



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO DO PAPEL DOS RECEPTORES 5-HT<sub>3</sub> NA ÁREA SEPTAL MEDIAL (ASM)  
SOBRE A PRESSÃO SANGUÍNEA EM RATOS ESTRESSADOS E NÃO  
ESTRESSADOS E A INTERAÇÃO COM AS VIAS COLINÉRGICAS MUSCARÍNICAS.

LUANA BOMFIM PEREIRA

TCC apresentado ao Instituto de Biologia  
da Universidade Federal Bahia  
como exigência para obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Salvador, Ba

(2012)

Data da Defesa: 06 de Julho de 2012.

**Banca Examinadora**

---

**Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze (Orientadora)**  
**Departamento de Bio-Regulação**  
**Universidade Federal da Bahia**

---

**Dra. Darizy Flávia Vasconcelos**  
**Departamento de Bio-Regulação**  
**Universidade Federal da Bahia**

---

**Dra. Rejane Conceição Santana**  
**Departamento de Bio-Regulação**  
**Universidade Federal da Bahia**

## RESUMO

A regulação cardiovascular está diretamente relacionada à homeostasia. Diversas áreas cerebrais prosencefálicas, mesencefálicas e romboencefálicas estão relacionadas à regulação cardiovascular. A área septal medial (ASM) é parte integrante do sistema límbico e está diretamente relacionada ao controle da pressão sanguínea. Os receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>3</sub> localizados na ASM tem mostrado importante papel no controle da ingestão de sódio e água, além de participar de mecanismos comportamentais e cognitivos, sendo a influência sobre a regulação da pressão sanguínea ainda não suficientemente esclarecida. Há evidências de que os receptores serotoninérgicos modulam a liberação dos receptores colinérgicos muscarínicos, mas a maior parte destes estudos refere-se ao papel destes receptores na memória e em doenças neurodegenerativas. Assim, o objetivo do presente trabalho foi investigar o papel desempenhado pelos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> na área septal medial (ASM) sobre a pressão sanguínea em ratos estressados e não estressados e a interação com as vias colinérgicas muscarínicas centrais. Ratos Wistar adultos (280-300g) foram anestesiados com Cetamina/xilazina (80/11,5mg/Kg; i.p) para implante de cânula na ASM. Quatro dias após a cirurgia central os animais foram anestesiados e submetidos a outro procedimento cirúrgico para implante de cateter na artéria carótida esquerda. Após 24 horas da cateterização carotídea, foram realizadas as sessões experimentais e diferentes grupos de animais receberam microinjeções, na ASM, de m-CPBG [1-(3-Clorofenilbiguanidina)] (160 nmol/0,2µl), ondansetrona (160 nmol/0,2µl), atropina (2,5 e 5,0 nmol/0,2µl) e salina. As injeções foram combinadas de diferentes maneiras em cada protocolo experimental, sendo administradas após 30 minutos de registro da pressão sanguínea basal. A pressão arterial foi monitorada continuamente por 2 horas. Após os experimentos os animais foram eutanaziados e o cérebro removido para processamento histológico. Apenas os dados dos animais cuja cânula estava no ASM foram considerados. Para análise dos dados utilizou-se ANOVA "Two-Way", seguido do pós-teste de Bonferroni, ( $p < 0.05$ ). A administração de ondansetrona na ASM gera aumento da pressão arterial, enquanto o bloqueio dos receptores colinérgicos impede a resposta hipertensiva induzida pela ondansetrona. Além disso, a administração de m-CPBG na ASM impede as respostas cardiovasculares induzidas pelo estresse.

Palavras-Chave: Área Septal Medial, receptores 5-HT<sub>3</sub>, receptores colinérgicos.

## ABSTRACT

The cardiovascular regulation is directly related to homeostasis. Several areas in forebrain, midbrain and hindbrain are related to cardiovascular regulation. The Medial Septal Area (MSA) is part of the limbic system and is related to blood pressure control. The serotonergic receptors 5-HT<sub>3</sub> located in the MSA seems to participate in the control of sodium and water intake, however the participate on blood pressure regulation has not sufficiently clarified. There is evidence of interaction between serotonergic receptors and muscarinic cholinergic receptors, but most of these studies relate to the role of these receptors in memory and neurodegenerative diseases. The aim of this study was to investigate the role of the serotonergic 5-HT<sub>3</sub> receptors in the MSA on blood pressure in stressed and unstressed rats and interaction with the central muscarinic cholinergic pathways. Male Wistar rats (280-300g) were anesthetized with ketamine/xylazine (80/11, 5mg/kg; ip) for implantation of the cannula into MSA. Four days after the brain surgery the animals were anesthetized and received the implant of a catheter in the left carotid artery. After 24 hours of the carotid catheterization, the experimental sessions were conducted and animals received microinjection into MSA of m-CPBG [1-(3-Clorophenylbiguanide)] (160 nmol / 0.2 µl), ondansetron (160 nmol / 0.2 µl), atropine (2.5 and 5.0 nmol / 0.2 µl) and saline. The injections were performed after 30 minutes of baseline blood pressure recording. Blood pressure was monitored continuously for 2 hours. After the experiments the animals were euthanized and brains removed for histological processing. Only data from animals whose cannula was in the ASM were considered. For data analysis we used ANOVA "Two-Way", followed by Bonferroni post-test ( $p < 0.05$ ). The use of ondansetron in MSA causes an increase in blood pressure, while blocking the cholinergic receptors prevents the hypertensive response to ondansetron. Furthermore, administration of m-CPBG into MSA prevents cardiovascular responses induced by stress.

Keywords: Medial Septal Area, 5-HT<sub>3</sub> receptors, cholinergic receptors.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze, Professora Titular de Fisiologia e chefe do Laboratório de Neurociências – ICS – UFBA, pela oportunidade de trabalhar na apaixonante área da Fisiologia, pela brilhante orientação e pela postura profissional e humanista que contribuem na minha contínua formação acadêmica e pessoal.

À José de Souza, bioterista do Laboratório de Neurociências, pelo carisma, ensinamentos e grande apoio técnico.

Aos professores, mestres e doutores do Laboratório de Neurociências pela participação especial na construção do meu conhecimento prático e teórico, em especial, à Hilda Ferreira, Lilia Simone e Rejane Santana pela credibilidade e amizade.

Aos pós-graduandos do Laboratório de Neurociências pela atenção, em especial, à Átila Batista e Daniela Almeida pelo acompanhamento, confiança e amizade.

Aos professores da graduação pela grande sabedoria, em especial, à Iara Bravo, pela oportunidade dada na fase inicial da faculdade, e ao Ronaldo Jacobina, pelos ensinamentos e acolhimento na ACC MED-459 que me rendeu experiências inestimáveis.

Aos meus colegas de iniciação científica pela parceria e agradável convivência.

Aos meus colegas de faculdade pela força nas situações de dificuldade e pela confiança na minha vitória, em especial, à Lúcia Moura, Naiara Nascimento, Shirley Oliveira, Diógenes Gomes e Vanderson Costa pela participação em momentos bastante especiais da minha vida acadêmica.

Aos meus amigos pela cumplicidade, em especial à Aparecida Dourado, Camila Magalhães e Gabriela Noronha pela atenção, companhia e grande amizade.

À minha família pela confiança e torcida, em especial, à meus avós Alair e Enick pelas orações e grande ternura.

À minha mãe Aparecida e ao meu pai Aquiles pela minha vida, pela extrema dedicação, pela abdicação de seus sonhos para a realização dos meus, pelo apoio incondicional e grande amor. Agradeço também aos meus queridos irmãos Luan e Lucas, pelo afeto, paciência e grande amizade.

Ao meu namorado Maicon Lopes pelo carinho, amizade e paciência durante todo este tempo e por toda a distância que nos separa.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais,  
Aparecida e Aquiles, por todo amor,  
dedicação e apoio.

## ÍNDICE

RESUMO	
ABSTRACT	
AGRADECIMENTOS.....	i
DEDICATÓRIA.....	ii
ÍNDICE.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	2
2.2. REGULAÇÃO DO SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	3
2.2.A) MECANISMO DE REGULAÇÃO A CURTO PRAZO.....	3
2.2.B) MECANISMO DE REGULAÇÃO A LONGO PRAZO.....	7
2.3. ÁREAS CEREBRAIS ENVOLVIDAS COM O CONTROLE CARDIOVASCULAR.....	11
2.4. VIAS SEROTONINÉRGICAS E O CONTROLE CARDIOVASCULAR.....	12
3. OBJETIVOS e HIPÓTESES .....	20
4. METODOLOGIA.....	21
ANIMAIS.....	21
PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS.....	21
DROGAS E MICROINJEÇÕES.....	22
REGISTRO DA PRESSÃO SANGUÍNEA.....	22
ESTRESSE DE RESTRIÇÃO.....	23
DESCRIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	23
PROCEDIMENTOS HISTOLÓGICOS.....	25
ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	26
5. RESULTADOS.....	27
6. DISCUSSÃO.....	36
7. CONCLUSÕES.....	41
8. RECOMENDAÇÕES .....	42
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A sobrevivência dos organismos depende do mecanismo da homeostase pela qual se mantém o equilíbrio dinâmico do meio interno e garante que as alterações externas não prejudiquem as condições internas. O “meio interno” é um ambiente rico em íons e nutrientes que apresenta as condições essenciais para a vida e para o funcionamento das células (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

O sistema cardiovascular garante o transporte de substâncias vitais para o organismo e está diretamente relacionado à homeostase. A pressão arterial precisa ser regulada constantemente para garantir o fluxo de sangue adequado às demandas metabólicas e fisiológicas do organismo e evitar demandas desnecessárias em circunstâncias adversas. A regulação do sistema cardiovascular ocorre em nível central e periférico. Diversas áreas centrais, prosencefálicas, mesencefálicas e romboencefálicas, estão envolvidas na regulação da pressão sanguínea e desempenham papel fundamental nas repostas cardiovasculares a perturbações como o estresse fisiológico, físico e mental. As áreas do sistema límbico são responsáveis pelas respostas emocionais e comportamentais do organismo e também apresentam papel na regulação cardiovascular e equilíbrio hidro-eletrolítico, desempenhando papel relevante para a homeostasia (SAAD, 2004).

