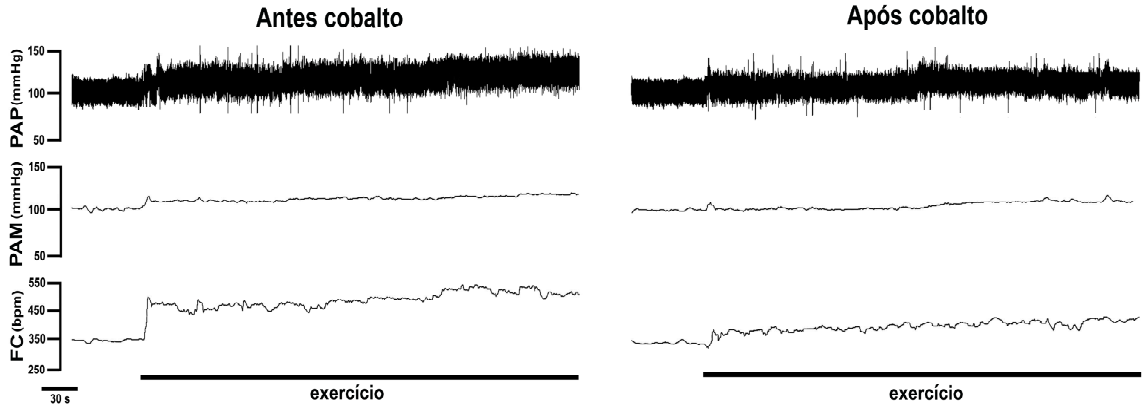


**Figura 29-** Registros representativos mostrando variações na PAM, pressão arterial pulsátil (PAP) e FC durante teste de exercício físico dinâmico em três velocidades (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes e após tratamento do NLET com $CoCl_2$ (cobalto).

*5.7.1 – Efeito do pré-tratamento do NLET com veículo ou $CoCl_2$ no teste de campo aberto.*

Análise da distância percorrida no teste de campo aberto não detectou efeito do tratamento do NLET com $CoCl_2$ (n=5) na atividade motora, quando comparada com os animais que receberam veículo no NLET (n=5) ($F= 0.9$, $p>0.05$), porém indicou efeito sobre o tempo ($F= 16$, $p<0.001$) (Figura 30).

Representação diagramática dos sítios de injeção de veículo e $CoCl_2$ no NLET dos animais utilizados no estudo do envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico, e uma fotomicrografia representativa da secção coronal do cérebro de um dos animais utilizados neste conjunto de experimentos são apresentadas na Figura 31.

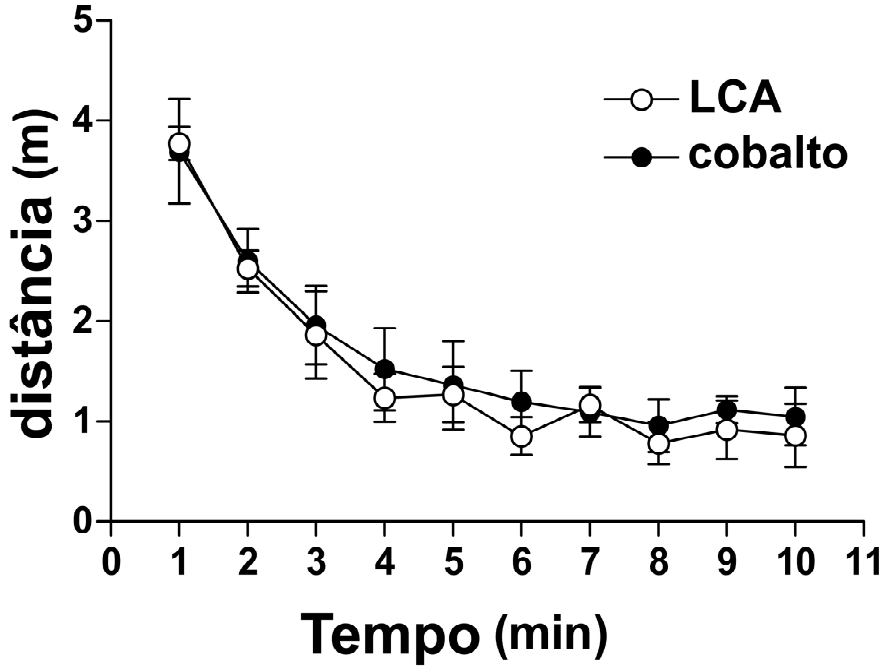


**Figura 30-** Distância ao longo do tempo percorrida durante teste de campo aberto em animais tratados com veículo (LCA, círculos brancos) ou $CoCl_2$ (cobalto, círculos pretos) no NLET**.**

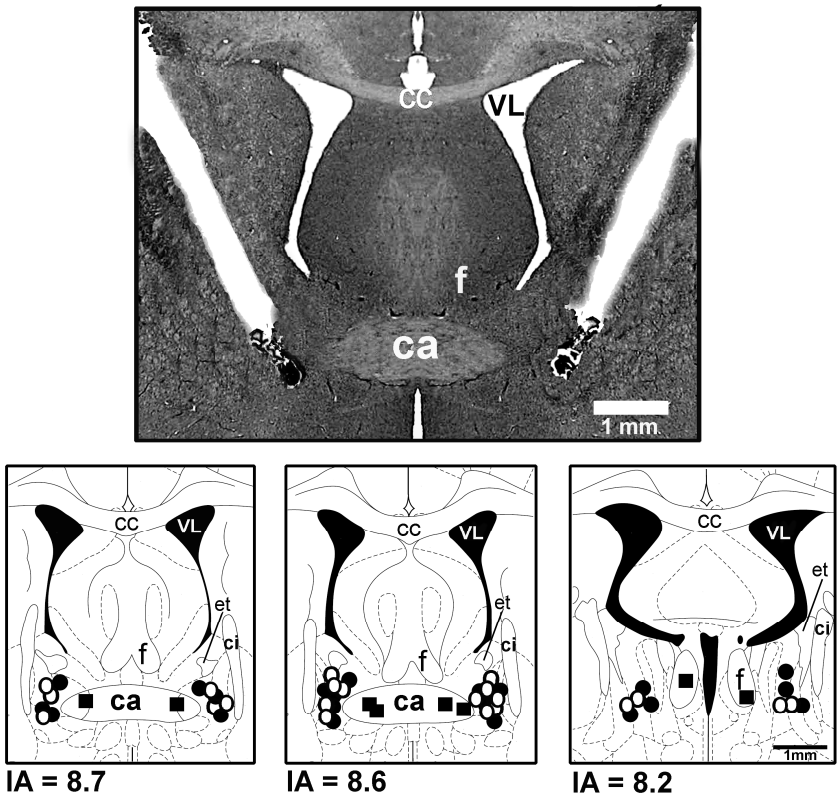


**Figura 31- A)** Fotomicrografia do cérebro de um rato representativo mostrando o sitio de injeção de NA no NLET. **B)** Representações diagramáticas (modificada de Paxinos e Watson, 1997) indicando os sítios de microinjeção de veículo (círculos brancos) e $CoCl_2$ (círculos pretos) no NLET e $CoCl_2$ em estruturas adjacentes ao NLET (quadrados pretos) de todos os animais utilizados no estuda do envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico. ca- comissura anterior, cc- corpo caloso, ci- cápsula interna, et- estria terminal, f-fornix, IA- interaural e VL- ventrículo lateral.

# 6.DISCUSSÃO

**6.1 Mecanismos envolvidos nas respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET.**

O NLET é um dos principais alvos de inervação noradrenérgica no cérebro de ratos (SWANSON e HARTMAN, 1975; MOORE, 1978). Terminais noradrenérgicos no NLET originam possivelmente nos grupos de células noradrenérgicas A1, A2 e A5, e em menor extensão no A6 (MOORE, 1978; BYRUM e GUYENET, 1987; WOULFE *et al*., 1988; ASTON-JONES *et al*., 1999). Resultados prévios de nosso laboratório constituem a primeira evidência da participação da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação do sistema cardiovascular (CRESTANI *et al*., 2007). Nós observamos que a microinjeção de NA no NLET causa um aumento na PAM, que é mediado pela liberação sistêmica de vasopressina e acompanhado por uma redução reflexa na FC. A idéia de uma neurotransmissão noradrenérgica ativa no NLET foi reforçada pelos dados mostrando que a administração de tiramina no NLET, uma amina simpatomimética de ação indireta desprovida de atividade agonista direta, também causa resposta pressora e bradicárdica similares àquelas observadas após injeção de NA no NLET (CRESTANI *et al*., 2007). Naqueles experimentos, como também no presente estudo, os sítios de microinjeção de NA foram localizados nas porções anteriores do NLET.

No presente estudo nós observamos que o pré-tratamento do NLET com crescentes doses do WB4101, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$, ou do RX821002, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, reduziram de maneira dose-dependente as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Entretanto, o pré-tratamento individual com cada um destes antagonistas

afetou apenas parcialmente as respostas cardiovasculares da NA. A resposta da NA somente foi completamente bloqueada quando o NLET foi pré-tratado com a combinação de WB4101+RX821002, o que evidencia uma interação entre estes receptores na mediação destas respostas. Neste sentido, nossos resultados sugerem que a ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET medeiam as respostas cardiovasculares observadas após microinjeção de NA no NLET.

