

ÁLVARO RIBEIRO BARALE

IMPORTÂNCIA RELATIVA DA VASOPRESSINA E DO SISTEMA
NERVOSO AUTÔNOMO NA REGULAÇÃO CARDIOVASCULAR
DURANTE A HEMORRAGIA FRACIONADA

Dissertação de tese
apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo,
como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Fisiologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lisete Compagno Micheline

Ribeirão Preto

-1988-

Em memória da minha mãe:

IAIALI RIBEIRO BARALE

Com muito amor,

ã minha esposa:

LUCY

aos meus filhos:

BRUNO, RAFAEL e RÔMULO

e ao meu pai:

MÁRIO

Colaboraram com recursos para
a realização deste trabalho:

FINEP, CAPES/PICD E UFU

AGRADECIMENTOS

ao Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto que fez com que se concretizasse o meu objetivo; um agradecimento especial aos estímulos dados por:

Dr^a Lisete, Mauro, Leni, Elisa, Jaci e Edson Moreira.

aos colegas pós-graduandos que, com seu apoio e amizade, tornaram muito agradável o meu aprendizado; particularmente às pessoas de:

Carmen Lúcia, Camacho, Padilha, Vanderley, Manuela, Cristina, Luis Carlos, Domingos.

- aos professores: Dr. Armando Mário Infante e Dr^a Maria Aparecida de Paiva Franco pelo auxílio na análise estatística deste trabalho.

- ao Núcleo de Processamento de Dados da Universidade Federal de Uberlândia, pelo imenso apoio dado na realização matemática e gráfica do meu projeto; em especial a pessoa de:

Silvio Bacalá Júnior.

- aos colegas da Disciplina de Fisiologia que, com a sua convivência despojada e humana, aumentaram as perspectivas da conclusão deste trabalho.

- ao Prof. Eustáquio pela prestimosa colaboração nos resumos em inglês.

- a todos aqueles que, direta ou indiretamente contribuíram para realização do nosso trabalho, o meu muito obrigado.

1.0 INDICE

2.0	INTRODUÇÃO	3
3.0	OBJETIVOS	18
4.0	MATERIAL E MÉTODO	19
4.1	ANIMAIS	19
4.2	EQUIPAMENTOS	19
4.3	DROGAS E REAGENTES	20
4.4	PREPARAÇÃO	21
4.5	TÉCNICA DE REGISTRO CONTÍNUO DE PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA EM RATOS ACORDADOS	22
4.6	TÉCNICA DE INJEÇÃO INTRAVENOSA EM RATOS ACORDADOS	26
4.7	TECNICA DE HEMORRAGIA FRACIONADA EM RATOS ACORDADOS	26
4.8	TÉCNICA PARA BLOQUEIO DA AVP PLASMÁTICA OU DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO	27
4.9	TESTE DE EFICÁCIA DOS BLOQUEIOS	28
4.9.1	TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO DA AVP PLASMÁTICA	28
4.9.2	TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO VAGAL	29
4.9.3	TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO β -ADRENÉRGICO	29
4.9.4	TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO DO SNA	30
4.10	COMPARAÇÃO DAS VIAS DE SANGRAMENTO	30
4.11	COMPARAÇÃO DAS REPOSTAS CARDIOVASCULARES COM A INJEÇÃO DE AVPa APÓS A 4ª HEMORRAGIA	31
4.12	SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL	32
4.13	SACRIFÍCIO DE ANIMAIS	34
4.14	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5.0	RESULTADOS	36
5.1	EFEITO DOS VÁRIOS TRATAMENTOS NOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES PASAIS	36
5.2	RECUPERAÇÃO CARDIOVASCULAR TARDIA DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA	41
5.2.1	EFEITO DO BLOQUEIO DA ARGININA VASOPRESSINA	41
5.2.2	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS VAGO	45
5.2.3	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS RECEPTORES β -ADRENÉRGICO	48
5.2.4	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO	51
5.2.5	EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP APÓS 4ª HEMORRAGIA	54
5.3	RESPOSTAS CARDIOVASCULARES IMEDIATAS DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA	56
5.3.1	EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP	61
5.3.2	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS VAGO	61
5.3.3	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS RECEPTORES β -ADRENÉRGICOS	64
5.3.4	EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO	67
5.3.5	EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP APÓS 4ª HEMORRAGIA	69
5.4	ÍNDICE DE SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA	71

5.4.1	ALTERAÇÃO DO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR DURANTE A 1ª HEMORRAGIA PELCS DIFERENTES BLOQUEIOS.	74
5.5	EFEITO DA VIA DE SANGRAMENTO NAS RESPOSTAS À HEMORRAGIA FRACIONADA	76
6.0	DISCUSSÃO	80
7.0	SUMÁRIO E CONCLUSÕES	96
8.0	SUMMARY AND CONCLUSIONS	101
9.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

2.0 INTRODUÇÃO

A manutenção da pressão arterial (PA) em níveis apropriados é o resultado final da ação integrada de vários sistemas reguladores. Face aos conhecimentos atuais, pelo menos 3 sistemas podem ser considerados como de elevada importância na regulação cardiovascular: 1) sistema nervoso autônomo (SNA); 2) sistema renina-angiotensina (SRA) e 3) sistema vasopressinérgico. Inúmeros trabalhos publicados recentemente dirigem seus objetivos para a investigação da importância relativa do sistema nervoso e dos sistemas hormonais na manutenção da PA normal (Cowley e cols., 1974; Gavras e cols., 1982 e 1985; Houck e cols., 1983; Ferrario e cols., 1985) e no controle de suas flutuações durante diferentes padrões comportamentais (Smith, 1980; Foreman, 1980). Nos últimos anos o interesse por essas investigações tem sido favorecido pelos métodos de radioimunoensaio para dosagens de hormônios cardiovasculares, como também pelo aparecimento de inibidores específicos dotados de alto grau de seletividade e que constituem ferramentas extremamente úteis no estudo das funções desempenhadas por esses hormônios (Sawyer e cols. 1981; Manning e Sawyer, 1985).

A importância do SNA vago na regulação da frequência cardíaca e simpático (SNS) como principal sistema

pressor responsável pela regulação contínua do tônus vasomotor e, conseqüentemente, da PA - é reconhecida de longa data (para revisão vide Korner, 1980; Gebber e Barman, 1980; Manning, 1980). Com relação ao sistema renina-angiotensina, a investigação científica ao longo de duas décadas, colecionou uma grande quantidade de trabalhos em torno do funcionamento desse sistema na fisiopatologia da hipertensão arterial, que auxiliados pelo surgimento de vários inibidores da renina e/ou angiotensina, esclareceram aspectos importantes da contribuição do SRA na regulação da PA normal (Houck e cols., 1983; Ferrario e cols., 1985), no desenvolvimento e manutenção de várias formas de hipertensão (Möhring e cols., 1978; Crofton e cols., 1980; Manning, 1981; Ribeiro e cols., 1986), e na elevada resistência vascular da insuficiência cardíaca congestiva (Manning, 1985). A interrelação do sistema renina-angiotensina (em especial a angiotensina II) com o SNA é bem conhecida (para revisão vide Ferrario e cols., 1985) enquanto que o conhecimento do sistema vasopressinérgico e de suas ações cardiovasculares não está completamente elucidado.

Apesar do efeito pressor da arginina vasopressina (AVP) ter sido descrito em 1895 (citado em Cowley, 1985), o foco em seu estudo foi inicialmente dirigido a seu efeito antidiurético, como fator regulador da osmolaridade (Keil e Severs, 1977; Robertson e cols., 1976; Zerbe e cols., 1980). Só recentemente seu efeito pressórico vem sendo intensamente

reestudado (Cowley, 1982; Liard, 1984 e 1985; Cowley e cols., 1985). O interesse nos efeitos cardiovasculares da AVP foi particularmente estimulado pelo desenvolvimento de análogos químicos que antagonizam seletivamente os efeitos vasoconstritores do hormônio sem afetar suas ações tubulares renais (Manning, 1985; Sawyer, 1981). E, certamente, contrariando as hipóteses que prevaleceram no passado, a AVP hoje é reconhecida como um importante mediador da regulação cardiovascular não só quando dada exogenamente em doses farmacológicas, determinando vasoconstrição generalizada, como também nos próprios níveis plasmáticos provenientes da secreção endógena (Möhring e cols., 1978; Charocopoulos e cols., 1982; Cowley, 1982 e Liard, 1985).

Os ajustes circulatórios em consequência de perda sanguínea são resultado da ativação e/ou modulação dos parâmetros cardiovasculares realizadas pelos 3 referidos sistemas (Zerbe, 1982A). O reflexo pressorreceptor é alterado por estímulos aferentes dos pressorreceptores, receptores cardiopulmonares e quimiorreceptores arteriais. A diminuição da pressão arterial e do pulso de pressão, nos estados hipovolêmicos, reduzem os impulsos aferentes dos pressorreceptores aórticos e carotídeos que por sua vez deixam de inibir os centros cardiovasculares simpáticos medulares e, ao mesmo tempo ocorre redução da excitação dos centros cardiovasculares parassimpáticos do bulbo. A

diminuição do fluxo sanguíneo aos quimiorreceptores da área sinoaórtica pela queda de PA, leva à hipóxia de estase, e isto causa aumento da frequência de descargas dos quimiorreceptores que, por sua vez, excitam o centro cardiovascular simpático vasoconstrictor. O SNA pode também ser influenciado por impulsos aferentes dos receptores localizados no coração, grandes vasos e circulação pulmonar.

Com relação aos mecanismos sensores cardíacos envolvidos na liberação de AVP, há dois tipos de mecanorreceptores que são demonstrados em cães e gatos: um tipo está localizado em ambos os átrios particularmente nas regiões das junções venoatriais, é inervado por fibras aferentes vagais mielinizadas de condução rápida e exibem atividade elétrica concomitante com a contração ou enchimento atrial e determinam quando excitados, taquicardia e inibição da liberação da AVP plasmática; o outro tipo, representa a maioria dos mecanorreceptores cardíacos, e tem fibras aferentes vagais não mielinizadas de condução lenta, e estão difusamente localizadas por toda a região cardiopulmonar incluindo ambos os átrios, veias pulmonares, ventrículos esquerdo e direito. Estas fibras aferentes não mielinizadas (fibras C) respondem principalmente à distensão cardíaca, como por exemplo aquela causada pelo aumento do volume central de sangue e determinam bradicardia reflexa e inibição do tônus vasomotor, especialmente no rim. E, a diminuída atividade desses mecanorreceptores após hemorragia

contribui para a excitação reflexa do centros cardiovasculares simpáticos (Chien, 1967).

Com relação à secreção de vasopressina plasmática, ela é regulada por estímulos ao eixo neuro-secretor hipotálamo-hipofisário dados por três importantes elementos: 1) os osmorreceptores (Robertson e cols., 1976, 1985) 2) os mecanorreceptores cardiopulmonares (Thames e Schmid, 1979) e 3) os pressorreceptores arteriais aórticos e carotídeos (Share, 1968). A angiotensina II (AII) também tem sido proposta como moduladora no controle da secreção de AVP (Bonjour, 1970). Reid (1985) em sua revisão apresentou evidências indicando que a vasopressina plasmática elevada também pode suprimir a secreção de renina por diferentes mecanismos. Por administração de AVP a longo-prazo, a supressão é secundária a expansão de volume dos líquidos corporais. Com administração aguda em cães acordados, a supressão da secreção de renina é aparentemente uma resposta reflexa mediada pelos nervos simpáticos renais, já que a desnervação renal ou o bloqueio dos receptores β -adrenérgicos com propranolol atenua esse efeito da AVP. Em outras circunstâncias, são envolvidos outros mecanismos relacionados com a atividade anti-diurética ou natriurética do peptídeo. Finalmente, há algumas evidências de estudos *in vitro* de que a AVP possa exercer efeito inibitório direto nas células justaglomerulares.

Além das alterações dos níveis plasmáticos de AVP induzidas pelos receptores cardiopulmonares foi também demonstrado que a oclusão das artérias carótidas em cães anestesiados determinava o aumento de 3-4 vezes na concentração plasmática de vasopressina estando os nervos vagos intactos (Usami e cols., 1962). Os pressorreceptores em gatos foram seletivamente ativados por meio de preparação de seio carotídeo isolado (Yamashita, 1977) e uma relação linear foi observada entre a intensidade do estímulo e o grau de inibição na atividade do núcleo supraóptico do hipotálamo (NSO), um dos núcleos secretores da AVP liberada pela hipófise posterior. Inúmeros investigadores têm tido interesse em avaliar a contribuição relativa dos pressorreceptores arteriais e dos cardiopulmonares na regulação final da secreção de vasopressina (Thames e Schmid, 1981), mas essas interrelações quantitativas não estão completamente estabelecidas.

O envolvimento da AVP na regulação cardiovascular foi inicialmente descrito nos estados hipovolêmicos. Vários trabalhos (para revisão vide Cowley, 1982; Zerbe e cols., 1982 e Bennett e Gardiner, 1985) indicaram que a vasopressina desempenhava papel importante na regulação da pressão arterial durante hemorragia. É sabido que a concentração plasmática de vasopressina aumenta marcadamente após perda sanguínea (Rocha e Silva, 1969), e está bem documentado que a hipofisectomia em cães dificulta a

capacidade de manter a PA após hemorragia (Cowley e cols., 1980). Tem sido ainda demonstrado que a administração de AVP exógena, produzindo níveis plasmáticos semelhantes àqueles encontrados durante hemorragia, pode aumentar a PA em cães (Schwartz e Reid, 1981; Cowley, 1982). Esses resultados permitem concluir que, durante a hemorragia, o arco-reflexo para a liberação de vasopressina, constituído pelas fibras aferentes do nervo do seio carotídeo e do vago e pelos neurônios dos núcleos supraótico (NSO) e paraventricular (NPV) (Clark e Rocha e Silva, 1967), estaria bastante ativo.

Uma outra abordagem para a elucidação do envolvimento da AVP com o mecanismo pressorreceptor e portanto com o SNA, tem sido o estudo em ratos com inabilidade hipotalâmica congênita para sintetizar AVP (ratos Brattleboro). A importância da AVP endógena na recuperação da PA após hemorragia aguda avaliada em ratos anestesiados normais e Brattleboro (Laycock e cols., 1979), evidenciou uma maior sensibilidade a uma única hemorragia hipovolêmica nos animais desprovidos de AVP circulante. Juntamente com essa observação, também foi notado que, nos animais normais, os níveis plasmáticos da AVP aumentaram com a evolução de hemorragias sequenciais (8 a 10 minutos de intervalo), tornando-se significativamente maiores que os níveis basais, quando a perda sanguínea ultrapassava a 1,5ml por 100g de peso corporal (ml%), indicando que a AVP exercia

papel importante na regulação da PA durante o período imediatamente após a hemorragia aguda.

Outros estudos com ratos Brattleboro confirmaram o papel da AVP como fator importante na regulação da PA após hemorragia. Zerbe e cols. (1982) concluíram que a recuperação sub-normal da PA, observada em ratos deficientes de vasopressina, não era devida a anormalidades secundárias do sistema renina-angiotensina ou do sistema nervoso simpático mas, estava relacionada diretamente com a deficiência de vasopressina. Os mesmos autores utilizando em ratos normais o antagonista específico às ações vasculares da AVP reproduziram os dados obtidos com os Brattleboro, demonstrando que a ausência da AVP é responsável pelo atraso na recuperação da PA após hemorragia hipovolêmica.

Nos estudos de Cowley e cols. (1980) e Cowley (1982), foi quantificada a importância relativa da AVP na regulação da PA em estados hipovolêmicos. Esses pesquisadores demonstraram que, na ausência de outros sistemas atuantes na regulação de PA tais como o reflexo pressorreceptor e o sistema renina-angiotensina, a liberação de AVP provocada pela queda de PA, foi responsável por 72% de compensação de pressão arterial em 5 minutos. O retorno da PA próximo aos níveis normais não foi observado na ausência de secreção de AVP ou quando as respostas vasoconstrictoras foram abolidas pela injeção do antagonista

de efeitos vasculares da vasopressina. Na presença do reflexo pressorreceptor intato, a participação dos efeitos vasoconstrictores diretos da AVP na manutenção da PA poderia ser aumentada devido às interações AVP-pressorreceptor. A AVP liberada, por um estímulo de abaixamento da PA (de 100 para 50 mmHg) duplicou a potência do reflexo pressorreceptor, aumentando a PA para 93mmHg, num total de 78% de compensação.

Entretanto, deve-se ressaltar que não ocorrem elevações substanciais da AVP plasmática durante a hipovolemia enquanto estado hipotensivo evidente não for atingido. Essas observações de Cowley e colaboradores (1985) demonstraram que, numa hemorragia não hipotensiva, a pequena elevação dos níveis plasmáticos da AVP (próximo de 10pg/ml) estava associada com diminuição das pressões cardiopulmonares e, eram provavelmente, de magnitude não suficiente para contribuir na regulação da PA, embora a vasoconstricção na pele e na musculatura esquelética e a redistribuição do débito cardíaco estivessem ocorrendo naqueles níveis de AVP plasmática.

Além da importância da AVP na regulação cardiovascular durante hemorragia, trabalhos mais recentes têm indicado ainda seu envolvimento no controle da PA e FC em níveis de normotensão e portanto, na concentração fisiológica endógena.

Existem muitas evidências experimentais que demonstram que a AVP interfere nos mecanismos de controle cardiovascular através de outras vias que não a de seus efeitos na retenção de volume. Níveis plasmáticos subpressóricos podem induzir vasoconstrição pronunciada em certos leitos vasculares a qual é compensada pela queda simultânea de frequência e débito cardíacos (Möhring e cols., 1978; Liard e cols., 1985). Também ratos Brattleboro exibem PA dentro da faixa de normalidade mas apresentam uma taquicardia basal (Laycock e cols., 1979), o que foi sugerido por Hall e cols. (1973) ser uma resposta reflexa ao estado crônico de depleção de volume. Outros pesquisadores (Wooten e cols., 1975) observaram ainda, no soro de ratos com diabetes insípido, atividade aumentada de dopamino-3-hidroxilase a qual foi corrigida pela administração de AVP, evidenciando a existência de hiperatividade simpática. A importância relativa da AVP, do vago e do simpático no controle da FC em ratos Brattleboro comparados com a cepa normal (Long Evans), foi também estudada por Gardiner e cols. (1982, 1985), que demonstraram ser a hiperatividade simpática a principal responsável pela taquicardia nos ratos com diabetes insípido, sem evidência de concomitante redução do tônus vagal, o que seria esperado pela resposta reflexa à depleção de volume.

A ausência de respostas pressoras evidenciáveis em doses fisiológicas de AVP endógena, seja talvez devida a

profundos efeitos desta substância nos mecanismos nervosos centrais de controle da PA [Bennett e cols., 1982; Ferrario e cols., 1985]. Evidências de interações centrais da AVP com mecanismos envolvidos na regulação da PA e FC foram obtidos em cães [Cowley, 1974; Schmid e cols., 1985A e 1985B; Michelini e cols., 1983], e em ratos [Gardiner e Bennett, 1982; Bishop, 1985; Michelini, 1987]. Existem ainda vários estudos neuranatômicos recentes que tentam esclarecer não só as vias centrais envolvidas na síntese e liberação da AVP pelos núcleos supraóticos e paraventriculares, bem como os sítios de ação periféricos e centrais através dos quais a AVP plasmática influencia a regulação cardiovascular, [Zimmerman e cols., 1984; Schmid e cols., 1984; Armstrong, 1985; Sladek Jr., 1985 e Sved, 1985]. Assim, Schmid e cols. (1985A) em preparações isoladas de seio carotídeo descreveram que a AVP sensibilizava as aferências dos pressorreceptores e também produzia, quando dada i.v. (excluindo-se os pressorreceptores), facilitação central do reflexo pressorreceptor em resposta a um aumento de PA, aumentando o grau de inibição simpática lombar, possivelmente por ação a nível do tronco cerebral.

A existência de um extenso sistema vasopressinérgico central, presente em todo o neuro-eixo, desde o bulbo olfatório até a parte caudal da medula foi confirmada por estudos neuro-anatômicos e imunocitoquímicos recentes [Buijs, 1978; Sawchenko e Swanson, 1982]. Que o

sistema vasopressinérgico central possui ações cardiovasculares diversas da AVP plasmática já fora evidenciado desde estudos comparativos com inibição central e periférica da AVP endógena (Michelini e cols., 1986), em que o bloqueio periférico dos receptores V1 aboliu completamente a hipertensão e bradicardia subsequentes à infusão endovenosa de AVP, enquanto que o bloqueio central reverteu a resposta para hipotensão e taquicardia. Nessa mesma linha de raciocínio, os dados de Schmid e cols. (1984), mostram aumento da sensibilidade e do ganho do reflexo pressorreceptor durante administração sistêmica de AVP, enquanto que Gardiner e Bennett (1982) e Imai e cols. (1983) relataram que a reduzida sensibilidade do reflexo pressorreceptor nos ratos Brattleboro era revertida pela administração sistêmica de AVP. Por outro lado, Michelini (1987) e Michelini e Bonagamba (1988), administrando em ratos acordados AVP diretamente no núcleo do trato solitário (NTS) ou no líquido cefalorraquidiano do 4º ventrículo (4V) descreveram atenuação da bradicardia reflexa sem perda da sensibilidade do reflexo pressorreceptor (deslocamento da reta de regressão $\Delta FC \times \Delta PAM$ para níveis mais elevados de FC) durante administração no NTS, e redução acentuada de sensibilidade do reflexo pressorreceptor quando a AVP foi administrada no 4V.

Do que foi exposto depreende-se que:

- o sistema vasopressinérgico endógeno é complexo, apresentando ações cardiovasculares diversas em função de sua atuação como hormônio circulante, modulador local do tecido cerebral (neurotransmissor) ou neurohormônio;
- a AVP plasmática além de sua ação vasoconstritora direta, modula o sistema nervoso autônomo possivelmente via ação no mecanismo pressorreceptor;
- A AVP plasmática tem importância fundamental seja por sua ação direta, seja por sua ação via tônus simpático e/ou vagal na recuperação da PA em estados hipovolêmicos.

Entretanto os mecanismos pelos quais a AVP possa limitar os efeitos hipotensivos da hemorragia não têm sido bem definidos. Existem mesmo controvérsias se a AVP é essencial ou não como fator de recuperação da PA após hemorragia aguda. Algumas observações indicaram que a ausência de AVP não pode ser compensada pela hiperativação do SRA e SNS (Altura, 1980; Zerbe e cols., 1982A; Gardiner e Bennett, 1983). Por outro lado a AVP não se mostrou indispensável quando foram examinadas as respostas a sangramentos venosos prolongados (Gardiner e Bennett, 1983). Também quando ratos Brattleboro e Long Evans tiveram seus níveis de PA reduzidos para 50mmHg por 20 minutos, através de sangramentos venosos intermitentes, não houve diferença

no padrão de recuperação da PA nos dois grupos. Não ficou claro se isso era devido a diminuição da resposta mediada pela AVP nos ratos Long Evans (exaustão dos estoques de AVP) ou ao recrutamento de mecanismos compensatórios adicionais nos ratos Brattleboro.

Apesar dos estudos citados constituírem avanços na avaliação do papel da vasopressina na regulação de PA durante hemorragia, deve-se notar que muitos deles foram realizados em animais submetidos a anestesia e stress cirúrgico, e por isso devem ser analisados com cautela. Embora Hosomi e Sagawa (1979) demonstrarem não ter havido diferença significativa nas quedas de PA após hemorragia leve (10%) entre cães anestesiados com pentobarbital ou não anestesiados; com controle mais minucioso de outras variáveis além da PA, Zimpfer e cols. (1982) conseguiram demonstrar que a anestesia com pentobarbital modificava marcadamente a capacidade de manter a PA após hemorragia, e que isso estava associado com a depressão da resposta simpático-adrenal, e não com a do sistema renina-angiotensina.

