

NATALIA RIBEIRO

**AÇÃO DA VASOPRESSINA NO NÚCLEO PARAVENTRICULAR DO
HIPOTÁLAMO SOBRE AS ALTERAÇÕES NA ATIVIDADE SIMPÁTICA
INDUZIDAS POR HIPEROMOLARIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de conhecimento: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Vagner Roberto Antunes

Versão original

São Paulo
2013

RESUMO

Ribeiro N. Ação da vasopressina no núcleo paraventricular do hipotálamo sobre as alterações na atividade simpática induzidas por hiperosmolaridade. [dissertação (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

Dentre os diferentes mecanismos que mantém a homeostase biológica, um dos principais é a osmorregulação. Nos mamíferos a osmolaridade deve ser mantida dentro de limites fisiológicos muito estreitos e, desta forma, um sistema de controle refinado é responsável pela manutenção deste parâmetro. O aumento da osmolaridade causa um importante desequilíbrio hidroeletrólítico capaz de afetar funções neurovegetativas autônomas e neurohumorais. Diversos estudos demonstram que o aumento da osmolaridade é capaz de causar simpatoexcitação e aumento da pressão arterial, estando o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) envolvido em tal resposta. O PVN caracteriza-se como principal centro integrador das respostas induzidas por estímulos osmóticos. Este núcleo é composto por duas subpopulações de neurônios, os parvocelulares (NPC) envolvidos na regulação da atividade simpática e os neurônios magnocelulares (NMC) que se projetam para a hipófise posterior e são responsáveis pela produção e liberação de vasopressina (VP) tanto sistemicamente como no próprio microambiente neuronal do PVN. Embora o envolvimento do PVN nas respostas hemodinâmicas induzidas pelo aumento da osmolaridade seja amplamente conhecido, os mecanismos pelos quais estas respostas são geradas continuam ainda como objeto de estudo. Neste sentido, estudos apontaram o possível envolvimento da VP com ação neuromoduladora sobre os neurônios do PVN envolvidos com o controle da atividade simpática. Deste modo, o objetivo deste estudo foi investigar o papel da vasopressina, por meio de sua ação no PVN, sobre as alterações na atividade simpática em situações de hiperosmolaridade. Para isso realizamos microinjeções bilaterais de VP no PVN e analisamos as alterações da atividade simpática do nervo lombar (ANSL) por meio do monitoramento dos biopotenciais eletrofisiológicos na preparação *in situ* de animal decorticado e artificialmente perfundido. Além disso, para investigarmos o papel da VP liberada endogenamente no PVN e seus efeitos na ANSL realizamos microinjeções bilaterais de antagonista de receptores vasopressinérgicos V1a no PVN de ratos submetidos a estímulo hiperosmótico com sobrecarga de sal durante 4 dias. Nossos resultados demonstraram que a VP microinjetada bilateralmente no PVN foi capaz de promover um aumento significativo na ANSL na dose de 1,0 mM (n=7) ($19 \pm 5\%$). Além disso, os efeitos sistêmicos da adição da mesma dose de VP no perfusato não alterou a ANSL. O antagonismo bilateral dos receptores V1a no PVN em animais submetidos à sobrecarga de sal promoveu uma queda significativa na ANSL, a qual não foi observada em animais normohidratados (n=4) ($-20 \pm 6\%$). O conjunto dos resultados nos permite afirmar que a VP agindo diretamente em neurônios do PVN é capaz de alterar a atividade simpática e, além disso, os receptores V1a deste núcleo desempenham um papel importante na hiperatividade simpática induzida por aumento da osmolaridade e isto pode ter um efeito direto com a hipertensão neurogênica causada por alta ingestão de sal.

Palavras-chave: Vasopressina. PVN. Sistema nervoso central. Hipertensão.

ABSTRACT

Ribeiro N. Role of vasopressin in the paraventricular hypothalamic nucleus on changes in sympathetic activity induced by hyperosmolality. [Masters thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