As vias de neurotransmissão também participam ativamente da regulação cardiovascular. As vias serotoninérgicas regulam as respostas cardiovasculares, mais especificamente através dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub>, mas o papel da serotonina ainda não está satisfatoriamente esclarecido (RAMAGE, 2001; KUHN, 1980). Além das vias serotoninérgicas, as vias colinérgicas parecem desempenhar papel fundamental na regulação cardiovascular e no balanço hidro-eletrolítico (PAULIN, 2009; BARBOSA, 1995; HAIBARA, 1992). Dados do Laboratório de Neurociências (ICS – Universidade Federal da Bahia) e da literatura tem mostrado que os receptores 5-HT<sub>3</sub> desempenham papel relevante na regulação cardiovascular (HUO, 2012; URZEDO-RODRIGUES, 2011; FREGONEZE, 2011; FERREIRA, 2004) e a compreensão da interação entre as vias serotoninérgicas e colinérgicas vêm sendo alvo de interesse científico, principalmente nas respostas cognitivas, e a interação destas vias no controle cardiovascular necessita de esclarecimentos (FINK, 2007, PAULIN, 2007; DIEZ-ARIZA, 2002; HELLWEG, 2001; DIEZ-ARIZA, 1998; RAMIREZ, 1996).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Sistema Cardiovascular

O sistema cardiovascular tem papel fundamental na homeostase por realizar o transporte das substâncias por todo o corpo e, assim, permitir a manutenção e regulação do líquido extracelular que atende às demandas celulares. A regulação da composição do líquido extracelular depende da passagem de sangue através dos capilares e das trocas com o tecido suprindo as necessidades metabólicas e removendo os resíduos do metabolismo local (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). O sistema circulatório é formado pelo coração (“bomba propulsora”), os vasos sanguíneos (responsáveis pelo direcionamento e distribuição do sangue) e o sangue (meio rico em nutrientes, gases, eletrólitos, hormônios e resíduos), sendo imprescindível para a sobrevivência das células (SHERWOOD, 2011).

De acordo com os princípios físicos da hemodinâmica, os fatores determinantes do fluxo sanguíneo são a diferença de pressão entre dois pontos do sistema vascular e a resistência vascular. A pressão sanguínea média nas artérias sistêmicas é de 100mmHg e no átrio direito, aproximadamente, 0mmHg, sendo o sangue direcionado da região de mais alta pressão para a de mais baixa pressão. A estrutura da parede vascular com maior complacência venosa do que arterial garante a alta pressão do sistema arterial em relação ao sistema venoso e, assim, permite o fluxo sanguíneo pelos vasos. O fluxo sanguíneo para cada tecido geralmente está relacionada às necessidades metabólicas deste tecido e é regulada localmente (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). O sistema vascular está estruturado de maneira a garantir a regulação constante do fluxo de sangue. As artérias recebem grande quantidade de sangue a alta pressão e apresentam alta resistência ao fluxo sanguíneo. As arteríolas regulam a perfusão sanguínea a nível tecidual através de mecanismos neurais e metabólitos locais que alteram a resistência vascular e, portanto, o fluxo de sangue. As veias direcionam o sangue para o coração e a quantidade de sangue que chega a esse órgão é bombeada. De acordo com a lei de Frank-Starling, alterações no retorno venoso alteram o débito cardíaco, que por sua vez, influencia a pressão arterial (MOHRMAN, 2007).

## **2.2. Regulação do Sistema Cardiovascular**

A regulação cardiovascular é realizada principalmente por alterações na resistência vascular periférica e no débito cardíaco (LIGHTMAN, 1986; MOHRMAN, 2007). A quantidade de sangue adequada para atender as necessidades metabólicas dos órgãos e tecidos deve ser mantida, enquanto a pressão arterial é controlada (LIGHTMAN, 1986). As alterações realizadas em segundos ou minutos caracterizam o mecanismo de regulação da pressão arterial à curto prazo. Este envolve o reflexo dos barorreceptores e a atividade dos nervos autônomos simpáticos e parassimpáticos. Em um maior período de tempo (minutos, dias ou meses), alterações no volume total de líquido, incluindo o volume sanguíneo, e, por consequência, no débito cardíaco, determinam a regulação à longo prazo da pressão arterial (MOHRMAN, 2007).

### **2.2.A) Mecanismo de Regulação a Curto Prazo**

A regulação da pressão arterial a curto prazo está relacionada à atividade dos barorreceptores arteriais, receptores sensoriais que respondem ao estiramento da parede arterial. De acordo com MOHRMAN, 2007, o reflexo barorreceptor arterial é formado por duas alças: a sensorial (barorreceptores arteriais, fibras aferentes, centros bulbares cardiovasculares) e a efetora (eferências simpáticas e parassimpáticas, coração e vasos sanguíneos periféricos). Estas alças, em circuito fechado, interagem até atingir um equilíbrio entre a pressão arterial média e a atividade simpática que seja adequado a homeostasia (MOHRMAN, 2007; LIGHTMAN, 1986). Este mecanismo de regulação a curto prazo está esquematizado na Figura 1, destacando-se alguns de seus constituintes (centros cardiovasculares, órgãos efetores e fibras aferentes e eferentes).

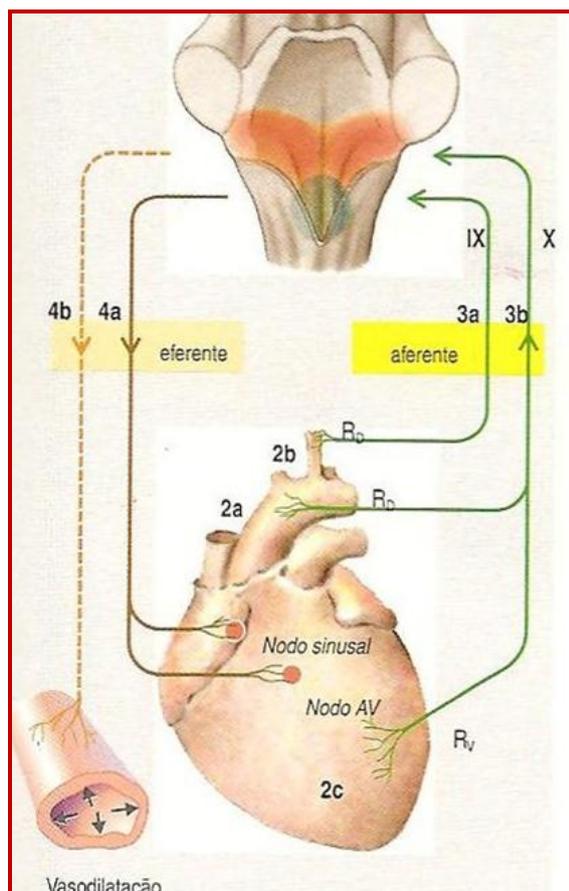


Figura 1: Mecanismo de regulação cardiovascular a curto prazo representado pelas principais aferências e eferências, o centro de controle cardiovascular e os órgãos efetores (coração e vasos sanguíneos). 1. Estímulo: Elevação da pressão arterial (não representado); 2. Mecanorreceptor a) Aorta b) Artérias Carótidas c) Ventrículo Esquerdo; 3. Aferência a) Nervo Glossofaríngeo (IX nervo craniano) b) Nervo Vago (X nervo craniano); 4. Eferência a) Estimulação do Sistema Parassimpático → Vasodilatação → Redução da resistência periférica b) Inibição do Sistema Simpático → Bradicardia → Redução do débito cardíaco; 5. Resultado: Queda da pressão arterial (não representado) (modificado de SILBERNAGL, 2003).

Os barorreceptores arteriais mais importantes estão localizados nas paredes da aorta, próximo ao arco aórtico (barorreceptores aórticos), e no seio carotídeo (barorreceptores do seio carotídeo) (LIGHTMAN, 1986). Os barorreceptores arteriais fornecem a maior parte dos impulsos para o centro de controle cardiovascular. Em situações normais, os barorreceptores quando ativados enviam impulsos para o sistema nervoso central, mantendo um tônus basal de atividade simpática. A pressão arterial elevada determina maior grau de estiramento das artérias estimulando os barorreceptores, que enviam um maior número de impulsos aferentes para o centro de controle cardiovascular e há redução da atividade simpática (MOHRMAN, 2007; LIGHTMAN, 1986).

Os impulsos aferentes provenientes dos barorreceptores do seio carotídeo são enviados para o sistema nervoso central pelo nervo glossofaríngeo (IX nervo craniano),

enquanto os impulsos dos barorreceptores aórticos são enviados pelo nervo vago (X nervo craniano). Há também aferências da medula espinhal, viscerais e somáticas, incluindo as aferências de receptores mecânicos nas articulações e no músculo esquelético, que chegam ao centro cardiovascular (LIGHTMAN, 1986). As aferências ao sistema nervoso central terminam no núcleo do trato solitário (NTS). Deste núcleo partem projeções para diversas áreas centrais que atuam na regulação cardiovascular. Os mecanismos centrais que estão relacionados com o controle cardiovascular ainda não foram completamente esclarecidos (MOHRMAN, 2007; LIGHTMAN, 1986) e as áreas envolvidas com a regulação cardiovascular, presentes na literatura, serão discutidas mais a diante.