Em nosso laboratório foi desenvolvida uma técnica de hemorragia fracionada, que consiste de 7 pequenas hemorragias, repetidas sequencialmente com intervalos de tempo de 5 minutos entre os sangramentos, permitindo a cada etapa a manifestação de respostas compensatórias, e

utilizando para tanto ratos acordados e sem restrição de sua atividade comportamental (Junqueira e Krieger, 1973). Além de dispensar o uso de anestésicos, esta técnica apresentava a vantagem de se estudar a interação funcional entre AVP e SNA em diferentes níveis de pressão desde a normotensão até a hipotensão severa, enquanto que, na grande maioria dos trabalhos publicados, apenas se comparou as respostas cardiovasculares antes e após a hemorragia intensa e única. Além disso, a modificação introduzida na técnica de Junqueira e Krieger (1973) - a da canulação simultânea de 2 artérias permitindo registro contínuo da PA e FC mesmo durante os episódios de sangramento - apresenta uma vantagem adicional: a de possibilitar a análise do funcionamento do reflexo pressorreceptor para coração durante os episódios de sangramento.

3.0 OBJETIVOS

O presente trabalho utilizando animais com bloqueio isolado e combinado da AVP endógena, e do sistema nervoso autônomo, tem por objetivos:

-1) avaliar o papel relativo da AVP plasmática e do SNA na capacidade de recuperação e manutenção da pressão arterial e frequência cardíaca após múltiplos sangramentos sequenciais em animais acordados e com livre movimentação;

-2) analisar o comportamento do reflexo pressorreceptor e sua modulação pela AVP plasmática na evolução dos episódios hemorrágicos.

4.0 MATERIAL E MÉTODO

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 90 ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 250 gramas (226 ± 2 g), obtidos do Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, São Paulo.

4.2 EQUIPAMENTOS

Polígrafo Hewlett-Packard (HP) modelo 7754A de 4 canais com transdutor de pressão HP série 3145 modelo 1280; pré-amplificadores modelos 8805B, 8809A e 8811A (bioelétrico); tubos de polietileno Clay Adams, Parsipany NJ USA (PE 10, 50 e 90); seringas tipo tuberculina (1ml) e seringas graduadas de 3 ml (Becton, Dickinson, Juiz de Fora, MG, Brasil); instrumental cirúrgico para pequenos animais e fios de algodão 50, 24 e 10.

4.3 DROGAS E REAGENTES

Éter sulfúrico (Guarujá, Ribeirão Preto, SP, Brasil); heparina (Liquemine Glaxo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) 5.000 U.I./ ml; cloreto de sódio (Merck, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) PM 58,4; arginina vasopressina (Vega Biochemicals Tucson, AZ USA); (1-[3-mercapto-3,3-cyclopentamethylene propionic acid) 2-[0-methyl) tyrosine arginine - vasopressin, abreviadamente d(CH₂)₅(Me)AVP, antagonista de vasopressina específico aos receptores V₁ na concentração de 5mg/ml (Bachem Inc., Torrance, CA, USA); sulfato de atropina cristalizado (Merck); propranolol hidrocloreto (Imperial Chemical); acetilcolina (Roche); Isoproterenol (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO USA); Noradrenalina (Sigma Chemical Company, MO, USA). Todas as drogas foram dissolvidas em solução de NaCl (0.9%) estéril, acondicionadas em pequenos tubos de ensaio lacrados e guardados em freezer (-20°C). As drogas só foram descongeladas no momento do seu uso.

4.4 PREPARAÇÃO

Os animais eram canulados sob anestesia pelo éter 3 - 4 horas antes das manobras experimentais. Isso era feito quase sempre pela manhã à temperatura ambiente do laboratório que oscilava entre 25 e 30°C . O tempo cirúrgico nunca passou de 60 minutos.

A canulação da artéria e veia femorais seguiu técnica padronizada no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular da FMRP-USP. Foram usadas cânulas de polietileno PE50 de 13 a 15 cm de comprimento, soldadas a segmentos de PE10 de 3,5 cm para introdução na artéria femoral. As cânulas da veia femoral tinham o mesmo comprimento de PE50, com 2,5 cm de PE10. Todas as cânulas foram previamente testadas e preenchidas com solução salina.

Após a introdução do segmento de PE10, cada cânula era fixada ao respectivo vaso com fio algodão e, em seguida, testado o seu funcionamento utilizando uma seringa de 1 ml (tipo tuberculina) com salina. As extremidades distais das cânulas eram exteriorizadas através de um trocáter de cobre (4mm de diâmetro) pelo subcutâneo na região cervical posterior (entre as orelhas) por uma incisão de 2 mm. As cânulas eram amarradas com fios de algodão 10 na pele do animal.

O acesso à artéria carótida esquerda era feito mediante abertura, mediana de 1 cm de extensão, da pele e subcutâneo, no terço inferior da região cervical anterior. Esta artéria era canulada com tubo de polietileno PE 50 de 8 cm de comprimento, sendo 1,5 cm introduzido na artéria. A cânula era testada, exteriorizada pelo subcutâneo e fixada na região cervical posterior como descrito para a canulação da artéria e veia femorais.

Durante a recuperação da anestesia os ratos foram mantidos livres em gaiolas metálicas individuais, com água "ad libitum". As gaiolas permaneceram no próprio Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, onde os experimentos foram realizados.

4.5 TÉCNICA DE REGISTRO CONTÍNUO DE PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA EM RATOS ACORDADOS

Durante os registros os ratos eram mantidos nas próprias gaiolas metálicas individuais, onde apresentavam livre movimentação. As cânulas arterial e a venosa eram testadas e lavadas com solução de heparina (1.000 U.I./ml, em uma seringa tipo tuberculina). Em seguida, a cânula da artéria femoral era conectada por um tubo de polietileno ao

sistema de registro da pressão arterial, constituído de transdutor, pré-amplificador e polígrafo. Aguardava-se um período de 15 a 20 minutos para a estabilização da PA e FC antes do início dos experimentos propriamente ditos, Figura 01.

Os registros eram sempre efetuados em 3 canais: no primeiro, a pressão arterial pulsátil (PA); no segundo a pressão arterial média (PAM) e, no terceiro a pressão arterial média, em escala expandida (1mm = 2mmHg). Os registros de PA eram feitos continuamente durante o experimento (60-90 min) e na velocidade de 0,25 mm/s. A velocidade de 5 mm/s foi utilizada por períodos curtos de 5-6 ou 20-30 segundos para a determinação da frequência cardíaca (FC), através da contagem dos pulsos de pressão arterial.

A FC foi determinada a cada 5 minutos no período de controle; imediatamente antes (5s), durante (10 a 15s) e imediatamente após (10 a 15s) a cada episódio hemorrágico. Figura 02.

SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL

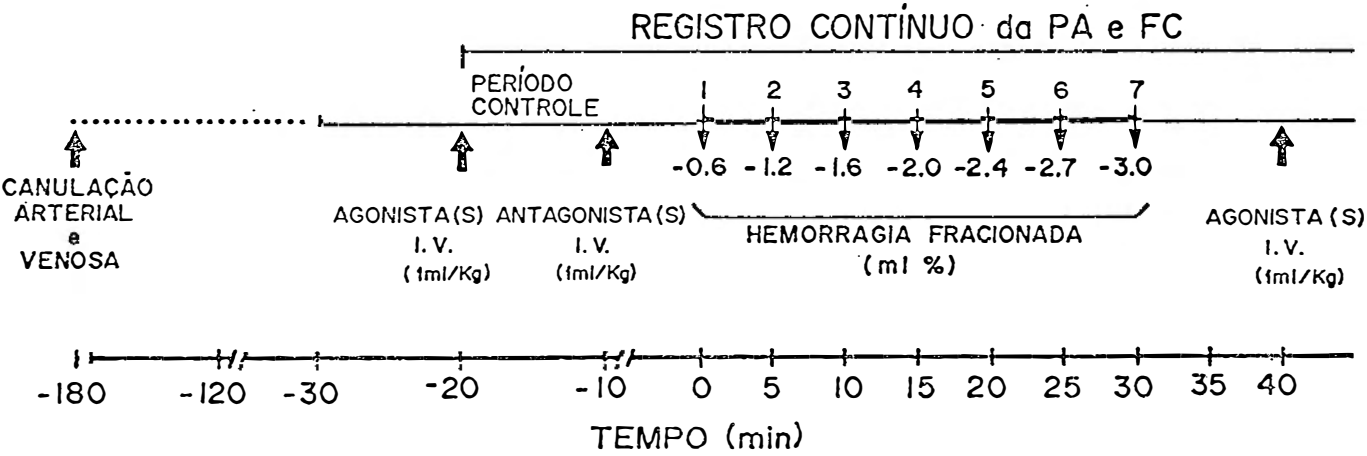


FIGURA 01 - Sequência experimental utilizada em ratos acordado submetidos a diferentes tratamentos (antagonistas i.v.) antes da hemorragia fracionada [-0.6 a -3.0ml/100g de peso corporal - ml%]. O teste de eficácia dos bloqueios era realizado com agonistas i.v. antes e após as manobras experimentais.

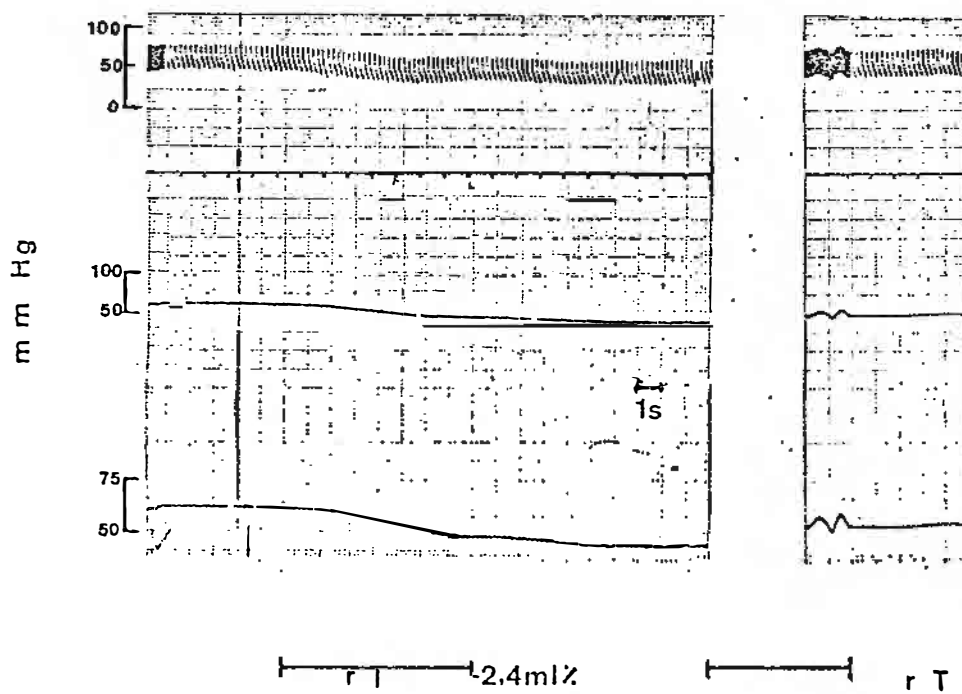
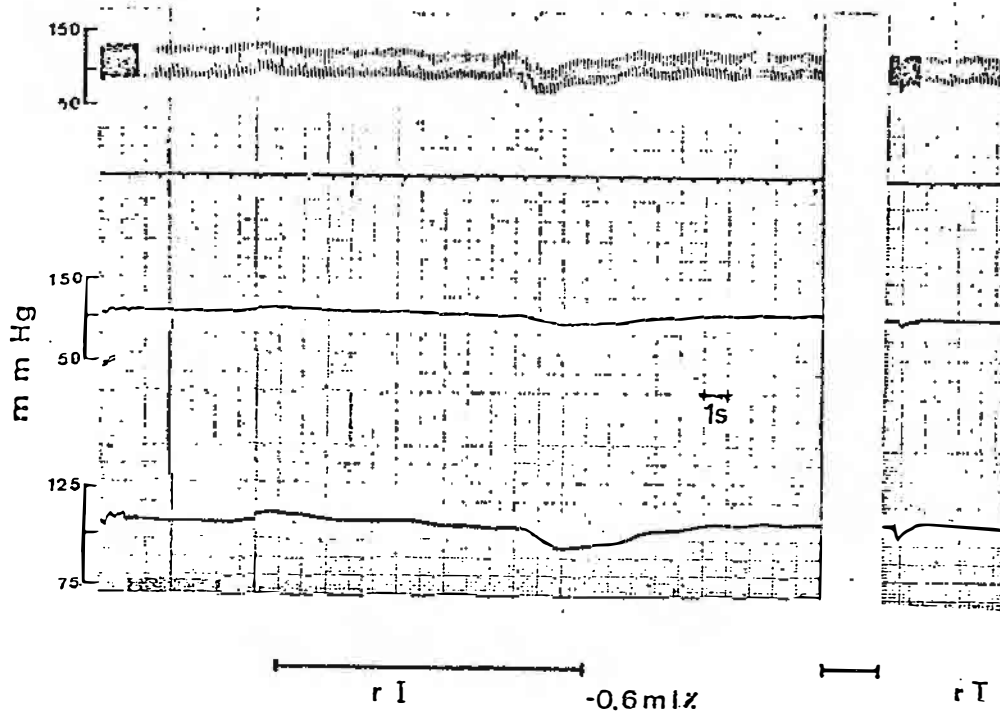


FIGURA 02 - Ilustração de 2 episódios hemorrágicos durante registro contínuo de pressão arterial (PA) realizado em 3 canais (pressão pulsátil, pressão média e pressão média em escala expandida), no mesmo rato acordado. As barras horizontais indicam a duração do episódio hemorrágico. rI = resposta imediata (10^o a 20^o seg); rT = resposta tardia (após 5 minutos).

4.6 TÉCNICA DE INJEÇÃO INTRAVENOSA EM RATOS ACORDADOS.

Visando reduzir o componente de excitação nos ratos acordados, pelo manuseio do animal e das cânulas durante os registros optou-se pela utilização de um tubo de polietileno PE 10 com 15 cm de comprimento, servindo de extensão para a cânula da veia femoral. Através desse tubo eram feitas as injeções i.v. sem o manuseio. O pequeno volume da extensão também evitou a possibilidade de se injetar grandes volumes de salina nos momentos de limpeza das cânulas.

4.7 TÉCNICA DE HEMORRAGIA FRACIONADA EM RATOS ACORDADOS

Pela mesma razão exposta anteriormente, foi conectada à cânula da artéria carótida uma extensão de polietileno PE50 de 15cm de comprimento, preenchida com salina. Usando seringas graduadas de 3 ml e de 1ml (tipo tuberculina) heparinizadas foram feitas as retiradas de sangue, por aspiração suave da carótida (0.1 ml/s) num total de 7 sessões hemorrágicas, com intervalos de 5 minutos. Os volumes de sangue retirados em cada sessão hemorrágica, preconizados em nosso Laboratório (Junqueira e Krieger,

1973), foram os seguintes em ml/100g de peso corporal (ml%,
Figura 01):

1ª= 0.6
2ª= 0.6
3ª= 0.4
4ª= 0.4
5ª= 0.4
6ª= 0.3
7ª= 0.3

Considerou-se o tempo de 5 minutos após cada hemorragia como sendo o tempo de recuperação tardia (RT) para a estabilização dos parâmetros cardiovasculares observados (PA e FC), (Junqueira e Krieger, 1973; Cowley, 1982), e o tempo de 10 a 20 segundos após cada início de hemorragia, como sendo o tempo de aparecimento da resposta imediata (rI) de PA e FC em cada um dos 7 episódios hemorrágicos e que caracterizava a ação dos pressorreceptores.

4.8 TÉCNICA PARA BLOQUEIO DA AVP PLASMÁTICA OU DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

Após o período de controle de 15 a 20 minutos, com registro contínuo de PA, os animais receberam injeção i.v. com AVPa (10ug/Kg) para o bloqueio dos receptores V1 de arginina vasopressina (Manning e cols., 1985).

As injeções i.v. de atropina na dose de 4 mg/Kg (bloqueio vagal) ou de propranolol 6mg/Kg (bloqueio β -adrenérgico) isoladamente, foram dadas após o período controle. E, quando eram feitas associações, o bloqueio do SNA era sempre feito 10 a 15 minutos após o bloqueio da AVP plasmática.

As manobras experimentais da hemorragia fracionada (HM) somente eram iniciadas 10 minutos após o último bloqueio, quando os animais estivessem novamente estabilizado a PA e FC (Figura 01).

4.9 TESTE DE EFICÁCIA DOS BLOQUEIOS

4.9.1 TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO DA AVP PLASMÁTICA

A eficácia do $d(CH_2)5Tyr(Me)$ arginina vasopressina (AVPa) foi testada mediante comparação da resposta de PA e FC à injeção de agonista de arginina vasopressina (AVP) na dose de 20ng i.v., 15 minutos antes do bloqueio com AVPa e, 7 a 10 minutos após a última hemorragia. Todos os animais testados (n=13) não apresentaram alterações significantes de

PA e FC à injeção de AVP após o bloqueio com AVPa, enquanto que sua injeção antes do AVPa determinou alterações médias de $+32 \pm 6$ mmHg e -66 ± 7 bpm.

4.9.2_ TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO VAGAL

Foram feitas curvas dose-efeito individuais para 5 ratos com injeção i.v. de acetilcolina nas doses de 20, 40 e 80 ng/Kg. A resposta hipotensora sub-máxima considerada (-20 a -30 mmHg) continuava ausente 25 e 50 minutos após o uso de atropina i.v. 4 mg/Kg. Dois dos cinco ratos foram submetidos à hemorragia fracionada que se iniciou 5 minutos após o bloqueio com atropina e, da mesma forma que os demais ao final do experimento, a resposta hipotensora a acetilcolina, observada antes do bloqueio, continuava ausente.

4.9.3 TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO β -ADRENÉRGICO

Foram feitas curvas dose-efeito individuais para 3 ratos com injeção de isoproterenol i.v. 1.25, 2.5 e 5.0

ug/Kg. A resposta hipotensora sub-máxima considerada (-20 a -30 mmHg), estava ausente 25 e 50 minutos após o uso i.v. de propranolol (6 mg/Kg).

4.9.4 TESTE DE EFICÁCIA DO BLOQUEIO DO SNA

Da mesma forma, as curvas dose-efeito individuais para 3 ratos injetados i.v. com acetilcolina (20, 40 e 80 ng/Kg) e isoproterenol (1.25, 2.5 e 5 ug/Kg) foram feitas e considerou-se as respostas hipotensoras sub-máximas de -20 a -30 mmHg. Elas não apareceram 25 e 60 minutos após o bloqueio duplo com atropina (4 mg/Kg i.v.) mais propranolol (6 mg/Kg i.v.).

4.10 COMPARAÇÃO DAS VIAS DE SANGRAMENTO

Visando comparar as respostas tardias de FC e PA pelas diferentes vias de sangramento, três grupos de ratos foram preparados da seguinte maneira: um grupo com canulação arterial dupla (carótida e femoral), que foi o considerado o grupo controle e, outros dois com única cânula arterial

(carótida ou femoral). Na canulação dupla a carótida era usada para sangrias e a femoral para registros. Na canulação simples foram feitos os sangramentos e registros pela mesma artéria, sendo que durante cada episódio da hemorragia fracionada a cânula arterial era desconectada do registrador para se realizar o sangramento.

4.11 COMPARAÇÃO DAS REPOSTAS CARDIOVASCULARES COM A INJEÇÃO DE AVPA APÓS A 4A. HEMORRAGIA

Foi testado um grupo experimental de ratos que receberam o AVPa i.v. (10 ug/Kg) imediatamente após o 4º episódio hemorrágico (Grupo RB4). Suas respostas foram comparadas com as dos animais controle (SF = salina e com as do grupo AVPa (bloqueio da AVP plasmática) que receberam seus respectivos tratamentos i.v. previamente à série hemorrágica

4.12 SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL

Um total de 90 ratos distribuídos em 11 grupos foram submetidos aos vários tratamentos e manobras experimentais da hemorragia fracionada descritos a seguir:

1. Grupo controle ou SF (n = 14) - dupla canulação arterial, tratado com solução salina (NaCl a 0.9%) na dose de 1ml/Kg i.v. 15 minutos antes da hemorragia fracionada (HM).

2. Grupo AVPa (n = 15) - dupla canulação arterial, tratado com antagonista dos receptores V1 da arginina vasopressina (AVPa) 10ug/Kg i.v., 15 minutos antes da HM.

3. Grupo Atropina (A) (n = 7) - dupla canulação arterial, tratados i.v. com atropina (4mg/Kg), 10 a 15 minutos antes da HM.

4. Grupo Propranolol (P) (n = 7) - dupla canulação arterial, tratado i.v. com propranolol (6mg/Kg), 10 a 15 minutos antes da HM.

5. Grupo Atropina mais Propranolol (A + P) (n = 7) - dupla canulação arterial tratado com atropina (4 mg/Kg) e propranolol (6 mg/Kg) i.v. 15 minutos antes da HM.

6. Grupo AVPa mais Atropina (AVPa + A) (n = 7) - dupla canulação arterial tratado i.v. com AVPa (10 mcg/Kg) e atropina (4 mg/Kg) 25 e 10 minutos antes da HM, respectivamente.

7. Grupo AVPa mais Propranolol (AVPa + P) (n = 7) - dupla canulação arterial tratado i.v. com AVPa (10 ug/Kg) e propranolol (6 mg/Kg) 25 e 10 minutos antes da HM, respectivamente.

8. Grupo AVPa mais Atropina mais Propranolol (AVPa + A + P) (n = 7) - dupla canulação arterial, tratado i.v. com AVPa (10ug/Kg) mais atropina (4 mg/Kg) e propranolol (6 mg/Kg) 25 e 10 minutos antes da HM, respectivamente.

9. Grupo Femoral (Fm) (n = 5) - canulação arterial única (artéria femoral) tratado i.v. com salina 15 minutos antes da HM. pela artéria femoral.

10. Grupo Carótida (Ca) (n = 5) - canulação arterial única (artéria carótida), tratado i.v. com salina 15 minutos antes da HM. realizada pela artéria carótida.

11. Grupo AVPa após a 4ª hemorragia (BB4) (n = 9) - Canulação dupla (carótida e femoral), tratado i.v. com AVPa (10 ug/Kg) imediatamente após o 4º episódio hemorrágico.

4.13 SACRIFÍCIO DE ANIMAIS

Todos os ratos foram sacrificados com éter 1 a 2 horas após o término das manobras experimentais. Dois ratos do grupo injetado com AVPa mais propranolol morreram 30 e 40 minutos após o experimento. Um rato do grupo AVPa+A+P morreu 40 minutos após a última hemorragia.

4.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA.

A variáveis analisadas nesses experimentos eram pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), e foram estudadas em função de tratamento, condição e suas interações segundo o modelo estatístico descrito em Gill, 1986. Os valores para a comparação foram os das seguintes tomadas: B = controle basal; T = controle após tratamento; rI = imediatamente aos episódios da HM (resposta em 10 a 20 segundos para os sangramentos de -0.6 a -3.0ml%); rT = 5 minutos após cada episódio hemorrágico (também de -0.6 a -3.0ml%). A apresentação gráfica das respostas à hemorragia foi, no caso das rT, as variações dos níveis de PAM e FC em relação ao controle inicial após tratamento; e para as rI,

foram as variações de PAM e FC em relação aos níveis imediatamente anteriores a cada sangramento da HM.