A presença de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET foi previamente relatado. A ativação de adrenoceptores $\alpha_2$ no NLET foi demonstrado causar preferencialmente efeitos pós-sinápticos inibitórios na atividade neural do NLET (SAWADA e YAMAMOTO, 1981; MATSUI e YAMAMOTO, 1984). Foi também demonstrado que a neurotransmissão noradrenérgica do NLET exerce uma inibição tônica sobre a neurotransmissão glutamatérgica do NLET (FORRAY *et al*., 1999; FORRAY e GYSLING, 2004; EGLI *et al*., 2005). Inibição de adrenoceptores $\alpha_2$ aumenta a liberação de glutamato no NLET, ao passo que a ativação destes receptores diminui a liberação de glutamato induzida por potássio no NLET (FORRAY *et al*., 1999). Além disso, existem evidências de que a NA no NLET, via ativação de adrenoceptores $\alpha_1$, despolariza neurônios gabaérgicos locais, aumentando os efeitos inibitórios do GABA no NLET via ativação de receptores GABA A (DUMONT e WILLIAMS, 2004). A resultante interação entre os efeitos da ativação dos adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ poderia explicar porque a completa inibição das respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET foi observada somente após bloqueio simultâneo de ambos adrenoceptores pelo pré-tratamento com a combinação de WB4101+RX821002. Além disso, para o completo bloqueio observado, a curva dose-resposta foi também deslocada para a

esquerda, indicando uma potencialização do efeito do tratamento combinado com os antagonistas de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$.

Prévios resultados também evidenciaram a presença de adrenoceptores β no NLET. Noradrenalina no NLET foi demonstrado ser capaz de aumentar a atividade da neurotransmissão glutamatérgica em preparações de NLET, em adição ao predominante efeito inibitório nos potencias de disparo neurais no NLET (EGLI *et al*., 2005). Este efeito estimulatório sobre a neurotransmissão glutamatérgica no NLET envolveria a ativação de adrenoceptores $\beta_2$, uma vez que o tratamento com ICI118,551, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$, parcialmente reduziu o aumento da atividade da neurotransmissão glutamatérgica no NLET observado após administração local de NA (EGLI *et al*., 2005). Além disso, aplicação de um agonista de adrenoceptores β após a administração de NA resultou em um aumento adicional na resposta glutamatérgica no NLET (EGLI *et al*., 2005).

No presente estudo, nós observamos que o pré-tratamento do NLET com propranolol, antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, ou CGP20712, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$, aumentou em 60% as respostas cardiovasculares observadas após microinjeção de NA no NLET; enquanto a administração de ICI118,551, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$, não afetou estas respostas. Estes resultados sugerem que a ativação de adrenoceptores $\beta_1$ no NLET modulam de maneira inibitória as respostas cardiovasculares desencadeadas pela ativação dos adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$. Este modulação pode ser resultado do efeito oposto que a ativação de adrenoceptores

β exerce sobre a liberação de glutamato, quando comparado com o efeito inibitório decorrente da estimulação de adrenoceptores α.

A vasopressina é um peptídeo sintetizado por neurônios magnocelulares localizados no NPV e NSO do hipotálamo, sendo liberada para circulação periférica pela neuro-hipófise (SWAAB *et al*, 1975). No presente estudo nós observamos que o pré-tratamento do NSO com $CoCl_2$ não afetou as respostas cardiovasculares à microinjeção de NA no NLET. Entretanto, o pré-tratamento do NPV com $CoCl_2$ significantemente reduziu a resposta pressora e bradicárdica da NA. Considerando que o cobalto reduz o influxo de cálcio pré-sináptico, levando a uma diminuição na liberação de neurotransmissor e conseqüente bloqueio sináptico (KRETZ, 1984), nossos dados sugerem que sinapses no NPV, porém não no NSO, medeiam as respostas cardiovasculares observadas após a microinjeção de NA no NLET.

Receptores NMDA e não-NMDA são expressos em neurônios magnocelulares do NPV (HERMAN *et al*., 2000). Dados apontam que a ativação de receptores NMDA ou não-NMDA podem causar liberação de vasopressina (COSTA *et al*., 1992). Baseado nestas evidências, nós estudamos a possível participação da neurotransmissão glutamatérgica do NPV nas respostas cardiovasculares à administração de NA no NLET. O pré-tratamento do NPV com LY235959, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA, não afetou as respostas cardiovasculares da NA. Entretanto, a administração de NBQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA, no PVN inibiu a resposta pressora e bradicárdica da NA. Assim, estes resultados sugerem que as

respostas cardiovasculares observadas após administração de NA no NLET são mediadas pela ativação de receptores glutamatérgicos não-NMDA no NPV.

A dose de LY235959 usada no presente estudo reduziu as respostas cardiovasculares observadas após a administração de glutamato no hipotálamo lateral (Pajolla et al, 2005), ao passo que a mesma dose de NBQX reduziu as respostas cardiovasculares para administração de glutamato no NSO (Busnardo et al, 2007). Além disso, a administração de dose equimolar de LY235959 no NSO e NBQX no hipotálamo lateral não afetou as respostas cardiovasculares do L-glu. Estes dados sugerem que a dose de LY235959 e NBQX usada no presente estudo é seletiva e efetiva para o estudo da predominância do envolvimento de receptores glutamatérgicos NMDA e não-NMDA em respostas envolvendo a neurotransmissão glutamatérgica. Estas evidências reforçam a idéia do envolvimento de receptores glutamatérgicos não-NMDA do NPV nas respostas à microinjeção de noradrenalina no NLET. No entanto, como apenas uma dose de LY235959 foi usada, nós não podemos descartar o envolvimento de receptores glutamatérgicos NMDA.

Apesar de receptores não-NMDA serem menos expressos nos neurônios magnocelulares do NPV quando comparados com receptores NMDA (HERMAN et al., 2000), existem evidências de que receptores não-NMDA são importantes no controle da atividade dos neurônios magnocelulares do NPV. Experimentos eletrofisiológicos demonstraram que administração de CNQX, antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos não-NMDA, bloqueou a ativação de neurônios magnocelulares do NPV causada pela administração de glutamato e os potenciais pós-sinápticos excitatórios espontâneos (VAN DEN POL

*et al*., 1990). Busnardo et al (2009) relataram que a administração de glutamato no NPV causa respostas pressoras e taquicárdicas, que são bloqueadas pelo tratamento sistêmico com bloqueador ganglionar, sugerindo uma mediação simpática. No mesmo estudo foi observado que o tratamento do NPV com LY235959, antagonista de receptores glutamatérgicos NMDA, não afetou a resposta pressora, mas mudou a resposta taquicárdica para bradicárdica. A resposta pressora e bradicárdica observada após o tratamento do NPV com LY235959 foi bloqueada quando o tratamento com LY235959 foi associado com o tratamento sistêmico com um antagonista de receptores $V_1$ vasopressinérgicos, ou com a administração de doses crescentes de NBQX no NPV. Juntos, estes resultados sugeriram a presença de dois mecanismos glutamatérgicos de regulação da pressão arterial no NPV: um mecanismo simpático, que é mediado pela ativação de receptores glutamatérgicos NMDA no NPV; e um mecanismo de liberação sistêmica de vasopressina, que envolve a ativação de receptores glutamatérgicos não-NMDA no NPV. Estes resultados corroboram e reforçam nossos dados indicando o envolvimento de receptores glutamatérgicos não-NMDA no NPV na resposta pressora causada pela administração de NA no NLET.

Existem evidências neuro-anatômicas de projeções diretas do NLET para a divisão magnocelular do NPV (MULDERS *et al*., 1997; DONG *et al*., 2001; CRANE *et al.,* 2003), e estas conexões parecem ser ipsilateral (CRANE *et al*., 2003). Resultados prévios também indicaram que a vasta maioria destas projeções são gabaérgicas (CULLINAN *et al*., 1993). Estudos utilizando traçadores anterógrados sugerem que algumas estruturas límbicas densamente inervam regiões adjacentes ao NPV, e afetam a atividade do NPV através de

interneurônios (HERMAN *et al*, 2002). Resultados também sugerem que neurônios glutamatérgicos na região ao redor do NPV são capazes de ativar neurônios do NPV (BOUDABA *et al*., 1997). Assim, neurônios gabaérgicos do NLET poderiam projetar para neurônios glutamatérgicos localizados em regiões adjacentes ao NPV. Nossos resultados sugerem que adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET medeiam as respostas cardiovasculares observadas após administração de NA no NLET. Como discutido acima, a ativação de adrenoceptores α no NLET desencadeiam ações inibitórias no NLET (SAWADA e YAMAMOTO, 1981; MATSUI e YAMAMOTO, 1984; FORRAY *et al*, 1999). Deste modo, a inibição dos neurônios gabaérgicos do NLET decorrente da administração de NA poderiam desinibir neurônios glutamatérgicos em regiões adjacentes ao NPV e ativar os neurônios magnocelulares no NPV. Esta idéia é reforçada por experimentos conduzidos *in vitro* demonstrando que a administração de antagonistas de receptores gabaérgicos em fatias hipotalâmicas desencadeia liberação de vasopressina (GHUMAN *et al*., 2007). Uma representação esquemática do mecanismo proposto de liberação de vasopressina após administração de NA no NLET é apresentada na Figura 33.