As vias eferentes para os órgãos efetores consistem em impulsos autonômicos simpáticos e parassimpáticos e endócrinos (LIGHTMAN, 1986). As fibras pré-ganglionares parassimpáticas partem do núcleo ambíguo (NA) e do núcleo dorsomotor do vago e terminam em gânglios periféricos, dos quais partem fibras pós-ganglionares para inervar o coração. As fibras eferentes simpáticas partem dos neurônios rostro-ventrolaterais bulbares (RVLM) e fibras pré-ganglionares saem da coluna intermediolateral (IML) na medula espinhal e se direcionam para a cadeia ganglionar paravertebral e as fibras pós-ganglionares vão inervar o coração e os vasos sanguíneos (MOHRMAN, 2007; LIGHTMAN, 1986). A maior atividade do nervo simpático sobre o coração determina maior força de contração do miocárdio e aumento da frequência cardíaca, que levam ao aumento do débito cardíaco; nos vasos arteriais o sistema simpático promove vasoconstrição, estes fatores resultam em aumento da pressão arterial. Por outro lado, a estimulação parassimpática leva à redução da frequência cardíaca resultando em redução do débito cardíaco e da pressão arterial. A estimulação dos barorreceptores arteriais, pela pressão arterial aumentada, gera uma resposta bradicárdica e hipotensiva mediada pela elevação da descarga eferente vagal e a redução do impulso simpático eferente. Além disso, a ativação dos barorreceptores pode diminuir a secreção de vasopressina e renina e, assim, diminuir a vasoconstrição. Nota-se que este sistema atua de maneira de retroalimentação (feedback) negativa desde que o aumento da pressão arterial leva a inibição simpática em ordem para regularizar a pressão arterial (LIGHTMAN, 1986; MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). A figura 2 apresenta um esquema detalhado da regulação da pressão sanguínea a curto prazo.

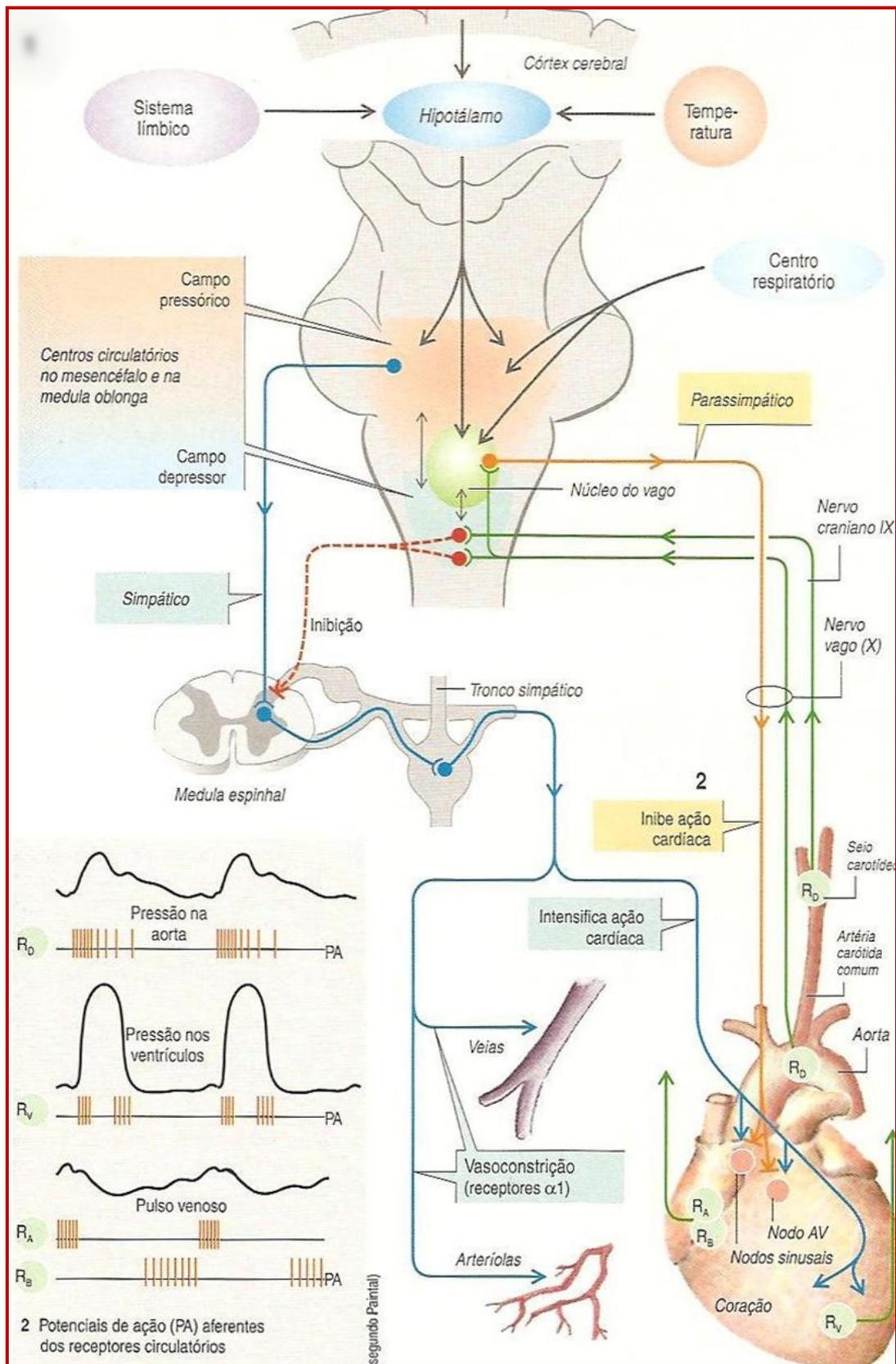


Figura 2: Mecanismo de regulação cardiovascular a curto prazo representado por barorreceptores arteriais, aferências para o centro de controle cardiovascular, integração das informações corticais, límbicas e hipotalâmicas, principais eferências e os órgãos efetores (coração e vasos sanguíneos) (SILBERNAGL, 2003).

## 2.2.B) Mecanismo de Regulação a Longo Prazo

A regulação da pressão arterial a longo prazo está relacionada a alterações no volume de líquido efetivo circulante, de maneira que o aumento na pressão arterial leva ao aumento do débito urinário que, por sua vez, reduz o volume de líquido circulante e, por consequência, reduz a pressão arterial (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). A ingestão e eliminação de líquidos devem ser exatamente balanceadas e a existência de qualquer desigualdade entre a quantidade de líquido ingerido e a taxa de débito urinário determina modificações no volume de líquido corporal. O volume de líquido extracelular influencia a pressão arterial e é determinado principalmente pelo equilíbrio entre a entrada e a saída de sódio e água do organismo. Os rins são responsáveis pela regulação deste volume extracelular, determinando alterações que adaptam as taxas de ingestão dessas substâncias às taxas de excreção (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

A regulação da pressão arterial a partir do mecanismo de volume de líquidos está diretamente relacionada à liberação de hormônios que atuam à nível periférico e central. Tais hormônios determinam maiores ou menores taxas de débito urinário a partir do transporte de substâncias entre as células da parede e do lúmen dos túbulos renais e das forças osmóticas resultantes (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

A aldosterona, produzida pelas glândulas supra-renais, é um dos hormônios que influenciam neste sistema sendo responsável pela taxa de reabsorção de sódio e pela excreção de potássio. A liberação de aldosterona é regulada pela ação de outro hormônio, a angiotensina II que, por sua vez, tem sua concentração no plasma determinada pela concentração de renina plasmática (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). A taxa de renina liberada pelo aparelho justaglomerular dos rins é influenciada por fatores como a atividade dos nervos simpáticos na macula densa, redução na concentração de sódio plasmático e redução na pressão arterial (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006). A renina é responsável pela catalização enzimática do angiotensinogênio em angiotensina I (decapeptídeo inativo) que é rapidamente convertida em angiotensina II pelas enzimas conversoras de angiotensina (ECA) localizadas em maior quantidade nas células endoteliais dos pulmões. Este sistema de regulação neuro-endócrino é denominado sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

Além do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), outros hormônios, como o peptídeo natriurético atrial (PNA), participam da regulação da pressão arterial pelo mecanismo de volume de líquidos. Este peptídeo é estimulado pela distensão da parede do átrio, que está relacionada ao aumento do volume de sangue. O PNA é liberado pelas fibras da musculatura atrial e age sobre os rins, determinando pequeno aumento na taxa de filtração glomerular (TFG) e redução na reabsorção de sódio pelos ductos coletores, aumentando o débito urinário (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

A taxa de débito urinário também é influenciada pela vasopressina (hormônio antidiurético – ADH). A produção de vasopressina ocorre nos núcleos paraventricular (PVN) e supraótico (SON) do hipotálamo e é armazenada na hipófise anterior e desta parte para a circulação. Este hormônio é estimulado por fatores como o aumento da osmolaridade e volume plasmáticos e a redução da atividade dos barorreceptores cardiopulmonares e arteriais. A vasopressina atua reduzindo a taxa de débito urinário toda vez que a pressão arterial e/ou o volume total de sangue estiverem abaixo do normal (MOHRMAN, 2007). A vasopressina regula a permeabilidade dos ductos coletores renais a partir da exposição das aquaporinas na membrana luminal desta região. Assim, quando os níveis de vasopressina no sangue estão elevados, maior a taxa de reabsorção de água e será mais concentrada a urina. A taxa de débito urinário está relacionado à pressão arterial por muitas vias simultâneas e interligadas, dessa maneira, mudanças pequenas na pressão arterial estão associadas a grandes mudanças na taxa de débito urinário (MOHRMAN, 2007; GUYTON, 2006).