Os resultados estão apresentados como média e erro padrão da média ($\bar{X} \pm EPM$) e foram submetidos a análise de variância com modelo de medidas repetidas para grupos não equilibrados de unidades subdivididas - "split-plot design" (Gill, 1986). Para o teste de comparação das médias dos diferentes episódios da HM entre grupos (tratamentos) foi utilizado o cálculo de T modificado pelo método de Bonferroni (Wallenstein, 1980 e Gill, 1986). Com o objetivo de se verificar o efeito de condições dentro de cada grupo experimental individualmente, utilizou-se a análise multivariada de medidas repetidas, baseada na estatística F resultante da transformação da estatística T² de Hotelling (programa MAV03). Em cada grupo experimental o efeito do tratamento sobre os valores basais de PA e FC foi analisado pelo teste T pareado. Em todos os casos a diferença mínima significativa foi considerada ao nível de significância 5% ($p < 0.05$).

5.0 RESULTADOS

5.1 EFEITO DOS VÁRIOS TRATAMENTOS NOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS

A administração intravenosa do veículo (salina), não alterou os níveis basais de PA (119 ± 4 mmHg) e FC (369 ± 10 bpm, Tabelas I e II).

A injeção intravenosa de AVPa (10 ug/Kg) em ratos acordados não alterou significativamente a PA basal (123 ± 3 mmHg) do grupo AVPa, mas causou aumento significativo da FC de 10% (de 369 ± 9 para 405 ± 12 bpm, ver Tabelas I e II, Figura 03).

A PA basal ficou elevada significativamente após o bloqueio com atropina (de 114 ± 2 para 121 ± 2 mmHg, tabela I), mas não se alterou com o propranolol, ou mesmo após a associação de ambos (Tabela I). A FC elevou-se em 38% (de 360 ± 14 para 495 ± 11 bpm, Tabela II) após tratamento com atropina e houve redução da FC controle em 16% (de 379 ± 16 para 319 ± 10 bpm, Tabela II) após tratamento com propranolol. A frequência intrínseca de marca-passo foi de 388 ± 9 bpm, no grupo A+P (tabela II, Figura 03).

A associação do bloqueio da AVP sistêmica ao bloqueio vagal não alterou a PA basal (109 ± 1 mmHg, tabela I); também a associação de AVPa mais propranolol não determinou alteração nos níveis basais de PA (121 ± 5 mmHg, tabela I). O bloqueio associado AVPa+A abrandou a elevação da FC em relação ao grupo A, mas provocou elevação significativa em relação ao grupo controle (de 361 ± 15 para 450 ± 12 bpm, tabela II e Figura 03). A associação do bloqueio da vasopressina com o dos receptores β -adrenérgicos não alterou o padrão observado após P isoladamente, reduzindo em 13% a FC basal (de 371 ± 10 para 324 ± 7 bpm, tabela II e Figura 03). Por outro lado, o bloqueio do SNA associado ao da vasopressina (AVPa+A+P) não provocou alteração da FC controle (Tabela II, Figura 03).

RESULTADOS

TABELA I - Valores médios das RT de PAM (resposta no 5º minuto) em ratos acordados, submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0 ml/100g de peso corporal - ml%). B=controle basal; T=controle após tratamento i.v.; A=atropina; P=propranolol; AVPa=antagonista da AVP plasmática; SF=salina; RB4=blóqueio con AVPa após o 4º episódio hemorrágico.

GRUPOS/ TRATAMENTO	CONTROLES		E P I S Ó D I O S							H E M O R R Á G I C O S						
	B	T	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º
SF	119± 4	119± 4	117± 4	100± 5	90± 5	85± 5	77± 5	68± 4	61± 4	61± 4	61± 4	61± 4	61± 4	61± 4	61± 4	61± 4
AVPa	123± 3	125± 4	112± 4	97± 7	82± 6	75± 6	68± 4	61± 3	53± 3	53± 3	53± 3	53± 3	53± 3	53± 3	53± 3	53± 3
A	114± 2	121± 2	103± 7	82± 7	75± 6	71± 6	63± 5	65± 4	66± 2	66± 2	66± 2	66± 2	66± 2	66± 2	66± 2	66± 2
P	114± 4	114± 4	94± 7*	71± 5*	75± 5	70± 5	66± 6	70± 6	59± 5	59± 5	59± 5	59± 5	59± 5	59± 5	59± 5	59± 5
A + P	113± 3	117± 2	103± 5	88± 5	82± 3	79± 5	80± 6	85± 6	78± 3	78± 3	78± 3	78± 3	78± 3	78± 3	78± 3	78± 3
AVPa+A	109± 3*	109± 1*A	101± 6	88± 5	89± 4	79± 3	67± 4	57± 2	60± 5	60± 5	60± 5	60± 5	60± 5	60± 5	60± 5	60± 5
AVPa+P	117± 3	121± 5	98± 7*	71± 6*	63± 7*	57± 6*	41± 5*	42± 5*	36± 3*	36± 3*	36± 3*	36± 3*	36± 3*	36± 3*	36± 3*	36± 3*
AVPa+A+P	114± 2	124± 3	106± 2	87± 6	82± 7	71± 7	56± 7*	48± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*	40± 4*
RB4	118± 3		114± 5	101± 7	86± 7	81± 7	61± 6	58± 6	58± 5	58± 5	58± 5	58± 5	58± 5	58± 5	58± 5	58± 5

Valores são $\bar{X} \pm$ EPM (mmHg). Significâncias (P < 0.05):
dentro do mesmo grupo:
□ vs C
○ vs T
■ vs -0.6
● vs -2.4
entre grupos:
* vs SF
△ vs A
▲ vs P
☆ vs A+P

RESULTADOS

TABELA II - Valores médios das RT de PC (resposta no 5º minuto) em ratos acordados, submetidos à hemorragia fracionada (0.6 a -3.0 ml/100g de peso corporal - ml%). B=controle basal; T=controle após tratamento i.v.; A=atropina; P=propranolol; AVPa=antagonista da AVP plasmática; SF=salina; RB4=blajuelo com AVPa após o 4º episódio hemorrágico.

GRUPOS/ TRATAMENTO	CONTROLES		E P I S Ó D I O S H E M O R R Á G I C O S						
	B	T	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
SP	369±10	369±10	402±9 ^o	381±15	366±19	350±19	332±17	338±16	336±15 ^o
AVPa	369±9	405±12 ^o	424±15	425±14*	418±18*	405±21*	409±18*	423±15*	416±14*
A	360±14	495±11*	484±10*	463±13*	441±11*	450±13*	426±13*	435±10*	444±14*
P	379±16	319±10 ^o	283±10*	240±11*	233±11*	239±15*	253±19*	261±22*	265±23*
A + P	366±13	388±9	392±10	392±14	388±12	378±11	373±16	377±17	377±14
AVPa+A	361±15	450±12 ^o	439±15*Δ	448±8*	438±7*	437±19*	452±9*	461±19*	462±15*
AVPa+P	371±10	324±7*	298±11*	246±18*	242±21*	243±19*	253±19*	266±14*	272±11 ^o *
AVPa+A+P	356±14	381±7	384±7	384±10	381±9	386±11	384±9*	371±12	358±12**☆
RB4	373±12		404±14	406±22	402±20	407±18*	386±20*	392±15*	397±14*

Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$ (ppm). Significâncias (p < 0.05):
dentro do mesmo grupo:
□ vs C
○ vs T
■ vs -0.6
entre grupos:
* vs SF
Δ vs A
▲ vs P
☆ vs A+P

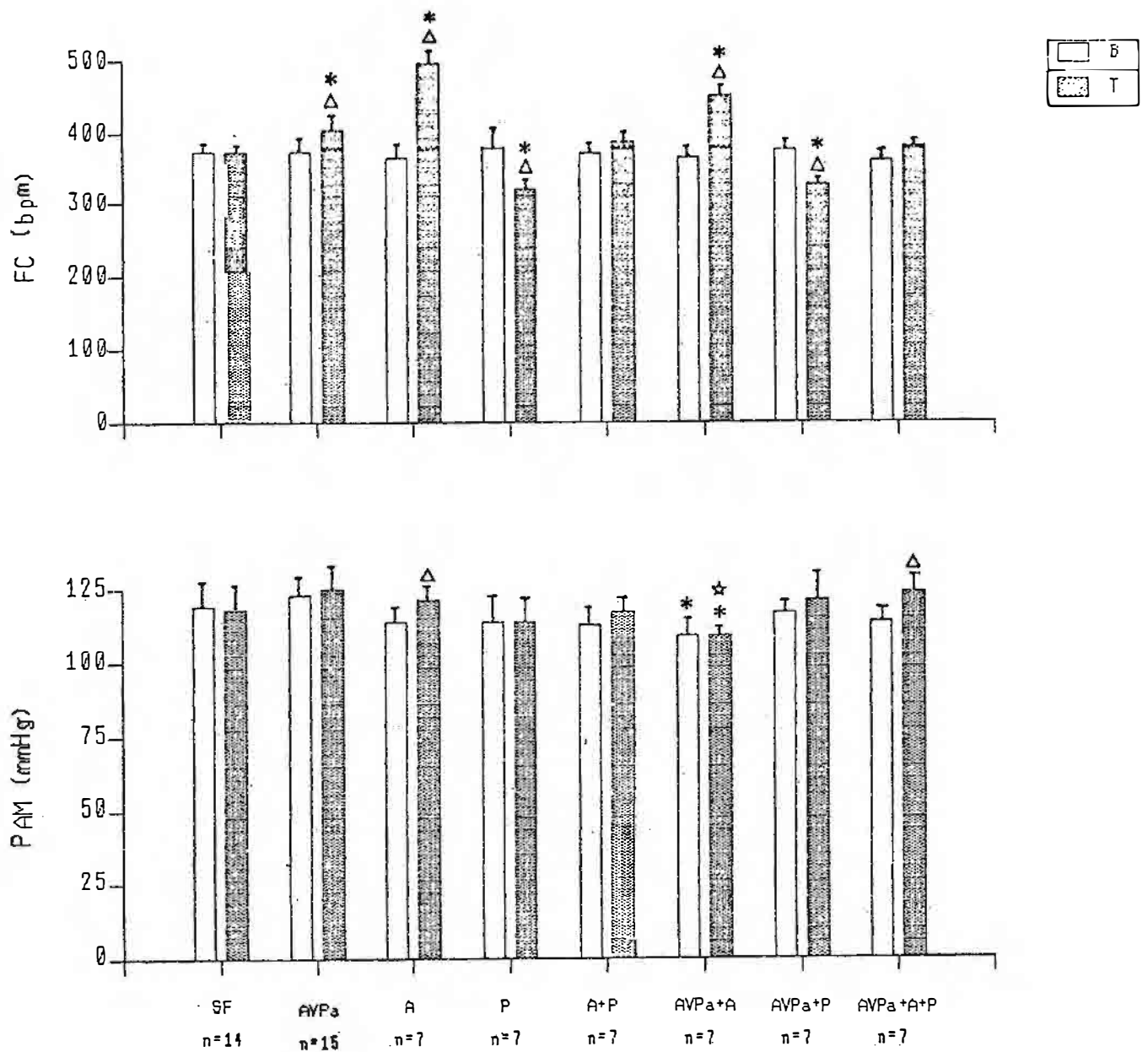


FIGURA 03 - Comparação da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial arterial média (PAM) na situação basal (B) e após tratamento i.v. (T) entre os diferentes grupos de ratos acordados: SF = salina; AVPa = antagonista de arginina vasopressina; A = atropina e P = propranolol. Os valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias ($p < 0.05$):

Δ vs respectivo controle.

☆ entre tratamentos A, P, A+P, com ou sem AVPA

* vs SF

5.2 RECUPERAÇÃO CARDIOVASCULAR TARDIA DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA

5.2.1 EFEITO DO BLOQUEIO DA ARGININA VASOPRESSINA

Em resposta ao primeiro sangramento (-0.6ml%) o grupo SF (controle) não apresentou alterações da PA basal (117±4 x 119±4mmHg, Tabela I), mas houve queda progressiva de PA, nos sangramentos de -1.2 a -3.0ml%, com reduções significantes em -2.4 e -3.0 ml% (Tabela I), atingindo níveis de 61±4mmHg no último episódio hemorrágico. Quando se analisou as variações de PA em relação ao basal após tratamento (Δ PAM), as quedas se mostraram bastante intensas a partir de -1.6ml%, mas devido a limitações do teste estatístico utilizado só foi possível analisar os contrastes entre 4 colunas e as escolhidas foram: T, -0.6, -2.4 e -3.0ml% (Figura 04). Devemos, no entanto, salientar que, nos vários grupos estudados e em vários momentos, a PA e/ou FC apresentaram, em relação ao basal ou às etapas da HM, variações biológicas evidentes, como observado nas Tabelas I, II e Figuras correspondentes.

Os ratos controle apresentaram intensa taquicardia em resposta ao 1º sangramento que foi menos pronunciada e

não significativa em relação ao basal após o 2º episódio (Tabela II). Depois do 3º sangramento (-1.6ml%) os ratos SF exibiram uma redução na FC (366±19 bpm), que atingiu valores mínimos ainda não significantes em relação ao controle, após o 5º episódio hemorrágico (332± 17bpm, tabela II). A recuperação da FC basal não aconteceu até o final das hemorragias, com estabilização nesses níveis até o último episódio hemorrágico. A -3.0ml%, a FC foi significativamente menor que a taquicardia observada após o sangramento de -0.6ml% (Tabela II, Figura 04). A redução da FC para níveis inferiores ao da FC basal desses animais, foi coincidente com a queda de PA para níveis inferiores a 90mmHg, que ocorreram após -2.0ml% (Tabelas I e II). Considerando-se as variações de FC em relação ao basal (Δ FC), foram observadas duas fases típicas nas respostas de FC no grupo controle: a primeira, taquicárdica, quando os os níveis de PA eram superiores a 90 mmHg e, a segunda, de bradicardia quando a PA caiu abaixo daqueles valores, nos 3 últimos episódios hemorrágicos (Figura 04).

Com a evolução das sessões hemorrágicas, a RT de PA foi sempre dificultada para o grupo tratado com AVPa. Queda significativa de PA em relação ao basal apareceu, precocemente nesse grupo, já em resposta ao 1º episódio hemorrágico (-0.6ml%), e se intensificou marcadamente nos episódios finais quando atingiu valores de 68±4 e 53±3 mmHg, respectivamente para -2.7 e -3.0ml% (Tabela I). A análise

das Δ PAM mostrou o mesmo padrão de variações com significâncias já a partir de $-0.6\text{ml}\%$. A cada sangramento as * PAM foram se tornando maiores que a do 1º episódio até que em $-3.0\text{ml}\%$ a * PAM foi significativamente mais intensa que as observadas a -0.6 e $-2.4\text{ml}\%$ (Figura 04). A comparação entre grupos, mostrou que após o bloqueio da AVP, as quedas de PAM foram significativamente mais intensas do que as do grupo controle, a partir de $-2.0\text{ml}\%$ (Figura 04).

Nos ratos bloqueados com AVPa, e com FC basal elevada, a RT de FC se manteve inalterada durante toda a HM e, continuando acima dos níveis controle iniciais. Portanto, quando comparados ao grupo SF esses valores de FC foram significativamente mais elevados a partir de $-1.2\text{ml}\%$ (Tabela II), mantendo a fase taquicárdica até o final das hemorragias. As variações de FC em relação ao basal (Δ FC) foram significativamente maiores que as do grupo SF do 5º ao 7º episódios hemorrágicos (Figura 04), quando os ratos controles apresentavam a fase bradicárdica. Portanto o tratamento com AVPa aboliu a fase bradicárdica característica dos episódios finais da hemorragia.

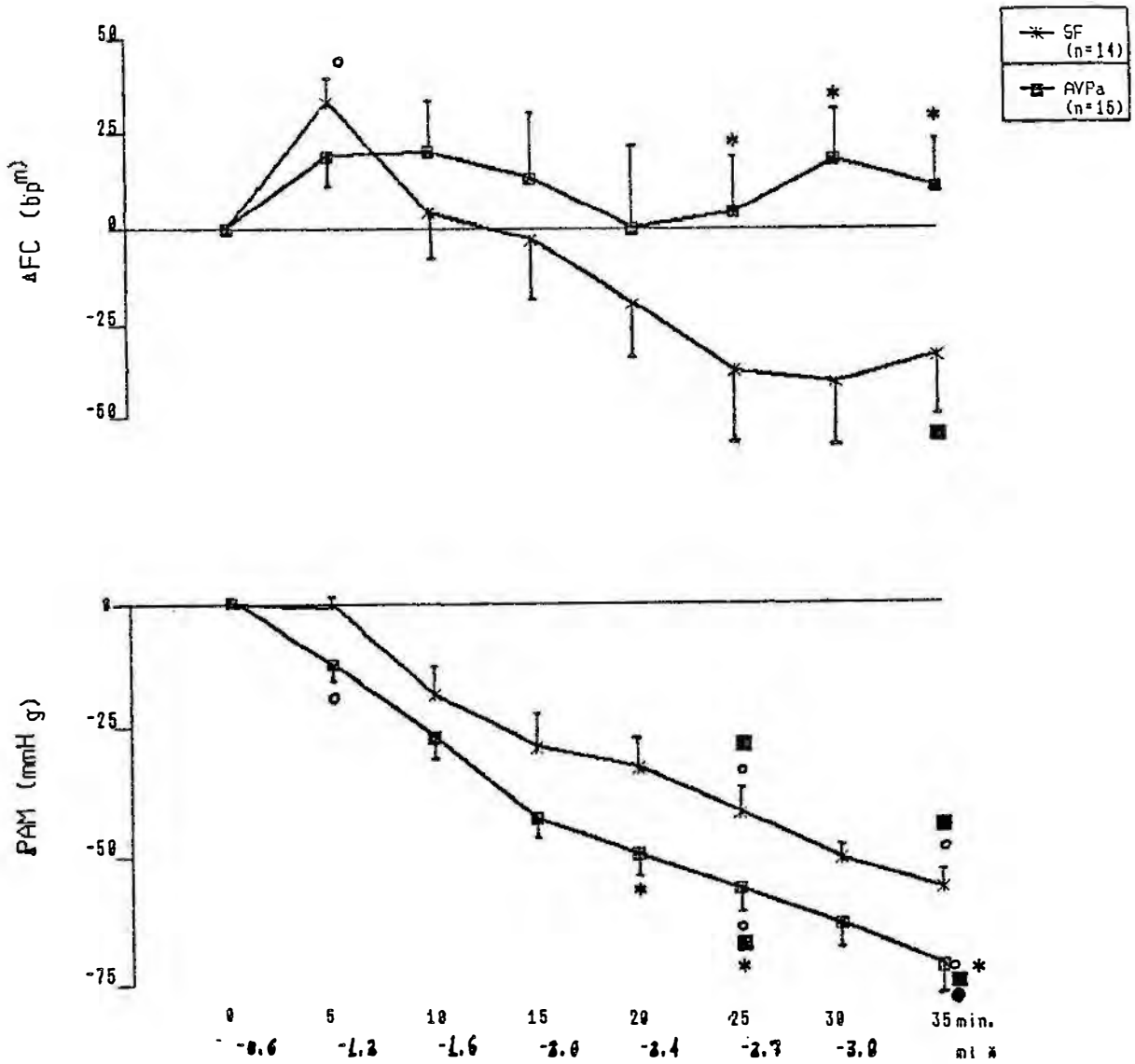


FIGURA 04 - Comparação das variações tardias (até no 5^o min) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (Δ PAM) de ratos acordados, tratados previamente i.v. com salina (SF) ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa) e submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0ml/100g de peso - ml%). Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias (p<0.05)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6ml%

● vs -2.4ml%

* AVPa vs SF.

5.2.2 EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS VAGO

Para facilitar a análise, nas Figura 05 e nas subseqüentes, o grupo SF aparecerá sempre sub-grafado, permitindo melhor visualização da comparação com os demais grupos.

Nos ratos com bloqueio vagal isolado, a recuperação da PA foi prejudicada no primeiros episódios hemorrágicos com redução significativa a partir do 5º episódio hemorrágico (163 ± 5 x 121 ± 2 mmHg, respectivamente para -2.4 ml%, tabela I), quando aconteceu a maior queda na RT de PA, que se manteve inalterada a partir de então. Como observado na Figura 05, após atropina a queda de PAM foi mais acentuada que a dos animais controle nos episódios iniciais da hemorragia, com diferença significativa já a -1.6 ml%, nos episódios finais a magnitude das quedas foi semelhante para ambos os grupos. A associação de A com a AVPa protegeu da queda inicial de PA e os ratos apresentaram níveis pressóricos semelhantes aos do grupo controle em todos os episódios da HM. Entretanto, como esse grupo de animais partiu de uma PAM basal inferior à do grupo SF, as quedas de PAM foram relativamente menores em -1.6 (FIGURA 05). Como observado na Figura 05, essas quedas foram significantes em relação a PAM inicial em -2.4 e -3.0 ml%. A comparação A x AVPa+A mostrou a -1.6 ml% queda de PAM menos

intensa que a do bloqueio vagal isolado; já nos episódios finais da hemorragia os níveis de PA e as Δ PAM foram semelhantes para os 3 grupos analisados (Tabela I, Figura 05).

Nos animais tratados com atropina (com elevada FC basal = 495 ± 11 bpm), a fase taquicárdica foi mascarada. Com o prosseguir das hemorragias a FC foi reduzindo gradualmente mas sem diferença significativa em relação ao basal até o 5º episódio hemorrágico (426 ± 13 bpm, Tabela II). Observa-se, portanto, que em todos os episódios da hemorragia, a FC após atropina foi significativamente mais elevada que a do grupo SF. Essa tendência à redução pode também ser observada quando os dados foram expressos como alterações da FC a partir da FC controle (Figura 05); as quedas de FC foram mais intensas do que as do grupo SF no 2º e 3º episódios da HM (-1.2 e -1.6ml%, Figura 05). A FC basal do grupo AVPa+A também se encontrava elevada (450 ± 12 bpm) embora em patamar inferior ao tratamento com A isoladamente e, da mesma forma, a fase taquicárdica inicial estava mascarada. Portanto, em valores absolutos a FC se manteve estável durante toda HM (Tabela II). O bloqueio adicional da AVPa ao do vago evitou a redução gradual das rT de FC (Figura 05), que se mantiveram semelhantes a respectiva FC basal e, conseqüentemente mais elevadas que as do grupo A durante os episódios hemorrágicos de -1.2 a -3.0ml% e, também em relação aos grupo SF no último episódio hemorrágico.