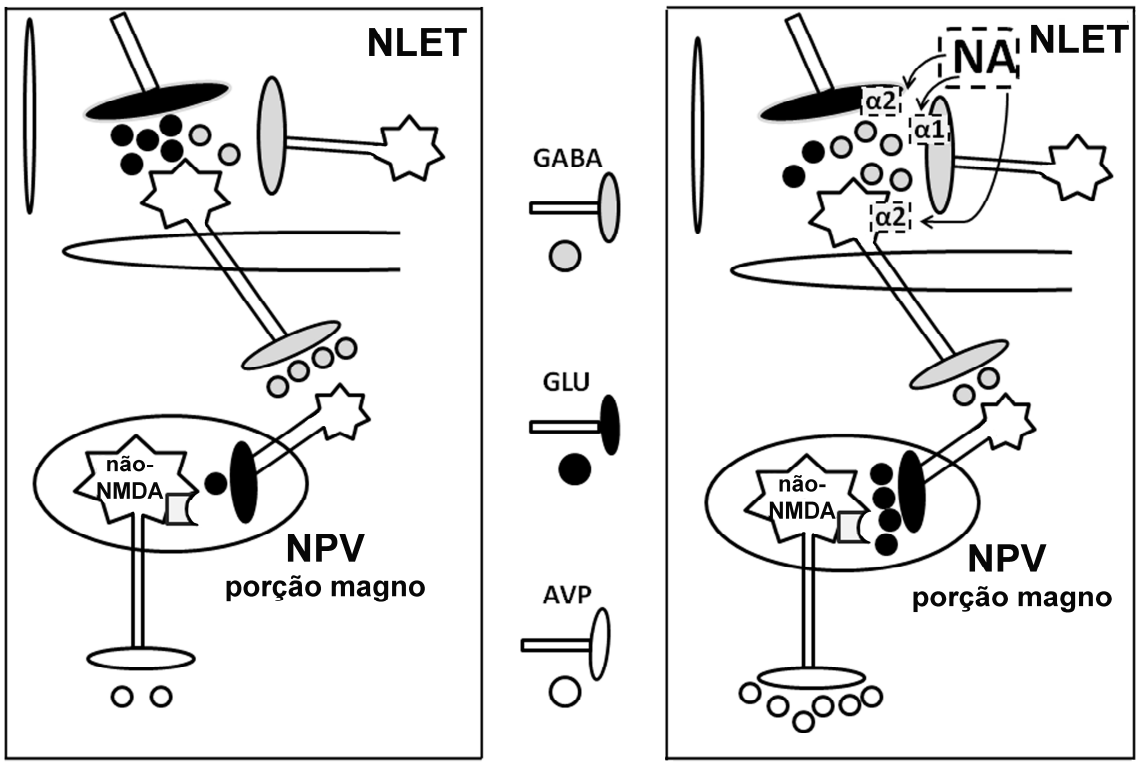


**Figure 33-** Representação esquemática ilustrando o mecanismo proposto de liberação de vasopressina após administração de NA no NLET. AVP – vasopressina, α1 – adrenoceptor α1, α2 – adrenoceptor α2, GABA – ácido gama-aminobutírico, GLU – glutamato, NA – noradrenalina, não-NMDA – receptores glutamatérgicos não-NMDA, NPV porção magno – porção magnocelular do NPV,

Foi sugerido por alguns autores que o NLET poderia ser um “relay” no circuito neural, conectando estruturas límbicas conhecidas por modular respostas neuroendócrinas, como o hipocampo, a amygdala medial e central e o córtex pré-frontal lateral, a regiões hipotalâmicas envolvidas no controle neuroendócrino (FELDMAN *et al*., 1995; HERMAN e CULLINAN, 1997; HERMAN *et al*., 2005; CHOI *et al*., 2007). Esta idéia é reforçada por dados demonstrando que a lesão do NLET bloqueia as respostas neuroendócrinas decorrentes da ativação do hipocampo e da amygdala (FELDMAN *et al*., 1990; ZHU *et al*., 2001). Além disso, Scopinho e colaboradores (2006) relataram que administração de NA na área septal lateral (ASL) causa resposta pressora, na qual é mediada pela liberação sistêmica de vasopressina. Foi observado posteriormente que o pré-tratamento do NPV com NBQX bloqueou as respostas cardiovasculares observadas após microinjeção de NA na ASL, ao passo que administração de LY235959 no NPV não afetou estas respostas (SCOPINHO *et al*, 2008). Considerando que a ASL não possui projeções diretas para o NPV (TAVARES et al, 2001), mas possui conexões com o NLET (DONG et al, 2004), o NLET poderia ser parte da via neural de liberação de vasopressina pela ASL. Foi também demonstrado que a lesão neural do NLET resultou na atenuação da expressão de RNA mensageiro para vasopressina na divisão magnocelular do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), sem afetar os neurônios magnocelulares do NSO (CHOI *et al*., 2007), sugerindo que o NLET pode tonicamente modular a atividade de neurônios vasopressinérgicos na divisão magnocelular do NPV. Estes dados sugerem que a neurotransmissão noradrenérgica no NLET poderia ser um

importante sistema no circuito neural de regulação neuroendócrina envolvido na liberação sistêmica de vasopressina pelos neurônios magnocelulares do NPV.

Ainda não está elucidada a importância fisiológica destas respostas cardiovasculares observadas após microinjeção de NA no NLET, e mediadas pela liberação sistêmica de vasopressina. No entanto, a liberação de vasopressina é estimulada por diferentes modelos de estresse, como hemorragia e hipovolemia isotônica (KASTING, 1988). Estudos prévios indicam que grupos de células noradrenérgicas no tronco cerebral são ativados durante o estresse, e esta ativação está relacionada com a estimulação de neurônios no NPV (DAYAS *et al*., 2001). Existem indícios de que neurônios noradrenérgicos no tronco cerebral influenciam a atividade de células do NPV através de uma via poli-sináptica, na qual envolve projeções noradrenérgica para estruturas límbicas suprabulbares (FELDMAN *et al*., 1995; CECCHI *et al*., 2002; DAYAS e DAY, 2002). Prévios estudos demonstraram que a exposição ao estresse aumenta a liberação de NA no NLET de ratos (PACAK *et al*., 1995; CECCHI *et al*., 2002). Assim, a neurotransmissão noradrenérgica do NLET poderia fazer parte da via noradrenérgica de ativação do NPV durante situações de estresse, na qual está envolvida no ajuste de balanço fluídico durante situações de estresse, integrando respostas cardiovasculares e neuroendócrinas.

**6.2- Envolvimento da neurotransmissão noradrenérgica do NLET na modulação da atividade do barorreflexo.**

Recentemente nós relatamos que a administração de $CoCl_2$, inibidor não-seletivo de sinapses, no NLET reversivelmente afetou a atividade do barorreflexo (CRESTANI *et al*., 2006). Comparações de curvas barorreflexas geradas antes e após bloqueio de sinapses no NLET demonstraram um aumento no ganho da resposta bradicárdica do barorreflexo após tratamento farmacológico do NLET, sem alterações na resposta taquicárdica reflexa (CRESTANI *et al*., 2006). Estes resultados sugerem que o NLET tem uma influência inibitória sobre a atividade do barorreflexo, agindo preferencialmente na modulação do componente bradicárdico do baroreflexo.

Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram um aumento no ganho da resposta bradicárdica do barorreflexo 10 minutos após a microinjeção do WB4101, antagonista seletivo de adrenoceptores α1, no NLET. O efeito do WB4101 sobre a atividade do barorreflexo foi similar àquele observado após administração de $CoCl_2$ no NLET. Estes dados sugerem o envolvimento de adrenoceptores $\alpha_1$ do NLET na influência inibitória do NLET sobre a atividade do barorreflexo. Para evidenciar a possível inibição dos adrenoceptores $\alpha_2$ e β pelo WB4101, nós comparamos os efeitos da microinjeção bilateral de WB4101 com os efeitos da administração de dose equimolar do potente antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$, RX821002, ou do antagonista não-seletivo de adrenoceptores β, propranolol. O pré-tratamento com RX821002

ou propranolol não afetaram a bradicardia reflexa, reforçando a idéia de que a resposta do WB4101 é devido ao bloqueio de adrenoceptores $\alpha_1$.