Among the different mechanisms that maintain the biological homeostasis, osmoregulation is one of the most important. In mammals, osmolarity should be maintained between very close physiological limits: in this way, a very rigid control system is responsible of the maintenance of this parameter. The osmolarity increase is an important hydroelectrolitic unbalance capable of affecting autonomic neurovegetative and neurohumoral functions. Diverse studies demonstrate that osmolarity increase is capable of causing simpatoexcitação and increase arterial pressure, being involved the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN) in this response. PVN is characterized as the main integrating center of the induced responses by osmotic stimulation. This nucleus is composed of two neuronal subpopulations, the parvocentular neurons (NPC) involved in sympathetic activity regulation and magnocellular neurons (NMC) that are projected to the posterior pituitary and are responsible of production and liberation of vasopressina (VP) peripherally and in the PVN neuronal microenvironment. Although the PVN involvement in the hemodynamic responses induced by the osmolarity increase is widely known, the mechanisms by which these responses are generated are still not understood. In this way, studies pointed a possible involvement of the VP in this process, through an neuromodulatory action over the PVN neurons involved with sympathetic activity control. In this way, the aim of this study was to investigate the role of the vasopressina, through its action in the PVN, over the alterations in the sympathetic activity induced by hiperosmolaridade. For this, bilateral VP microinjections were performed in the PVN and the sympathetic activity alterations in the lumbar simpatic nerve activity nerve (LSNA) were analyzed by monitoring the electro-physiological signs. In addition, to investigate the role of endogenously released VP in PVN and their effects on LSNA, vasopressinérgico V1a antagonist were microinjected into PVN of rats submitted to hyperosmotic stimulation with salt overload for 4 days. The results showed that bilateral micro injected VP in the PVN is able of alter significatevily the ANSL with the 1,0mM dose; also, the systemic effect of the VP addition into perfusate not seem to affect the ANSL, since its addition to the ACSF did not alter the variable. The bilateral block of the V1a receptors into PVN of animals subjected to osmotic stimulus showed a decrease in sympathetic activity not observed in normohydrated animals. Overall, the results allow to assert that the centrally released VP plays an important role in the development of the simpatoexcitation raised by increased osmolarity, through an action on the PVN neurons themselves.

Keywords: Vasopressin. PVN. Central Nervous System. Hypertension.

1 INTRODUÇÃO

A homeostase biológica é definida como a capacidade de um organismo regular seu meio interno mantendo uma condição estável mediante o recrutamento de diferentes mecanismos que permitem a eficiência de seu funcionamento (Cannon, 1932). Dentre os diferentes mecanismos que mantêm a homeostase, um dos principais é a regulação da quantidade de água e sais minerais no organismo, conhecida como osmorregulação. O aumento da osmolaridade é capaz de afetar funções neurovegetativas autônomas e neurohumorais que, por sua vez, são capazes de desencadear alterações em diversos parâmetros funcionais, dentre eles os níveis de pressão arterial.

1.1 Osmolaridade e sua regulação

Em um organismo composto por aproximadamente 70-75% de água, juntamente com diferentes eletrólitos, é de fundamental importância para o bom funcionamento celular a manutenção de um rígido equilíbrio hidroeletrolítico. A quantidade de partículas osmoticamente ativas, ou soluto, (eletrólitos, proteínas) dissolvidas em um determinado solvente é denominada osmolaridade. Nos mamíferos a osmolaridade deve ser mantida dentro de limites fisiológicos muito estreitos, entre 280–295 mOsmol/L, resultante da ingestão, absorção e excreção de água e eletrólitos.

A importância da manutenção da osmolaridade em seus níveis basais se deve a propriedades ligadas ao conceito osmose. A osmose caracteriza-se como o movimento de água, através de uma membrana semipermeável, entre meios com diferentes concentrações de soluto; sendo este movimento direcionado do meio de menor concentração de soluto (hipotônico) para o meio com maior concentração de soluto (hipertônico). As membranas celulares, que separam o meio intra do meio extracelular são membranas semipermeáveis, ou seja, permitem a livre movimentação de moléculas de água e retêm a passagem de soluto. Desta forma, segundo os princípios da osmose, se houver um aumento da osmolaridade plasmática, por aumento da concentração plasmática de soluto, a água contida no

interior das células tenderá a mover-se para o meio hipertônico extracelular, ocasionando a retração do volume celular; por outro lado, a diminuição da osmolaridade plasmática levaria ao movimento de água no sentido contrário, para dentro da célula, gerando aumento do volume celular. Tanto a retração quanto o aumento do volume celular são extremamente prejudiciais e afetam tanto a integridade como as funções celulares. Desta forma, a osmolaridade possui um refinado sistema de controle formado por receptores capazes de reconhecer rapidamente as alterações deste parâmetro e transmitir a informação a centros de controle neuronais responsáveis por gerar respostas que visam redirecioná-la a valores basais.

Uma das alterações da osmolaridade é a hiperosmolaridade; um desequilíbrio hidroelétrólítico no qual se observa elevação da osmolaridade decorrente da concentração aumentada de solutos no plasma. Este desequilíbrio pode ser resultado do déficit de água (por baixa ingestão ou perdas anormais) e/ou do aporte excessivo principalmente de sódio, visto ser este o principal íon envolvido na determinação da osmolaridade plasmática. Esta alteração é rapidamente detectada por células especializadas difusamente distribuídas denominadas osmorreceptores; estas estruturas localizam-se tanto periféricamente, quanto no sistema nervoso central (SNC) e são responsáveis por detectar a osmolaridade do plasma e do líquido cerebrospinal e gerar informações sobre o estado desta variável.