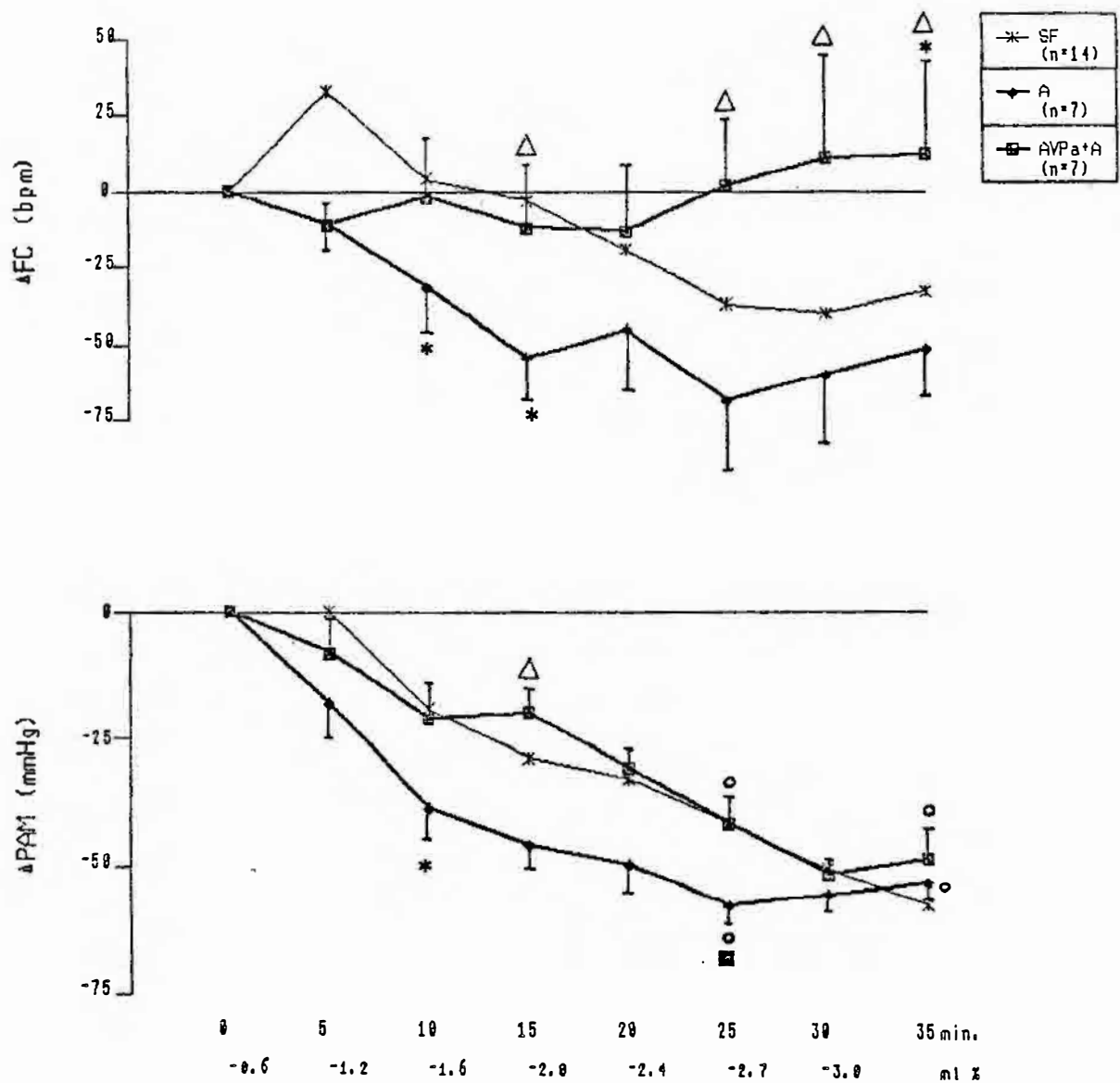


FIGURA 05 - Comparação das variações tardias (at 5 min) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) de ratos acordados, tratados previamente i.v. com atropina (A) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa), submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0 ml/100g de peso - ml%). A linha subgrafada repete o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. Valores são $\bar{X} \pm EPM$. Significâncias ($p < 0.05$)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6 ml%

entre grupos:

* vs SF

Δ vs A.

5.2.3 EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS RECEPTORES

β -ADRENÉRGICO

O uso do propranolol isoladamente não alterou a PA basal, mas determinou queda de PA significativamente maior que no grupo controle para os episódios iniciais da hemorragia -18% e -38% vs -2% e -16% no grupo SF, para -0.6 e -1.2ml% respectivamente, Tabela I). A PAM manteve-se estável da 3ª a 6ª hemorragia, com pequena redução adicional na última. O mesmo padrão de resposta foi observado quando as variações da PAM durante a HM foram normalizadas pela PAM basal (Figura 06).

A administração de AVPa associado ao propranolol não alterou o padrão de queda de PAM observado após propranolol isoladamente nos episódios iniciais da HM (-0.6 e -1.2ml%) mas causou quedas adicionais da PAM que atingiram níveis de significância nos 3 últimos episódios. Com relação ao grupo SF, a associação AVPa+P, determinou níveis pressóricos inferiores durante todo o procedimento experimental (Tabela I). Quando as quedas de PAM foram normalizadas pela PAM basal, o grupo AVPa+P mostrou quedas mais intensas que o grupo P logo a partir do 3º episódio de hemorragia (Figura 06).

A FC basal, já diminuída pelo tratamento com o propranolol, foi ainda mais reduzida durante o desenrolar da hemorragia, atingindo níveis mínimos (233 ± 11 bpm) a $-1.6\text{ml}\%$ e, conservando-se inalterada a partir de então (Tabela II). Durante todo o desenrolar da HM os níveis de FC após propranolol foram inferiores aos do grupo SF. Este comportamento da FC pode ser melhor visualizado na Figura 06 que mostra que as RT de FC sempre ficaram abaixo dos níveis pré-hemorragicos: precocemente ($-0.6\text{ml}\%$) os níveis de FC foram significativamente menores que o basal e a fase taquicárdica inicial foi portanto completamente abolida pelo propranolol; nos episódios de -0.6 a $-2.0\text{ml}\%$ as ΔFC continuaram significativamente menores que as do grupo SF, apresentando magnitude de queda que só foi atingida pelo grupo SF após $-2.4\text{ml}\%$. A associação do bloqueio 3-adrenérgico com o da AVP plasmática não alterou significativamente as respostas de FC descritas para o grupo P, e as RT de FC desses dois grupos (P e AVPa+P) foram similares (Figura 06).

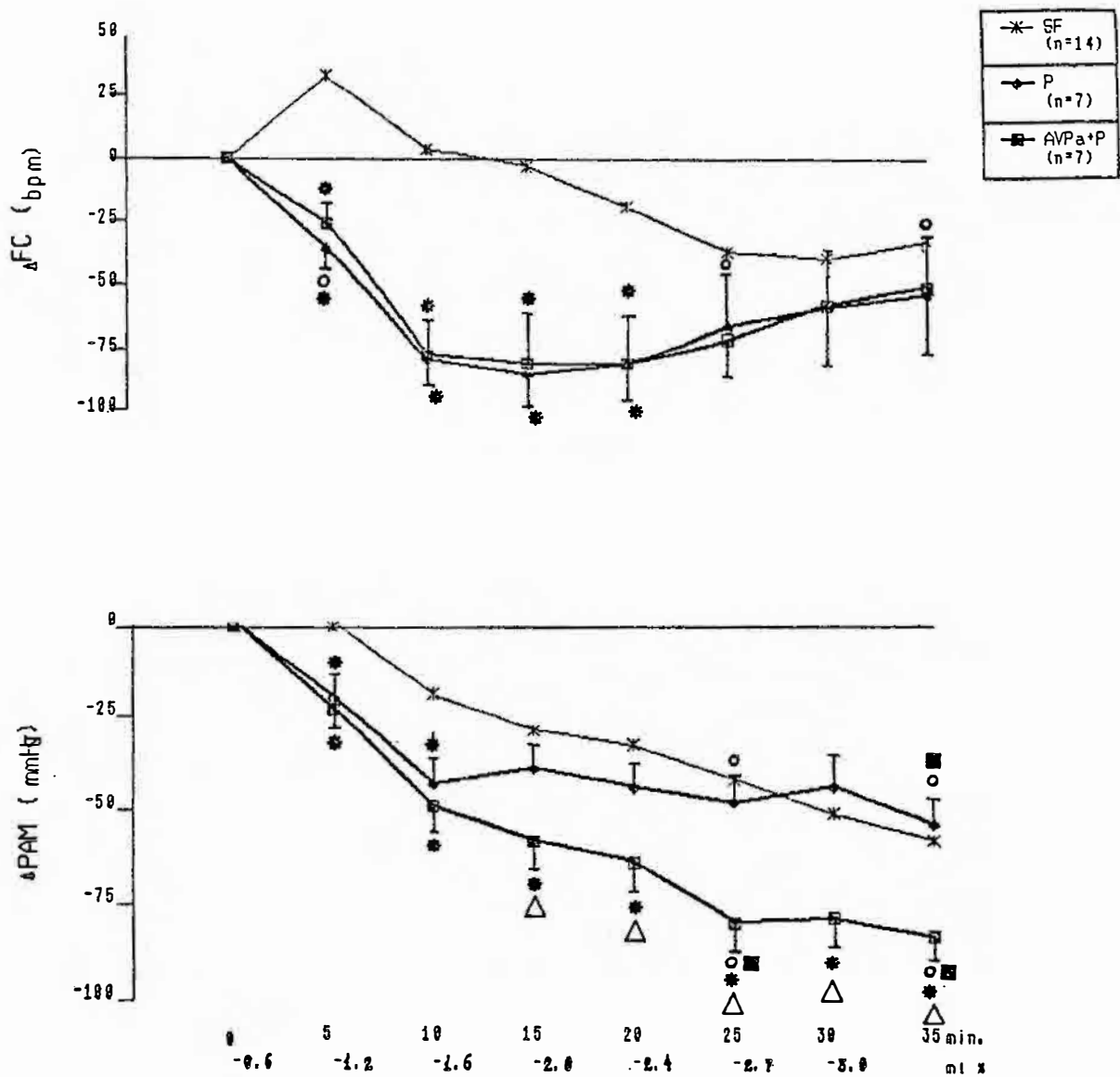


FIGURA 06 - Comparação das variações tardias (rT no 5^omin) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) de ratos acordados, tratados previamente i.v. com propranolol (P) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa), submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0ml/100g de peso - ml%). A linha subgrafada repete o grupo SF [Figura 04] para facilidade de comparação. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias (p<0.05)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6ml%

entre grupos:

* vs SF

Δ vs P.

5.2.4 _EFEITO_DO_BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP NAIS SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

A HM após o tratamento associado da atropina e propranolol determinou níveis de PA ligeiramente menores que o grupo SF na fase inicial mas não alterou significativamente evolução das RT de PA em relação ao grupo controle (Tabela I). A magnitude das Δ PAM foi significativamente menor que as do grupo SF nos 2 últimos episódios da HM (Figura 07), uma vez que no grupo A+P houve estabilização dos níveis pressóricos após -1.6ml%. A associação de AVPa ao propranolol e atropina não determinou alterações na recuperação de PAM nos episódios iniciais da HM mas intensificou progressivamente as quedas de PA a partir de -2.4ml%. Os níveis pressóricos bastante reduzidos em relação ao basal (56±7, 48±4 e 40±4mmHg, Tabela I), foram significativamente menores que os dos grupos SF e A+P, nos 3 últimos episódios hemorrágicos (Figura 07).

O bloqueio do SNA (A+P) não alterou a FC pré-hemorrágica (388±9bpm, Tabela II) durante todo o experimento, apesar dos animais serem submetidos a hipotensões progressivas, mostrando a eficácia dos bloqueios autonômicos para o coração, mesmo em presença da hemorragia sequencial hipovolêmica (ver Figura 07). A associação do

bloqueio do SNA com o da AVP plasmática também não alterou a evolução da rT de FC observada após A+P.

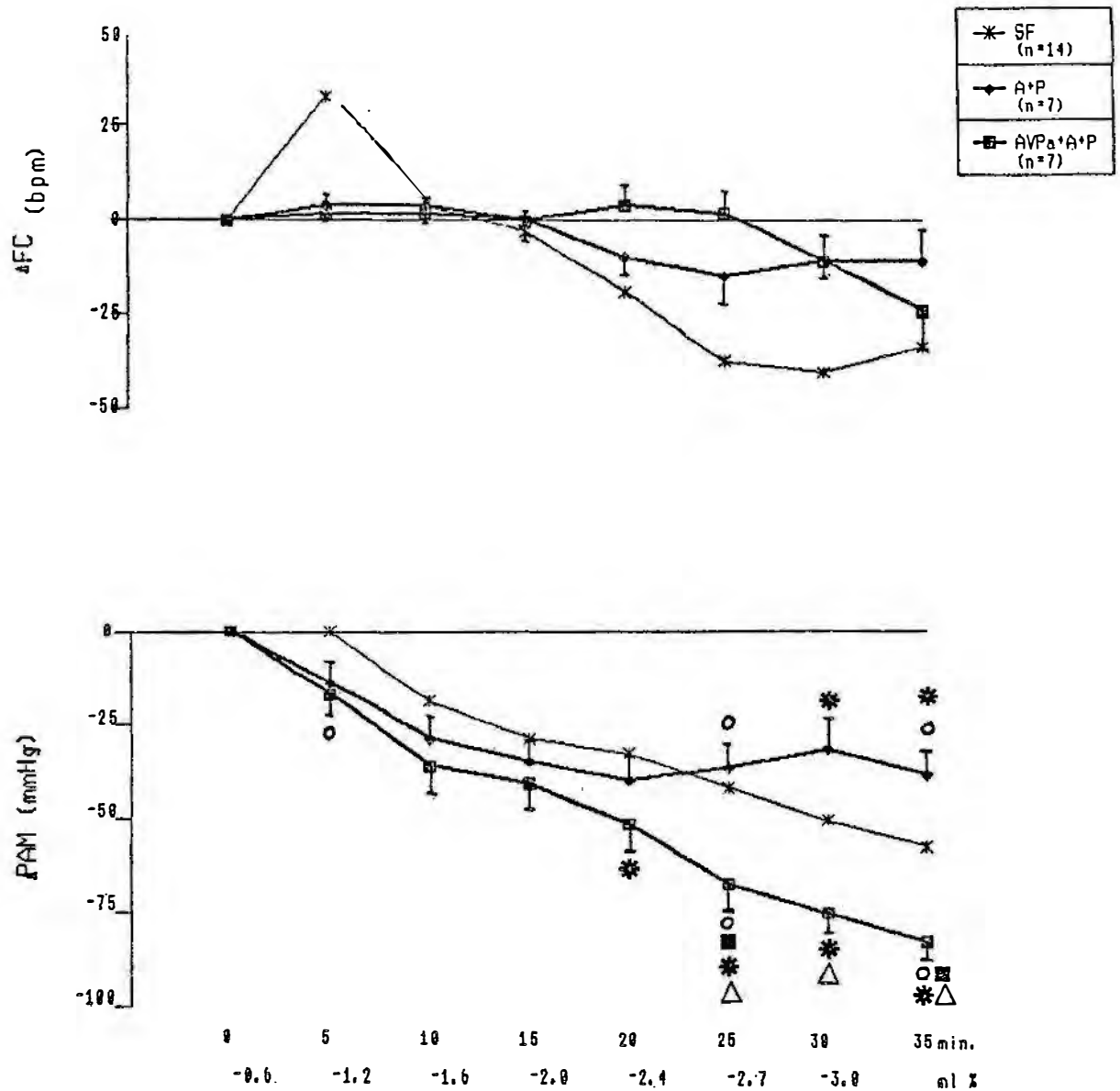


FIGURA 07 - Comparação das variações tardias (RT no 5^omin) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) de ratos acordados, tratados previamente i.v. com atropina mais propranolol (A+P) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa), submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0ml/100g de peso - ml%). A linha subgrafada repete o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. Valores são $\bar{X} \pm EPM$. Significâncias ($p < 0.05$) dentro do mesmo grupo: ○ vs T = 0 ■ vs -0.6ml% entre grupos: * vs SF Δ vs A+P.

5.2.5 EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP APÓS 4ª HEMORRAGIA

A administração tardia do AVPa determinou que a evolução da PAM do RB4 se deslocasse da curva do SF em direção à do grupo AVPa após -2.4ml%, sem no entanto apresentar alterações significantes em relação aos grupos SF e AVPa (Tabela I, Figura 08).

Até o 3o. episódio hemorrágico a evolução da rT de FC no grupo RB4 foi semelhante às dos grupos SF e AVPa. A fase bradicárdica que se verifica a partir do 4o episódio foi novamente abolida pela administração de AVPa no grupo RB4, e os valores da FC permaneceram significativamente maiores que os do grupo SF e se superpuseram aos do grupo AVPa nos episódios finais da HM (ver Tabela II, Figura 08).

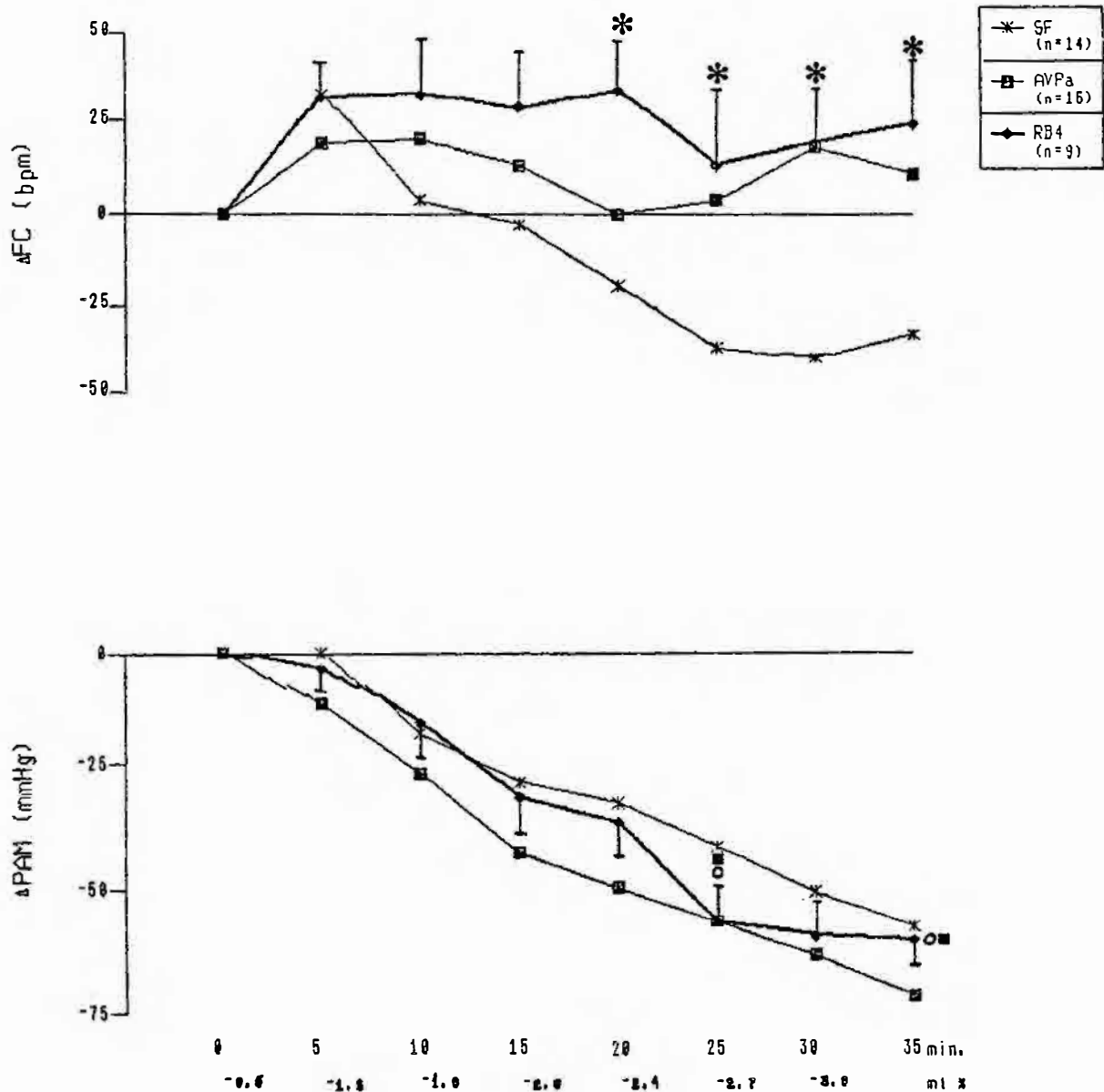


FIGURA 08 - Comparação das variações tardias (rt no 5^omin) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) de ratos acordados, tratados i.v. com antagonista de arginina, previamente (AVPa) ou imediatamente após o 4^a episódio (RB4) da hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0ml/100g de peso - ml%). A linha subgrafada repete o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias (p < 0.05)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6ml%

entre grupos:

* vs SF

5.3 RESPOSTAS CARDIOVASCULARES IMEDIATAS DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA

Durante todos os episódios de sangramento em todos os grupos houve quedas instantâneas e significantes da PAM (rI, nas Figuras 09 a 12). A análise dos valores absolutos de PAM atingidos durante os episódios de sangramento (Tabela III) também mostrou deslocamentos significantes dos níveis de PAM em relação ao controle inicial pré-hemorrágico para quase todos os grupos, com exceção do valor observado na 1ª hemorragia para o grupo RB4.

No grupo SF o 1º episódio de hemorragia determinou queda significativa de -14 ± 2 mmHg na PA (Figura 09); as quedas aumentaram nos episódios subsequentes atingindo níveis de significância a -2.4 ml%, mas nos 2 últimos sangramentos as quedas não foram estatisticamente diferentes da primeira. Observar que em -1.2 , -1.6 e -2.0 ml%, com magnitude de quedas semelhantes à do 5º episódio, as diferenças devem ter sido significantes em relação a -0.6 ml%, apenas não foram analisadas pelo nosso programa estatístico (Figura 09).

Essas quedas instantâneas determinaram resposta taquicárdica imediata para todos os níveis hemorrágicos, sendo que a taquicardia máxima aconteceu durante o 1º

episódio de hemorragia ($+50 \pm 5$ bpm, Tabela IV, Figura 09). A taquicardia foi se reduzindo gradualmente durante o desenrolar da HM, e a menor RI taquicárdica ($+14 \pm 5$ bpm) foi observada em -2.4 ml\% , quando foi significativamente menor que a primeira resposta taquicárdica (Figura 09).

TABELA III - Valores médios das RI de PAM (resposta em 10 a 20 segundos) de ratos acordados, submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0 ml/100g de peso corporal - ml%). Para cada grupo, estão relacionadas as variações imediatas (1ª linha) e os níveis pressóricos (2ª linha) atingidos em cada episódio hemorrágico. SF=salina; AVPa= antagonista da AVP plasmática; A=atropina; P=propranolol; RB4=bloqueio pela AVPa após 4º episódio hemorrágico.

RESULTADOS

GRUPOS/ TRATAMENTO	EPISÓDIOS HEMORRÁGICOS						
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
	-0.6	-1.2	-1.6	-2.0	-2.4	-2.7	-3.0
SF	-14 ± 2°	-34 ± 5	-30 ± 4	-31 ± 3	-33 ± 3 ^{OM}	-23 ± 4	-23 ± 2°
AVPa	105 ± 3°	83 ± 5	69 ± 5	59 ± 5	53 ± 4 ^{OM}	54 ± 4	45 ± 3 ^{OM}
A	-22 ± 4°	-26 ± 4	-24 ± 3	-23 ± 2	-28 ± 3°	-24 ± 2	-21 ± 2°
P	103 ± 6°	86 ± 7	74 ± 6	59 ± 4	47 ± 3 ^{OM}	44 ± 3	40 ± 2 ^{OM}
A + P	-25 ± 4°	-39 ± 5	-34 ± 4	-34 ± 4	-33 ± 4°	-24 ± 3	-25 ± 4°
AVPa+A	96 ± 6°	64 ± 7*	49 ± 4*	41 ± 2*	38 ± 2 ^{OM}	39 ± 3	40 ± 0 ^{OM}
AVPa+P	-46 ± 10*	-51 ± 5*	-31 ± 4	-37 ± 3	-35 ± 4°	-27 ± 3	-34 ± 3°
AVPa+A+P	68 ± 11*	42 ± 2*	40 ± 2*	38 ± 3*	35 ± 3 ^{OM}	39 ± 3	36 ± 3°
RB4	-33 ± 4*	-46 ± 3	-39 ± 3	-36 ± 2	-34 ± 3°	-34 ± 2	-41 ± 4*
	84 ± 6*	57 ± 4*	49 ± 3*	46 ± 3	45 ± 4°	46 ± 4	44 ± 2 ^{OM}
	-15 ± 3°	-29 ± 6	-24 ± 3	-31 ± 4	-33 ± 4°	-27 ± 2	-21 ± 3°
	94 ± 2°	73 ± 8	64 ± 8	59 ± 6*	45 ± 2 ^{OM}	40 ± 3	36 ± 2 ^{OM}
	-39 ± 6*	-51 ± 6*	-30 ± 6	-29 ± 5	-28 ± 4°	-14 ± 2	-17 ± 2°
	81 ± 6°	47 ± 2*	41 ± 3*	34 ± 3*	29 ± 3 ^{OM}	27 ± 3*	25 ± 3 ^{OM}
	-51 ± 9**	-48 ± 1*	-29 ± 3	-34 ± 3	-27 ± 2°	-21 ± 3	-16 ± 3*
	73 ± 8°	59 ± 2*	58 ± 2	49 ± 5	44 ± 6°	35 ± 5*	31 ± 3 ^{OM}
	-16 ± 9	-33 ± 7	-27 ± 5	-25 ± 3	-27 ± 5 ^{OM}	-17 ± 1	-17 ± 4 ^{OM}
	103 ± 5	81 ± 7	74 ± 7	61 ± 6	54 ± 5 ^{OM}	44 ± 5	42 ± 3

Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$ (mmHg). Significâncias (p < 0.05):

dentro do mesmo grupo:
 O vs T
 ■ vs -0.6

entre grupos:
 * vs SF

△ vs A
 ▲ vs P
 ☆ vs A+P

TABELA IV - Valores médios das RI de FC (resposta em 10 a 20 segundos) de ratos acordados, submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0ml/100g de peso corporal - ml%). Para cada grupo, estão relacionadas as variações imediatas (1ª linha) e os níveis pressóricos (2ª linha) atingidos em cada episódio hemorrágico. SF=salina; AVPa= antagonista da AVP plasmática; A=atropina; P=propranolol; RB4=bloqueio pela AVPa após 4º episódio hemorrágico.