Nós demonstramos recentemente que a microinjeção de um antagonista seletivo de receptores glutamatérgicos NMDA no NLET também causou um aumento na resposta bradicárdica do barorreflexo (ALVES *et al*, 2009). Como discutido acima, ativação de adrenoceptores no NLET é capaz de modular a liberação local de glutamato (FORRAY *et al*., 1999; EGLI *et al*., 2005). Deste modo, seria relevante considerar a possibilidade de uma interação entre a neurotransmissão glutamatérgica e noradrenérgica do NLET na modulação da atividade do baroreflexo. Foi demonstrado que a NA inibe a liberação de glutamato no NLET através da ativação de adrenoceptores $\alpha_2$ no NLET (FORRAY *et al*., 1999). Neste sentido, se a modulação do baroreflexo pela neurotransmissão noradrenérgica fosse mediado por um efeito sobre a liberação de glutamato, nós esperaríamos um efeito oposto sobre a atividade do baroreflexo após bloqueio de receptores glutamatérgicos ou noradrenérgicos do NLET, uma vez que o bloqueio de adrenoceptores causaria um aumento na liberação de glutamato no NLET. Além disso, seria esperado a participação de adrenoceptores $\alpha_2$, desde que a modulação da liberação de glutamato pela NA é mediada por este receptor. Assim, a modulação do baroreflexo pelos adrenoceptores $\alpha_1$ do NLET parece ser independente da modulação pelo sistema glutamatérgico local. Entretanto, a neurotransmissão glutamatérgica e noradrenérgica no NLET podem fazer parte de um mecanismo sinérgico de inibição da resposta bradicárdica do barorreflexo.

Estudos sugerem que a resposta bradicárdica do barorreflexo é predominantemente devido a um aumento da atividade vagal cardíaca, uma vez

que foi prevenida pelo tratamento i.v. com um antagonista de receptores muscarínico colinérgicos, porém não foi afetado pelo tratamento i.v. com um antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$ (HEAD e McCARTY, 1987). Assim, o componente parassimpático do baroreflexo poderia mediar a modulação da resposta bradicárdica do barorreflexo pelos adrenoceptores $\alpha_1$ do NLET. No presente estudo nós observamos que nos animais tratados sistemicamente com metilbrometo de homatropina, antagonista de receptores colinérgicos muscarínicos, a resposta bradicárdica reflexa antes e após microinjeção de WB4101 no NLET não foi diferente, sugerindo que os adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET controla a atividade do barorreflexo através de uma modulação do componente parassimpático do baroreflexo

A observação de que o bloqueio de adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET aumenta o ganho da resposta bradicárdica reflexa, e este efeito não é observado nos animais tratados com metilbrometo de homatropina, indica que a neurotransmissão noradrenérgica do NLET tem uma atividade inibitória sobre o componente parassimpático do barorreflexo. Neste sentido, os adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET poderia modular a bradicardia reflexa tanto inibindo as aferências do barorreceptores para os neurônios vagais, ou inibindo aferências facilitatórias para os neurônios cardiovagais. Esta idéia é reforçada por dados indicando que o NLET envia projeções para o NDV (GRAY e MAGNUSON, 1987) e para o NTS (HOLSTEGE *et al*., 1985; GRAY e MAGNUSON, 1987).

Em nossos experimentos nós observamos que a microinjeção unilateral ou bilateral dos antagonistas de adrenoceptores não afetaram os valores basais de PAM e FC. Estes resultados sugerem que apesar da neurotransmissão

noradrenérgico no NLET ter uma importante participação na modulação do sistema cardiovascular e da atividade do barorreflexo, ela não tem uma função tônica na manutenção da PAM e FC. Esses resultados corroboram com dados prévios demonstrando que o tratamento do NLET com $CoCl_2$, bloqueador não seletivo de sinapses (CRESTANI *et al*., 2006; RESSTEL *et al*., 2008), ou com antagonista de receptores glutamatérgicos (HATAM e NASIMI, 2007; ALVES *et al*, 2009), não afeta os valores basais de PAM e FC.

Existem relatos indicando que durante situações de estresse e durante o exercício físico ocorre um aumento no *set point* de regulação da PA pelos barorreceptores (ROWELL e O'LEARY, 1990; Nosaka, 1996; Schadt e Hasser, 1998; DICARLO e BISHOP, 2001), indicando ativação de vias neurais inibitórias durante estas situações. Deste modo, mudanças no limiar do baroreflexo relatados no presente estudo indicam que adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET poderiam ser ativados durante estas situações, e modular a atividade de neurônios em áreas autonômicas do tronco cerebral relacionadas com o baroreflexo, causando uma inibição do componente parassimpático do baroreflexo. Assim, baseado nas evidências do envolvimento do NLET na modulação da atividade do barorreflexo, e em resultados que indicou a ativação de neurônios do NLET durante o exercício físico, nós avaliamos o envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares desencadeadas pelo exercício físico dinâmico.

**6.3- Envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico.**

Exercício físico dinâmico causa respostas cardiovasculares, que incluem aumento na PA, FC e débito cardíaco, associado a uma diminuição na capacitância venosa e uma redistribuição do fluxo sanguíneo entre os diferentes leitos vasculares (WINDER *et al*., 1978; WADE, 1984; ROWELL e O'LEARY, 1990; WALDROP *et al*., 1996). No presente estudo nós observamos respostas pressoras e taquicárdicas durante exercício físico dinâmico em uma esteira para roedores, que foram dependentes da intensidade de exercício. As respostas cardiovasculares relatadas no presente estudo foram estreitamente relacionadas com o protocolo de exercício, e não devido à exposição ao ambiente da esteira, desde que não foram observadas alterações cardiovasculares significativas quando os animais foram mantidos em repouso no ambiente da esteira.

No presente estudo nós observamos que a administração bilateral de $CoCl_2$ no NLET reduziu a resposta pressora e taquicárdica desencadeada pelo exercício físico dinâmico. Estes resultados indicam um envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico em ratos.

Tratamento do NLET com $CoCl_2$ não afetou o comportamento dos animais no teste de campo aberto, indicando que o bloqueio do NLET não afeta o comportamento motor e exploratório dos animais. Apesar de alguns estudos relatarem conexão do NLET com estruturas do SNC envolvidas no controle da atividade locomotora (DONG *et al.*, 2001, 2004), estudos prévios

relataram resultados similares ao nosso no teste de campo aberto após lesão eletrolítica do NLET de ratos ou ratas (SCHULZ e CANBEYLI, 2000, PEZUK*, et al.*, 2006, PEZUK*, et al.*, 2008). Estes resultados sugerem que a diminuição nas respostas pressora e taquicárdica após tratamento do NLET com $CoCl_2$ foi devido a uma interferência direta no controle autonômico durante o exercício, e não devido a um efeito decorrente de alteração no comportamento motor dos animais.

De acordo com a teoria atual, o controle cardiovascular durante o exercício é mediado pelo "comando central", por mecanismos de retroalimentação a partir de receptores localizados na musculatura esquelética, e pelos reflexos cardiovasculares (POTTS, 2001, RAVEN*, et al.*, 2002, FISHER e WHITE, 2004, WILLIAMSON*, et al.*, 2006). O comando central consiste no estímulo iniciado em estruturas telencefálicas, no qual acarreta ativação paralela de estruturas envolvidas na locomoção e no controle autonômico, determinando assim o padrão básico de atividade motora da musculatura esquelética e as respostas cardiovasculares durante o exercício físico (RAVEN *et al*., 2002; WILLIAMSON *et al*., 2006). Estudos utilizando técnicas de imagem e imuno-histoquímica indicaram que a via neural envolvida no comando central parece envolver regiões do córtex cerebral e do hipotálamo envolvidas no controle autonômico, como o córtex pré-frontal medial (CPFM) e lateral (CPFL), NPV e hipotálamo lateral (TIMOFEEVA *et al*., 2003; WILLIAMSON *et al*., 2006), nas quais interagem com outras estruturas envolvidas com o controle da atividade locomotora e da atividade cardiovascular durante o exercício (RAVEN*, et al.*, 2002, WILLIAMSON*, et al.*, 2006). Conexões neurais entre o NLET e as estruturas mencionadas acima foram relatadas previamente (YASUI*, et al.*, 1991, DONG*, et*

*al.*, 2000, DONG e SWANSON, 2004, VERTES, 2004). Além disso, tem sido proposto que o NLET poderia ser um *"relay"* no circuito central de controle da atividade autonômica, conectando estruturas superiores do SNC (por exemplo, CPFM e CPFL) a regiões de controle autonômico no hipotálamo e no tronco cerebral (ULRICH-LAI e HERMAN, 2009). Estas evidências suportam a idéia do envolvimento do NLET no circuito neural do "comando central".

As respostas cardiovasculares durante o exercício também são mediadas por aferências musculares do tipo III e IV, nas quais estão envolvidas na monitoração de alterações mecânicas e metabólicas na musculatura esquelética (KAUFMAN e FORSTER, 1996; FISHER e WHITE, 2004). Apesar de estruturas bulbares serem os componentes principais do controle cardiovascular pelas aferências da musculatura esquelética, estruturas suprabulbares podem modular as respostas decorrentes da ativação destes receptores (KAUFMAN e FORSTER, 1996; LI e MITCHELL, 2000). Esta idéia é suportada por dados demonstrando que a contração estática causa ativação de estruturas suprabulbares como a substância cinzenta periaquedutal (SCP), o NPV e o NSO (LI *et al*., 1997; LI e MITCHELL, 2000). Além disso, foi relatado que a lesão da SCP reduz a resposta pressora desencadeada pela contração muscular estática em ratos (ALLY *et al*., 1994; Li, 2004). Foi relada conexões entre o NLET e estruturas bulbares e suprabulbares ativadas durante contração isométrica (DONG *et al*., 2000; Dong e Swanson, 2004), indicando que o NLET pode também modular as respostas cardiovasculares decorrentes da ativação de receptores na musculatura esquelética.

