

RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2 /IMIDAZÓLICOS NA INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO GABAÉRGICA DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL. Camila Ferreira Roncari, José Vanderlei Menani, Laurival Antonio de Luca Júnior, Débora Simões de Almeida Colombari, Patrícia Maria de Paula e Silas Pereira Barbosa. – Fisiologia – Farmácia-Bioquímica – Departamento de Fisiologia e Patologia – Faculdade de Odontologia – Campus de Araraquara.

A ingestão de água e sódio é regulada por mecanismos centrais excitatórios e inibitórios. Dentre os mecanismos excitatórios da ingestão de água e sódio, destaca-se o sistema renina-angiotensina. O principal peptídeo desse sistema, a angiotensina II (ANG II), estimula a ingestão de água e/ou sódio tanto por suas ações periféricas (controle da secreção de aldosterona) como pela ação direta em algumas áreas do cérebro como a região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V) e o órgão subfornical (OSF), que são as principais áreas do cérebro onde estão localizados os receptores para esse peptídeo (Simpson e Routtenberg, 1973; Brody e Johnson, 1980; Mangiapane e Simpson, 1980). A administração periférica ou intracerebroventricularmente (icv) de inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) diminui a ingestão de sódio em animais depletados deste íon (Moe e cols., 1984; Weisinger e cols., 1987; Weisinger e cols., 1996; Fitzsimons, 1998). Tanto o inibidor da ECA captopril ou losartan (antagonista de receptores AT_1) periféricamente como losartan ou PD123319 (antagonista de receptores AT_2) centralmente reduziram a ingestão de solução hipertônica de NaCl induzida por privação hídrica ou depleção de sódio, (Sato e cols., 1996 e dados recentes ainda não publicados do laboratório). Assim, verifica-se que a ANG II tem um importante papel na ingestão de sódio induzida por diferentes protocolos.

Importantes mecanismos inibitórios da ingestão de água e sódio foram recentemente descobertos no núcleo parabraquial lateral (NPBL), (Ohman e Johnson, 1989; Edwards e Johnson 1991; Menani e cols., 1995; Ohman e Johnson, 1995; Menani e cols., 1996; Menani e cols., 1998; Menani e Johnson, 1998; De Gobbi e cols., 2000; Menani e cols., 2000, Andrade e cols., 2004, Callera e cols., 2005, De Gobbi e cols., 2005). O NPBL é uma estrutura pontina que recebe projeções aferentes da área postrema (AP) e da porção medial do núcleo do trato solitário (NTSm) e que faz conexões com áreas prosencefálicas envolvidas no controle do balanço hidroeletrólítico, como núcleos específicos do hipotálamo e amígdala (Ciriello e cols., 1984; Herbert e cols., 1990; Krukoff e cols., 1993; Jhamandas e cols., 1996). Assim, um papel importante do NPBL seria integrar as informações ascendentes do NTSm e AP que, por sua vez, poderiam influenciar a atividade das áreas prosencefálicas envolvidas no controle do equilíbrio hidroeletrólítico. Lesões eletrolíticas ou químicas (ácido ibotênico) e injeção de lidocaína no NPBL aumentaram a ingestão de água induzida por injeção central ou periférica de ANG II, bem como por outros estímulos relacionados com a formação de ANG II, sugerindo um papel inibitório do NPBL sobre o controle da ingestão de água, (Ohman e Johnson, 1989; Edwards e cols., 1991; Menani e cols., 1995; Ohman e Johnson, 1995).

Enquanto os primeiros estudos mostraram que o bloqueio dos mecanismos inibitórios serotoninérgicos e colecistocinérgicos no NPBL aumentava a ingestão de água e sódio nas situações em que essas ingestões eram induzidas por tratamentos prévios (como por exemplo, depleção de sódio, furosemide + captopril, DOCA, administração de ANG II), estudos mais recentes de nosso laboratório demonstraram que a ativação de receptores GABA_A (com injeções bilaterais de muscimol) no NPBL induz intensa ingestão de água e NaCl 1,8% em ratos saciados, normalmente hidratados e sem nenhum tratamento prévio (Callera e cols., 2002; Callera e cols., 2005), sugerindo um envolvimento do aminoácido inibitório ácido γ -aminobutírico (GABA) no NPBL no controle da ingestão de sódio. Ou seja, parece que apenas a desativação dos mecanismos inibitórios do NPBL pela inibição dos neurônios do NPBL pela ativação de receptores gabaérgicos seria suficiente para induzir ingestão de água e sódio. Uma questão ainda sem resposta é como a inibição do NPBL com a ativação gabaérgica poderia estimular a ingestão de água e sódio.