GRUPOS/ TRATAMENTO	E P I S Ó D I O S H E M O R R Á G I C O S						
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
SF	50± 5 ⁰	29±10	26± 7	23± 7	14± 5 ^M	35±10	25±10
AVPa	419± 9 ⁰	431±14	407±20	388±20	365±21	367±19	363±20
AVPa	38± 8 ⁰	51± 7	37± 5	30± 6	29± 7 ⁰	34± 5	31± 5 ⁰
A	443±11 ⁰	475±14*	462±17*	449±20*	434±22*	443±20*	454±17*
A	24± 4 ⁰	26± 4	26± 8	25±10	15± 6	39±11	41±13
P	519± 9*	510± 9*	489±15*	466± 7*	465±16*	465±17*	476±16*
P	-32± 8*	-41±19*	-6±15	- 10 ± 8	10± 8	6± 8	19± 6 ^M
A + P	287± 7*	241±17*	234±17*	223±17*	249±19*	259±21*	279±25*
A + P	13± 7*	15± 3	15± 3	17± 2	14± 3	15± 6	7± 3
AVPa+A	401± 8	407±10	407±12	405±12	392±12	388±12	384±15
AVPa+A	24± 6	28± 8	21± 7	23± 7	41± 6 ⁰	36±10	19± 8
AVPa+P	474±15Δ	467± 6	469±11*	461±11*	478±14*	489±17*	480±20*
AVPa+P	-16± 9*	-19± 8*	11± 7	21±10	14± 9	11± 5	14± 5
AVPa+P	306± 9*	279± 8*	257± 21*	264±17*	257±16*	264±15*	280±15*
AVPa+P	11± 4*	17± 6	13± 4	11± 4	13±4	4± 3*	9±4
RB4	392±10	401±12	396±12	392±12	399±12	388±11	379±11
RB4	44± 6 ⁰	29±13	22±13	24 ±11	22±13	32±17	22±7
RB4	417±13 ⁰	433±20*	428±23	426±15	428±18*	418±14*	414±17*

Valores são $\bar{X} \pm EPM$ (bpm) - Significâncias $p < 0.05$:

dentro do mesmo grupo:

○ vs I
 ■ vs -0.6

entre grupos:

* vs SF
 ★ vs AVPa
 Δ vs A

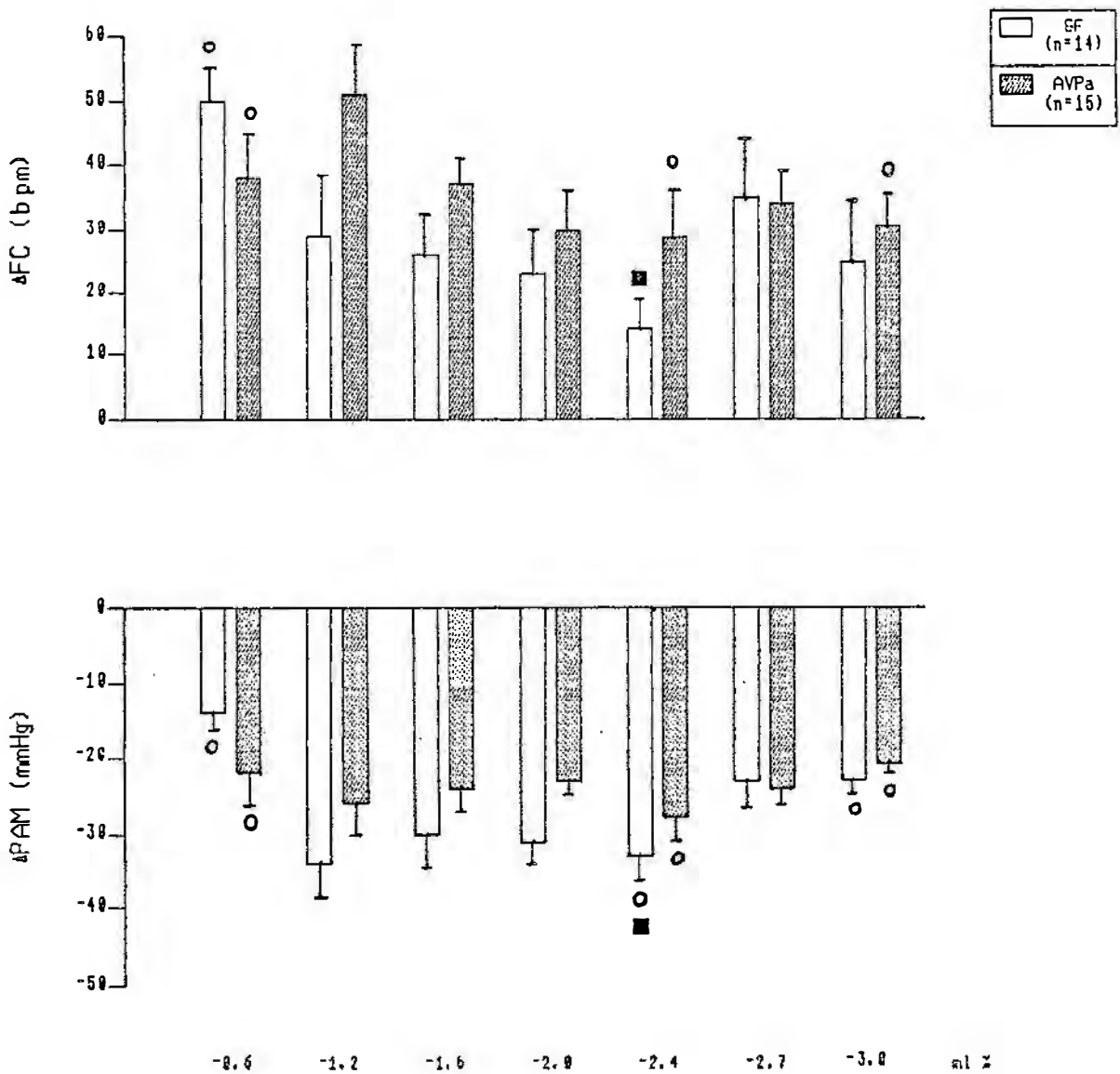


FIGURA 09 - Comparação das variações imediatas (r1 do 10º ao 20º seg) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) em ratos acordados tratados previamente i.v. com salina (SF) ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa). O zero corresponde aos valores controles imediatamente anteriores à cada hemorragia. Valores são $\bar{X} \pm EPM$. Significâncias ($p < 0.05$) dentro do mesmo grupo:
 ○ vs T = 0
 ■ vs -0.6ml%

5.3.1 EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP

Durante todos os episódios hemorrágicos, o grupo AVPa apresentou hipotensões de -20 a -30 mmHg que não foram diferentes entre si nem daquelas apresentadas pelo grupo controle (Figura 09).

Os animais tratados com AVPa, mesmo com FC controle elevada, apresentaram respostas taquicárdicas evidentes (da ordem de 30 a 50 bpm, tabela IV) que tenderam a ser de maior amplitude que as do grupo SF principalmente nos episódios de -1.2 a -2.4ml%, embora os pontos não apresentassem níveis de significância (Figura 09). No 2º episódio de sangramento, quando os níveis controles de FC já se encontravam bastante elevados (tabela II), a resposta taquicárdica imediata, foi também de grande magnitude (+51±7bpm, Figura 09) e, aparentemente mais elevada que as do 4º e 5º episódios.

5.3.2 EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS VAGO

Após o bloqueio vagal isolado as quedas instantâneas de PA durante todo o experimento situaram-se na

faixa de 20 a 40mmHg, com tendência a intensificação nos episódios iniciais da hemorragia fracionada. No entanto o tratamento com atropina não alterou significativamente as * PAM em relação ao grupo SF (Tabela III, Figura 10). A associação do bloqueio vagal ao da vasopressina plasmática (AVPa+A) não alterou significativamente as rI de PA observadas durante o bloqueio pela atropina isoladamente. Não foram detectadas diferenças significativas nas quedas instantâneas de PA entre os grupos SF, A e AVPa+A (figura 10).

Os valores da FC no grupo atropina foram significativamente mais elevados que os dos animais controle durante todo o desenrolar da HM (Tabela IV). O bloqueio vagal isolado reduziu em aproximadamente 50% a taquicardia máxima do 1º episódio (+50±5 x +24±4bpm, vide também, Figura 10) mas sem atingir o nível de significância exigido pelo rigor do teste estatístico empregado. Nos demais episódios, as Δ FC foram semelhantes às do grupo controle. A associação AVPa+A elevou menos a FC basal (Tabela II) mas não alterou as respostas taquicardicas à HM obtidas após atropina (Tabela IV, Figura 10).

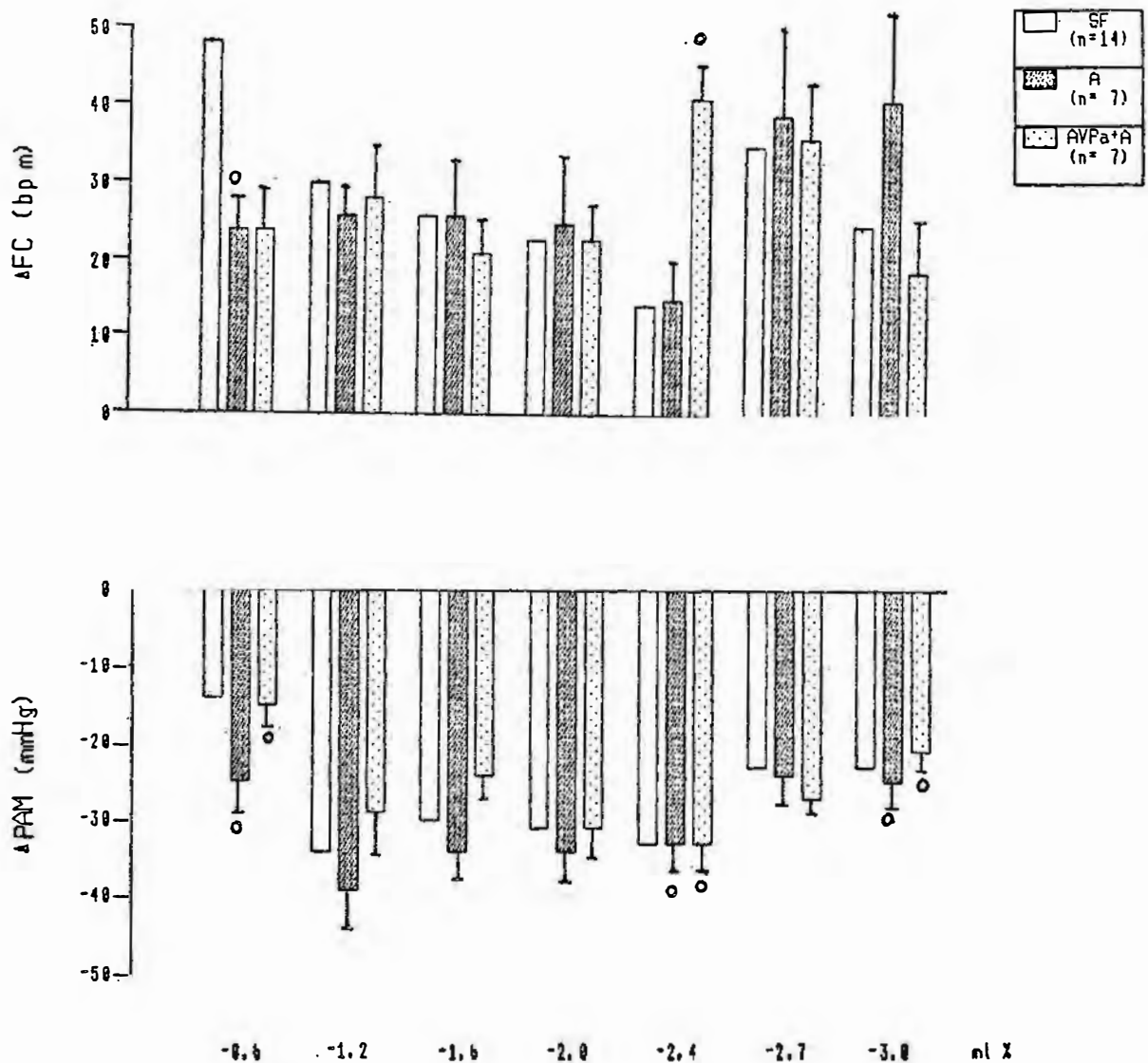


FIGURA 10 - Comparação das variações imediatas (10^a ao 20^a seg) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) em ratos acordados tratados previamente i.v. com atropina (A) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa). As barras claras repetem o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. O zero corresponde aos valores controles imediatamente anteriores à cada hemorragia. Valores são $\bar{X} \pm EPM$. Significâncias ($p < 0.05$) dentro do mesmo grupo:
o vs T = 0

5.3.3 EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS RECEPTORES

β -ADRENÉRGICOS

Além da intensa redução dos níveis de PAM nos episódios iniciais da HM (Figura 06) o uso do propranolol isoladamente provocou, durante os sangramentos, quedas instantâneas da PAM de grande magnitude e que foram maiores que as observadas no grupo SF a -0.6 e $-1.2\text{ml}\%$. Nos demais episódios hemorrágicos, quando a recuperação tardia da PAM tendeu a um platô, as quedas instantâneas da PAM também foram de menor magnitude e semelhantes às observadas no grupo SF. No grupo P a -2.4 e $-3.0\text{ml}\%$ os níveis de PA foram significativamente menores que a $-0.6\text{ml}\%$ (Tabela III). Com o tratamento associado AVPa+P os animais apresentaram durante a HM quedas instantâneas de PAM que foram semelhantes às observadas no grupo propranolol com tendência a redução de RI de PAM nos dois últimos episódios quando os valores de PAM se deslocaram para níveis de intensa hipotensão (aproximadamente 40mmHg , Tabela I).

No grupo propranolol, severamente bradicárdico, as RI de FC foram revertidas para bradicardias [-32 ± 8 e -41 ± 19 bpm) nos episódios de -0.6 e $-1.2\text{ml}\%$ (Tabela III, Figura 11). Essa inversão nas RI de FC desapareceu nos episódios finais da HM, com aparecimento de taquicardia semelhante à do grupo SF no último sangramento. O uso de AVPa associado

ao propranolol não alterou as RI de FC obtidas no grupo P
(Tabela IV, Figura 11).

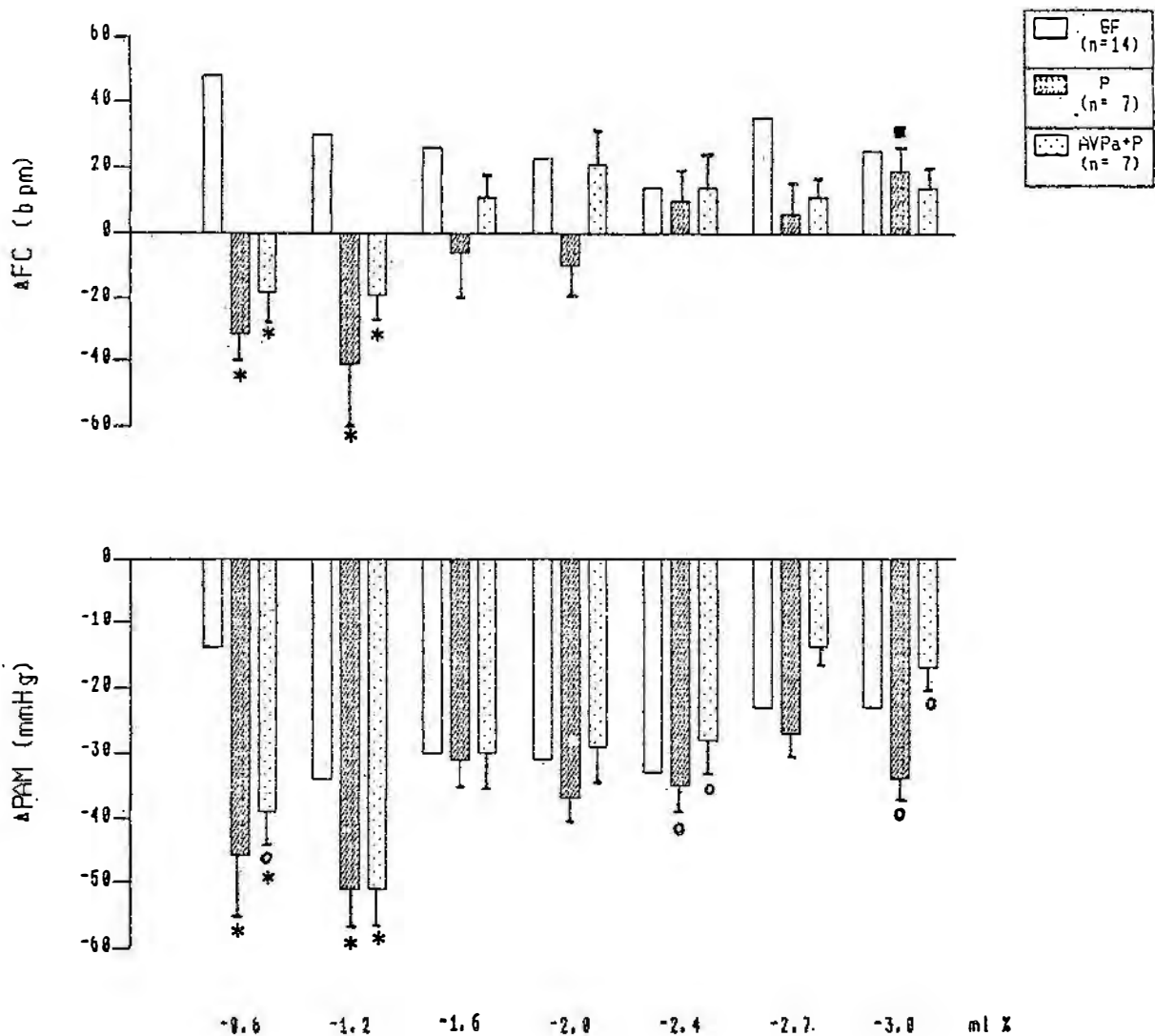


FIGURA 11 - Comparação das variações imediatas (r1 do 10^o ao 20^o seg) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) em ratos acordados tratados previamente i.v. com propranolol (P) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa). As barras claras repetem o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. O zero corresponde aos valores controles imediatamente anteriores à cada hemorragia. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias ($p < 0.05$)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6ml%

entre grupos:

* vs SF

5.3.4 EFEITO DO BLOQUEIO ASSOCIADO DA AVP MAIS SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

Com o duplo bloqueio vago e β -adrenérgico (A+P) a HM determinou quedas instantâneas de PAM de grande magnitude (de -33 a -46 mmHg, Tabela III) que foram significativamente maiores que as do grupo SF a -0.6 e -3.0ml% (Figura 12). O uso do AVPa associado a esse duplo bloqueio (AVPa+A+P) praticamente manteve, durante os episódios da HM, o mesmo padrão de resposta das RI de PAM após atropina+propranolol, mas determinou maior magnitude de * PAM a -0.6 e redução significativa da queda imediata de PAM a -3.0ml%, quando se instalou a severa hipotensão dos episódios finais 48 ± 4 e 40 ± 4 mmHg, Tabela I).

Com o duplo bloqueio (A+P) não houve variação significativa da FC durante os episódios hemorrágicos, e as respostas taquicárdicas que caracterizavam os episódios iniciais da HM foram severamente comprometidas (Tabela IV e Figura 12). Também a associação do bloqueio da arginina vasopressina plasmática com atropina e propranolol (AVPa+A+P) não alterou o padrão de resposta de FC observado no grupo A+P (Figura 12).

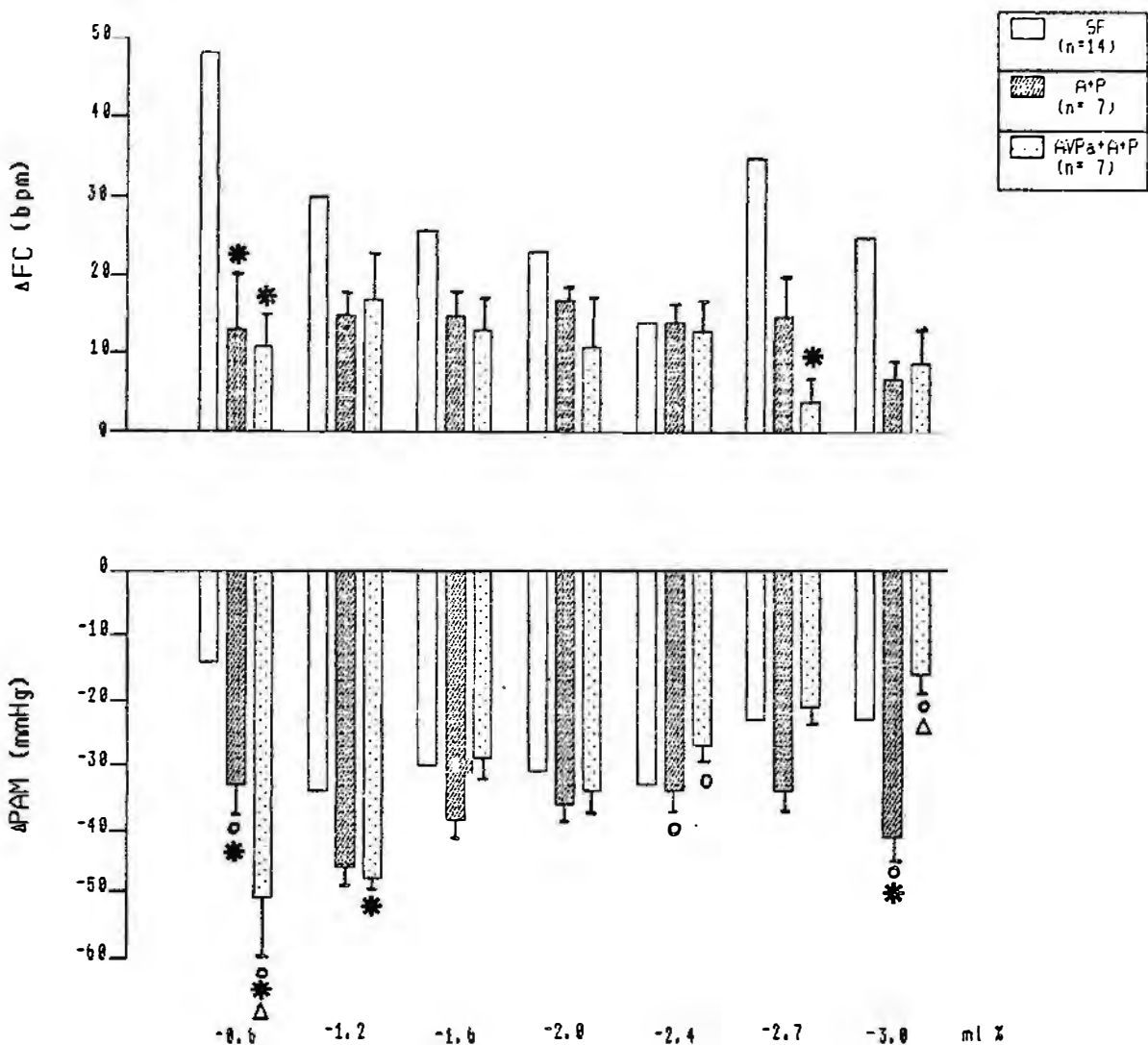


FIGURA 12 - Comparação das variações imediatas (rI do 30^a ao 20^a seg) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) em ratos acordados tratados previamente i.v. com atropina mais propranolol (A+P) e/ou antagonista de arginina vasopressina (AVPa). As barras claras repetem o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. O zero corresponde aos valores controles imediatamente anteriores à cada hemorragia. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias (p < 0.05) dentro do mesmo grupo:
vs T = 0
entre grupos:
* vs SF
Δ vs A+P.