Vários pesquisadores têm demonstrado um deslocamento das curvas do barorreflexo durante o exercício, sendo observado um deslocamento lateral para a direita, levando as curvas barorreflexas para valores superiores de PA (ROWELL e O'LEARY, 1990; DICARLO e BISHOP, 2001; RAVEN *et al*., 2006; DAMPNEY *et al*., 2008). Tem sido proposto que o comando central e os mecanismos reflexos da musculatura esquelética exercem seus efeitos cardiovasculares através de uma modulação na atividade do barorreflexo (ROWELL e O'LEARY, 1990; DICARLO e BISHOP, 2001; RAVEN *et al*., 2002; POTTS, 2006), sugerindo que a modulação do barorreflexo durante o exercício é um importante mecanismo mediando o aumento na atividade simpática, PA e FC durante o exercício (ROWELL e O'LEARY, 1990; DICARLO e BISHOP, 2001). O NLET modula a atividade do barorreflexo de uma maneira similar à modulação observada durante exercício físico (CRESTANI *et al*, 2006; ALVES *et al*, 2009). Deste modo, o NLET poderia mediar as respostas cardiovasculares durante o exercício através de uma modulação na atividade do barorreflexo. Entretanto, foi relatado que a estimulação do NLET causa alterações na PA e FC (GELSEMA e CALARESU, 1987; HATAM e NASIMI, 2007), que são independentes do barorreflexo (DUNN e WILLIAMS, 1998), indicando que o NLET poderia também mediar as respostas cardiovasculares do exercício através de um mecanismo independente do barorreflexo.

O NLET envia projeções para estruturas bulbares envolvidas no controle da atividade autonômica, como o NTS, NDV e o NA (GRAY e MAGNUSON, 1987; MULDERS *et al*., 1997; DONG *et al*., 2001). Foi demonstrado um envolvimento do NTS nas respostas cardiovasculares do exercício (DUFLOTH

*et al*., 1997; BRAGA *et al*., 2000; POTTS, 2006). Estes resultados fornecem evidências acerca do substrato neural envolvido na modulação das respostas cardiovasculares do exercício pelo NLET. Foi também relatado que projeções vasopressinérgicas do NPV para a região dorsal do tronco cerebral são ativadas durante o exercício (SAWCHENKO e SWANSON, 1982; DUFLOTH *et al*., 1997). Além disso, administração de antagonistas de receptores para vasopressina na região do NTS reduziu a resposta taquicárdica do exercício (DUFLOTH *et al*., 1997). Assim, considerando os resultados demonstrando conexões entre o NLET e o NPV, o NLET pode também modular a atividade cardiovascular durante o exercício através de uma via indireta envolvendo o NPV.

# 7.CONCLUSÃO

O trabalho apresentado nos permite concluir que:

- A resposta pressora e bradicárdica observada após microinjeção de NA no NLET envolve a ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET. Além disso, a ativação de adrenoceptores $\beta_1$ no NLET tem uma função inibitória sobre as respostas da NA, e pode modular as respostas mediadas pela ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ e $\alpha_2$ no NLET.

- As respostas cardiovasculares à administração de NA no NLET são mediadas por neurônios magnocelulares do NPV, sem envolvimento de neurônios do NSO. A mediação por neurônios magnocelulares do NPV envolve a neurotransmissão glutamatérgica local, através da ativação de receptores glutamatérgicos não-NMDA no NPV.

- A neurotransmissão noradrenérgica do NLET modula de maneira inibitória a resposta bradicárdica do barorreflexo. Esta modulação é mediada pela ativação de adrenoceptores $\alpha_1$ no NLET e inibição do componente parassimpático do baroreflexo.

- Por fim, nossos resultados sugerem um envolvimento do NLET nas respostas cardiovasculares observadas durante exercício físico dinâmico. Os dados sugerem uma influência facilitatória do NLET sobre a resposta pressora e taquicárdica observadas durante o exercício físico dinâmico.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLY, A.; MEINTJES, A.F.; MITCHELL, J.H. e WILSON, L.B. Central cholinergic modulation of the exercise pressor reflex in anesthetized cats. Am J Physiol, v.267, n.1 Pt 2, p.H109-17. 1994.

ALVES, F.H.; CRESTANI, C.C.; RESSTEL, L.B. e CORREA, F.M. Cardiovascular effects of carbachol microinjected into the bed nucleus of the stria terminalis of the rat brain. Brain Res, v.1143, p.161-8. 2007.

ALVES, F.H.; CRESTANI, C.C.; RESSTEL, L.B. e CORREA, F.M. Bed nucleus of the stria terminalis N-methyl-D-aspartate receptors and nitric oxide modulate the baroreflex cardiac component in unanesthetized rats. J Neurosci Res, v.87, n.7, p.1703-11. 2009.

AMARAL, S.L. e MICHELINI, L.C. Validation of transit-time flowmetry for chronic measurements of regional blood flow in resting and exercising rats. Braz J Med Biol Res, v.30, n.7, p.897-908. 1997.

ASTON-JONES, G.; DELFS, J.M.; DRUHAN, J. e ZHU, Y. The bed nucleus of the stria terminalis. A target site for noradrenergic actions in opiate withdrawal. Ann N Y Acad Sci, v.877, p.486-98. 1999.

BORGES, R.F.B. Ajustes de coordenadas estereotáxicas para ratos com pesos variáveis. Ribeirão Preto. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Farmacologia, Universidade de São Paulo. 68p. 1999.

BOUDABA, C.; SCHRADER, L.A. e TASKER, J.G. Physiological evidence for local excitatory synaptic circuits in the rat hypothalamus. J Neurophysiol, v.77, n.6, Jun, p.3396-400. 1997.

BRAGA, D.C.; MORI, E.; HIGA, K.T.; MORRIS, M. e MICHELINI, L.C. Central oxytocin modulates exercise-induced tachycardia. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.278, n.6, p.R1474-82. 2000.

BUSNARDO, C.; TAVARES, R.F. e CORREA, F.M. Role of N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors in the cardiovascular effects of L-glutamate microinjection into the hypothalamic paraventricular nucleus of unanesthetized rats. J Neurosci Res, v.87, n.9, p.2066-77. 2009.

BUSNARDO, C.; TAVARES, R.F.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CORREA, F.M. Cardiovascular effects of L-glutamate microinjection in the supraoptic nucleus of unanaesthetized rats. Neuropharmacology, v.52, p.1378–1384. 2007.

BYRUM, C.E. e GUYENET, P.G. Afferent and efferent connections of the A5 noradrenergic cell group in the rat. J Comp Neurol, v.261, n.4, p.529-42. 1987.

CECCHI, M.; KHOSHBOUEI, H.; JAVORS, M. e MORILAK, D.A. Modulatory effects of norepinephrine in the lateral bed nucleus of the stria terminalis on behavioral and neuroendocrine responses to acute stress. Neuroscience, v.112, n.1, p.13-21. 2002.

CHOI, D.C.; FURAY, A.R.; EVANSON, N.K.; OSTRANDER, M.M.; ULRICH-LAI, Y.M. e HERMAN, J.P. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. J Neurosci, v.27, n.8, p.2025-34. 2007.

CIRIELLO, J. e JANSSEN, S.A. Effect of glutamate stimulation of bed nucleus of the stria terminalis on arterial pressure and heart rate. Am J Physiol, v.265, n.5 Pt 2, p.H1516-22. 1993.

COSTA, A.; YASIN, S.A.; HUCKS, D.; FORSLING, M.L.; BESSER, G.M. e GROSSMAN, A. Differential effects of neuroexcitatory amino acids on corticotropin-releasing hormone-41 and vasopressin release from rat hypothalamic explants. Endocrinology, v.131, n.6, p.2595-602. 1992.

COWLEY, A.W., JR. Vasopressin and blood pressure regulation. Clin Physiol Biochem, v.6, n.3-4, p.150-62. 1988.

CRANE, J.W.; BULLER, K.M. e DAY, T.A. Evidence that the bed nucleus of the stria terminalis contributes to the modulation of hypophysiotropic corticotropin-releasing factor cell responses to systemic interleukin-1beta. J Comp Neurol, v.467, n.2, p.232-42. 2003.

CRESTANI, C.C.; ALVES, F.H.; RESSTEL, L.B. e CORREA, F.M. The bed nucleus of the stria terminalis modulates baroreflex in rats. Neuroreport, v.17, n.14, p.1531-5. 2006.

CRESTANI, C.C.; ALVES, F.H.; RESSTEL, L.B. e CORREA, F.M. Cardiovascular effects of noradrenaline microinjection in the bed nucleus of the stria terminalis of the rat brain. J Neurosci Res, v.85, n.7, p.1592-9. 2007.