Os osmorreceptores periféricos encontram-se principalmente na região da veia porta hepática; estes receptores são capazes de reconhecer alterações da osmolaridade e enviar aferências ao SNC através, principalmente, do nervo vago (Adachi et al., 1976; Chwalbińska-Moneta, 1979; Xiong et al., 2011). Já os osmorreceptores centrais encontram-se muito próximos às paredes dos ventrículos cerebrais em locais desprovidos de barreira hematoencefálica, denominados órgãos circumventriculares (CVOs) (Bourque, Oliet, 1997; Kizer et al., 1976; Thrasher, 1985; Weindl, 1973). Assim, por estar em contato direto com o líquido cerebrospinal, os osmorreceptores centrais são capazes de detectar alterações da osmolaridade do mesmo. A transdução da informação do aumento da osmolaridade nos osmorreceptores é um processo mecânico no qual a retração do volume celular, ocasionado pela perda de água devido ao aumento da osmolaridade no líquido

cerebroespinal, gera a abertura de canais catiônicos, o que causa despolarização e excitação dos osmorreceptores, alterando seu padrão de disparos (Bourque, 2008). Os “sinais” gerados são então transmitidos para outros sítios do SNC; já sendo bem estabelecido na literatura científica que os CVOs mantêm conexões diretas com diferentes núcleos (Miselis, 1981; Simerly et al., 1988), dentre eles com o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN).

O PVN é uma importante região integradora da função autônoma e neuroendócrina desempenhando um papel fundamental na manutenção da homeostase dos fluidos corporais e sendo, juntamente com o núcleo supraóptico (SON), o local da síntese de vasopressina (VP) e oxitocina (OT). O PVN é composto por duas subpopulações de neurônios: os parvocelulares (NPC) e os magnocelulares (NMC). Os NPC apresentam corpos celulares menores quando comparados aos NMC e concentram-se na região medial do núcleo, mais próximos ao terceiro ventrículo (van den Pol, 1986); são responsáveis pela síntese de hormônios que incluem o hormônio liberador de tirotrófina (TRH) e o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (Ghamari-Langroudi et al., 2010; Lennard et al., 1993), os quais são transportados até a hipófise anterior, através das projeções dos NPC para esta glândula, de onde são liberados para a circulação sistêmica. Além disso, os NPC possuem projeções e fazem sinapse com neurônios simpatoexcitatórios pré-motores localizados no bulbo ventrolateral rostral (RVLM) e/ou neurônios do sistema nervoso simpático pré-ganglionares da coluna intermediolateral (CIML) da medula espinhal, duas importantes áreas de regulação da atividade simpática (Cechetto, Saper, 1998; Pyner, Coote, 1999; Stocker et al., 2004a). Já os NMC encontram-se, em sua maioria, distribuídos lateralmente no PVN, e possuem projeções para a hipófise posterior, ou neurohipófise, sendo responsáveis pela síntese e liberação de VP e OT tanto na circulação sistêmica bem como no próprio microambiente neuronal (Bergquist, Ludwig, 2008; Landgraf, Ludwig, 1991; Pow, Morris, 1989).

As alterações da osmolaridade plasmática detectadas pelos neurônios localizados nos CVOs estimulam os NMC do PVN responsáveis pela síntese e liberação da vasopressina. A VP liberada sistemicamente pela hipófise posterior, age nos receptores do subtipo V1 localizados no leito vascular causando

vasoconstrição, com conseqüente aumento da resistência periférica total e da pressão arterial. Além disso, a VP se liga a receptores renais do subtipo V2 acoplados à adenil ciclase via proteína G, aumentando os níveis intracelulares de AMPc, o que ativa a proteinocinase A e promove a inserção de vesículas contendo aquaporina 2 na membrana apical das células, aumentando a permeabilidade do ducto coletor à água e assim a reabsorção da mesma; visando restabelecer da osmolaridade em seus níveis basais. Além disso, nos rins a VP age também aumentando a permeabilidade da porção medular do ducto coletor à uréia e estimulando a reabsorção de NaCl pelo ramo ascendente espesso da alça de Henle.

Diversas situações são capazes de desestabilizar o equilíbrio hidroeletrólítico e gerar o aumento da osmolaridade. Em todas estas situações o balanço entre a quantidade de água e eletrólitos no organismo encontra-se afetado, com o aumento da concentração dos últimos. A diminuição do volume de água pode ser observada em várias ocasiões que incluem desde a própria privação hídrica, até perdas anormais como durante vômitos e diarreia ou mesmo em alterações renais que diminuam sua recaptção. O diabetes insipidus, por exemplo, é uma condição resultante da deficiência na produção de VP ou da falha de sua ação nos rins, o que leva a incapacidade de concentrar a urina com conseqüente desenvolvimento de urina hipotônica e aumento de volume de água excretado, levando ao desenvolvimento da hiperosmolaridade plasmática. Já o aumento do aporte de soluto na maioria das vezes se dá por sobrecarga de sal, por seu consumo em excesso; podendo também estar relacionado à retenção do mesmo.