5.3.5 EFEITO DO BLOQUEIO DA AVP APÓS 4ªHEMORRAGIA

As respostas imediatas de PA do grupo que recebeu antagonista de AVP após o 4º sangramento da HM não foram diferentes daqueles observados no controle (SF) ou para o grupo AVPa em todos os episódios hemorrágicos (Tabela III, Figura 13).

As respostas taquicárdicas imediatas desses grupos também foram semelhantes às observadas nos grupos SF e AVPa.

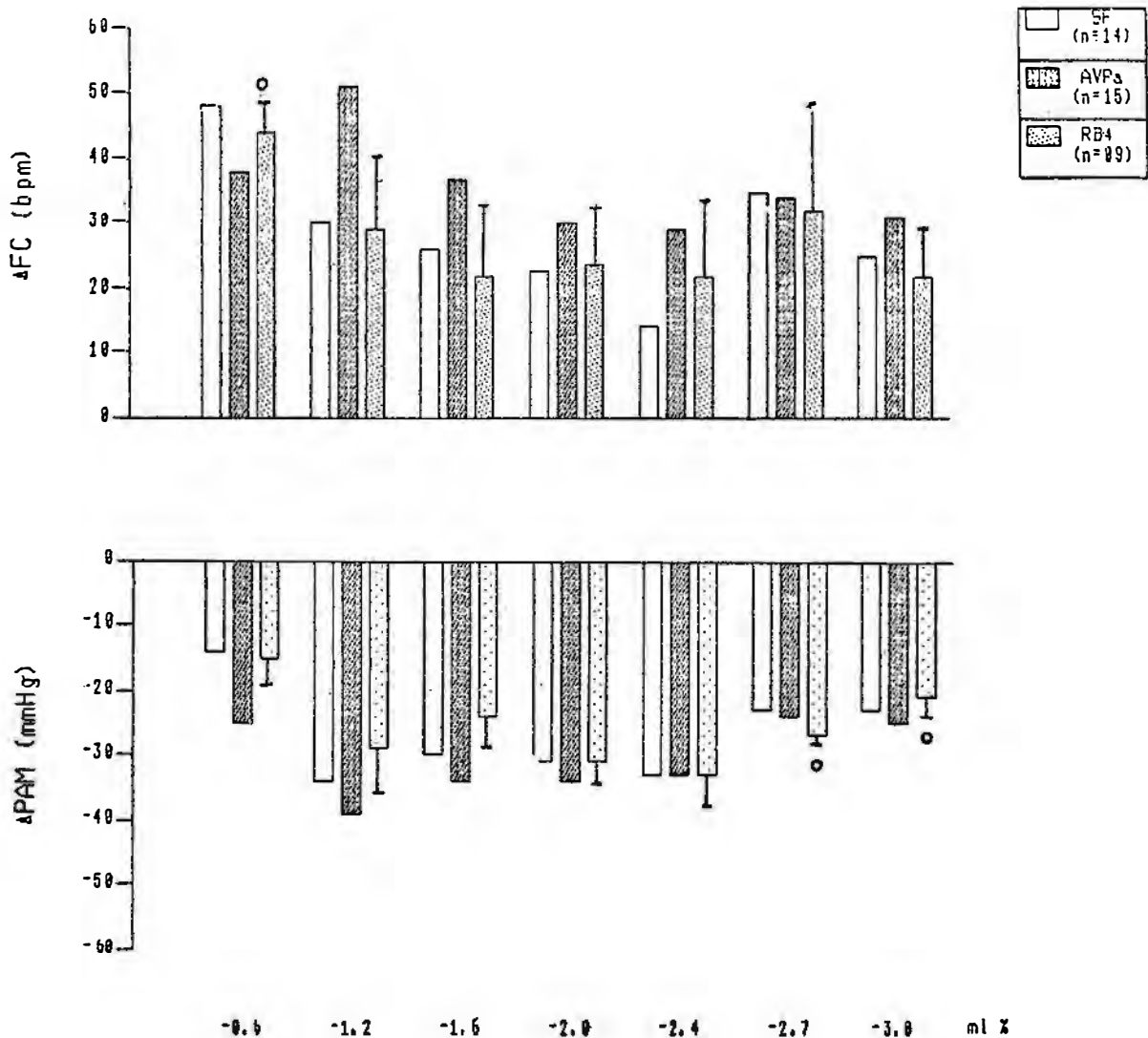


FIGURA 13 - Comparação das variações imediatas (10^o ao 20^o seg) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) em ratos acordados tratados previamente i.v. com antagonista de arginina vasopressina (AVPa) ou imediatamente após o 4^o episódio da hemorragia fracionada (RB4). As barras claras repetem o grupo SF (Figura 04) para facilidade de comparação. O zero corresponde aos valores controles imediatamente anteriores à cada hemorragia. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias ($p < 0.05$)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

5.4 ÍNDICE DE SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR DURANTE HEMORRAGIA FRACIONADA

O índice de sensibilidade do reflexo pressorreceptor (ISB) foi analisado nas RI, a cada episódio hemorrágico, pela relação:

$$\Delta \text{ F.C.} / \Delta \text{ P.A.M.}$$

e o valor expresso em bpm/mmHg. As comparações foram feitas com os seus respectivos valores em módulo.

No grupo SF notamos que o ISB foi máximo durante o 1º episódio, apresentando reduções significativas durante o 4º e 5º episódios hemorrágicos (-4.13 ± 0.8 , -0.89 ± 0.30 e -0.53 ± 0.20 bpm/mmHg, respectivamente a -0.6 , -2.0 e -2.4 ml% - Tabela V e Figura 14). Quando a PA cai abaixo de 90 mmHg (p.ex. de -2.0 a -3.0 ml%, Tabela I), os pressorreceptores praticamente não estão sendo estimulados e o ISB calculado não mais reflete o funcionamento do reflexo e, por esta razão foram excluídos da análise nos grupos subsequentes.

RESULTADOS

TABELA V - Valores médios do índice de sensibilidade do reflexo pressorreceptor (ISB) nos diferentes grupos de ratos submetidos a tratamentos iv. prévios à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0 ml/100g de peso corporal - ml%). SF=salina; AVPa=bloqueio prévio da AVP plasmática; A=atropina; P=propranolol; RB4=bloqueio da AVP plasmática após 4º episódio hemorrágico.

GRUPOS/	E P I S Ó D I O S H E M O R R Á G I C O S						
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
TRATAMENTO	-0.6	-1.2	-1.6	-2.0	-2.4	-2.7	-3.0
SP	-4.13 ± 0.80	-1.39 ± 0.30	-1.45 ± 0.60	-0.89 ± 0.30	-0.53 ± 0.20	-1.43 ± 0.40	-2.53 ± 0.70
AVPa	-3.10 ± 0.73						
A	-1.04 ± 0.27 *						
P	-0.75 ± 0.20 *						
A + P	-0.42 ± 0.21 *						
AVPa+A	-1.86 ± 0.51 *						
AVPa+P	0.27 ± 0.35 *						
AVPa+A+P	-0.30 ± 0.18 *						
RB4	-3.50 ± 0.73						

Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$ (bpm/mmHg) - Significâncias $P < 0.05$:
dentro do mesmo grupo: entrá grupos:
■ vs -0.6 * vs SF

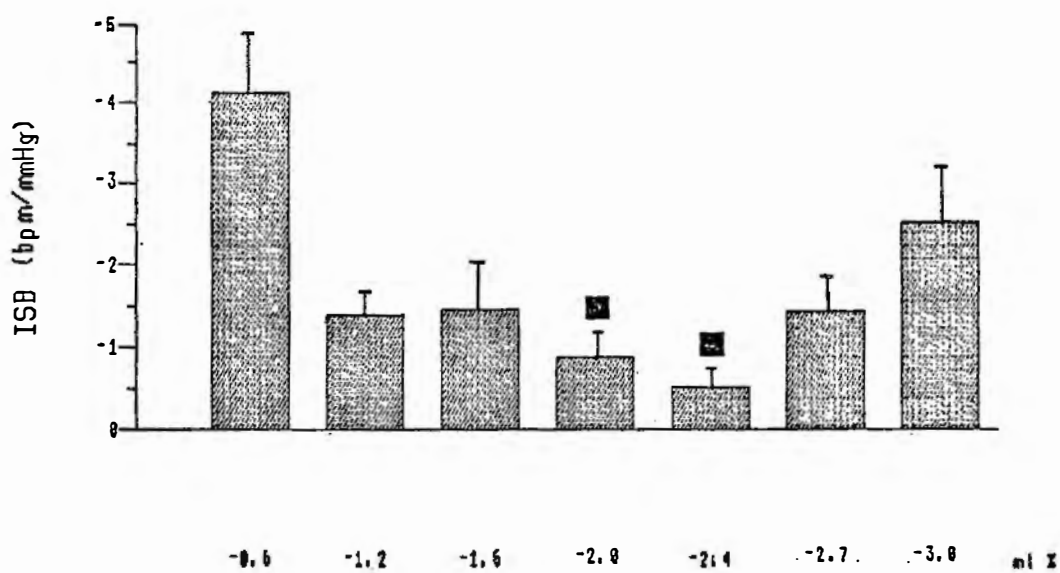


FIGURA 14 - Alteração do índice de sensibilidade do reflexo pessorreceptor (ISB) no grupo controle (SF) durante os 7 episódios da hemorragia fracionada [-0.6 a -3.0 ml/100g de peso - ml%] em ratos acordados. Valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias ($p < 0.05$) ■ vs -0.6 ml%

5.4.1 ALTERAÇÃO DO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE DO REFLEXO
PRESSORRECEPTOR DURANTE A 1ª HEMORRAGIA PELOS DIFERENTES
BLOQUEIOS.

Como o nível de PA para a estimulação normal dos pressorreceptores situa-se acima de 90 mmHg, e apenas durante a 1ª hemorragia a única variável experimental é o tratamento prévio, o ISB foi comparado nos diferentes grupos de animais, somente durante o primeiro episódio hemorrágico.

O bloqueio com AVPa isoladamente não alterou o ISB em relação ao grupo controle (-3.10 ± 0.70 x -4.13 ± 0.80 bpm/mmHg, Tabela V, Figura 15). A injeção de atropina isoladamente reduziu em 75% o ISB controle, enquanto que a associação com a AVPa praticamente dobrou o ISB observado após atropina (+79%) embora ele ainda continuasse significativamente reduzido em relação ao grupo SF. O tratamento com propranolol isolado ou associado com a atropina aboliu completamente a sensibilidade do reflexo (ISB não diferente de zero). O bloqueio adicional pela AVPa não alterou o quadro anterior (Figura 15).

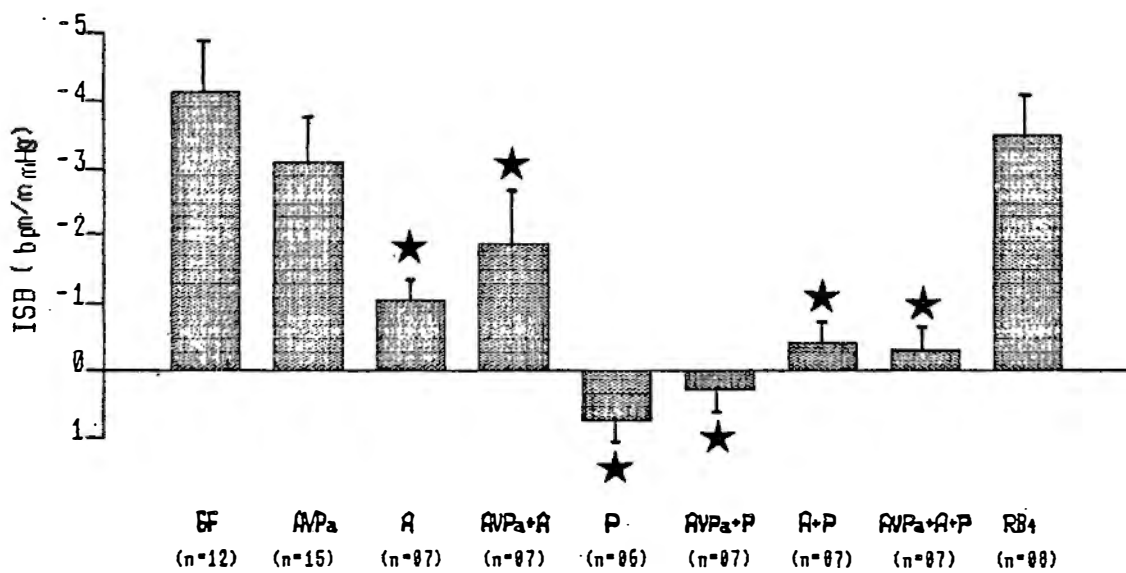


FIGURA 15 - Comparação do índice de sensibilidade do reflexo pressorreceptor (ISB) durante o 1º episódio da hemorragia fracionada (-0.6ml/100g de peso - ml%) nos diferentes grupos de ratos acordados tratados previamente i.v. com salina (SF); antagonista de arginina vasopressina (AVPa); atropina (A), e suas associações. Entre parênteses está indicado o número de animais. Os valores são $\bar{X} \pm \text{EPM}$. Significâncias ($p < 0.05$) ★ vs SF. Não foram detetadas diferenças significativas entre os tratamentos na presença ou ausência de AVP.

5.5 EFEITO DA VIA DE SANGRAMENTO NAS RESPOSTAS À HEMORRAGIA FRACIONADA

A influência da via de sangramento na hemorragia fracionada foi analisada utilizando-se de grupos de animais preparados com canulação arterial única (carótida ou femoral). Na descrição dos resultados estes grupos serão comparados com o grupo controle (SF) que foi preparado com dupla canulação arterial (carótida e femoral). Para facilitar essa análise o grupo SF aparecerá sub-grafado na Figura 16.

O grupo de canulação arterial única e sangramento via carótida apresentou valores semelhantes aos do grupo controle nas rT de PA, exceto no episódio -1.6ml% quando se manteve com níveis de PA significativamente superiores ($114 \pm 6 \times 90 \pm 5$ mmHg, Tabela VI, Figura 16). Por outro lado, para o mesmo episódio hemorrágico a PA do grupo Fm era significativamente menor que a do Ca (114 ± 6 e 76 ± 8 mmHg, respectivamente para os grupos Ca e Fm, tabela VI), mas não diferente do grupo SF. Durante toda a HM, o grupo Fm se comportou como o grupo SF.

As fases taquicárdica e bradicárdica que caracterizavam o grupo SF, foram repetidas nos grupos Fm e Ca. Enquanto a fase taquicárdica inicial (-0.6 e -1.2ml%)

foi semelhante para os 3 grupos, o grupo Fm apresentou bradicardia significativamente mais intensa que a do grupo controle (de -2.4 a -3.0ml%, Figura 16), mas não diferente da bradicardia apresentada pelo grupo Ca.

RESULTADOS

TABLETA VI - Valores médios das RT de PAM e de FC (resposta no 5º minuto) em ratos acordados, submetidos à hemorragia fracionada (-0.6 a -3.0 ml/100g de peso corporal - ml/kg). B=controle basal; T=controle após tratamento i.v.; SF=salina; Ca=cânula na artéria carótida; Fm=cânula artéria femoral;

GRUPOS/ TRATAMENTO	CONTROLES		EPISÓDIOS HEMORRÁGICOS						
	B	T	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
	-0.6	-1.2	-1.6	-2.0	-2.4	-2.7	-3.0		
VALORES DE P. A. M. (mmHg)									
Ca+Fm (SF)	119±4	119±4	117±4	100±5	90±5	85±5	77±5	68±4	61±4
Fm	116±4	116±4	111±4	105±4	76±8	72±8	54±3*	57±4	60±10
Ca	119±3	119±3	119±11	113±10	114±6**	94±11	60±15 ^o	49±6	56±5 ^o
VALORES DE F. C. (bpm)									
Ca+Fm (SF)	369±10	369±10	402±9	381±15	366±19	350±19	332±17	338±16	336±16
Fm	359±4	359±4	380±16	387±12	328±21	307±20	247±22 ^o	256±28*	258±25*
Ca	343±8	343±8	354±12	367±12	359±12	329±17	274±14 ^o	270±18*	306±10

Valores são $\bar{X} \pm$ EPM. Significâncias (p < 0.05):
dentro do mesmo grupo:

○ vs. T
■ vs -0.6

entre grupos:
* vs Ca+Fm
★ vs Fm

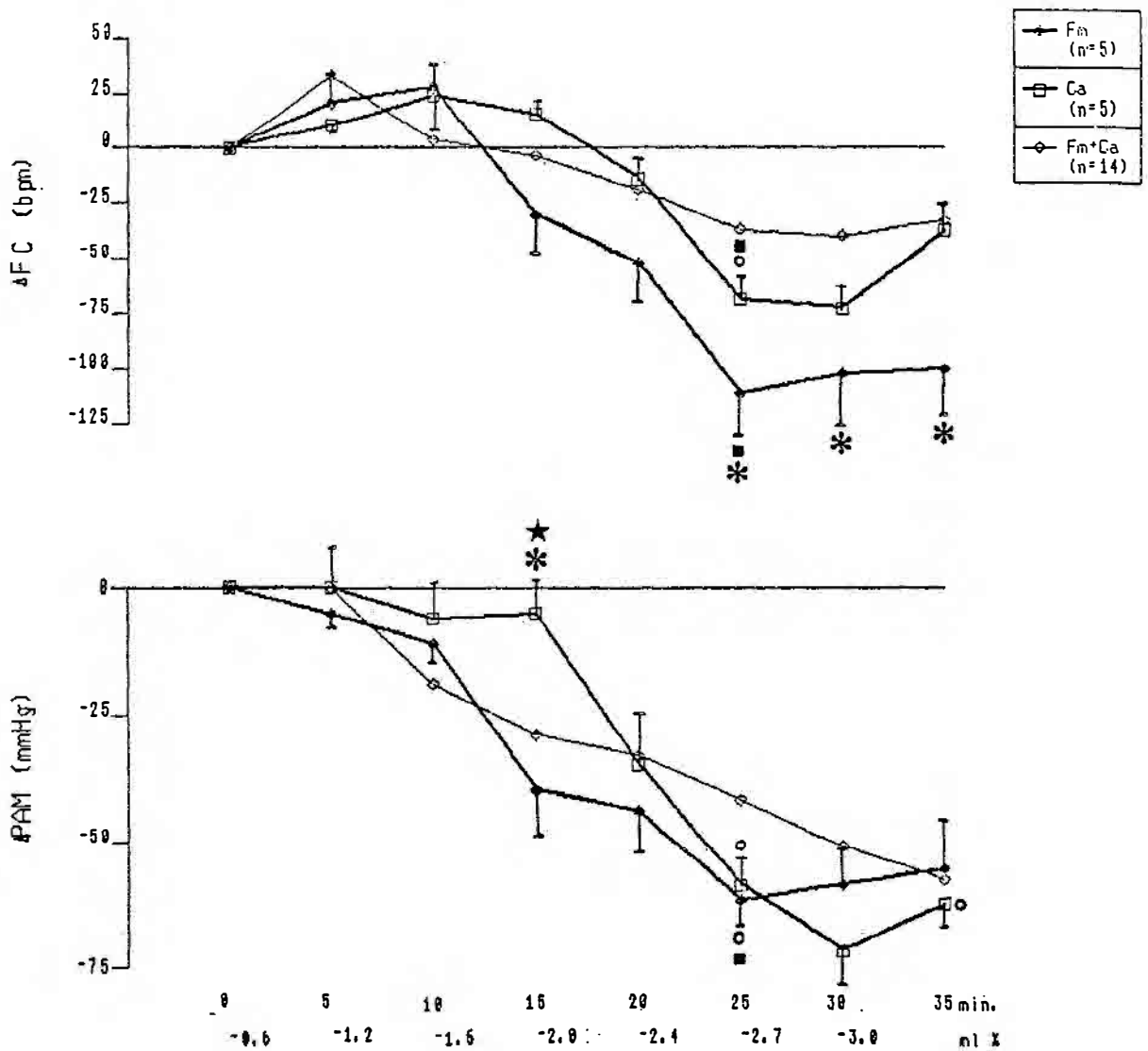


FIGURA 16 - Variações tardias (rt no 5*min) de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) de ratos acordados, com canulação arterial única [femoral = Fm ou carótida = Ca] quando comparados aos com canulação dupla [Fm+Ca = SF) durante os 7 episódios da hemorragia fracionada [-0.6 a -3.0ml/100g de peso - ml%]. Valores são $\bar{X} \pm EPM$. Significâncias ($p < 0.05$)

dentro do mesmo grupo:

○ vs T = 0

■ vs -0.6ml%

entre grupos:

* vs Fm+Ca

★ vs Fm.

6.0 DISCUSSÃO

A utilização do protocolo de hemorragia fracionada associado aos bloqueios isolados e combinados da vasopressina plasmática, do simpático e do vago nos permitiu estudar e diferenciar entre a participação direta da vasopressina circulante e a sua interação com o sistema nervoso autônomo nas respostas cardiovasculares imediatas e na recuperação da pressão arterial durante episódios sequenciais de hemorragia. Nossos dados demonstraram que a participação relativa do SNA e da AVP na gênese das respostas cardiovasculares varia em função da magnitude da hemorragia:

- nas hemorragias moderadas (até -1.2ml%) é a ativação do simpático o principal mecanismo de compensação da PA com participação de certa forma até prejudicial, da AVP plasmática que neste nível, atuando como moduladora do SNA, inibe parcialmente o simpático cardíaco;

- nas hemorragias severas (>1.6ml%) a ação vasoconstrictora direta da AVP assume importância fundamental na manutenção da PA, sendo coadjuvada por sua ação bradicardizante.

É conhecido que reduções da volemia e quedas da pressão arterial que acontecem durante hemorragia estimulam (via pressorreceptores e receptores cardiopulmonares) a ativação reflexa do simpático e a liberação de vasopressina pela neurohipófise (além de renina e a produção da angiotensina II) (Chien, 1967; Cowley, 1982; Zerbe, 1982A e 1982B). Em nosso protocolo experimental, a participação fundamental do simpático cardíaco na hemorragia moderada pode ser avaliado pela queda significativa de PA e FC após propranolol atingindo, já após o 2º episódio hemorrágico, níveis semelhantes aos observados nos animais controles apenas após -3.0ml%. Por outro lado, a participação da AVP na regulação e manutenção da PA pode ser inferida, tanto na queda de pressão significativa já durante o primeiro episódio hemorrágico, quanto pelos níveis significativamente menores de PAM atingidos durante os episódios finais, em presença do bloqueio da AVP endógena. Embora não tenha sido feita a dosagem da AVP plasmática, dados de Laycock e cols. (1979) demonstraram, em ratos anestesiados, haver elevação moderada (não significativa) dos níveis plasmáticos de AVP com hemorragias de 0.5 e 1.0 ml%, mas aumentos significantes de 3, 7 e 9.5 vezes os níveis basais, respectivamente para hemorragias de 1.5, 2 e 2.5 ml%, que determinaram hipotensão intensa (<90mmHg). É bastante provável que níveis plasmáticos semelhantes a esses tenham sido atingidos em nossos animais, uma vez que os níveis de hipotensão atingidos foram semelhantes, e o efeito vasoconstrictor

direto da AVP pode ser demonstrado a partir de -1.6ml% (Figura 06), coincidindo portanto com alterações significantes da concentração plasmática de AVP, demonstrada a partir de -1.5ml% (Laycock e cols., 1979).