DAMPNEY, R.A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. Physiol Rev, v.74, n.2, p.323-64. 1994.

DAMPNEY, R.A.; COLEMAN, M.J.; FONTES, M.A.; HIROOKA, Y.; HORIUCHI, J.; LI, Y.W.; POLSON, J.W.; POTTS, P.D. e TAGAWA, T. Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.29, n.4, p.261-8. 2002.

DAMPNEY, R.A.; HORIUCHI, J.; KILLINGER, S.; SHERIFF, M.J.; TAN, P.S. e MCDOWALL, L.M. Long-term regulation of arterial blood pressure by hypothalamic

nuclei: some critical questions. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.32, n.5-6, p.419-25. 2005.

DAMPNEY, R.A.; HORIUCHI, J. e MCDOWALL, L.M. Hypothalamic mechanisms coordinating cardiorespiratory function during exercise and defensive behaviour. Auton Neurosci, v.142, n.1-2, p.3-10. 2008.

DAMPNEY, R.A. e MOON, E.A. Role of ventrolateral medulla in vasomotor response to cerebral ischemia. Am J Physiol, v.239, n.3, p.H349-58. 1980.

DAYAS, C.V.; BULLER, K.M. e DAY, T.A. Medullary neurones regulate hypothalamic corticotropin-releasing factor cell responses to an emotional stressor. Neuroscience, v.105, n.3, p.707-19. 2001.

DAYAS, C.V. e DAY, T.A. Opposing roles for medial and central amygdala in the initiation of noradrenergic cell responses to a psychological stressor. Eur J Neurosci, v.15, n.10, p.1712-8. 2002.

DEJOURS, P.; GIRARD, F.; LABROUSSE, Y. e RAYNAUD, J. [Oxygen chemoreflex stimulus in ventilation at low altitude in man. II. During muscular exercise.]. J Physiol (Paris), v.49, n.1, p.120-4. 1957.

DICARLO, S.E. e BISHOP, V.S. Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. Am J Physiol, v.262, n.1 Pt 2, p.H303-7. 1992.

DICARLO, S.E. e BISHOP, V.S. Central baroreflex resetting as a means of increasing and decreasing sympathetic outflow and arterial pressure. Ann N Y Acad Sci, v.940, p.324-37. 2001.

DONG, H.; PETROVICH, G.D. e SWANSON, L.W. Organization of projections from the juxtacapsular nucleus of the BST: a PHAL study in the rat. Brain Res, v.859, n.1, p.1-14. 2000.

DONG, H.W.; PETROVICH, G.D.; WATTS, A.G. e SWANSON, L.W. Basic organization of projections from the oval and fusiform nuclei of the bed nuclei of the stria terminalis in adult rat brain. J Comp Neurol, v.436, n.4, p.430-55. 2001.

DONG, H.W. e SWANSON, L.W. Organization of axonal projections from the anterolateral area of the bed nuclei of the stria terminalis. J Comp Neurol, v.468, n.2, p.277-98. 2004.

DUFLOTH, D.L.; MORRIS, M. e MICHELINI, L.C. Modulation of exercise tachycardia by vasopressin in the nucleus tractus solitarii. Am J Physiol, v.273, n.4 Pt 2, p.R1271-82. 1997.

DUMONT, E.C. e WILLIAMS, J.T. Noradrenaline triggers GABAA inhibition of bed nucleus of the stria terminalis neurons projecting to the ventral tegmental area. J Neurosci, v.24, n.38, p.8198-204. 2004.

DUNN, J.D. Plasma corticosterone responses to electrical stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis. Brain Res, v.407, n.2, p.327-31. 1987.

DUNN, J.D. e WILLIAMS, T.J. Cardiovascular responses to electrical stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis. J Comp Neurol, v.352, n.2, p.227-34. 1995.

DUNN, J.D. e WILLIAMS, T.J. Effect of sinoaortic denervation on arterial pressure changes evoked by bed nucleus stimulation. Brain Res Bull, v.46, n.4, p.361-5. 1998.

EGLI, R.E.; KASH, T.L.; CHOO, K.; SAVCHENKO, V.; MATTHEWS, R.T.; BLAKELY, R.D. e WINDER, D.G. Norepinephrine modulates glutamatergic transmission in the bed nucleus of the stria terminalis. Neuropsychopharmacology, v.30, n.4, p.657-68. 2005.

FELDBERG, W. e GUERTZENSTEIN, P.G. A vasodepressor effect of pentobarbitone sodium. J Physiol, v.224, n.1, p.83-103. 1972.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N. e SAPHIER, D. The preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis are involved in the effects of the amygdala on adrenocortical secretion. Neuroscience, v.37, n.3, p.775-9. 1990.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N. e WEIDENFELD, J. Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. Neurosci Biobehav Rev, v.19, n.2, p.235-40. 1995.

FISHER, J.P. e WHITE, M.J. Muscle afferent contributions to the cardiovascular response to isometric exercise. Exp Physiol, v.89, n.6, p.639-46. 2004.

FORRAY, M.I.; BUSTOS, G. e GYSLING, K. Noradrenaline inhibits glutamate release in the rat bed nucleus of the stria terminalis: in vivo microdialysis studies. J Neurosci Res, v.55, n.3, p.311-20. 1999.

FORRAY, M.I. e GYSLING, K. Role of noradrenergic projections to the bed nucleus of the stria terminalis in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Brain Res Brain Res Rev, v.47, n.1-3, p.145-60. 2004.

GANDEVIA, S.C.; KILLIAN, K.; MCKENZIE, D.K.; CRAWFORD, M.; ALLEN, G.M.; GORMAN, R.B. e HALES, J.P. Respiratory sensations, cardiovascular control, kinaesthesia and transcranial stimulation during paralysis in humans. J Physiol, v.470, p.85-107. 1993.

GELSEMA, A.J. e CALARESU, F.R. Chemical microstimulation of the septal area lowers arterial pressure in the rat. Am J Physiol, v.252, n.4 Pt 2, p.R760-7. 1987.

GELSEMA, A.J.; COPELAND, N.E.; DROLET, G. e BACHELARD, H. Cardiovascular effects of neuronal activation of the extended amygdala in rats. Brain Res, v.626, n.1-2, p.156-66. 1993.

GHUMAN, S.P.; PRABHAKAR, S.; SMITH, R.F. e DOBSON, H. gamma-amino butyric acid control of arginine vasopressin release from the ewe hypothalamus in vitro: sensitivity to oestradiol. Reprod Domest Anim, v.42, n.5, p.527-35. 2007.

GIANCOLA, S.B.; RODER, S. e CIRIELLO, J. Contribution of caudal ventrolateral medulla to the cardiovascular responses elicited by activation of bed nucleus of the stria terminalis. Brain Res, v.606, n.1, p.162-6. 1993.

GOZAL, D.;OMIDVAR, O.;KIRLEW, K. A.;HATHOUT, G. M.;HAMILTON, R.;LUFKIN, R. B. E HARPER, R. M. Identification of human brain regions underlying responses to resistive inspiratory loading with functional magnetic resonance imaging. Proc Natl Acad Sci U S A, v.92, n.14, p.6607-11, 1995.

GRANATA, A.R.; RUGGIERO, D.A.; PARK, D.H.; JOH, T.H. e REIS, D.J. Lesions of epinephrine neurons in the rostral ventrolateral medulla abolish the vasodepressor components of baroreflex and cardiopulmonary reflex. Hypertension, v.5, n.6 Pt 3, p.V80-4. 1983.

GRAY, T.S. e MAGNUSON, D.J. Neuropeptide neuronal efferents from the bed nucleus of the stria terminalis and central amygdaloid nucleus to the dorsal vagal complex in the rat. J Comp Neurol, v.262, n.3, p.365-74. 1987.

GRAY, T.S. e MAGNUSON, D.J. Neuropeptide neuronal efferents from the bed nucleus of the stria terminalis and central amygdaloid nucleus to the dorsal vagal complex in the rat. J Comp Neurol, v.262, n.3, p.365-74. 1987.

GUYENET, P.G. The sympathetic control of blood pressure. Nat Rev Neurosci, v.7, n.5, p.335-46. 2006.

HATAM, M. e NASIMI, A. Glutamatergic systems in the bed nucleus of the stria terminalis, effects on cardiovascular system. Exp Brain Res, v.178, n.3, p.394-401. 2007.

HEAD, G.A. e MCCARTY, R. Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. J Auton Nerv Syst, v.21, n.2-3, p.203-13. 1987.

HERMAN, J.P. e CULLINAN, W.E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Trends Neurosci, v.20, n.2, p.78-84. 1997.

HERMAN, J.P.; EYIGOR, O.; ZIEGLER, D.R. e JENNES, L. Expression of ionotropic glutamate receptor subunit mRNAs in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. J Comp Neurol, v.422, n.3, p.352-62. 2000.

HERMAN, J.P.; OSTRANDER, M.M.; MUELLER, N.K. e FIGUEIREDO, H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, v.29, n.8, p.1201-13. 2005.