A inter-relação que há entre controle cardiovascular e controle da ingestão de sal e água garante que seja mantida a homeostase do organismo. O sistema cardiovascular está sujeito a inúmeros fatores de distúrbio, mas eficientes mecanismos são responsáveis pela regulação de sua atividade. As alterações na taxa de ingestão de sal e água não alteram a pressão arterial, em situações em que sistema cardiovascular e hidrossalino funcionam corretamente. A manutenção da pressão arterial média (PAM) adequada depende da inter-relação entre os sistemas cardiovascular e hidrossalino, a partir de um mecanismo de feedback negativo.

O estresse pode ser definido de maneira ampla como uma reação do organismo a estímulos internos ou externos que são interpretados como perturbações à homeostase e

ameaças à sobrevivência (ULRICH-LAI, 2010; MORA, 2012). As situações de estresse físico e emocional determinam inúmeras respostas adaptativas comportamentais e fisiológicas que visam manter a homeostase. Em geral, as alterações relacionadas ao estresse prepararam o organismo para situações de enfrentamento ou fuga, mas, algumas vezes, mimetizam tais circunstâncias (LOURES, 2002; BANDLER, 2000). A excitação ou a sensação de perigo geralmente produz o perfil comportamental padrão chamado de resposta de fuga ou luta (ou reação de alerta). Em determinadas circunstâncias, como a prática de atividades físicas, o despertar de emoções, a dor, o estresse e a hemorragia, a pressão arterial deve permanecer equilibrada para que a homeostase seja mantida (MOHRMAN, 2007).

A nível central, áreas prosencefálicas e romboencefálicas, o eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (HHA) e o sistema nervoso autônomo (SNA) atuam a partir de vias humorais, nervosas ou celulares para criar as condições necessárias para a luta ou fuga. Diversas mudanças fisiológicas ocorrem no corpo, em um curto intervalo de tempo, para manter a homeostase durante o estresse (ULRICH-LAI, 2010; LOURES, 2002; BANDLER, 2000). A exposição a condições estressantes gera uma série de respostas adaptativas no intuito de garantir maior chance de sobrevivência ao indivíduo e, de maneira geral, todas as partes do corpo são influenciadas pelo estímulo estressante, mas os sistemas cardiovascular, neuroendócrino, imune e gastrointestinal são os principais sistemas alvos do estresse (MORA, 2012).

A resposta cardiovascular ao estímulo estressante é caracterizada pelo aumento da atividade simpática e pela redução da atividade parassimpática levando a taquicardia, hipertensão, redistribuição do fluxo sanguíneo, aumento da contratilidade do coração, do débito cardíaco, do tônus vascular e da resistência vascular periférica (BUSNARDO, 2010; LOURES, 2002; PACÁK, 2001). A produção e liberação de hormônio liberador de corticotrofina (CRH), catecolaminas e glucocorticoides e o sistema nervoso simpático apresentam papel essencial na resposta adaptativa ao estresse (LOURES, 2002; PACÁK, 2001). Além das alterações cardiovasculares, há alterações neuroendócrinas, adaptações na respiração, aumento de tensão da musculatura esquelética e outras modificações no metabolismo intermediário evidenciadas no estresse (MOHRMAN, 2007; LOURES, 2002; PACÁK, 2001).

A figura 3 destaca algumas alterações neuroendócrinas no estresse. A resposta neuroendócrina ao estresse é considerada um importante mecanismo de reação a estímulos ameaçadores e a regulação da função neuroendócrina apresenta influência fundamental dos neurônios serotoninérgicos (CARRASCO, 2003). Evidências indicam que a síntese e a liberação de serotonina (5-HT) estão relacionadas à resposta a estímulos estressantes, por exemplo, a liberação de alguns hormônios induzida pelo estresse pode ser mediada pelo bloqueio de receptores 5-HT<sub>3</sub>. A exposição ao estresse agudo leva ao aumento do metabolismo da 5-HT em várias regiões centrais e a concentração extracelular de 5-HT em diversas áreas centrais é aumentada após diferentes tipos de estímulos estressantes, além disso, os neurônios serotoninérgicos parecem interagir com neurônios contendo fator de liberação da corticotrofina (CRF) (CARRASCO, 2003; ADELL, 1997). O estresse de restrição, por exemplo, tem sido relacionado a síntese e metabolismo de serotonina em algumas áreas do sistema límbico.

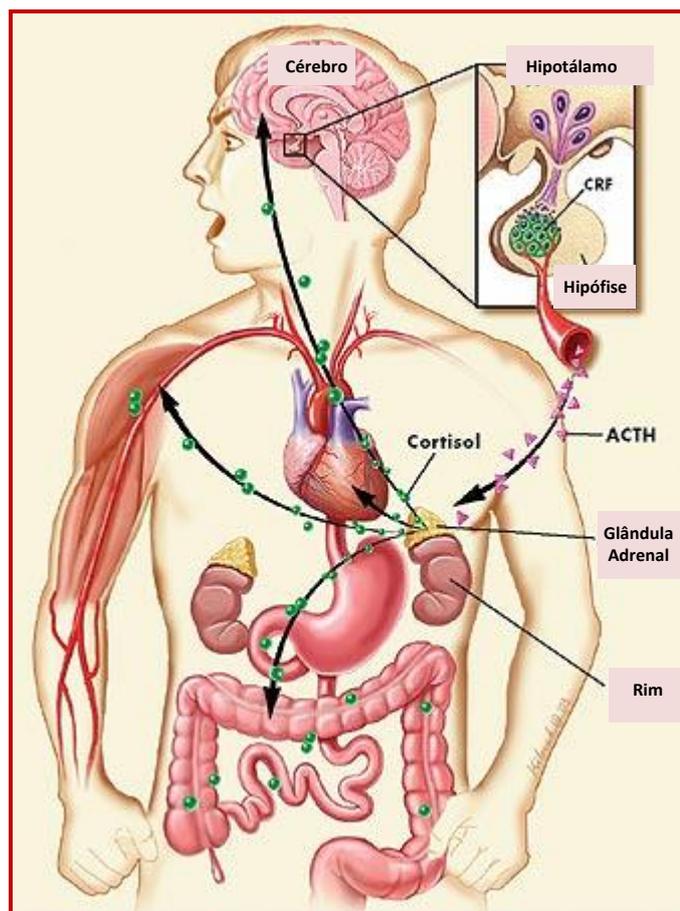


Figura 3: Resposta neuroendócrina ao estresse representada pela atividade do eixo Hipotálamo — Hipófise Adrenal (HHA) (LYDIA KIBIUK).

### 2.3. Áreas Cerebrais Envolvidas com o Controle Cardiovascular

O principal centro de regulação cardiovascular está localizado no bulbo. Alguns autores fazem referência as regiões do bulbo como centros bulbares cardiovasculares ou centros vasomotores, outros indicam a existência de diversas estruturas interconectadas localizadas por todo o eixo rostro-caudal do bulbo que desempenham um importante papel na regulação cardiovascular (MOHRMAN, 2007; LIGHTMAN, 1986). Além desta região, outras como a formação reticular paramediana, o núcleo cuneado (NC), a oliva acessória mediana (OMA), o locus coeruleus (LC), o núcleo parabraquial e o núcleo Fused-Kolliker parecem apresentar alguma influência nas fibras simpáticas eferentes (LIGHTMAN, 1986).

As respostas emocionais que alteram as funções cardiovasculares são originadas no córtex cerebral e chegam aos centros medulares cardiovasculares pelas vias cortico-hipotalâmicas. Em geral, as alterações cardiovasculares são mediadas pelo hipotálamo, estrutura diretamente integrada aos centros de controle cardiovascular central. Algumas áreas hipotalâmicas diretamente envolvidas no controle cardiovascular são núcleo paraventricular (PVN), o núcleo dorsomedial do hipotálamo (DMH), o hipotálamo lateral (LH) e núcleo supraóptico (SON) (MOHRMAN, 2007).

As informações que chegam dos barorreceptores ao centro de integração cardiovascular terminam no NTS, localizado no bulbo dorsomedial, e deste partem múltiplas sinapses para diversas áreas bulbares, suprabulbares e espinhais. O NTS apresenta conexões recíprocas com diversas áreas relacionadas a regulação cardiovascular como RVLM, núcleo dorsomedial do hipotálamo (DMH), o hipotálamo, o cerebelo, o núcleo do leito da estria terminal, o núcleo central da amígdala, o núcleo periventricular do tálamo e certas áreas corticais (visual, órbito-frontal e insular) (LIGHTMAN, 1986).

O sistema límbico apresenta papel relevante na regulação do sistema cardiovascular. A área septal medial (ASM) é parte integrante deste sistema e está envolvida com o equilíbrio hidroeletrolítico, bem como com a regulação cardiovascular (SAAD, 2004). A estimulação elétrica desta área determina bradicardia e redução da pressão arterial

média, de maneira independente das alterações de frequência cardíaca e contratilidade cardíaca (CALARESU, 1976).