A importância da AVP plasmática, como fator de regulação da pressão arterial em estados hipovolêmicos, é reconhecida desde o trabalho pioneiro de Frieden e Keller (1952) sobre a maior susceptibilidade à hemorragia em cães com diabetes insipidus. Realmente, em várias espécies a maiores concentrações plasmáticas de AVP foram medidas em estados de depleção de volume e hipotensivos (Cowley, 1982; Liard, 1984; Bennett e Gardiner, 1985), fornecendo substratos ao envolvimento da AVP com a manutenção a curto-prazo da pressão, e a interpretação de seus efeitos, como sendo essencialmente uma ação vasoconstrictora direta. Entretanto, dados de Cowley e cols. (1980), quantificando o ganho do sistema vasopressinérgico na recuperação da PA após hemorragia e na ausência de outros sistemas de regulação rápida de PA, como os pressorreceptores e o sistema renina-angiotensina, observaram que a AVP liberada era reponsável em reverter, em 5 minutos, 70-72% da queda verificada na PA. Na presença do reflexo pressorreceptor intacto, a recuperação podia atingir 85% de compensação (Cowley, 1982; Cowley e cols., 1985), indicando que parte substancial da ação da AVP se fazia através de sua interação com o reflexo pressorreceptor. Nossos dados demonstram a importância da

interação da AVP-pressorreceptor/SNA, indicando ainda que esta ação, já evidente a partir do 1º episódio hemorrágico (Figuras 04 e 05), manifesta-se mais precocemente que o próprio efeito vasoconstrictor direto, o qual se expressa plenamente a partir de -1.6 e -2.0ml%, conforme observado nos grupos A+P x AVPa+A+P (Figura 07), nos quais tanto o vago quanto o simpático cardíaco foram bloqueados.

A importância da ação direta da AVP plasmática foi demonstrada em estudo detalhado de seu mecanismo de ação realizado por Chapman e cols. (1985) usando ratos Brattleboro e ratos controles bloqueados ou não com antagonista de AVP. Registrando o débito cardíaco e as pressões venosas central e periférica, além da PA, antes e por até 1 hora após hemorragia de -2.0ml%, aqueles autores observaram que as quedas mais intensas da PA nos Brattleboro e nos ratos bloqueados com AVPa, eram devidas à queda do débito cardíaco (queda de volume sistólico com aumento de FC) não acompanhadas de aumento da resistência periférica, como acontecia nos animais controles. Quedas de pressão venosa central e periférica se verificavam igualmente nos três grupos estudados, sem alteração do gradiente de pressão venosa, sugerindo que a AVP não determinava venoconstrição e que portanto, não alterava o retorno venoso como sugerido anteriormente por outros autores. A principal ação da AVP em proteger da hemorragia severa, parecia depender de seu efeito vasoconstrictor mediado via receptores V1 da

musculatura lisa vascular, resultando em acréscimo da resistência periférica total, mas que a reduzida sobrevivência dos ratos Brattleboro (menor que 40%, 60 minutos após a hemorragia) sugeria um efeito adicional da AVP, mediado centralmente.

Nossos dados, indicando significante elevação da frequência cardíaca basal após tratamento com antagonista de AVP, e a ausência de efeitos adicionais sobre as respostas imediatas e tardias de FC durante hemorragia quando o bloqueio da AVP é feito simultaneamente ao bloqueio pelo propranolol, mostram claramente esse efeito adicional da AVP plasmática, ou seja, sua ação inibitória sobre o simpático cardíaco; se o simpático já se encontrar previamente inibido, a inibição adicional de AVP não se traduz em efeitos significativos de FC. Trabalhos recentes do grupo de Cowley (Cowley, 1982; Osborn e cols., 1984; Cowley e cols., 1985; Webb e cols., 1986), estudando a interação de AVP plasmática com componentes neurais envolvidos com o reflexo pressorreceptor, estabeleceram que, tanto no cão quanto no rato, a AVP aumentava o ganho do reflexo pressorreceptor por interação com vias centrais do reflexo mas que, especialmente no rato acordado (Osborn e cols., 1984), o maior tamponamento da atividade pressora da AVP parecia ser devido, em grande parte, às alterações da AVP com componentes neurais não-barorreflexos, uma vez que a AVP foi capaz de reduzir o tônus simpático vascular e tamponar

eficientemente o aumento da pressão arterial, mesmo em animais com desnervação sino-aórtica, ou seja, na ausência dos pressorreceptores arteriais.

A ação da AVP em inibir o simpático já fora ressaltada por Laycock e cols. (1979) e Gardiner e Bennett (1982) em ratos Brattleboro. Estes últimos autores descreveram taquicardia basal e significativo aumento do tônus simpático cardíaco (que foram bloqueados pela administração de propranolol ou pela infusão de AVP): quando a administração de ambos era feita sequencialmente e em qualquer ordem, a redução adicional de FC era de pequena magnitude. Concluíram ser a hiperatividade simpática dos Brattleboro independente de alterações reflexas depleção de volume, uma vez que não observaram alterações concomitantes do tônus vagal, sugerindo ainda que a inibição do simpático pela AVP periférica se realizaria a nível central. Evidências de hiperatividade simpática na ausência de AVP, ou inibição simpática pela administração de AVP também foram relatadas por vários autores. Wooten e cols. (1975) descreveram atividade aumentada de dopamina-3-hidroxiase no soro de ratos Brattleboro, enquanto que Montani e cols. (1980) e Liard e cols. (1981) observaram que infusão de AVP causava intensa redução da FC de cães mesmo em doses bastante baixas, insuficientes para alterar a PA. Nesta linha de raciocínio, Michelini e cols. (1986) observaram ainda que a administração endovenosa ou intravertebral de

AVP determinava elevação gradual na PA acompanhadas por intensa bradicardia e redução dos níveis plasmáticos de noradrenalina, refletindo retirada reflexa da atividade simpática.

É hoje amplamente aceito que a AVP plasmática aumenta o ganho do reflexo pressorreceptor (para referências vide Cowley, 1982 e Cowley e cols., 1985) e que esta ação é mediada através do sistema nervoso central, provavelmente a nível dos centros medulares que controlam a função autonômica (vide Liard, 1984). Uma observação original do presente trabalho é que esta ação da AVP plasmática em inibir o simpático também se verifica durante a hemorragia e, contrariamente à idéia difundida até então, nem sempre é benéfica em estados hipovolêmicos, o que é particularmente verdade para as hemorragias moderadas, quando o papel do simpático é preponderante.

O efeito deletério da AVP em hemorragias crônicas ou prolongadas (em contraposição às hemorragias agudas como é caso do presente trabalho) já fora ressaltado em trabalhos anteriores. Errington e Rocha e Silva (1974) observaram que cães submetidos à hemorragia severa morriam com lesões típicas de choque hemorrágico (intensa vasoconstrição mesentérica com lesões hemorrágicas do intestino) enquanto que cães submetidos cirurgicamente a diabetes insipidus sobreviviam. Também Hock e cols. (1984), estudando gatos em

choque hemorrágico, descreveram que o bloqueio dos efeitos vasculares da AVP melhorava o fluxo da artéria mesentérica superior e prevenia vários efeitos deletérios, normalmente associados à deterioração da preparação. Por outro lado, Altura (1980 e 1982) descreveu serem os ratos Brattleboro bastante sensíveis ao choque hemorrágico, da mesma forma que a lesão isquêmica do intestino e que certos análogos da AVP eram benéficos à sobrevivência desses animais. Estes achados levaram Liard (1984) a propor, em sua revisão, que a AVP no choque hemorrágico teria tanto efeitos deletérios quanto benéficos, que se alterariam em função do tempo de hemorragia ou mesmo da espécie em questão.

Esta mesma polêmica vem agora ser estendida às hemorragias agudas moderadas, onde a AVP plasmática liberada, contribuindo com o mecanismo simpático para a manutenção da PA através do aumento da resistência, especialmente nos territórios muscular e esplâncnico, também dificulta sua recuperação porque inibe centralmente o simpático que, conforme já ressamos anteriormente, é o principal mecanismo responsável agudamente pelo aumento da frequência e contratilidade cardíacas, além de determinar redução da capacitância venosa, aumento da resistência periférica e maior influxo transcapilar (Chien, 1967).

Se a inibição do simpático pela AVP plasmática é proporcional à sua concentração, é de se esperar maior

inibição, principalmente a partir de -1.6ml%, quando os níveis circulantes de AVP devem estar significativamente elevados. Realmente, o grupo bloqueado pela atropina, apresentando a maior FC antes do início da hemorragia, demonstra o simpático maximamente estimulado de início e que, a liberação gradual da AVP durante os episódios sequenciais da hemorragia determinou inibição progressiva do simpático, com redução também gradual da FC durante os sangramentos. A associação do antagonista de AVP à atropina, impediu a inibição do simpático e aboliu a redução gradual da FC (Figura 05). Deve-se observar que a inibição do simpático pela AVP liberada permitiu, mais tardiamente no grupo controle, a manifestação da fase bradicárdica após o 5º e 6º episódios de sangramento uma vez que, como observado após bloqueio pelo propranolol (isoladamente ou em associação com o antagonista de AVP, Figura 06), o tônus vagal já era máximo após o 2º sangramento. Laycock e cols. (1979) também observaram queda significativa da FC com hemorragia severa. Evidências de elevação precoce do tônus vagal, quase que simultânea ao aumento do tônus simpático, também foram obtidas por Junqueira e Krieger (1973) em preparação semelhante à nossa. A possibilidade de que o mecanismo responsável pelo aumento precoce do tônus vagal, e não identificado naquela ocasião, fosse mediado pela ação da AVP plasmática, não foi confirmada por nossos dados. Segundo hipótese proposta por Cowley (1982), a AVP circulante tanto inibiria simpático quanto excitaria o vago centralmente,

estando sua influência diretamente relacionada à magnitude da atividade nervosa aferente dos mecanorreceptores arteriais e cardiopulmonares.

Neste contexto, vários trabalhos recentes (Cowley e cols., 1985; Michelini, 1987; Unger e cols., 1987; Michelini e Bonagamba, 1988) têm demonstrado que o efeito da AVP no sistema nervoso central é complexo, que varia em função da área injetada, da via de acesso da AVP (se proveniente do sangue, do líquido cefalorraquidiano ou se atuante como neurotransmissor), ou do tipo de receptor presente (se V1 ou V2).

Embora haja, durante a hemorragia em presença de propranolol, queda significativa da FC sugestiva de aumento do tônus vagal, quando a concentração plasmática da AVP deve estar significativamente elevada (níveis de hemorragia severa), a comparação das alterações de FC com e sem bloqueio simultâneo da AVP, não foram significantes (diferença de 1 a 3% em média, Figura 06). O mecanismo responsável pelo aumento do tônus vagal durante hemorragia está ainda por ser esclarecido.

Por outro lado, os resultados do presente trabalho indicam claramente que a AVP plasmática contribui acentuada e precocemente (já na hemorragia moderada) à inibição do simpático cardíaco, uma vez que: 1) o propranolol e/ou o

antagonista de AVP foram mais efetivos em bloquear os mecanismos de recuperação da PA, 2) os menores níveis de PAM foram observados durante a combinação desses tratamentos (Tabela I) e, 3) na ausência do vago, a inibição do simpático foi em média 14% maior na presença da AVP circulante (Figura 05). A maior potência da AVP em inibir o simpático já fora ressaltado anteriormente em ratos Brattleboro tratados com propranolol, atropina e infusão de AVP (Gardiner e Bennett, 1982). Também Ribeiro e cols. (1986) observaram em pacientes hipertensos severos que, quanto mais efetiva fosse a inibição simpática prévia, maior era a hipotensão provocada pela administração do antagonista de AVP, demonstrando não só a maior importância da AVP plasmática em manter a PA quando o simpático encontra-se bloqueado, mas também a íntima relação existente entre esses 2 sistemas pressores.

No grupo controle a inalteração das respostas instantâneas de PA (quedas de 20 a 30mmHg), durante praticamente todo os episódios hemorrágicos, demonstra a constância do estímulo aplicado no decorrer dos episódios de hemorragia. As RI de PA também se mantiveram constantes nos diferentes tratamentos, exceto durante bloqueio pelo propranolol, quando as quedas atingiram, nos 2 primeiros sangramentos, valores de 50 a 60 mmHg, demonstrando mais uma vez a importância do simpático cardíaco na hemorragia moderada, quando age não só no sentido de recuperar e manter

a PA mas também, melhorando o desempenho cardíaco, em impedir a queda instantânea de PA durante o desenrolar da hemorragia. Os tratamentos com antagonista de AVP e atropina em nada alteraram as respostas taquicárdicas imediatas, indicando serem as respostas de natureza essencialmente reflexa e desencadeadas pela liberação do simpático frente à drástica redução dos impulsos aferentes dos pressorreceptores arteriais e cardiopulmonares durante os episódios de sangramento. Já o bloqueio β -adrenérgico associado ou não ao bloqueio vagal e ao da AVP plasmática reverteu, nos episódios iniciais da hemorragia, a resposta taquicárdica para bradicardia, comprovando a importância fundamental do simpático na alteração instantânea do inotropismo e cronotropismo cardíacos durante o episódio hemorrágico e nesta resposta, o efeito da AVP plasmática é desprezível. Embora tenhamos avaliado o efeito do propranolol (associado ou não ao AVPa) sobre a atividade cardíaca, é possível que um bloqueio inespecífico β -adrenérgico possa ter ocorrido, reduzindo a resposta vasodilatadora da adrenalina.

Trabalhos anteriores, estudando a possível participação da AVP circulante nas alterações imediatas da PA durante hemorragia, chegaram à conclusões diversas. Laycock e cols. (1979), Zerbe e cols. (1982A e 1982B), à semelhança de nossos dados, apontaram que a AVP não agiria durante o período hemorrágico, uma vez que a queda inicial

da PA foi semelhante nos ratos Brattleboro e Long Evans, enquanto que Altura (1980), utilizando ratos anestesiados, observou maior redução inicial de PA nos ratos com deficiência de AVP quando comparados com seus controles. Gardiner e Bennett (1983) também relataram que mais sangue deveria ser retirado dos Long Evans que dos Brattleboro para se obter quedas equivalentes da PA. Entretanto, a observação de seus traçados de PA demonstra que, mesmo a "hemorragia arterial rápida" (como a definiram), durava aproximadamente 5 minutos e, portanto após esse tempo, suas respostas equivaliam às nossas rT e não às rI. Parece-nos então, que a ativação instantânea do simpático durante os episódios iniciais de hemorragia é um mecanismo essencialmente reflexo, no qual a participação da AVP plasmática como moduladora do reflexo pressorreceptor é mínima.

Deve-se ressaltar que, enquanto as respostas reflexas de PA e FC nos primeiros episódios hemorrágicos devem ter sido desencadeadas pelos pressorreceptores arteriais e cardiopulmonares, é bastante provável que as alterações reflexas de FC durante hemorragia intensa tenham sido elicitadas pelos receptores cardiopulmonares, uma vez que, em níveis de hipotensão severa (<80-90 mmHg), os pressorreceptores do rato cessam de funcionar (Junqueira e Krieger, 1973). Este fato é ilustrado pela redução significativa da sensibilidade do reflexo pressorreceptor durante o 4º e 5º episódios hemorrágicos (Figura 14).

O cálculo da sensibilidade do reflexo pressorreceptor em presença dos diferentes bloqueios confirmou que a AVP plasmática:

- não altera significativamente o funcionamento do reflexo pressorreceptor durante hemorragias de -0.6ml%. Michelini (1987) e Michelini e Bonagamba (1988), administrando AVP diretamente no núcleo do trato solitário de ratos acordados, também descreveram inalteração da sensibilidade do reflexo pressorreceptor para o coração, embora houvesse deslocamento paralelo da faixa de funcionamento do reflexo para níveis mais elevados de FC;

- mostra tendência a deprimir o simpático fasicamente, embora a melhora do ISB após atropina, pelo AVPa, não tenha atingido níveis de significância, pois ainda se encontrava significativamente reduzido em relação ao controle;

- não potencia o vago fasicamente, porque foi incapaz de melhorar o ISB deprimido pelo propranolol.

A administração do antagonista de AVP após o 4º sangramento determinou, após sua aplicação, respostas semelhantes às do grupo bloqueado previamente, com indícios de menor inibição do simpático desencadeada pelo bloqueio após a 4ª hemorragia.

A precaução de se excluir possíveis efeitos sobre o SNA, devidos à isquemia cerebral pela canulação de uma das carótidas, nos levou a comparar as alterações de PA e FC de nosso grupo controle com outros 2 grupos, em que apenas a artéria femoral ou uma das carótidas foi canulada, e que foram submetidos a protocolo idêntico de sangramento. Alterações semelhantes nas RT de PAM e a manutenção das fases taquicárdica e bradicárdica em todos os grupos, nos levaram a concluir que isquemia cerebral marcante não deve ter ocorrido em nossos grupos experimentais, embora ligeira redução do fluxo cerebral possa ter causado bradicardia pouco menos intensa nos animais com canulação da carótida.

Devemos ressaltar que o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a interação AVP-SNA nas respostas cardiovasculares à hemorragia fracionada. É lógico que o sistema renina-angiotensina deve estar influenciando a magnitude dessas respostas. Observações preliminares de nosso laboratório, em animais com bloqueio crônico pelo captopril, foram observadas, durante HM, quedas de PA semelhantes às do grupo com bloqueio associado AVPa+P, embora a FC se mantivesse elevada durante o experimento. Sugerindo que, também a angiotensina II plasmática desempenha papel importante na recuperação de PA após hemorragia. A interação AVP-SNA-SRA, neste modelo experimental, está ainda por ser esclarecida (Godoy e Michelini, 1987).

Em síntese, podemos afirmar que, durante a hemorragia tanto o simpático quanto a AVP plasmática são importantes em proteger quedas da PA e da volemia, limitando as quedas durante sangramentos (rI) e auxiliando a restauração da PA após os episódios hemorrágicos (rT). Enquanto que, durante os sangramentos, o simpático é estimulado essencialmente pelo mecanismo pressorreceptor, com menor participação da AVP plasmática, a recuperação da PA após sangramento envolve a participação de ambos: pressorreceptores e AVP plasmática cuja ação é complexa. Embora seu efeito de aumento de resistência periférica (essencialmente muscular e mesentérica) se manifeste mesmo nos episódios iniciais de sangramento, sua ação inibitória do simpático age no sentido de prejudicar a recuperação da PA na hemorragia moderada. Por outro lado, sua ação vasoconstrictora direta é essencial e insubstituível nos episódios de hemorragia severa e, como afirmado por Schwartz e Reid (1981) e por Zerbe e cols. (1982A), a hemorragia intensa é uma das poucas situações em que ausência de AVP não é compensada por hiperativação de outros sistemas como o simpático e o sistema renina-angiotensina.

7.0 SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Vários estudos têm sugerido que a arginina vasopressina (AVP) circulante, além do seu já bem conhecido efeito vasoconstrictor direto, pode influenciar o sistema nervoso central na regulação cardiovascular. Para investigar o papel relativo da AVP plasmática e do sistema nervoso autônomo (SNA) na regulação reflexa da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), foram estudadas as respostas imediatas (rI de 10 a 20s) e as variações tardias (rT no 5º minuto) de PA e FC durante 7 episódios sequenciais de hemorragia fracionada (HM = de -0.6 a -3.0ml/100g de peso corporal - ml%) em 9 grupos de ratos acordados e com livre movimentação. Os animais foram tratados previamente i.v. com: salina (SF, 1.0ml/Kg), atropina (A, 4.0 mg/Kg), propranolol (P, 6.0 mg/Kg), d(CH₂)₅Tyr(Me)AVP antagonista específico dos receptores V₁ da AVP (AVPa, 10 ug/Kg) e RB4, com bloqueio de AVP após o 4º sangramento, e suas associações (AVPa+A; AVPa+P; AVPa+A+P). A dupla canulação arterial (carótida e femoral = Ca+Fm) também foi comparada a canulações simples em outros dois grupos de ratos (Ca ou Fm). Com exceção dos grupos que receberam atropina onde a PA basal (117 mmHg) sofreu pequena mas significativa elevação de 6%, nos demais tratamentos não foi alterada, mas houve elevação significativa da FC nos grupos AVPa (+10%), A (+38%)

e AVPa+A (+25%), enquanto que a FC basal se reduziu significativamente em P e AVPa+P (-13%). A FC intrínseca (A+P = 366±13bpm) não foi diferente da FC basal (369±10bpm) e nem se alterou pela associação AVPa+P. Todos os episódios da HM determinaram quedas instantâneas de PA que foram significantes para todos os grupos estudados.

Com o progredir da HM, a PAM do grupo controle (SF) foi se deslocando para níveis de hipotensão, com quedas significantes a partir de -2.4ml%. A FC apresentou um comportamento bifásico: taquicardia intensa nos episódio inicial da HM (rI = +50±5bpm, rT = +33±9bpm) que se reverteu para bradicardia nos episódios finais HM (rT = -34±16bpm, com drástica redução das rI de FC mesmo com presença de quedas instantâneas de PAM de magnitude equivalente às iniciais). O bloqueio da AVP endógena determinou durante a HM respostas hipotensoras imediatas de igual magnitude, mas prejudicou a recuperação tardia de PAM, com deslocamento significativo do nível basal de PA já após o 1º episódio hemorrágico, e quedas tardias da PA significantemente maiores que as do grupo controle a partir de -2.0ml%. O tratamento com AVPa não impediu a manifestação de fase taquicárdica, mas aboliu a fase bradicárdica final, mantendo a FC elevada e semelhante a FC basal deste grupo durante todo o experimento. O grupo P, já nos episódios iniciais da HM, apresentou quedas instantâneas de PA 2 vezes mais intensas que as do grupo SF associadas a bradicardia; houve

comprometimento precoce da recuperação tardia de PA e FC que apresentaram seus níveis mínimos já após -1.2ml%. associação do bloqueio da AVP ao do simpático 3-adrenérgico não causou alterações adicionais nas RI ou rT de FC mas dificultou marcadamente a recuperação da PA nos episódios finais da HM, quando foram observados os menores níveis de PAM (36±3mmHg após -3.0ml%). Por sua vez, o bloqueio vagal não alterou significativamente as respostas instantâneas de PA e FC, mas a incapacidade de apresentar taquicardia adicional nos episódios iniciais da HM (FC basal já maximamente elevada, 495±11bpm) colaborou para a queda precoce nos níveis de PAM cuja rT foi significativamente menor que a do grupo SF a -1.2ml%. Associado ao bloqueio vagal, o bloqueio da AVP determinou inicialmente menor tônus simpático sobre o coração (FC basal = 450±12bpm) e impediu a queda precoce da PAM, cujas rT se comportavam como as do grupo SF. Com o duplo bloqueio (A+P) não houve alterações compensatórias de FC e as quedas instantâneas de PA durante os episódios hemorrágicos tenderam a ser maiores que as do grupo controle, embora a recuperação tardia da PA fosse equivalente à do controle. À semelhança do AVPa+P, a adição do bloqueio de AVP ao do SNA intensificou as quedas mantidas de PA nos episódios finais de HM (40±4 mmHg após -3.0ml%). O índice de sensibilidade do reflexo pressorreceptor para o coração (ISB em bpm/mmHg) quantificado durante o 1º episódio hemorrágico (-4.13±0.80) indicou comprometimento do funcionamento do reflexo durante bloqueio vagal (-1.04±0.27)

e inibição completa durante bloqueio do simpático cardíaco (0.75 ± 0.20). O bloqueio da AVP endógena isoladamente não prejudicou o funcionamento do reflexo pressorreceptor (-3.10 ± 0.73), não alterou o ISB após propranolol, mas determinou sensível melhora quando administrado após o bloqueio com atropina (-1.86 ± 0.51).