Sabe-se também que a ingestão de água e de sódio induzida pelos mais diferentes tipos de estímulos até hoje testados é altamente influenciada por um mecanismo inibitório localizado em áreas prosencefálicas e que é ativado pelos receptores adrenérgicos α_2 . Esse mecanismo, ativado pela administração central ou periférica de moxonidina ou clonidina (agonistas de receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos), inibe a ingestão de água e/ou sódio induzida por diferentes protocolos experimentais, como privação hídrica de 24 h, infusão de salina hipertônica, estimulação angiotensinérgica ou colinérgica centrais, depleção de sódio, injeção icv de renina, injeção periférica de DOCA (Fregly e Kelleher, 1980; Fregly e cols., 1981; Fregly e cols., 1984a; Fregly e cols., 1984b; Ferrari e cols., 1990;

RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2 /IMIDAZÓLICOS NA INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO GABAÉRGICA DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL. Camila Ferreira Roncari, José Vanderlei Menani, Laurival Antonio de Luca Júnior, Débora Simões de Almeida Colombari, Patrícia Maria de Paula e Silas Pereira Barbosa. – Fisiologia – Farmácia-Bioquímica – Departamento de Fisiologia e Patologia – Faculdade de Odontologia – Campus de Araraquara.

Ferrari e cols., 1991; Callera e cols., 1993; Callera e cols., 1994; Yada e cols., 1997a; Yada e cols., 1997b; Menani e cols., 1999; Sugawara e cols., 1999; De Oliveira e cols., 2003, De Paula e cols., 1996; Sato e cols., 1996; De Luca e Menani, 1997). Portanto, uma questão interessante é saber se, a exemplo de outros modelos de ingestão de água e sódio, também a ingestão ativada a partir da ativação gabaérgica do NPBL seria ou não inibida pelo mecanismo adrenérgico α_2 . Assim, propomos se investigar os efeitos da injeção sc de clonidina na ingestão de água e NaCl 1,8% produzida pelas injeções bilaterais de muscimol no NPBL de ratos saciados e normohidratados.

Foram utilizados ratos Holtzman com peso em torno de 300 g, mantidos em gaiolas individuais. Utilizando a técnica de estereotaxia, os animais tiveram cânulas de aço inoxidável implantadas bilateralmente no NPBL, orientadas de acordo com as seguintes coordenadas: 9,4 mm caudal ao bregma, 2,1 mm lateral à linha mediana e 4,4 mm abaixo da dura-máter. Após a cirurgia cerebral, os animais receberam injeções de antibiótico e anti-inflamatório. As drogas utilizadas foram hidrobrometo de muscimol (0,5 nmol/0,2 μ l) e cloridrato de clonidina (80 μ g/kg de peso corporal), injetadas no NPBL e sc respectivamente. As drogas foram dissolvidas em salina que também foi usada como controle.

Foram utilizadas buretas graduadas contendo água e NaCl 1,8% para registro da ingestão de água e NaCl 1,8% em um período de 4 horas, iniciando-se imediatamente após as injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol/0,2 μ l) ou salina (sal) no NPBL. A clonidina (80 μ g/kg peso corporal) foi injetada sc 1 h após as injeções no NPBL. Durante o período de registro da ingestão de água e de NaCl 1,8%, os ratos não tiveram acesso à ração.