HERMAN, J.P.; TASKER, J.G.; ZIEGLER, D.R. e CULLINAN, W.E. Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration: glutamate-GABA connections. Pharmacol Biochem Behav, v.71, n.3, p.457-68. 2002.

HOLLANDER, A.P. e BOUMAN, L.N. Cardiac acceleration in man elicited by a muscle-heart reflex. J Appl Physiol, v.38, n.2, p.272-8. 1975.

HOLSTEGE, G.; MEINERS, L. e TAN, K. Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons, and medulla oblongata in the cat. Exp Brain Res, v.58, n.2, p.379-91. 1985.

HOLSTEGE, G.; MEINERS, L. e TAN, K. Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons, and medulla oblongata in the cat. Exp Brain Res, v.58, n.2, p.379-91. 1985.

KASTING, N.W. Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat. Can J Physiol Pharmacol, v.66, n.1, p.22-6. 1988.

KAUFMAN, M.P. e FORSTER, H.V. Reflexes controlling circulatory, ventilatory and airway response to exercise. In *Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems,* ed. Rowell LB & Shepherd JT, chap. 10,. p.381–447. Oxford University Press, New York. 1996.

KRETZ, R. Local cobalt injection: a method to discriminate presynaptic axonal from postsynaptic neuronal activity. J Neurosci Methods, v.11, n.2, p.129-35. 1984.

KROGH, A.E.; LINDHARD, J. The regulation of respiration and circulation during initial atages of muscular work. J. Physiol. v.47, p.112-36, 1913

LI, J. Central integration of muscle reflex and arterial baroreflex in midbrain periaqueductal gray: roles of GABA and NO. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.287, n.3, p.H1312-8. 2004.

LI, J.; HAND, G.A.; POTTS, J.T.; WILSON, L.B. e MITCHELL, J.H. c-Fos expression in the medulla induced by static muscle contraction in cats. Am J Physiol, v.272, n.1 Pt 2, p.H48-56. 1997.

LI, J. e MITCHELL, J.H. c-Fos expression in the midbrain periaqueductal gray during static muscle contraction. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.279, n.6, p.H2986-93. 2000.

LUDBROOK, J. e POTOCNIK, S.J. Circulatory changes during spontaneous motor activity: role of arterial baroreflexes. Am J Physiol, v.250, n.3 Pt 2, p.H426-33. 1986.

MATSUI, H. e YAMAMOTO, C. The possible involvement of adenylate cyclase inhibition in the field potential suppression through alpha-2 adrenergic receptors in the bed nucleus of the stria terminalis. Brain Res, v.293, n.1, p.187-90. 1984.

MCALLEN, R.M. e SPYER, K.M. The location of cardiac vagal preganglionic motoneurones in the medulla of the cat. J Physiol, v.258, n.1, p.187-204. 1976.

MCCLOSKEY, D.I. e MITCHELL, J.H. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. J Physiol, v.224, n.1, p.173-86. 1972.

MICHELINI, L.C. Endogenous vasopressin and the central control of heart rate during dynamic exercise. Braz J Med Biol Res, v.31, n.9, p.1185-95. 1998.

MICHELINI, L.C. Differential effects of vasopressinergic and oxytocinergic pre-autonomic neurons on circulatory control: reflex mechanisms and changes during exercise. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.34, n.4, p.369-76. 2007.

MIKI, K.; YOSHIMOTO, M. e TANIMIZU, M. Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. J Physiol, v.548, n.Pt 1, p.313-22. 2003.

MIURA, M. e REIS, D.J. Termination and secondary projections of carotid sinus nerve in the cat brain stem. Am J Physiol, v.217, n.1, p.142-53. 1969.

MOGA, M.M.; SAPER, C.B. e GRAY, T.S. Bed nucleus of the stria terminalis: cytoarchitecture, immunohistochemistry, and projection to the parabrachial nucleus in the rat. J Comp Neurol, v.283, n.3, p.315-32. 1989.

MOORE, R.Y. Catecholamin innervation of the basal forebrain. I. The septal area. J Comp Neurol, v.177, n.4, p.665-84. 1978.

MULDERS, W.H.; MEEK, J.; HAFMANS, T.G. e COOLS, A.R. Plasticity in the stress-regulating circuit: decreased input from the bed nucleus of the stria terminalis to the hypothalamic paraventricular nucleus in Wistar rats following adrenalectomy. Eur J Neurosci, v.9, n.11, p.2462-71. 1997.

PACAK, K.; MCCARTY, R.; PALKOVITS, M.; KOPIN, I.J. e GOLDSTEIN, D.S. Effects of immobilization on in vivo release of norepinephrine in the bed nucleus of the stria terminalis in conscious rats. Brain Res, v.688, n.1-2, p.242-6. 1995.

PALIJ, P. e STAMFORD, J.A. Real-time monitoring of endogenous noradrenaline release in rat brain slices using fast cyclic voltammetry: 1. Characterisation of evoked noradrenaline efflux and uptake from nerve terminals in the bed nucleus of stria terminalis, pars ventralis. Brain Res, v.587, n.1, p.137-46. 1992.

PALIJ, P. e STAMFORD, J.A. Real-time monitoring of endogenous noradrenaline release in rat brain slices using fast cyclic voltammetry. 2. Operational characteristics of the alpha 2 autoreceptor in the bed nucleus of stria terminalis, pars ventralis. Brain Res, v.607, n.1-2, p.134-40. 1993.

PAJOLLA, G.P.; PELOSI, G.G.; CORREA, F.M. Involvement of NMDA receptors in the hypotensive response to the injection of L-glutamate into the lateral hypothalamus of unanesthetized rats. Brain Res, v.1053, p. 19–26. 2005.

PAXINOS, G. e WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Sydney, Australia,1997.

PEZUK, P.; AYDIN, E.; AKSOY, A. e CANBEYLI, R. Effects of BNST lesions in female rats on forced swimming and navigational learning. Brain Res, v.1228, p.199-207. 2008.

PEZUK, P.; GOZ, D.; AKSOY, A. e CANBEYLI, R. BNST lesions aggravate behavioral despair but do not impair navigational learning in rats. Brain Res Bull, v.69, n.4, p.416-21. 2006.

PHELIX, C.F.; LIPOSITS, Z. e PAULL, W.K. Monoamine innervation of bed nucleus of stria terminalis: an electron microscopic investigation. Brain Res Bull, v.28, n.6, p.949-65. 1992.

POTTS, J.T. Exercise and sensory integration. Role of the nucleus tractus solitarius. Ann N Y Acad Sci, v.940, p.221-36. 2001.

POTTS, J.T. Inhibitory neurotransmission in the nucleus tractus solitarii: implications for baroreflex resetting during exercise. Exp Physiol, v.91, n.1, p.59-72. 2006.

RAVEN, P.B.; FADEL, P.J. e OGOH, S. Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. Exp Physiol, v.91, n.1, p.37-49. 2006.

RAVEN, P.B.; FADEL, P.J. e SMITH, S.A. The influence of central command on baroreflex resetting during exercise. Exerc Sport Sci Rev, v.30, n.1, p.39-44. 2002.

RESSTEL, L.B.; ALVES, F.H.; REIS, D.G.; CRESTANI, C.C.; CORREA, F.M. e GUIMARAES, F.S. Anxiolytic-like effects induced by acute reversible inactivation of the bed nucleus of stria terminalis. Neuroscience, v.154, n.3, p.869-76. 2008.

ROWELL, L.B. What signals govern the cardiovascular responses to exercise? Med Sci Sports Exerc, v.12, n.5, p.307-15. 1980.

ROWELL, L.B. e O'LEARY, D.S. Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. J Appl Physiol, v.69, n.2, p.407-18. 1990.

SAPRU, H.N. Glutamate circuits in selected medullo-spinal areas regulating cardiovascular function. Clin Exp Pharm Physiol v.29, p.491–496. 2002.

SAWADA, S. e YAMAMOTO, C. Postsynaptic inhibitory actions of catecholamines and opioid peptides in the bed nucleus of the stria terminalis. Exp Brain Res, v.41, n.3-4, p.264-70. 1981.

SAWCHENKO, P.E. e SWANSON, L.W. Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. J Comp Neurol, v.205, n.3, p.260-72. 1982.

SCHULZ, D. e CANBEYLI, R.S. Lesion of the bed nucleus of the stria terminalis enhances learned despair. Brain Res Bull, v.52, n.2, p.83-7. 2000.

SCOPINHO, A.A.; RESSTEL, L.B.; ANTUNES-RODRIGUES, J. e CORREA, F.M. Pressor effects of noradrenaline injected into the lateral septal area of unanesthetized rats. Brain Res, v.1122, n.1, p.126-34. 2006.

SCOPINHO, A.A.; TAVARES, R.F.; BUSNARDO, C. e CORREA, 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, v.86, n.14, p.3203-11. 2008.

SPENCER, S.J.; BULLER, K.M. e DAY, T.A. Medial prefrontal cortex control of the paraventricular hypothalamic nucleus response to psychological stress: possible role of the bed nucleus of the stria terminalis. J Comp Neurol, v.481, n.4, p.363-76. 2005.