A localização anatômica da área septal no cérebro, entre o hipotálamo, córtex pré-frontal medial e formação hipocampal, como observado na Figura 4, contribui para o desenvolvimento das atividades de controle comportamental, endócrino e autonômico que estão relacionados com esta área (GAVELLO-BAUDY, 2008). Além disso, a área septal apresenta alta densidade de receptores colinérgicos, gabaérgicos, dopaminérgicos, glutamatérgicos e noradrenérgicos (THINSCHMIDT, 2005), além de receber projeções serotoninérgicas (ALREJA, 1996).

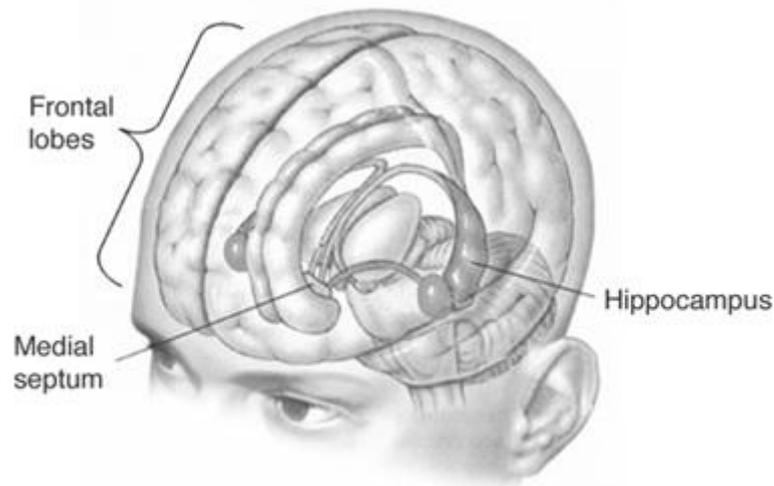


Figura 4: Localização anatômica da área septal medial no cérebro humano, entre o hipotálamo (não identificado), córtex pré-frontal medial e formação hipocampal (WHITE, 2004).

As áreas cerebrais envolvidas com a regulação cardiovascular recebem projeções serotoninérgicas e apresentam grande número de receptores serotoninérgicos. As projeções serotoninérgicas partem da rafe mediana e são enviadas para áreas prosencefálicas e romboencefálicas diretamente relacionadas com a regulação cardiovascular (RAMAGE, 2001; ALREJA; 1996).

#### **2.4. Vias Serotoninérgicas e o Controle Cardiovascular**

A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é uma amina biogênica (indoleamina) sintetizada no sistema nervoso entérico (SNE) e sistema nervoso central (SNC) (BARNES, 1999; LAM, 2010). No sistema nervoso central, a serotonina é produzida por

um número limitado de neurônios localizados no núcleo da rafe mesencefálica dorsal e mediana (Figura 5B), que formam um total de 9 populações distintas de neurônios sintetizadores de serotonina (B1 – B9). Apesar desta limitação a ação da serotonina é amplamente difundida no SNC (MASSON, 2012; LAM, 2010; HASSANZADEH, 2007; BARNES, 1999).

A biossíntese da serotonina ocorre a partir do aminoácido essencial L-triptofano que é hidroxilado em L-5-triptofano, sendo esta reação catalizada pela enzima triptofano 5 hidroxilase. Posteriormente, ocorre a descarboxilação pela enzima aminoácido aromático descarboxilase do L-5-triptofano em 5- hidroxitriptamina (serotonina), sendo esta estocada em vesículas sinápticas. A serotonina é degradada em ácido 5-hidroxitriptamínico a partir da enzima monoaminaoxidase mitocondrial tipo A, geralmente no espaço intersináptico (Figura 5A) (FILIP, 2009). A serotonina liberada pelas vesículas sinápticas atua sobre os receptores serotoninérgicos pós- sinápticos (Figura 6). O sistema serotoninérgico apresenta 7 famílias de receptores (5-HT<sub>1</sub> à 5-HT<sub>7</sub>) compreendendo um total de 14 subtipos (de 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5A</sub>, 5-HT<sub>5B</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>), estruturalmente e farmacologicamente distintos, que participam de diferentes processos fisiológicos e homeostáticos (MASSON, 2012; BERGER, 2009; BARNES, 1999; SAXENA, 1995).

A nível molecular, os receptores 5-HT estão, principalmente, relacionados aos receptores transmembrana acoplados à proteína G (metabotrópicos), exceto o receptor 5HT<sub>3</sub>, que é um receptor como canal iônico (ionotrópico) (MASSON, 2012; BERGER; FILIP, 2009; BARNES, 1999; SAXENA, 1995). Os receptores 5-HT<sub>1</sub> reúnem 5 subfamílias (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>) e estão acoplados à proteína G para inibir a formação do AMPc (adenosina monofosfato cíclico). O receptor 5-HT<sub>2</sub> apresenta 3 subfamílias ( 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>) acoplados à proteína G e ao sistema de transdução de sinal de fosfoinositol hidrólise para estimular a acumulação de inositol 1,4,5-trifosfato e a liberação de Ca<sup>2+</sup>. A família de receptores 5-HT<sub>4</sub> tem múltiplas isoformas estando os receptores acoplados positivamente à adenilciclase via proteína G e aumentam a formação de AMPc. O receptor 5-HT<sub>5</sub> apresenta dois subtipos funcionais denominados 5-HT<sub>5A</sub> e 5-HT<sub>5B</sub>. Em ratos e humanos o receptor recombinante 5-HT<sub>5A</sub> é negativamente ligado à atividade da adenilato ciclase (AC) e induz a inibição da produção de AMPc. Os receptores 5-HT<sub>6</sub> são acoplados positivamente a AC via proteína G com formação de

AMPC. Os receptores 5-HT<sub>7</sub> que apresentam 4 isoformas (5-HT<sub>7A</sub>, 5-HT<sub>7B</sub>, 5-HT<sub>7C</sub>, 5-HT<sub>7D</sub>) estão positivamente acoplados à AC via proteína G e aumentam a AMPC (FILIP, 2009). As vias de sinalização de alguns destes receptores estão representadas na Figura 6.

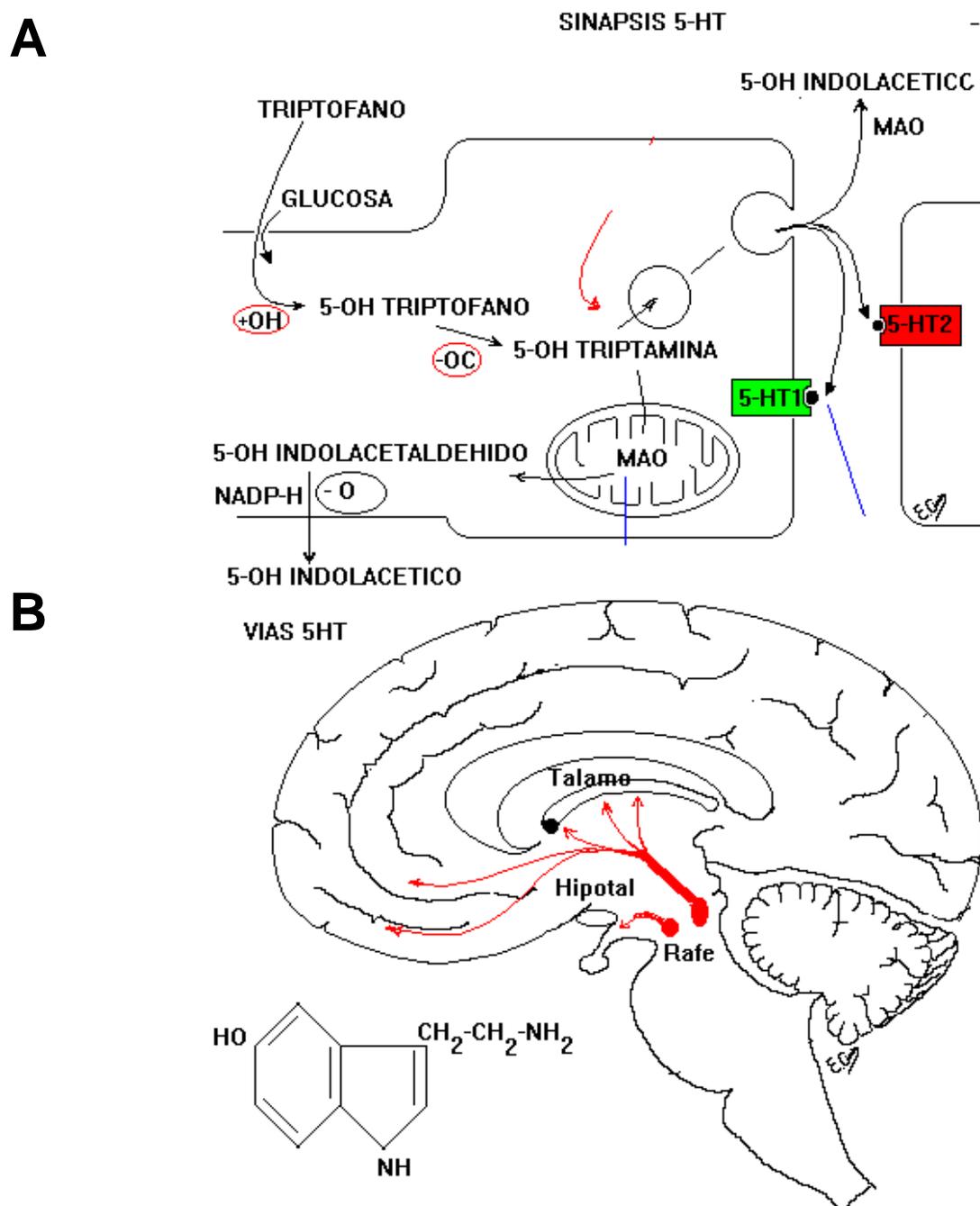


Figura 5: A. Biossíntese da 5-hidroxitriptamina (serotonina) a partir do aminoácido triptofano e o seu catabolismo em ácido 5-hidroxiindolacético. B. Localização dos neurônios sintetizadores de serotonina na rafe mesencefálica (FRANCO).