A injeção de muscimol no NPBL induziu ingestão de água (9.1 ± 3.1 ml/4 h, vs. sal: 2.3 ± 1.1 ml/4 h, $p < 0.05$). A clonidina sc aboliu a ingestão de e água (1.7 ± 0.7 ml/4 h, $p < 0.05$) induzida por injeções bilaterais de muscimol no NPBL (Fig. 1A). Da mesma maneira, quando se administra muscimol no NPBL ocorre uma indução da ingestão de NaCl 1,8% (20.4 ± 10.9 ml/4 h, vs. sal: 0.8 ± 0.4 ml/4 h) e essa indução é abolida pela injeção de clonidina sc (0.9 ± 0.8 ml/4 h – Fig. 1B).

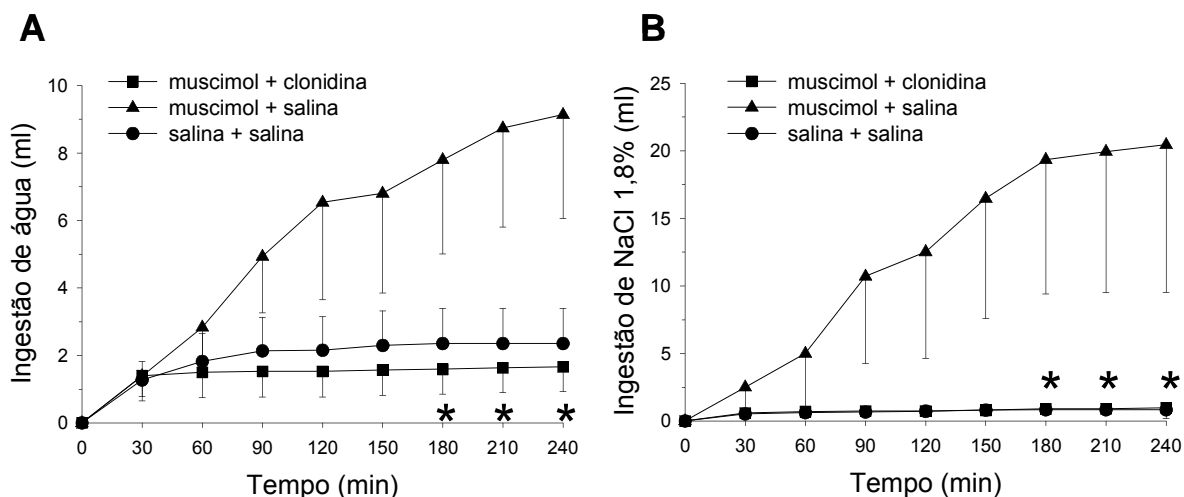


Fig 1. A) Ingestão de água e B) ingestão de NaCl 1,8% induzida por injeções bilaterais de muscimol (0,5 nmol) no NPBL em ratos previamente tratados com salina ou clonidina (80 μ g/kg peso corporal) sc. * diferente de muscimol + salina

Baseado nos resultados acima descritos, podemos dizer que os mecanismos ativados pelo muscimol no NPBL para induzir a ingestão de água e NaCl são inibidos pela ativação dos receptores adrenérgicos α_2 /imidazólicos, provavelmente localizados centralmente.

RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2 /IMIDAZÓLICOS NA INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO GABAÉRGICA DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL. Camila Ferreira Roncari, José Vanderlei Menani, Laurival Antonio de Luca Júnior, Débora Simões de Almeida Colombari, Patrícia Maria de Paula e Silas Pereira Barbosa. – Fisiologia – Farmácia-Bioquímica – Departamento de Fisiologia e Patologia – Faculdade de Odontologia – Campus de Araraquara.