1.2 Hiperosmolaridade e controle da pressão arterial

Está bem estabelecido na literatura científica que distúrbios na osmolaridade são capazes de afetar as funções do sistema nervoso autônomo (SNA). Neste sentido, diversos estudos demonstram uma estreita interação entre o aumento da osmolaridade e a elevação da pressão arterial, com o envolvimento do SNA nesta resposta (Bunag, Miyajima, 1984).

Em 1989 Garcia- Estan e seus colaboradores demonstraram que o aumento da pressão arterial causada pela infusão de salina hipertônica em ratos era apenas

parcialmente revertido pela administração sistêmica prévia do antagonista de receptores vasopressinergicos V1; no entanto, a administração prévia deste mesmo antagonista combinado ao antagonista ganglionar hexametônio abolia completamente a resposta pressora gerada pelo estímulo osmótico; apontando, desta forma, que a elevação da pressão arterial seria resultado não somente da vasoconstrição gerada pela VP liberada sistemicamente, como também apresentava um componente simpático associado. Ao encontro destas observações estão os achados de Antunes et al. (2006) que demonstraram, em ratos acordados, que a hipertensão causada pela infusão de salina hipertônica sistêmica foi atenuada pelo prévio antagonismo dos receptores alfa-1 adrenérgicos vasculares, indicando a participação ativa do sistema nervoso simpático na resposta pressora induzida por hiperosmolaridade.

Já o registro da atividade dos nervos simpáticos fornece evidências diretas da simpatoexcitação gerada pelo aumento da osmolaridade. O registro do nervo simpático lombar demonstra que a hiperosmolaridade é capaz de aumentar a atividade deste nervo em ratos submetidos a diferentes tipos de estímulo osmótico como a infusão sistêmica ou intravenosa de solução hiperosmótica ou mesmo a privação hídrica (Antunes et al., 2006; Scrogin et al., 1999; Weiss et al., 1996).

Embora se conheça os efeitos da hiperosmolaridade, o mecanismo pelo qual este desequilíbrio é capaz de afetar a atividade simpática e, conseqüentemente a pressão arterial, é uma questão que permanece pouco esclarecida. Neste sentido, algumas descobertas apontam o PVN como um importante núcleo envolvido neste processo.

1.3 O papel do PVN na simpatoexcitação induzida por hiperosmolaridade

Como discutido anteriormente, o PVN é um importante núcleo integrador da atividade neuroendócrina e autonômica. Desta forma, este núcleo desempenha um importante papel nas alterações geradas pelo aumento da osmolaridade com diversas evidências apontando seu envolvimento nas respostas simpáticas evocadas frente a este desequilíbrio.

O aumento da osmolaridade é capaz de ativar as células do PVN diretamente ou através dos osmorreceptores localizados nos CVOs. De fato, observa-se que a injeção intravenosa de salina hipertônica é capaz de gerar o aumento da expressão de Fos em neurônios do órgão vasculoso da lamina terminal (OVLT) e do núcleo subfornicial (SFO) que se projetam para o SON e PVN. Por outro lado, a remoção do SFO e do OVLT diminui a expressão Fos evocada no PVN em resposta ao estímulo hipertônico (Toney et al., 2003). Além disso, em adição a ativação sináptica, os NMC do PVN e SON possuem osmosensibilidade intrínseca (Bourque, 1998); já tendo sido demonstrado, através de técnicas de patch-clamp, que a estimulação direta dos NPC e NMC com salina hipertônica é capaz excitar diretamente e aumentar a frequência de disparos de potenciais de ação nestes neurônios (Chu et al., 2010; Qiu et al., 2004).

Uma vez ativados, os neurônios do PVN são capazes de desencadear tanto a liberação de VP, pelos NMC, quanto alterações da atividade simpática, através das projeções dos NPC. Diversos estudos demonstraram claramente o papel fundamental do PVN na simpatoexcitação induzida pelo aumento da osmolaridade. Observou-se que lesões do PVN são capazes de reduzir a resposta pressora evocada pela estimulação do SFO (Ferguson, Renaud, 1984; Gutman et al., 1985). Além disso, a inibição do PVN é capaz de diminuir significativamente o aumento da ANSL e da pressão arterial induzidos por estímulo hiperosmótico (Antunes et al., 2006; Stocker et al., 2004b).

As vias pelas quais o PVN é capaz de alterar a atividade simpática em situações de aumento da osmolaridade parecem envolver as projeções dos NPC para a CIML e o RVLM. Neste sentido, Stocker et al. (2004a) demonstraram que os NPC do PVN com projeções para a CIML e o RVLM, são ativados em resposta a hiperosmolaridade gerada por privação hídrica. Outros estudos demonstraram que a infusão de salina hipertônica intra-carótida gera o aumento do padrão de disparos dos NPC que se projetam para o RVLM (Toney et al., 2003). Já, Antunes et al. (2006), observaram que a simpatoexcitação induzida pelo aumento da osmolaridade depende, em parte, da liberação de VP, através de projeções hipotalâmicas, nos neuronios pré- ganglionares simpáticos da medula espinhal.