Os dados obtidos permitem concluir que:

- a AVP plasmática não é importante na manutenção dos níveis basais de PA, mas é fator essencial na determinação da FC basal.

- durante a hemorragia, tanto o simpático quanto a AVP plasmática são importantes em proteger quedas da PA e da volemia, limitando as quedas durante sangramentos (rI) e auxiliando a restauração da PA após os episódios hemorrágicos (rT);

- durante os episódios iniciais de sangramento, o simpático é estimulado essencialmente pelo mecanismo pressorreceptor, com menor participação da AVP plasmática; no entanto, a recuperação da PA após sangramento envolve a participação de ambos os sistemas pressorreceptores e AVP plasmática - cuja interação é complexa: embora o efeito da AVP em aumentar a resistência periférica (essencialmente muscular e mesentérica) se manifeste mesmo nos episódios

iniciais de sangramento, sua ação inibitória do simpático age no sentido de prejudicar a recuperação da PA na hemorragia moderada; o efeito vasoconstrictor direto da AVP é essencial e insubstituível na manutenção ^{da PA} apenas da hemorragia severa (>1.6ml%).

8.0 SUMMARY AND CONCLUSIONS

Several studies have suggested that circulatory arginine-vasopressin (AVP), besides its well-known direct vasoconstrictor effect, may influence central nervous system on cardiovascular regulation. To attempt the relative role of plasmatic AVP and of autonomic nervous system (ANS) and its interaction on reflex regulation of blood pressure (AP) and heart rate (HR), we have studied the immediate responses (IR from 10 to 20 s) and late changes (LR at 5th min) of the AP and HR during 7 episodes of progressive hemorrhage (HM = -0.6 to -3.0 ml/100 body weight, ml%) in 9 groups (G) of conscious freeling moving rats. The animals were previously treated i.v. with: saline (SF, 1.0 ml/Kg); atropine (A, 4.0 mg/Kg); propranolol (P, 6.0 mg/Kg), d(CH₂)⁵Tyr(Me)AVP specific antagonist for V₁ receptors (AVPa, 10 ug/Kg and RB4 with blockade of AVP immediately after the 4th bleeding), and its associations (AVPa+A; AVPa+P; AVPa+A+P). Double arterial cannulation (carotid and femoral = Ca+Fm) was also compared to single cannulation of Ca or Fm in 2 other groups of rats (Ca or Fm). Baseline AP was not changed by the different treatment except in group receiving atropine in which occurred a slight but significant increase of 6%. On the other hand, significant rise of baseline HR were observed in AVPa (+10%), A (+38%) and AVPa+A (+25%) groups whereas HR

was lowered in P (-16%) and AVPa+P (-13%) groups. Intrinsic HR (A+P=366±13 bpm) was not different from the basal values observed in conscious unrestrained rats (366±10bpm) and was not changed by the association AVPa+P. All of the HM episodes elicited instantaneous drops on AP which were significant for all the studied groups. During the development of HM, mean arterial pressure (MAP) of control group (SF) was lowered to hypotensive levels with significant falls from -2.4ml% on. The HR was found diphasic: intense tachycardia at the inicial episode of HM (IR = +50±5bpm, LR = +33±9bpm) which was reverted to bradycardia at final episodes (LR = -34±16bpm), with severe reduction of IR on HR even during instantaneous falls on MAP similar to those observed initially. The endogenous blockade of AVP did not change hypotensive IR but impaired the LR of AP with significant displacement of baseline MAP since the first episode, and late MAP falls (>-2.0ml%) higher than those observe in the control group. The AVPa treatment did not prevent the tachycardic phase, but the final bradycardic phase was abolished, and HR was maintained elevated during the whole experiment. In the P group the instantaneous AP falls were in the early stages twice larger than those of the SF group and associated with bradycardia; there was precocious impairment of late recovery of AP and HR, which attained their lowest levels since after -1.2ml%. The association of 3-adrenergic blockade to AVPa did not cause additional changes in either IR or LR of HE but markedly impaired the AP recovery in the

late episodes of HM, when the lowest level of MAP was observed (36 ± 6 mmHg, after -3.0 ml%). The vagal blockade did not alter IR of AP and HR, but the inability to show additional tachycardic responses in the initial HM episodes contributed to an early fall of MAP - the LR of MAP was significantly smaller than that of control group at -1.2 ml%. The association of V1 to vagal blockade determined initially smaller sympathetic tonus to the heart (basal HR = 450 ± 12 bpm x 495 ± 11 bpm in the A group) and prevented the early drops of MAP (LR of MAP similar to SF group up to -1.2 ml%). Compensatory HR changes were not observed after SNS blockade (A+P) the instantaneous drops of AP during HM episodes tended to be larger whereas the LR of AP were equivalent to those of the control group. Similarly to AVPa+P group, the addition of AVP blockade to ANS blockade determined higher hypotensive levels in the last episodes (40 ± 4 mmHg after -3.0 ml%). The baroreflex sensitivity index to the heart (BSI) quantified in the first HM episode (-4.13 ± 0.80 bpm/mmHg) showed impaired reflex during vagal blockade (-1.04 ± 0.27 bpm/mmHg) but complete occlusion during of cardiac sympathetic blockade (0.75 ± 0.20 bpm/mmHg). Endogenous AVP blockade did not alter BSI (-3.10 ± 0.73 bpm/mmHg), did not change the reduced BSI after propranolol, but determined evident improvement of BSI when administered after blockade with atropine (from -1.04 ± 0.27 to -1.86 ± 0.51 bpm/mmHg).

The obtained data showed that:

- circulating AVP does not contribute to the maintenance of baseline levels of AP but is an essential factor in the determination of baseline HR;

- in the hemorrhage, both sympathetic and circulating AVP are important for maintenance of MAP and volemia, that act limiting MAP drops during bleedings (LR) and helping AP recovery after hemorrhagic episodes (LR);

- during the initial episodes of bleeding, the sympathetic is mainly stimulated by baroreceptor mechanism with minor participation of plasma AVP. However AP recovery after bleeding includes the participation of both mechanisms - baroreceptors and plasma AVP - whose interaction is complex: although AVP in enhances peripheral resistance (mainly muscular and mesenteric) even since in the early episodes bleeding, it inhibits the sympathetic blunting partially AP recovery in moderate hemorrhages;

- the direct vasoconstrictor effect of AVP is essential for AP recovery only in severe hemorrhage (>-1.6ml%) .

9.0 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTURA, B. M.: Evidence that endogenous vasopressin plays a protective role in circulatory shock. Role for reticuloendothelial system using Brattleboro rats. *Experientia*, 36: 1080-1082, 1980.

ALTURA, B. M.: Microcirculatory and vascular smooth muscle behavior in the Brattleboro rat: relationship to reticuloendothelial system function and resistance to shock and trauma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 375-390, 1982.

ARMSTRONG, D. M.: Cholinergic innervation of vasopressin-containing neurons in the supraoptic nucleus of the rat. In: Schrier, R.W. (ed): *Vasopressin*, Raven Press New York: 353-360, 1985.

BENNETT, T. & GARDINER, S. M.: Involvement of vasopressin in cardiovascular regulation. *Cardiovasc. Res.*, 19: 57-68, 1985.

BISHOP, V.S. & HASSER, E.M.: Arterial and cardiopulmonary

- reflexes in the regulation of the neurohumoral drive to circulation. Fed. Proc., 44 (8): 2377-2381, 1985.
- BONJOUR, J.P. & MALVIN, R.L.: Stimulation of ADH release by the renin-angiotensin system. Am. J. Physiol., 218: 1555-1559, 1970.
- BROOKS, D.P.; SHARE, L. & CROFTON, J.T.: Vasopressin: the control of its release and cardiovascular actions. In: Schrier, R.W (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 69-67, 1985
- BUIJS, R. M.: Intra and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat: pathways to the limbic systems, medulla oblongata and spinal cord. Cell Tiss. Res., 192:423-435, 1978.
- CHAPMAN, J. T.; HREASH, F.; LAYCOCK, J. F. & WALTER, S. J.: The cardiovascular effects of vasopressin after haemorrhage in anaesthetized rats. J. Physiol., 375: 421-434, 1986.
- CHAROCOPOS, F.; HATZINIKOLAOU, P.; NORTH, W.G. & GAVEAS, H.: Systemic and regional hemodynamic effects of endogenous vasopressin stimulation in rats. Am. Physiol. Soc., H560-H565, 1982.

CHIEN, S.: Role of sympathetic nervous system in hemorrhage.
Physiol. Rev., vol 47: 214-288, 1967.

CLARK, B.J. & ROCHA E SILVA JR., M.: An afferent pathway
for the selective release of vasopressin in response to
carotid occlusion and haemorrhage in the cat. *J.*
Physiol., 191: 529-542, 1967

COWLEY, A. W.; MONOS, E. & GUYTON, A.C.: Interaction of
vasopressin and baroreceptor reflex system in the regu-
lation of arterial blood pressure in the dog. *Circ.*
Res. 34:505-514, 1974.

COWLEY, A.W.Jr.; SWITZER, S.J. & GUINN, M.M.: Evidence and
quantification of the vasopressin arterial pressure con-
trol system in the dog. *Circ. Res.* 46: 58-67, 1980.

COWLEY JR., A. W.: Vasopressin and cardiovascular
regulation. In: Guyton and Hall (ed): Cardiovasc.
Physiol. IV [Intern. Review of Physiol. vol(26), Univer-
sity Park Press Baltimore: 189-242, 1982.

COWLEY JR., A.W.; LIARD, J.F.; SKELTON, M.M.; QUILLEN JR.,
E.W.; OSBORN JR., J.W. & WEBB, R.L.: Vasopressin-neural
interactions in the control of cardiovascular function.
In: Shrier, R. (ed): Vasopressin, Raven Press New York:
01-10, 1985.

CROFTON, J. T.; SHARE, B. S. L.; WANG, B.C. & SHADE, R.E.:
Pressor responsiveness to vasopressin in the rat with
doc-salt hypertension. *Hypertension* 2(4): 424-431, 1980.

ERRINGTON, M.L. & ROCHA e SILVA, M.: On the role of
vasopressin and angiotensin in the development of irre-
versible haemorrhagic shock. *J. of Physiol. (London)*,
242: 119-141, 1974.

FERRARIO, C. M.; MIRAMI, H.; MICHELINI, L.C. & BROSNIHAN,
K.B.: Interaction of vasopressin with central
neurogenic mechanisms of blood pressure regulation. In:
Shrier, R.(ed): Vasopressin, Raven Press New York,
47-57, 1985.

FOREMAN, R. D.; DORNER, K. J.; GHATA, C.A. & STONE, H.L.:
Neural control of the heart during arrhythmias and exer-
cise. *Fed. Proc.* 39(8): 2519-2525, 1980.

FRIEDEN, J. & KELLER, A. D. : Decreased resistance to
haemorrhage in neurohypophysectomized dogs. *Cir. Res.*,
2: 214-220, 1954.

GARDINER, S.M. & BENNETT, T.: The control of heart rate in

- rats with hereditary hypotalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). Ann. N. Y. Acad. Sci.: 363-374, 1982.
- GARDINER, S.M. & BENNETT, T.: Effects of haemorrhage in rats lacking vasopressin (Brattleboro strain): influence of naloxone. Clin. Sci., 65: 19-25, 1983.
- GAVRAS, H.; HATZINIKOLAOU, P.; NORTH, W.G.; BRESNAHAN, M. & GAVRAS, I.: Interaction of the simpathetic nervous system with vasopressin and renin en maintenance of blood pressure. Hypertension, 4: 400-405, 1982.
- GAVRAS, H. & GAVRAS, I.: Interaction of vasopressin with the sympathetic nervous sistem and arterial pressure control. In: Schrier, R.W (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 39-45, 1985.
- GEBBER, G. L. & BARMAN, S. M.: Rhythmogenesis in the sympathetic nervous system. Fed. Proc., 9(8): 2526-2530, 1980.
- GILL, J. L.: Repeated measurement: sensititive tests for experiments with few animals. J. Anim. Sci., 63: 943-954, 1896.
- GODOY, A.J. & MICHELINI, L.C.: Papel da angiotensina II na

regulação cardiovascular durante hemorragia fracionada em ratos acordados. Em: Resumos da II Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, Rio de Janeiro, 1987.

HALL, C.E.; AYACHI, S. & HALL, O.: Spontaneous hypertension in rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). Tex. Rep. Biol. Med. 31: 471-487, 1973.

HOCK, C. E.; SU, J. Y. & LEFER, A. M.: Role of AVP in maintenance of circulatory homeostasis during hemorrhagic shock. Am. J. Physiol., 246: H174-H179, 1984.

HOSOMI, H. & SAGAWA, K.: Effect of pentobarbital anesthesia on hypotension after 10% hemorrhage in dog. Am. J. Physiol. 236(4): H607-H612, 1979.

HOUCK, P.C.; FIKSEN-OLSEN, M.J.; BRITTON, S.L.; ROMERO, J.C.: Role of angiotensin and vasopressin on blood pressure of ganglionic blocked dogs. Am. J. Physiol. 244: H115-120, 1983.

IMAI, Y.; NOLAN, P.L.; JOHNSTON, C. I.: Restoration of suppressed baroreflex sensitivity in rats with hereditary diabetes insipidus (Brattleboro rats) by arginine-vasopressin and DDAVP. Circ. Res., 53: 140-149, 1983.

JUNQUEIRA JR., L.F. & KRIEGER, E.M.: Circulatory responses of conscious rats to hemorrhage. Role of the baroreceptores. Acta Phy. Lat. Am. 23: 270-276, 1973.

KEIL, L.C. & SEVERS, W.B.: Reduction in plasma vasopressin levels of dehydrated rats following acute stress. Endocrinology, 100(1): 30-38, 1977.

KORNER, P.I.: Operation of central nervous system in reflex circulatory control. Fed. Proc. 39(8): 2504-2512, 1980.

LAYCOCK, J.F.; PENN, W.; SHIRLEY, D.G. & WALTER, S.J.: The role of vasopressin in blood pressure regulation immediately following acute haemorrhage in the rat. J. Physiol., 296: 267-275, 1979.

LIARD, J.F.; DERIAZ, O.; TSCHOPP, M.; SCHOON, J.: Cardiovascular effects of vasopressin infused into vertebral circulation of conscious dogs. Clin. Sci. 61: 345-347, 1981.

LIARD, J.F.: Vasopressin in cardiovascular control: role of circulating vasopressin. Clin. Sci. 67: 473-481, 1984.

LIARD, J.F.: Effects of arginine vasopressin on regional circulations. In: Schrier, RW (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 59-67, 1985.

MANNING, J.W.: Central integration of cardiovascular control. Central cardiovascular control: a distributed neural network. Fed. Proc. 39(8): 2485-2486, 1980.

MANNING, M.; LAMMEK, B.; KOŁODZIESCZYK, A.; SETO, J. & SAWYER, W.H.: Synthetic antagonists of "in vivo" antidiuretic and vasopressor responses to arginine vasopressin. J. Med. Chem., 24: 701-706, 1981

MANNING, M. & SAWYER, W. H.: Development of selective agonists and antagonists of vasopressin and oxytocin. In: Schrier, RW (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 131-144, 1985.

MICHELINI, L.C.; BARNES, K.L. & FERRARIO, C.M.: Arginine vasopressin modulates the central action of angiotensin II in the dog. Hypertension, 5(suppl V): V94-V100, 1983.

MICHELINI, L. C.; BARNES, K. L. & FERRARIO, C.M.: Area

postrema lesions augment the pressor activity of centrally administered vasopressin. Clin. Exper.-Theory Practice, A8(7): 1107-1125, 1986.

MICHELINI, L.C.: Vasopressina e angiotensina II como neuro-moduladores do controle reflexo da frequência cardíaca em ratos acordados. Padronização de uma técnica para canulação crônica do tronco cerebral. Fac. Med. de Ribeirão Preto. Tese de Livre-Docência M.S., 1987.

MICHELINI, L.C. & BONAGAMBA, L.G.H.: Baroreceptor reflex modulation by vasopressin microinjected into the nucleus tractus solitarius of conscious rats. Hypertension 11 (Suppl. I): I-75I-79, 1988.

MÖHRING, J.; MÖHRING, B.; PETRI, M. & HAACK, D.: Plasma vasopressin antiserum on blood pressure in rats with malignant two kidney Goldblatt hypertension. Cardiovasc. Res., vol. 41(1): 17-22, 1978.

MONTANI, J.P.; LIARD, J.F.; SCHOUN, J. & MÖHRING, J.: Hemodynamic effects of exogenous vasopressin at low plasma concentrations in conscious dogs. Cir. Res., 47: 346-355, 1980.

OSBORN, J.W. JR., BAERBER, B.J., & COWLEY, A.W. JR.: Neural

control of heart and peripheral circulation during acute elevations of plasma AVP in conscious rat. Fed. Proc. 43:896, 1984.

REID, I. A.: Inhibition of renin secretion by vasopressin: mechanism and physiological role. In: Schrier R. (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 21-28, 1985.

RIBEIRO, A.; MULINARI, R.; GAVRAS, I.; KOHLMANN, O. R. & GAVRAS, I.: Sequential elimination of pressor mechanisms in severe hypertension in humans. Hypertension 8 (Suppl. I): I&a-169-I-173, 1986.

ROBERTSON, G. L.; SHELTON, R. L. & ATHAR, S.: The osmoregulation of vasopressin. Kidney International, 10: 25-37, 1976.

ROBERTSON, G. L.: Osmoregulation of thirst and vasopressin secretion: Functional properties and their relationship to water balance. In Schrier (ed): Vasopressin, Raven Press New York, 203-212, 1985.

ROCHA E SILVA, M. Jr. & ROZEMBERG, M.: The release of vasopressin in response to hemorrhage and its role in the mechanism of blood pressure regulation. J. Physiol. (Lond.), 202: 535, 1969.

SAWCHENKO, P. E. & SWANSON, L. W.: Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of hypothalamus that project to the medulla or the spinal cord in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 205: 260-272, 1982.

SAWYER, W. H.; PANG, P. K. T.; SETO, J. & McENROE, M.; LAMMEK, B. & MANNING, M.: Vasopressin analogs that antagonize antidiuretic responses by rats to the antidiuretic hormone. *Science*, [212]: 49- 51, 1981.

SHARE, L.: Control of plasma ADH in hemorrhage: Role of atrial and arterial receptors. *Am. J. Physiol.*, 215: 1384-1389, 1968.

SCHMID, P. G.; SHARABI, F. M.; GUO, G. B.; ABBOUD, F. M. & THAMES, M. D.: Vasopressin and oxytocin in the neural control of the circulation. *Fed. Proc.*, 43(1): 97-102, 1984.

SCHMID, P. G.; GUO, G. B. & ABBOUD, F. M.: Different effects of vasopressin and angiotensin II on baroreflexes. *Fed. Proc.*, 44(8): 2388-2392, 1985 (A).

SCHMID, P. G.; GUO, G. B.; AXTELLE, T. S. & ABBOUD, F. M.: Vasopressin facilitates baroreceptor inhibition of sympathetic vasomotor activity by more than one mechanism.

- In: Schrier R(ed): Vasopressin, Raven Press New York, 11-20, 1985 (B).
- SCHWARTZ, J. & REID, L.A.: Effect of vasopressin blockade on blood pressure regulation during hemorrhage in conscious dogs. *Endoc.*, 109(5): 1778-1780, 1981.
- SLADEK Jr., J.R.: Central catecholamine pathways to vasopressin neurons. In: Schrier R(ed): Vasopressin, Raven Press New York, 343-351, 1985.
- SMITH, O.A.; ASTLEY, C.A.; De VITO, J.L.; STEIN, J.M. & WALSH, K.E.: Functional analysis of hypothalamic control of the cardiovascular responses accompanying emotional behavior. *Fed. Proc.*, 39(8): 2487-2494, 1980.
- SVED, A.F.: Central neural pathways in baroreceptor control of vasopressin secretion. In: Schrier, R(ed): Vasopressin, Raven Press, New York, 443-453, 1985.
- THAMES, M.D. & SHMID, P.G.: Cardiopulmonary receptors with vagal afferents tonically inhibit ADH release in the dog. *Am. J. Physiol.*, 237(3): H299-H304, 1979.
- THAMES, M.C. & SHMID, P.G.: Interaction between carotid

and cardiopulmonary baroreflexes in control of plasma ADH. Am. J. Physiol., 241 [Heart Circ. Physiol., 10]: H431-H434, 1981.

UNGER, T.; ROHMEISS, P.; DEMMERT, G.; GANTEN, D. & LANG, R.E. & LUFT, F.: Opposing cardiovascular effects of brain and plasma AVP. Role of V1- and V2-AVP receptors. In: Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation. Buckley, J.P. and Ferrario, C.M. (eds). New York, Raven Press: 393-401, 1987.

USAMI, S.; PERIC, B. & CHIEN, S.: Release of antidiuretic hormone due to common carotid occlusion and its relation with vagus nerve. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 11: 189-196, 1962

WEBB, R. L.; CSBORN, J. W. Jr; COWLEY, A. W. Jr.: Cardiovascular actions of vasopressin. Baroreflex modulation in conscious rat. Am. J. Physiol., 251: H1244-H1251, 1986.

YAMAZAKI, T. & KIIICHI, S.: Hypotension 1.5 min after 10% hemorrhage permits evaluation of rabbits baroreflex. Am. J. Physiol., 249 [Heart Circ. Physiol., 18]: H450-H456, 1985.

YAMASHITA, H.: Effect of baro- and chemoreceptor activation

in supraoptic nuclei neurons in the hypothalamus. Brain Res., 126: 551-556, 1977.

ZERBE, R.; STROPES, L. & ROBERTSON, G.: Vasopressin function in the syndrome of inappropriate antidiuresis. Ann. Rev. Med., 31: 315-327, 1980.

ZERBE, R. L.; FEUERSTEIN, G.; MEYER, D.K. & KOPIN, I.J.: Cardiovascular, sympathetic, and renin-angiotensin system responses to hemorrhage in vasopressin deficient rats. Endocrinology, 111(2): 608-613, 1982 (A).

ZERBE, R.L.; BAYORH, M.A.; FEUERSTEIN, G.: Vasopressin an essential pressor factor for blood pressure recovery following hemorrhage. Peptides, 3: 509-514, 1982 (B)

ZIMMERMAN, E. A.; NILAVER, G.; HOU-YU, A. & SILVERMAN, A.J.: Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system. Fed. Proc., 43 (1): 91-96, 1984.

ZIMPFER, M. W.; MANDERS, T.; BARGER, A.C. & WATNER, S.F.: Pentobarbital alters compensatory neural and humoral mechanisms in response to hemorrhage. Am. J. Physiol., 243 (Heart Circ. Physiol. 12): H713-H721, 1982.

WALLENSTEIN, S.; ZUCKER, C. L. & FLEISS, J. L.: Some

statistical methods useful in circulations research.
Circ. Res., 47: 1-9, 1980.

WOOTEN, G; HANSON, T. & LAMPRECHT, F.: Elevated serum
dopamine β -hydroxylase activity in rats with enherited
diabetes insipidus. J. Neural Trasm., 36: 107-112,
1975.