Referências bibliográficas

- BRODY M. J. & JOHNSON A.K. Role of the anteroventral third ventricle region in fluid and electrolyte balance, arterial pressure regulation and hypertension. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*, edited by Martini, L. and Ganong, W.F. New York: Raven Press, p. 249-292, 1980.
- CALLERA, J. C., CAMARGO, L. A. A., DE LUCA JR., L. A., MENANI, J. V., RENZI, A. AND SAAD, W. A. Clonidine and phenylephrine injected into the lateral preoptic area reduce water intake in dehydrated rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46:39-43, 1993.
- CALLERA, J. C., OLIVEIRA, L. B., BARBOSA, S. P., COLOMBARI, D. S. A., DE LUCA JR., L. A., MENANI, J. V. GABA_A receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. *Neuroscience* 2005.
- CALLERA, J. C., SAAD, W. A., CAMARGO, L. A. A., RENZI, A., DE LUCA JR., L. A. AND MENANI, J. V. Role of the adrenergic pathways of the lateral hypothalamus on water intake and pressor response induced by cholinergic activation of the medial septal area in rats. *Neurosc. Lett.* 167: 153-155, 1994.
- CALLERA, J. C.; BARBOSA, S. P.; DE LUCA JR., L. A.; COLOMBARI, D. S. A., MENANI, J. V. Activation of GABA receptors in the lateral parabrachial nucleus induces sodium intake in rats. Abstract Viewer/Itinerary Planner Washington, DC: Society for Neuroscience, program no. 774.16, 2002.
- CIRIELLO, J., LAWRENCE, D. AND PITTMAN, Q. J. Electrophysiological identification of neurons in the parabrachial nucleus projecting directly to the hypothalamus in the rat. *Brain Res.* 322: 388-392, 1984.
- DE LUCA JR, L. A. AND MENANI, J. V. Multifactorial control of water and saline intake: role of α_2 -adrenoceptors. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30: 497-502, 1997.
- DE OLIVEIRA L. B., DE LUCA JR. L. A., AND MENANI J. V. (2003) Moxonidine and central α_2 adrenergic receptors in sodium intake. *Brain Res.* 993, 177-182.
- DE PAULA, P. M., SATO, M. A., MENANI, J. V. AND DE LUCA JR, L. A. Effects of central α -adrenergic agonists on hormone-induced 3% NaCl and water intake. *Neurosc. Lett.* 214: 155-158, 1996.
- EDWARDS, G. L., JOHNSON, A. K. Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. *Am. J. Physiol.* 261 R1039-R1044, 1991.
- FERRARI, A. C., CAMARGO, L. A. A., SAAD, W. A., RENZI, A., DE LUCA JR., L. A. AND MENANI, J. V. Role of α_1 - and α_2 -adrenoceptors of the lateral hypothalamus in the dipsogenic response to central angiotensin II in rats. *Brain Res.* 560: 291-296, 1991.
- FERRARI, A. C., CAMARGO, L. A. A., SAAD, W. A., RENZI, A., DE LUCA JR., L. A. AND MENANI, J. V. Clonidine and phenylephrine injected into the lateral hypothalamus inhibits water intake in rats. *Brain Res.* 522: 125-130, 1990.
- FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst and sodium appetite. *Physiological Reviews.* vol. 38, nº 3, pages 583-686, 1998.
- FREGLY, M. J. AND KELLEHER, D. L. Antidipsogenic effect of clonidine on isoproterenol induced water intake. *Appetite J.* 1:279-289, 1980.
- FREGLY, M. J., KELLEHER, D. L. AND GREENLEAF, J. E. Antidipsogenic effect of clonidine on angiotensin II, hypertonic saline, pilocarpine and dehydration-induced water intake. *Brain Res. Bull.* 7: 661-664, 1981.
- FREGLY, M. J., ROWLAND, N. E. AND GREENLEAF, J. E. A role for presynaptic α_2 -adrenoceptors in angiotensin II-induced drinking in rats. *Brain Res. Bull.* 12: 393-398, 1984a.
- FREGLY, M. J., ROWLAND, N. E. AND GREENLEAF, J. E. Clonidine antagonism of angiotensin-related drinking: a central site of action. *Brain Res.* 298: 321-327, 1984b.

RECEPTORES ADRENÉRGICOS α_2 /IMIDAZÓLICOS NA INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO INDUZIDA PELA ATIVAÇÃO GABAÉRGICA DO NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL. Camila Ferreira Roncari, José Vanderlei Menani, Laurival Antonio de Luca Júnior, Débora Simões de Almeida Colombari, Patrícia Maria de Paula e Silas Pereira Barbosa. – Fisiologia – Farmácia-Bioquímica – Departamento de Fisiologia e Patologia – Faculdade de Odontologia – Campus de Araraquara.