SVED, A.F.; GORDON, F.J. Amino acids as central neurotransmitters in the baroreceptor reflex pathway. NIPS v.9, p.243-246, 1994.

SWAAB, D.F.; NIJVELDT, F. e POOL, C.W. Distribution of oxytocin and vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus. J Endocrinol, v.67, n.3, p.461-2. 1975.

SWANSON, L.W. e HARTMAN, B.K. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. J Comp Neurol, v.163, n.4, p.467-505. 1975.

SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E. Interaction of vasopressin and angiotensin II in central control of blood pressure and thirst. Regul Pept, v.66, n.1-2, p.65-71. 1996.

TAVARES, R.F.; PELOSI, G.G. e CORREA, F.M. The paraventricular nucleus of the hypothalamus is involved in cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. Stress, v.12, n.2, p.178-85. 2009.

TAYLOR, E.W.; JORDAN, D. e COOTE, J.H. Central control of the cardiovascular and respiratory systems and their interactions in vertebrates. Physiol Rev, v.79, n.3, Jul, p.855-916. 1999.

TIMOFEEVA, E.; HUANG, Q. e RICHARD, D. Effects of treadmill running on brain activation and the corticotropin-releasing hormone system. Neuroendocrinology, v.77, n.6, p.388-405. 2003.

ULRICH-LAI, Y.M. e HERMAN, J.P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. Nat Rev Neurosci, . 2009.

VAN DEN POL, A.N.; WUARIN, J.P. e DUDEK, F.E. Glutamate, the dominant excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. Science, v.250, n.4985, p.1276-8. 1990.

VERTES, R.P. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. Synapse, v.51, n.1, p.32-58. 2004.

WADE, C.E. Response, regulation, and actions of vasopressin during exercise: a review. Med Sci Sports Exerc, v.16, n.5, p.506-11. 1984.

WALDROP, T.G.; ELDRIDGE, F.L.; IWAMOTO, G.A. e MITCHELL, J.H. Central neural control of respiration and circulation during exercise. In *Handbook of Physiology, section 12, Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems,* ed. Rowell LB & Shepherd JT, & Shepherd JT,. p.333-380, Oxford University Press, New York. 1996.

WALKER, D.L.; TOUFEXIS, D.J. e DAVIS, M. Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. Eur J Pharmacol, v.463, n.1-3, Feb 28, p.199-216. 2003.

WELLER, K.L. e SMITH, D.A. Afferent connections to the bed nucleus of the stria terminalis. Brain Res, v.232, n.2, p.255-70. 1982.

WILLIAMSON, J.W.; FADEL, P.J. e MITCHELL, J.H. New insights into central cardiovascular control during exercise in humans: a central command update. Exp Physiol, v.91, n.1, p.51-8. 2006.

WILLIAMSON, J. W.;MCCOLL, R.;MATHEWS, D.;GINSBURG, M. E MITCHELL, J. H. Activation of the insular cortex is affected by the intensity of exercise. J Appl Physiol, v.87, n.3, p.1213-9, 1999.

WINDER, W.W.; HAGBERG, J.M.; HICKSON, R.C.; EHSANI, A.A. e MCLANE, J.A. Time course of sympathoadrenal adaptation to endurance exercise training in man. J Appl Physiol, v.45, n.3, p.370-4. 1978.

WOULFE, J.M.; HRYCYSHYN, A.W. e FLUMERFELT, B.A. Collateral axonal projections from the A1 noradrenergic cell group to the paraventricular nucleus and bed nucleus of the stria terminalis in the rat. Exp Neurol, v.102, n.1, p.121-4. 1988.

YASUI, Y.; BREDER, C.D.; SAPER, C.B. e CECHETTO, D.F. Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. J Comp Neurol, v.303, n.3, p.355-74. 1991.

ZHU, W.; UMEGAKI, H.; SUZUKI, Y.; MIURA, H. e IGUCHI, A. Involvement of the bed nucleus of the stria terminalis in hippocampal cholinergic system-mediated activation of the hypothalamo--pituitary--adrenocortical axis in rats. Brain Res, v.916, n.1-2, p.101-6. 2001.

# APÊNDICE

**Tabela 1 –** Percentual de inibição das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses do WB4101, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_1$.

| **WB 4101 (nmoles)** | **Inibição (PAM)±EPM (%)** | **Inibição (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 10 | 1±1 | 2±2 | 4 |
| 15 | 29±2 | 27±2 | 4 |
| 25 | 38±2 | 39±3 | 4 |

**Tabela 2 -** Percentual de inibição das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses do RX821002, antagonista seletivo de adrenoceptores $\alpha_2$.

| **RX 821002 (nmoles)** | **Inibição (PAM)±EPM (%)** | **Inibição (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 10 | 3±2 | 5±3 | 4 |
| 15 | 22±3 | 24±3 | 4 |
| 25 | 35±4 | 37±3 | 4 |

**Tabela 3-** Percentual de inibição das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses do WB4101+RX821002.

| **WB 4101 + RX 821002 (nmoles)** | **Inibição (PAM)±EPM (%)** | **Inibição (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 5 | 0 | 0 | 3 |
| 10 | 43±5 | 5±3 | 4 |
| 15 | 77±3 | 24±3 | 4 |
| 25 | 89±4 | 88±3 | 4 |

**Tabela 4 -** Percentual de aumento das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses de propranolol, antagonista de adrenoceptores β.

| **propranolol (nmoles)** | **Potencialização (PAM)±EPM (%)** | **Potencialização (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 2,5 | 8±4 | 10±7 | 4 |
| 7,5 | 39±6 | 34±3 | 4 |
| 12,5 | 64±7 | 56±4 | 4 |

**Tabela 5 -** Percentual de aumento das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses do CGP20712, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_1$.

| **CGP 20712 (nmoles)** | **Potencialização (PAM)±EPM (%)** | **Potencialização (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 2,5 | -2±5 | 10±4 | 4 |
| 7,5 | 37±9 | 32±6 | 4 |
| 12,5 | 60±7 | 51±5 | 4 |

**Tabela 6 -** Percentual de aumento das respostas de pressão arterial média (ΔPAM) e freqüência cardíaca (ΔFC) à microinjeção de 10 nmol/100 nL de NA no NLET após pré-tratamento do NLET com diferentes doses do ICI188,551, antagonista seletivo de adrenoceptores $\beta_2$.

| **ICI 188,551 (nmoles)** | **Potencialização (PAM)±EPM (%)** | **Potencialização (FC)±EPM (%)** | **n (amostra)** |
|---|---|---|---|
| 2,5 | 0,3±1 | 2±4 | 4 |
| 7,5 | 0,2±1 | -1±9 | 4 |
| 12,5 | 0,5±2 | 1±5 | 4 |

**Tabela 7-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) durante três níveis de exercício (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes e após administração de veículo no NLET (LCA).

| **Grupo** | **0.4 km/h** | | **0.8 km/h** | | **1 km/h** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ΔPAM (mmHg)** | **ΔFC (bpm)** | **ΔPAM (mmHg)** | **ΔFC (bpm)** | **ΔPAM (mmHg)** | **ΔFC (bpm)** |
| Antes LCA | 10±2 | 76± 8 | 13±2 | 93±6 | 15±3 | 118±12 |
| Após LCA | 9±2 | 69±2 | 11±2 | 91±8 | 14±2 | 111±10 |

| | Tratamento | Intensidade | Interação |
|---|---|---|---|
| Δ PAM | $P > 0.05$ | $P < 0.04$ | $P > 0.05$ |
| Δ FC | $P > 0.05$ | $P < 0.01$ | $P > 0.05$ |

Dados foram analisados utilizando ANOVA de duas vias, acompanhado pelo pós-teste de Bonferroni.Valores são a média ± E.P.M., n=5.

**Tabela 8-** Variação da PAM (Δ PAM) e FC (Δ FC) durante três níveis de exercício (0,4, 0,8, e 1 km/h, dois minutos cada intensidade) antes e após administração de $CoCl_2$, inibidor não-seletivo de sinapes, no NLET.

| **Grupo** | **0.4 km/h** | | **0.8 km/h** | | **1 km/h** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ΔMAP (mmHg)** | **ΔHR (bpm)** | **ΔMAP (mmHg)** | **ΔHR (bpm)** | **ΔMAP (mmHg)** | **ΔHR (bpm)** |
| Antes $CoCl_2$ | 10±2 | 76±10 | 12±3 | 110±9 | 14±3 | 124±11 |
| Após $CoCl_2$ | 5±2***** | 32±6***** | 8±2 | 52±5***** | 12±2 | 59±4***** |

| | Tratamento | Intensidade | Interação |
|---|---|---|---|
| Δ PAM | $P < 0.01$ | $P < 0.01$ | $P > 0.05$ |
| Δ FC | $P < 0.001$ | $P < 0.01$ | $P > 0.05$ |

***** $P < 0.05$, significativamente diferente dos valores antes $CoCl_2$, ANOVA de duas vias acompanhado pelo pós-teste de Bonferroni. Valores são a média ± E.P.M., n=6

.

# 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