Tendo em vista a importância do PVN na regulação da atividade simpática, principalmente frente a alterações na osmolaridade, a integração entre diferentes neurotransmissores/neuromoduladores neste núcleo poderia contribuir para um controle muito refinado da atividade simpática. Neste sentido, evidências recentes indicam a VP como um possível neurotransmissor/neuromodulador envolvido neste controle durante aumento da osmolaridade.

1.4 Vasopressina como neuromodulador

A VP é um neuromodulador e um hormônio peptídeo formada por nove aminoácidos. É sintetizada nos NMC do PVN e do SON como uma molécula muito maior que inclui além do hormônio em si, sua proteína carreadora, neurofisina e uma glicoproteína; sendo seu gene estrutural atribuído ao cromossomo 20 (Riddell et al., 1985). Como hormônio a VP sintetizada é empacotada em vesículas neurosecretórias e então transportada através do axônio dos NMC até a hipófise posterior onde é armazenada ou diretamente secretada na corrente sanguínea. Além disso, a VP é também liberada no próprio microambiente neuronal através da exocitose de vesículas a partir dos dendritos dos NMC (Ludwig, Leng, 2006; Pow, Morris, 1989).

Assim como acontece em sua liberação sistêmica, o aumento da osmolaridade é um importante estímulo para a liberação central de VP (Landgraf, Ludwig, 1991; Ludwig et al., 1994). Embora ambas as liberações sejam desencadeadas pelo aumento da osmolaridade, o controle de cada uma delas parece ser diferenciado. Neste sentido, o estímulo osmótico sistêmico, através de infusão de salina hipertônica, é capaz de desencadear a liberação de VP tanto na circulação sanguínea quanto no SON; no entanto, observou-se que a liberação central apresenta um início muito mais tardio e prolongado quando comparada a liberação na corrente sanguínea (Ludwig et al., 1994).

A VP liberada centralmente é um neuropeptídeo; diferentemente dos neurotransmissores clássicos como GABA e glutamato, que são “empacotados” em pequenas vesículas sinápticas e apresentam uma rápida degradação; os neuropeptídeos são “empacotados” em vesículas maiores e apresentam uma meia-

vida longa, podendo se difundir para outros sítios distantes do local de sua liberação, não sendo limitados espacial ou temporalmente por rápida degradação; o que lhes confere a habilidade de modular a função de grupos neuronais inteiros (Ludwig, Leng, 2006).

No microambiente neuronal a VP age por meio da ativação de receptores metabotrópicos principalmente do subtipo V1a, os receptores vasopressinérgicos deste subtipo são os mais abundantes no cérebro, apresentando uma distribuição bastante difusa (Zing, 1996); contudo, a presença de receptores do subtipo V1b também tem sido descrita em várias estruturas como no, bulbo olfatório, no SON e no hipotálamo (Raggenbass, 2008; Vaccari, 1998). A ligação da VP aos receptores vasopressinérgicos desencadeia a ativação de diferentes vias intracelulares, como a via da fosfolipase C e da adenilato ciclase (Sabatier, 1998).

Uma das funções da liberação dendrítica dos neuropeptídeos parece ser a regulação da função de suas próprias células de origem numa espécie de feedback (Ludwig, Leng, 2006). De fato, a VP apresenta diversos efeitos sobre a atividade dos próprios NMC, sendo capaz de regular o padrão de disparos destas células (Brown, Bourque, 2004; Gouzènes et al., 1998). Além disso, neurônios vasopressinérgicos possuem receptores de VP e sua ativação induz a liberação dendrítica de mais VP (Ludwig, Leng, 2006). A VP possui ainda a capacidade de afetar a atividade de outros grupos neuronais causando, por exemplo, a despolarização de neurônios pré-ganglionares simpáticos da medula espinhal e excitação dos neurônios do RVLM (Ma, Dun, 1985; Yang et al., 2001)

Embora a liberação dendrítica de VP no PVN seja largamente conhecida, seu papel funcional sobre os neurônios deste núcleo ainda são pouco compreendidos. Sendo assim, a VP liberada centralmente poderia atuar sobre a atividade dos NPC do PVN e, conseqüentemente, desempenhar um papel sobre a modulação do controle autônomo. De fato, estudos recentes indicam que esta interação poderia ser um dos mecanismos envolvidos nas alterações do sistema nervoso simpático, geradas pelo PVN durante a hiperosmolaridade.