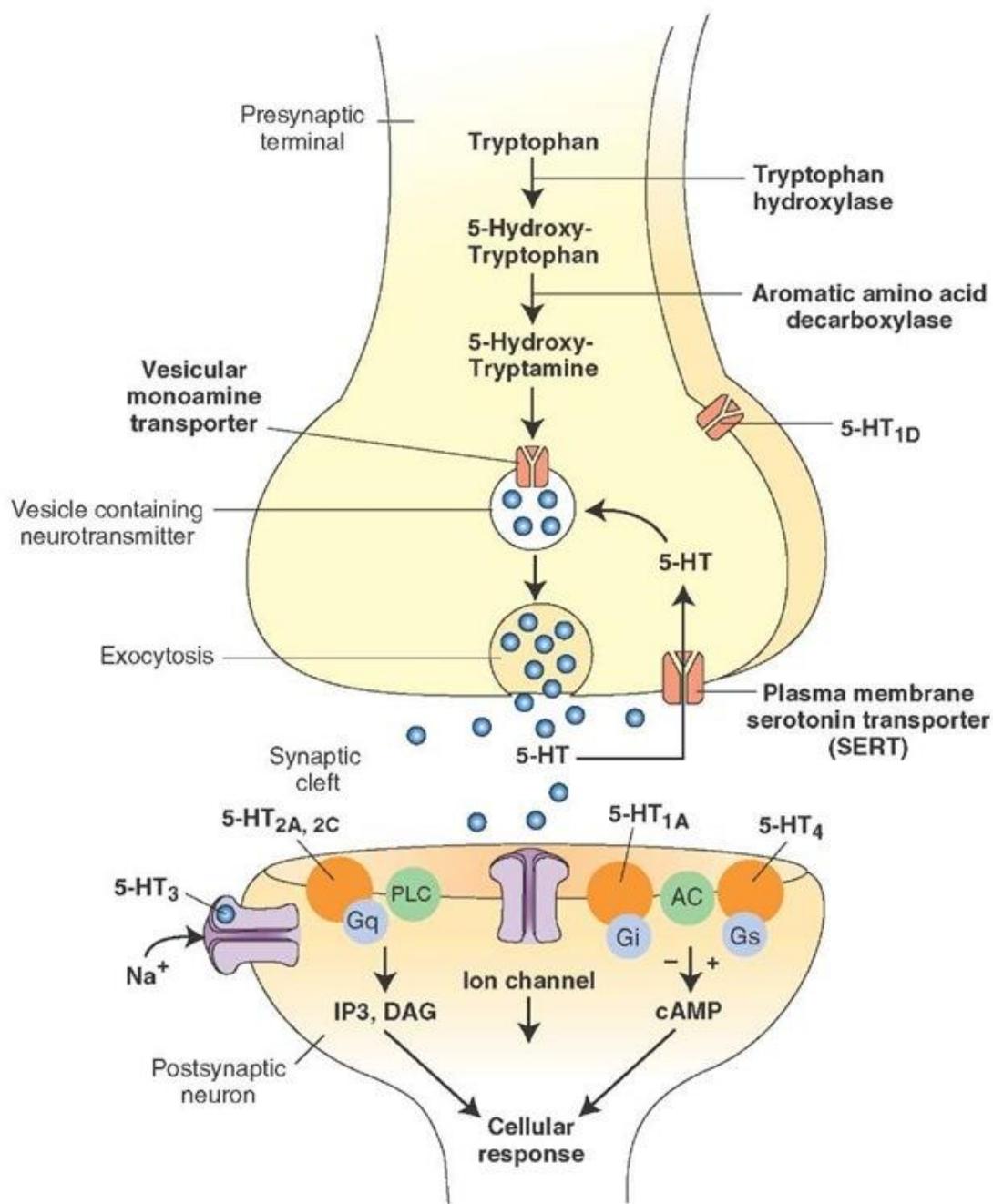


Figura 6: A biossíntese da serotonina ocorre nos neurônios a partir do aminoácido triptofano e, após produzida, esta molécula é armazenada em vesículas sinápticas até ser liberada para a fenda sináptica onde atua sobre os variados receptores serotoninérgicos pós-sinápticos desencadeando cascatas de eventos celulares que culminam na resposta celular ([www.explow.com/5-HT3\\_receptor](http://www.explow.com/5-HT3_receptor)).

Os receptores 5-HT<sub>3</sub>, por sua vez, são membros da superfamília dos receptores ligantes catiônicos que inclui os receptores colinérgicos, GABAérgicos e glicinérgicos. Estruturalmente, os receptores 5-HT<sub>3</sub> são compostos por múltiplas subunidades formando uma estrutura pentamérica circundando um canal iônico central permeável à Na<sup>+</sup> (sódio),

$K^+$  (potássio) e  $Ca^{2+}$  (cálcio). São conhecidas duas subunidades em camundongos e ratos, subunidades 3A e 3B, enquanto os seres humanos apresentam 5 subunidades para os receptores 5-HT<sub>3</sub>. As subunidades apresentam diferente condutância e permeabilidade e, assim, a composição de subunidades dos receptores controla amplamente a transdução de sinais. Nos neurônios, os receptores 5-HT<sub>3</sub> são encontrados na terminação nervosa (pré-sinápticos) modulando a liberação de neurotransmissores e nos corpos celulares neuronais e dendritos (pós-sinápticos) onde desencadeiam rápidas respostas excitatórias no SNC (MASSON, 2012; PHILIP, 2009; TECOTT, 1993). A Figura 7 representa a via de sinalização dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, que é diferente dos demais receptores serotoninérgicos porque não envolve a proteína G e segundos mensageiros. A ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> leva à estimulação da enzima NO sintetase (óxido nítrico sintetase), induzindo, por sua vez, a produção de GMPc (Glicosina Monofosfato Cíclico) que induz o efluxo de Cl<sup>-</sup> (Cloro) (MASSON, 2012).

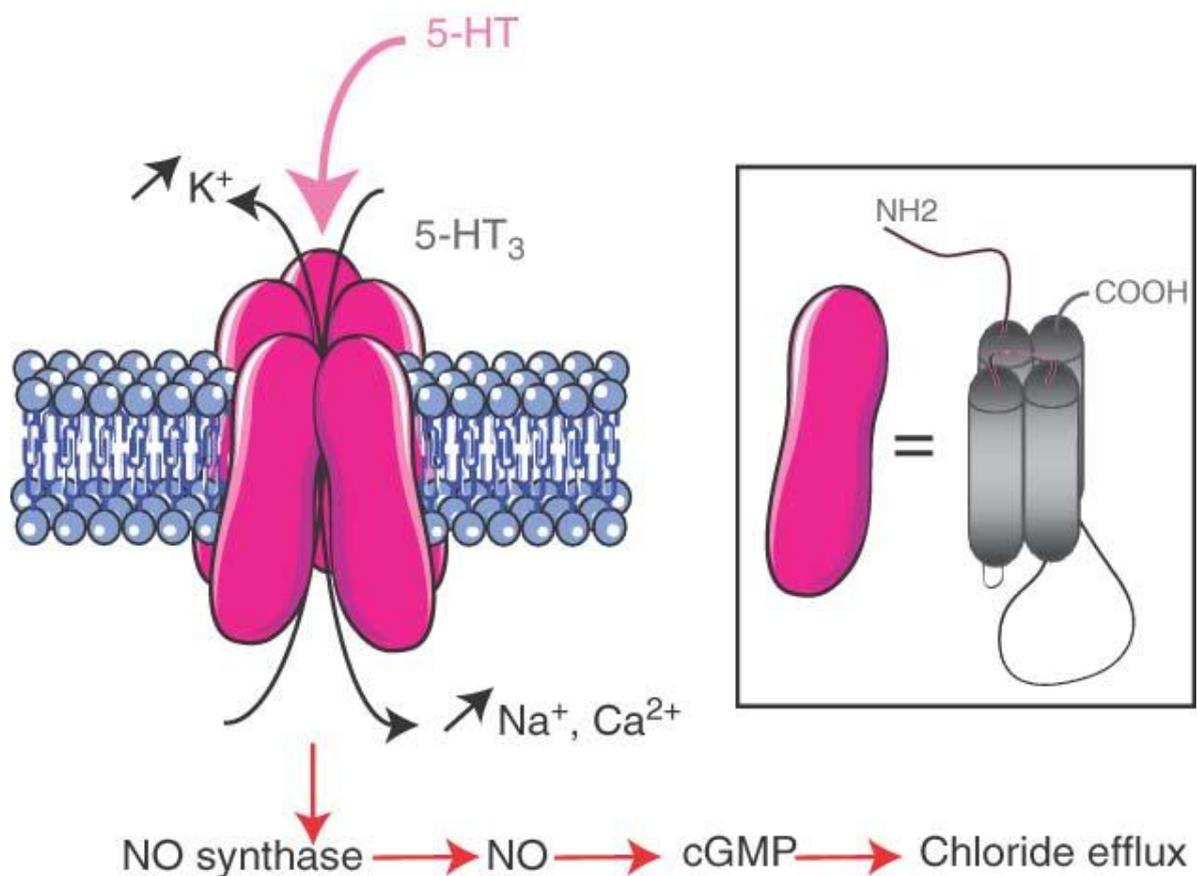


Figura 7: Receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>3</sub> são ligantes iônicos que, uma vez estimulados pela serotonina (5-HT), permitem o influxo dos íons  $Na^{2+}$  e  $Ca^{2+}$  e o efluxo de  $K^+$  da célula (MASSON, 2012).