- HERBERT, H., MOGA, M. M. AND SAPER, C. B. Connections of parabrachial nucleus to the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 293, 540-580, 1990.
- JHAMANDAS, J. H., PETROV, T., HARRIS, K. H., VU, T. AND KRUKOFF, T. L. Parabrachial nucleus projection to the amygdala in the rat: electrophysiological and anatomical observations. *Brain Res. Bull.* 39: 115-126, 1996.
- KRUKOFF, T. L., HARRIS, K. H. AND JHAMANDAS, J. H. Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *Brain Res. Bull.* 30: 163-172, 1993.
- MANGIAPANE, M. L. AND SIMPSON, J. B. Subfornical organ: Forebrain site of pressor and dipsogenic action of angiotensin II. *Am. J. Physiol.*, 239: R382-R389, 1980.
- MENANI, J. V. AND JOHNSON, A. K. Serotonergic mechanism of the lateral parabrachial nucleus: angiotensin-induced pressor and drinking response. *Am. J. Physiol.*, 269: R1044-R1049, 1995.
- MENANI, J. V., SATO, M. A., HAIKEL, L., VIEIRA, A. A., ANDRADE, C. A. F., DA SILVA, D. C. F., RENZI, A. AND DE LUCA JR., L. A. Central moxonidine on water and NaCl intake. *Brain Res. Bull.*, 49, pp. 273-279, 1999.
- MOE, K. E., WEISS, M. L. AND EPSTEIN, A. N. Sodium appetite during captopril blockade of endogenous angiotensin II formation. *Am. J. Physiol.* 247: R356-R365, 1984.
- OHMAN, L. E., JOHNSON, A. K. Brain stem mechanisms and the inhibition of angiotensin-induced drinking. *Am. J. Physiol.* 256: R264-R269, 1989.
- OHMAN, L. E., JOHNSON, A. K. Role of the lateral parabrachial nucleus in the inhibition of water intake induced by right atrial stretch. *Brain Res.* 695:275-278, 1995.
- SATO, M. A., YADA, M. M., RENZI, A., CAMARGO, L. A. A., SAAD, W. A., MENANI, J. V. AND DE LUCA JR, L. A. Antagonism of clonidine injected intracerebroventricularly in different models of salt intake. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29:1663-1666, 1996.
- SIMPSON, J. B. AND ROUETTENBERG, A. Subfornical organ: Site of drinking elicitation by angiotensin. *Science.* 181:1172-1175, 1973.
- SUGAWARA, A. M., MIGUEL, T. T., DE OLIVEIRA, L. B., MENANI, J. V. AND DE LUCA JR., L. A. Noradrenaline and mixed α_2 adrenoreceptor/imidazoline-receptor ligands: effects on sodium intake. *Brain Res.*, 839, 227-234, 1999.
- WEISINGER, R. S., BLAIR-WEST, J. R., BURNS, P., DENTON, D. A., MCKINLEY, M. J. AND TARJAN, E. The role of angiotensin II in ingestive behaviour: A brief review of angiotensin II, thirst and Na appetite. *Regulatory Peptides.* 66:73-81, 1996.
- WEISINGER, R. S., DENTON, D. A., DI NICOLARTONIO, R., MCKINLEY, M. J., MULLER, A. F. AND TARJAN, E. Role of angiotensin in sodium appetite of sodium-depleted sheep. *Am. J. Physiol (Regul. Integr. Comp. Physiol.)* 22. 253:R482-R488, 1987.
- YADA, M. M., DE PAULA, P. M., MENANI, J. V. AND DE LUCA JR, L. A. Central α -adrenergic agonists and need-induced 3% NaCl and water intake. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 57, 137-143, 1997b.
- YADA, M. M., DE PAULA, P. M., MENANI, J. V., RENZI, A., CAMARGO, L. A. A., SAAD, W. A. AND DE LUCA JR, L. A. Receptor-mediated effects of clonidine on need-induced 3% NaCl and water intake. *Brain Res. Bull.* 42: 205-209, 1997a.