Um exemplo são os estudos conduzidos por Kato et al. (2009) que investigaram indiretamente, por meio da imunorreatividade da proteína Fos, a ativação neuronal em diferentes subdivisões do PVN frente a um estímulo osmótico

central antes e após o tratamento com antagonista de receptores vasopressinergicos V1. Estes autores demonstraram que após o pré- tratamento com antagonista V1, os NPC demonstraram maior reatividade à proteína Fos em resposta estímulo osmótico, enquanto nos NMC esta resposta foi diminuída; sugerindo assim que a VP poderia desempenhar um papel inibitório sobre os NPC e um papel excitatório sobre os NMC em situações de aumento da osmolaridade. Por outro lado, Son et al. (2013) demonstraram resultados opostos aos apresentados por Kato, visto estes autores observaram que a aplicação de VP em neurônios pré-simpático marcados retrogradamente do RVLM para o PVN, foi capaz de causar despolarização da membrana e aumento da frequência de disparos destes neurônios.

Dada a importância das alterações observadas como resultado do desequilíbrio da osmolaridade são grandes os esforços empreendidos no sentido de elucidar como a hiperosmolaridade pode afetar uma variável funcional tão importante como a pressão arterial. Os recentes indícios de que um possível papel da VP sobre a atividade dos NPC do PVN suscitou a questão se não seria este um dos mecanismos envolvidos nas alterações da atividade simpática, promovidas pelo PVN, durante o aumento da osmolaridade, que consequentemente afetariam a pressão arterial.

8 CONCLUSÃO

Os nossos resultados demonstram a relevância fisiológica da VP na modulação da atividade simpática, visto que sua própria liberação endógena estimulada pela sobrecarga de sal gerou um aumento sustentado da ANSL. Podemos concluir que a VP, possivelmente liberada dendriticamente no microambiente neuronal do PVN, exerça uma ação modulatória importante sobre neurônios parvocelulares deste núcleo, influenciando a manutenção do tônus simpático que se encontra alterado em condições de aumento da osmolaridade

REFERÊNCIAS*

- Adams KF Jr. Pathophysiologic role of the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure. *Am J Health Syst Pharm.* 2004;61(Suppl. 2):S4–13.
- Adachi A, Niiijima A, Jacobs HL. An hepatic osmoreceptor mechanism in the rat: electrophysiological and behavioral studies. *Am J Physiol.* 1976 Oct;231(4):1043-9.
- Antunes VR, Yao ST, Pickering AE, Murphy D, Paton JFR. A spinal vasopressinergic mechanism mediates hyperosmolality- induced sympathoexcitation. *J Physiol.* 2006; 576;2:569-83.
- Bergquist F, Ludwig M. Dendritic transmitter release: a comparison of two model systems. *J Neuroendocrinol.* 2008 Jun;20(6):677-86.
- Boudaba C, Linn DM, Halmos KC and Tasker JG. Increased tonic activation of presynaptic metabotropic glutamate receptors in the rat supraoptic nucleus following chronic dehydration. *J Physiol.* 2003;551(3):815–23.
- Bourque CW, Oliet SHR. Osmoreceptors in the central nervous system. *Annu Rev Physiol.* 1997;59:601–19.
- Bourque CW. Osmoregulation of vasopressin neurons: a synergy of intrinsic and synaptic processes. *Prog Brain Res.* 1998;119:59-76.
- Bourque CW. Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. *Nat Rev Neurosci.* 2008 Jul;9(7):519-31. doi: 10.1038/nrn2400. Epub 2008 May 29.
- Brooks VL, Haywood JR, Johnson AK. Translation of salt retention to central activation of the sympathetic nervous system in hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2005;32:426–32.
- Brown CH, Bourque CW. Autocrine feedback inhibition of plateau potentials terminates phasic bursts in magnocellular neurosecretory cells of the rat supraoptic nucleus. *J Physiol.* 2004 Jun; 15;557(Pt 3):949-60. Epub 2004 Apr 23.
- Bunag RD, Miyajima E. Sympathetic hyperactivity elevates blood pressure during acute cerebroventricular infusions of hypertonic salt in rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1984;6:844-51.
- Cannon WB. **The wisdom of the body.** New York: W.W. Norton & Company, Inc.; 1932.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Cechetto F, Saper CB. Neurochemical organization of the hypothalamic projection to the Spinal Cord in the rat. *J Comp Neurol*. 1998;272:579-604.

Chu CP, Kannan H, Qiu DL. Effect of hypertonic saline on rat hypothalamic paraventricular nucleus parvocellular neurons in vitro. *Neurosci Lett*. 2010 Sep 27;482(2):142-5.

Chwalbińska-Moneta J. Role of hepatic portal osmoreception in the control of ADH release. *Am J Physiol*. 1979 Jun;236(6):E603-9.

Di S, Tasker JG. Dehydration induced synaptic plasticity in magnocellular neurons of the hypothalamic supraoptic nucleus. *Endocrinology*. 2004 Nov;145(11):5141-9.