A serotonina é um dos neurotransmissores moduladores do sistema nervoso central e está envolvida em diversas funções como regulação do comportamento emocional e alimentar, equilíbrio hidroeletrolítico, ciclo sono-vigília, termorregulação, regulação da frequência cardíaca, da pressão sanguínea e do sistema endócrino, além de coordenar diversas funções autonômicas cognitivas, respiratórias e de micção (SAXENA, 1995). A serotonina é amplamente distribuída, sendo encontrada nas plaquetas, no trato gastrointestinal, em algumas veias e artérias, útero, pulmão, coração, sistema nervoso central e periférico (SAXENA, 1995). Dessa forma, o sistema serotoninérgico está diretamente relacionado à manutenção da homeostase e à garantia da sobrevivência e da reprodução (RAMAGE, 2001).

A grande variedade de funções com as quais a serotonina é envolvida dá-se, em parte, pela grande variedade de receptores e pela ampla distribuição pelo corpo (SAXENA, 1995). Os efeitos resultantes da atuação da serotonina central dependem da área central à que se refere, à espécie em estudo e ao receptor serotoninérgico envolvido (RAMAGE, 2001). A serotonina atua de maneira ampla no sistema cardiovascular e a sua concentração é essencial para manter a atividade normal desse sistema. (COTÊ, 2004) As respostas cardiovasculares à administração de serotonina são diversas, incluindo efeitos contraditórios (excitatórios e inibitórios) em uma atividade, determinando, bradicardia/taquicardia, hipotensão/hipertensão, vasodilatação/vasoconstrição, a depender do tipo de receptor serotoninérgico e de onde este receptor está localizado. (RAMAGE, 2001; KUHN, 1980)

A regulação sistêmica da atividade cardiovascular realizada pela serotonina envolve os receptores das famílias 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5HT<sub>4</sub> e 5-HT<sub>7</sub> (SAXENA, 1995; DE VRIES, 1996; MARTIN, 1994; SAXENA, 1991; VILLALON, 1997). A regulação cardiovascular parece estar mais intimamente relacionada à atuação dos receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> (RAMAGE, 2001). A administração intravenosa de serotonina gera uma resposta cardiovascular trifásica caracterizada por hipotensão inicial, seguida de uma hipertensão e uma hipotensão final. (SAXENA, 1995; VILALLON, 1997; COTÊ, 2004). Esta resposta pressórica envolve os receptores 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub>.

Os receptores 5-HT<sub>1A</sub> localizam-se, a nível central, no núcleo dorsal da rafe (NDR), mesencéfalo e prosencéfalo (LAMFUMEY, 2000). Estes receptores estão relacionados a

diversas atividades essenciais à homeostase, como a termorregulação, a regulação endócrina, comportamental e cardiovascular. A ativação dos receptores 5-HT<sub>1</sub> centrais tem como respostas cardiovasculares a hipotensão e bradicardia, (MARTIN, 1994; BUISSON-DEFFERIER, 1992; DABIRÉ, 1987) diretamente relacionadas com o efeito simpatoinibitório e o aumento do tônus vagal para o coração observados com a estimulação destes receptores.

Os receptores 5-HT<sub>2</sub> estão localizados, centralmente, nos gânglios da base, tálamo, cerebelo, hipotálamo, córtex cerebral e sistema límbico (BARNES, 1999; DUXON, 1997). Estes receptores determinam a agregação de plaquetas, aumento da permeabilidade capilar, hiperlocomoção, hiperfagia, ansiogênese e ereção (BARNES, 1999). As alterações cardiovasculares são vasoconstrição, aumento da resistência periférica total, aumento da pressão arterial, taquicardia (BELL, 1999), efeito cronotrópico e ionotrópico positivo e inibição da secreção de peptídeo natriurético atrial (PNA) (CHANDRA, 1993; CAO, 2003, LAER, 1998).

Os receptores 5HT<sub>3</sub> apresentam uma estrutura exclusiva entre os receptores serotoninérgicos. São formados por múltiplas subunidades que compõem um canal iônico pentamérico, em geral a partir da combinação das subunidades do tipo 5HT<sub>3A</sub>, entre si ou integradas às subunidades do tipo 5HT<sub>3B</sub> (DUBIN, 1999; HANNA, 2000). A estrutura dos receptores 5-HT<sub>3</sub> apresenta uma variedade de combinações que permitem uma grande diversidade de respostas à ativação destes receptores. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> estão presentes no núcleo do trato solitário (NTS), hipotálamo, área postrema, núcleo dorsomotor do vago, área septal medial (ASM) e atuam de maneira preponderante na regulação cardiovascular (RAMAGE 2001). A ativação sistêmica dos receptores 5-HT<sub>3</sub> está relacionada a respostas como o reflexo de von Bezold-Jarisch, êmese, nocicepção e síndrome do intestino irritável (SAXENA, 1995). A administração sistêmica de m-CPBG ([1-(3-Clorofenilbiguanidina)], agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>) gera redução da pressão sanguínea e da frequência cardíaca (COLERIDGE, 1980).

Dados do Laboratório de Neurociências (Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Bahia) mostraram que a administração intracerebroventricular de m-CPBG, agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, induz a hipotensão em ratos normotensos, sem alterar a frequência cardíaca. O bloqueio destes receptores pela administração de

ondansetrona, antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, gera hipertensão em ratos normotensos. Os resultados sugerem a existência de um tônus serotoninérgico inibitório dependente da ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> centrais (FERREIRA, 2004).

Em outro trabalho publicado recentemente pelo Laboratório de Neurociências (ICS – UFBA) foi mostrado que a administração do agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, m-CPBG, no septo medial/ limbo vertical do Complexo da Banda Diagonal (MS/vDB), não altera a pressão sanguínea, porque, provavelmente, apresentam-se completamente ativados. Por outro lado, o bloqueio destes receptores gera hipertensão. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> parecem ser responsáveis pelo tônus inibitório na pressão sanguínea (URZEDO-RODRIGUES, 2011).

A estimulação dos receptores centrais 5-HT<sub>3</sub> pela ação do agonista m-CPBG bloqueia a hipertensão induzida pelo estresse de restrição (FERREIRA, 2004; URZEDO-RODRIGUES, 2011) e o pré-tratamento com ondansetrona prejudica este efeito (URZEDO-RODRIGUES, 2011). O bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> pela microinjeção intracerebroventricular de ondansetrona, em animais estressados, determina um aumento na pressão sanguínea, mas que não apresenta diferença significativa dos animais controle (salina) estressado (FERREIRA, 2004).

### 3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

#### Objetivo Geral:

Investigar o papel dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> na área septal medial (ASM) sobre a pressão sanguínea em ratos estressados e não estressados e a interação com as vias colinérgicas muscarínicas centrais.

#### Objetivos específicos:

1. Estudar o papel das vias colinérgicas muscarínicas sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> presentes ASM em animais não estressados.
2. Avaliar o efeito do bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos localizados na ASM sobre a regulação da pressão sanguínea em animais não estressados.
3. Avaliar o efeito da estimulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo estresse de restrição em ratos.

#### Hipóteses:

1. O bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos impede a resposta hipertensora induzida pelo bloqueio dos receptores serotoninérgicos na ASM.
2. O bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos na ASM altera a pressão sanguínea.
3. A ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM impede a resposta hipertensiva induzida pelo estresse de restrição.

## 4. METODOLOGIA

### Animais

No presente estudo foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus albinus*) Wistar adultos (280g – 300g), em média, 8 animais por grupo experimental, provenientes do Biotério Setorial do Laboratório de Neurociências (Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia). Os animais permaneceram em salas climatizadas com temperatura mantida entre  $22 \pm 2$  °C e luminosidade controlada para garantir o ciclo claro/escuro de 12 horas (7h e 19h).

### Procedimentos Cirúrgicos

Os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (80/11,5mg/Kg; i.p.). A região da cabeça foi tricotomizada e os animais foram posicionados no estereotáxico (David Kopf Instruments, EUA). O implante da cânula-guia de 14 mm na ASM seguiu as coordenadas do atlas de Watson e Paxinos, sendo elas: ântero-posterior = 0,3mm; lateral = 0,0mm (na linha sagital) e vertical = 5,0mm (PAXINOS & WATSON, 1998). As cânulas utilizadas foram confeccionadas com agulhas hipodérmicas de aço inoxidável, com o comprimento padrão de 14 mm e, para prevenir obstrução, foram inseridos mandris removíveis, também de aço inoxidável. Para a fixação da cânula ao crânio utilizou-se um parafuso inoxidável e acrílico odontológico. Após a cirurgia, os animais foram tratados com pentabiótico veterinário (penicilina benzatina, penicilina procaína, penicilina cristalina potássica, dihidroestreptomicina e estreptomicina) (0,2ml/animal; i.p.) e analgésico, anti-inflamatório e antitérmico Banamine (flunixin meglumina) (0,1 ml/100g; i.p.). Os animais foram mantidos em caixas plásticas individuais, sendo oferecido livremente água filtrada e ração balanceada (Nuvital Nutrientes Ltda., Curitiba, Brasil). No período pós-operatório, os animais foram diariamente manipulados como meio de simular as condições experimentais.