DiBona GF, Sawin LL. Role of renal nerves in sodium retention of cirrhosis and congestive heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1991;260:R298-R305

Ferguson AV, Renaud LP. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions decrease pressor responses to subfornical organ stimulation. *Brain Res*. 1984 Jul 9;305(2):361-4.

Garcia-Estan J, Carbonell LF, Garcia-Salom M, Salazar FJ, Quesada T. Hemodynamic effects of hypertonic saline in the conscious rat. *Life Sci*. 1989;44:1343-1350.

Ghamari-Langroudi M, Vella KR, Srisai D, Sugrue ML, Hollenberg AN, Cone RD. Regulation of thyrotropin-releasing hormone-expressing neurons in paraventricular of the hypothalamus by signals of adiposity. *Mol Endocrinol*. 2010 Dec;24(12):2366-81.

Gouzènes L, Desarménien MG, Hussy N, Richard P, Moos FC. Vasopressin regularizes the phasic firing pattern of rat hypothalamic magnocellular vasopressin neurons. *J Neurosci*. 1998 Mar;18(5):1879-85.

Gutman MB, Ciriello J, Mogenson GJ. Effect of paraventricular nucleus lesions on cardiovascular responses elicited by stimulation of the subfornical organ in the rat. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985 Jul;63(7):816-24.

Kato K, Kannan H, Ohta H, Kemuriyama T, Maruyama S, Tandai-Hiruma M, Sato Y, Nakazato M, Nishimori T, Ishida Y, Onaka T, Nishida Y. Central Endogenous Vasopressin Induced by Central Salt-Loading Participates in Body Fluid Homeostasis through Modulatory Effects on Neurons of the Paraventricular Nucleus in Conscious Rats. *J Comp Neuroendocrinol*. 2009;21:921-34.

Kim JS, Kim WB, Kim YB, Lee Y, Kim YS, Shen FY, Lee SW, Park D, Choi HJ, Hur J, Park JJ, Han HC, Colwell CS, Cho YW, Kim YI. Chronic hyperosmotic stress converts GABAergic inhibition into excitation in vasopressin and oxytocin neurons in the rat. *J Neurosci*. 2011 Sep;31(37):13312-22.

Kishi T, Hirooka Y, Sakai K, Shigematsu H, Shimokawa H, Takeshita A. Overexpression of eNOS in the RVLM causes hypotension and bradycardia via GABA release. *Hypertension*. 2001 Oct;38(4):896-901.

Kizer JS, Palkovits M, Brownstein MJ. Releasing factors in the circumventricular organs in the rat brain. *Endocrinol*. 1976;98(2):311-7.

Landgraf R, Ludwig M. Vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of the rat brain: osmotic stimulation via microdialysis. *Brain Res*. 1991 Sep 6;558(2):191-6.

Leng G, Brown CH, Bull PM, Brown D, Scullion S, Currie J, Blackburn-Munro RE, Feng J, Onaka T, Verbalis JG, Russell JA, Ludwig M. Responses of magnocellular neurons to osmotic stimulation involves coactivation of excitatory and inhibitory input: an experimental and theoretical analysis. *J Neurosci*. 2001 Sep 1;21(17):6967-77.

Lennard DE, Eckert WA, Merchenthaler I. Corticotropin-releasing hormone neurons in the paraventricular nucleus project to the external zone of the median eminence: a study combining retrograde labeling with immunocytochemistry. *J Neuroendocrinol*. 1993 Apr;5(2):175-81

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

Ludwig M, Callahan MF, Neumann I, Landgraf R, Morris M. Systemic osmotic stimulation increases vasopressin and oxytocin release within the supraoptic nucleus. *J Neuroendocrinol*. 1994 Aug;6(4):369-73.

Ludwig M, Leng G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat Rev Neurosci*. 2006 Feb;7(2):126-36.

Ma RC, Dun NJ. Vasopressin depolarizes lateral horn cells of the neonatal rat spinal cord in vitro. *Brain Res*. 1985 Nov 25;348(1):36-43.

Miselis RR. The efferent projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res*. 1981;230:1-23.

Perlmutter LS, Tweedle CD, Hatton GI. Neuronal/glia plasticity in the supraoptic dendritic zone in response to acute and chronic dehydration. *Brain Res*. 1985 Dec 30;361(1-2):225-32.

Pow CV, Morris JF. Dendrites of hypothalamic magnocellular neurons release neurohypophysial peptides by exocytosis. *Neuroscience*. 1989;32:435-9.

Pyner S, Coote JH. Identification of an efferent projection from the paraventricular nucleus of the hypothalamus terminating close to spinally projecting rostral ventrolateral medullary neurons. *Neuroscience*. 1999;88(3):949-57.

Qiu DL, Shirasaka T, Chu CP, Watanabe S, Yu NS, Katoh T, Kannan H. Effect of hypertonic saline on rat hypothalamic paraventricular nucleus magnocellular neurons in vitro. *Neurosci Lett*. 2004 Jan 23;355(1-2):117-20.

Raggenbass M. Overview of cellular electrophysiological actions of vasopressin. *Eur J Pharmacol*. 2008 Apr 7;583(2-3):243-54. doi:10.1016/j.ejphar.2007.11.074. Epub 2008 Jan 30.

Riddell, D. C., Mallonee, R., Phillips, J. A., Parks, J. S., Sexton, L. A., Hamerton, J. L. Chromosomal assignment of human sequences encoding arginine vasopressin-neurophysin II and growth hormone releasing factor. *Somat. Cell Molec. Genet*. 1985;11:189-95.

Rossi NF, Maliszewska-Scislo M. Role of paraventricular nucleus vasopressin V1A receptors in response to endothelin 1 activation of the subfornical organ in the rat. *J Physiol Pharmacol*. 2008 Dec;59 Suppl 8:47-59.

Sabatier N, Richard P, Dayanithi G. Activation of multiple intracellular transduction signals by vasopressin in vasopressin-sensitive neurones of the rat supraoptic nucleus. *J Physiol*. 1998 Dec 15;513(Pt 3):699-710.

Scrogin KE, Grygielko ET, Brooks VL. Osmolality: a physiological long-term regulator of lumbar sympathetic nerve activity and arterial pressure. *Am J Physiol*. 1999 Jun;276(6 Pt 2):R1579-86.

Simerly RB and Sawanson LW. Projections of the medial preoptic nucleus: a *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin anterograde tract tracing study in the rat. *J Comp Neurol*. 1988;270:209-42.

Son SJ, Filosa JA, Potapenko ES, Biancardi VC, Zheng H, Patel KP, Tobin VA, Ludwig M, Stern JE. Dendritic Peptide Release Mediates Interpopulation Crosstalk between Neurosecretory and Preautonomic Networks. *Neuron*. 2013 Jun 19;78(6):1036-49. doi: 10.1016/j.neuron.2013.04.025.

Stern JE, Ludwig M. NO inhibits supraoptico oxytocin and vasopressin neurons via activation of GABAergic synaptic inputs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Jun;280(6):R1815-22.

Stocker SD, Simmons JR, Stornetta RL, Toney GM, Guyenet PG. Water deprivation increases Fos immunoreactivity in PVN autonomic neurons with projections to the spinal cord and rostral ventrolateral medulla. *J Comp Neurol*. 2004a;494:673-85.

Stocker SD, Hunwick KJ, Toney GM. Hypothalamic paraventricular nucleus differentially supports lumbar and renal sympathetic outflow in water-deprived rats. *J Physiol*. 2005 Feb 15;563(Pt 1):249-63.

Thrasher TN. Circumventricular organs, thirst and vasopressin secretion. In: Schrier RW. *Vasopressin*. New York: Raven Press; 1985. p. 311.

Toney GM, Chen QH, Cato MJ, Stocker SD. Central osmotic regulation of sympathetic activity. *Acta Physiol Scand*. 2003 Jan;177(1):43-55.

Toney GM, Stocker SD. Hyperosmotic activation of CNS sympathetic drive: implications for cardiovascular disease. *J Physiol*. 2010 Sep 15;588(18):3375-84.

van den Pol AN. The magnocellular and parvocellular paraventricular nucleus of rat: intrinsic organization. *J Comp Neurol*. 1982 Apr 20;206(4):317-45.

Vaccari C, Lolait SJ, Ostrowski NL. Comparative distribution of vasopressin V1b and oxytocin receptor messenger ribonucleic acids in brain. *Endocrinology*. 1998 Dec;139(12):5015-33.

Xiong Y, Liu R, Xu Y, Duan L, Cao R, Tu L, Li Z, Zhao G, Rao Z. Effects of vagotomy, splanchnic nerve lesion, and fluorocitrate on the transmission of acute hyperosmotic stress signals to the supraoptic nucleus. *J Neurosci Res*. 2011 Feb;89(2):256-66.

Yang Z, Bertram D, Coote JH. The role of glutamate and vasopressin in the excitation of RVL neurones by paraventricular neurones. *Brain Res*. 2001 Jul 20;908(1):99-103.

Weinberger MH. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension*. 1996;27:481-90.

Weindl, A. Neuroendocrine aspects of circumventricular organs. *Front Neuroendoc*. 1973;3:3-32.

Weiss ML, Claassen TH, Kenney MJ. Nonuniform sympathetic nerve responses to intravenous hypertonic saline infusion. *J Auton Nerv System*. 1996;57:109-15.

Wotjak CT, Ludwig M, Landgraf R. Vasopressin facilitates its own release within the rat supraoptic nucleus in vivo. *Neuroreport*. 1994 Jun 2;5(10):1181-4.

Zingg HH. Vasopressin and oxytocin receptors. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1996 Jan;10(1):75-96.