No período de quatro dias após a cirurgia central, os animais foram submetidos a outro procedimento cirúrgico para implante de cateter na artéria carótida esquerda. Os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (80/11,5mg/Kg; i.p.) e receberam o implante do cateter de polietileno (PE-50) na artéria carótida esquerda. Este cateter foi exteriorizado

pela região dorsal do animal, próximo à região da nuca, para a medida da pressão sanguínea. Ao final do procedimento cirúrgico os animais receberam pentabiótico veterinário (0,2ml/animal; i.p.) e o analgésico, anti-inflamatório e antitérmico Banamine (0,1 ml/100g; i.p.). Após vinte e quatro horas foram realizadas as sessões experimentais, ao final das quais os ratos foram anestesiados com Tiopental Sódico (40mg/Kg; i.p.) e realizou-se a perfusão transcardíaca com solução salina 0,9% (200 mL) seguida de formol 10% (200mL).

### **Drogas e Microinjeções**

As drogas utilizadas nas sessões experimentais foram: m-CPBG [1-(3-Clorofenilbiguanidina)], agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, na dose de 160 nmol; ondansetrona, antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, na dose de 160 nmol; e atropina, antagonista colinérgico muscarínico, nas doses de 2.5 e 5.0 nmol. As drogas foram obtidas pela Sigma-Aldrich (Tocris Cookson, Inc. Ballwin, M.O.) e diluídas em solução de salina isotônica estéril. As microinjeções centrais foram efetuadas através de microsseringas de 10 µl (Hamilton, Co. Inc. Whittier, C.A.) conectadas a agulha injetora gengival de 15 mm através de tubos de polietileno (PE10). Os animais controles receberam salina isotônica estéril 0,9%. O volume total injetado na ASM foi de 0,2 µl, durante aproximadamente 60 segundos.

### **Registro da Pressão Sanguínea**

A pressão sanguínea foi monitorada continuamente durante as sessões experimentais. O cateter carotídeo foi conectado a um transdutor de pressão (World Precision Instruments, Florida, EUA ) e o sinal foi amplificado e digitalizado pelo programa AqDados (Lynx Tecnologia Eletrônica, São Paulo, Brasil, versão 7.0). Os registros foram gravados (1kHz) em computador para análise posterior. Os experimentos foram realizados evitando a interferência externa (estímulos auditivos, olfativos e visuais) para não alterar a pressão do animal. Os animais experimentais e controles permaneceram 30 minutos em registro de pressão arterial basal e após este período, foram feitas as microinjeções na ASM e a pressão arterial foi registrada por mais 2 horas. A pressão arterial sistólica (PS), a pressão diastólica (PD) e a frequência cardíaca (FC) foram calculadas a partir da pressão sanguínea pulsátil utilizando-se o software Acqknowlegde

(Biopac Systems, Inc., Califórnia, EUA, versão 3.5.7). A pressão arterial média (PAM) foi determinada a partir dos dados de pressão sistólica e diastólica.

### Estresse de Restrição

Os animais foram colocados em tubos de polivinil (PVC) de diâmetro (5 cm) e comprimento (20 cm) com tampa regulável que impedia a movimentação do rato. Os tubos de restrição apresentavam aberturas para permitir a troca de calor, a exteriorização da cânula implantada na carótida e a exposição da narina e cauda do animal. Além da restrição de movimentos, nenhum estímulo (nociceptivo, olfatório, auditivo ou visual) foi desencadeado durante as sessões experimentais. A pressão arterial foi registrada continuamente.

### Descrição dos Grupos Experimentais

#### Grupo Experimental I

- Estudo do papel das vias colinérgicas muscarínicas sobre as resposta cardiovasculares induzidas pelo bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> em ratos não estressados.

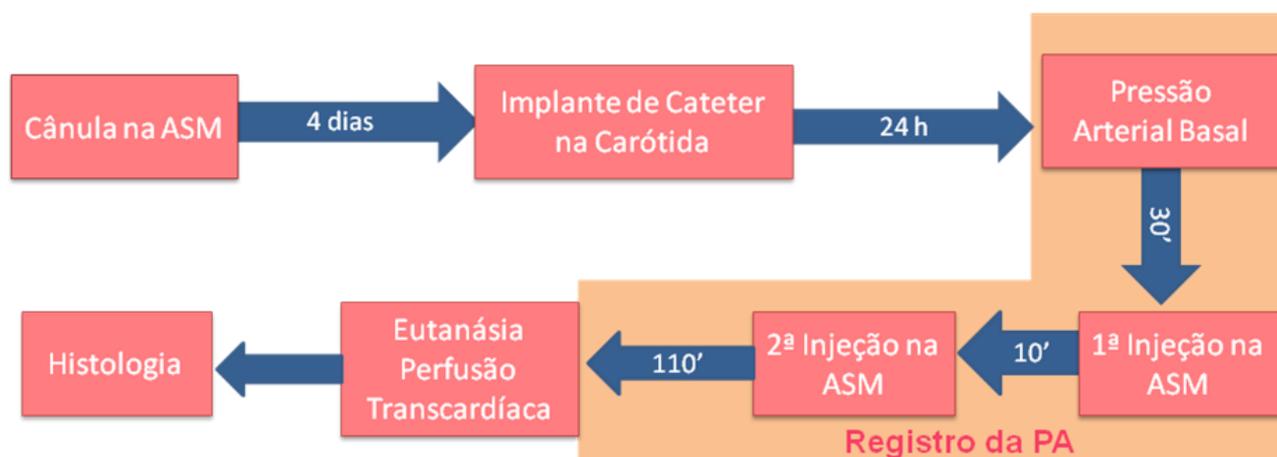


Figura 8: Desenho experimental do Grupo I. Os animais foram submetidos à cirurgia central para a canulação da ASM e, após 4 dias, foram submetidos à outro procedimento cirúrgico para o implante de cateter na artéria carótida esquerda, 24 horas antes das sessões experimentais. Nas sessões experimentais a pressão arterial dos animais foi registrada continuamente. Durante um período de 30 minutos antes das microinjeções a pressão arterial foi registrada para a estabilização e a partir destes dados determinou-se a pressão basal média dos animais. Ao final do registro de pressão basal, os diferentes grupos de animais receberam microinjeções na ASM. O intervalo entre a primeira e a segunda injeção foi de 10 minutos. Os animais puderam se mover livremente nas caixas durante todo o experimento. Após as sessões experimentais os animais foram eutanaziados e os cérebros removidos para processamento histológicos.

Diferentes grupos de animais receberam microinjeções de:

Salina + Salina;

Salina + Ondansetrona (160 nmol);

Atropina (2,5 nmol) + Ondansetrona (160 nmol); e

Atropina (5,0 nmol) + Ondansetrona (160 nmol) na ASM.

## Grupo Experimental II

- Avaliação do efeito do bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos localizados na ASM sobre a regulação da pressão sanguínea em ratos não estressados.

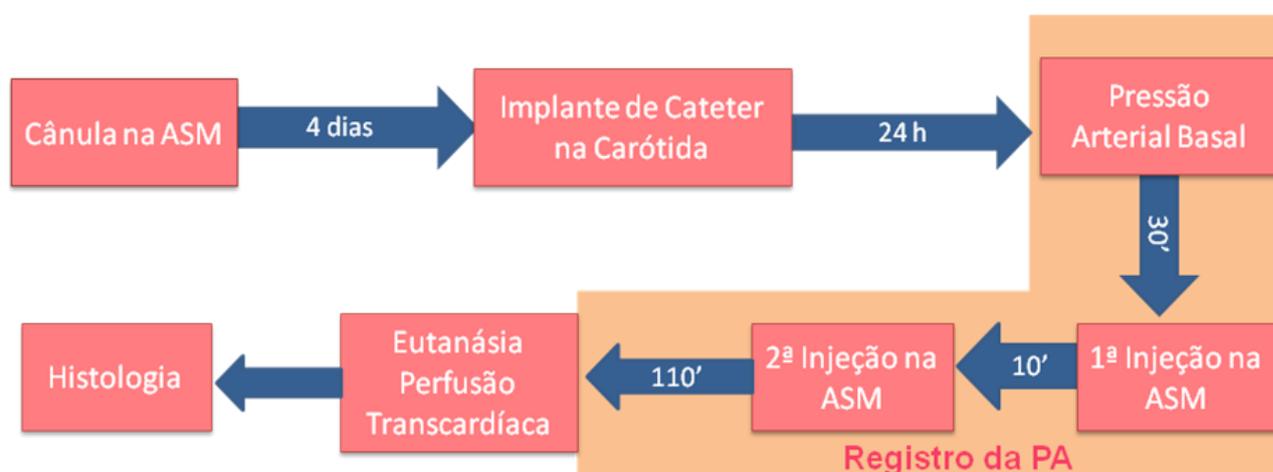


Figura 9: Desenho experimental do Grupo II. Os animais foram submetidos à cirurgia central para a canulação da ASM e, após 4 dias, foram submetidos a outro procedimento cirúrgico para o implante de cateter na artéria carótida esquerda, 24 horas antes das sessões experimentais. Nas sessões experimentais a pressão arterial dos animais foi registrada continuamente. Durante um período de 30 minutos antes das microinjeções a pressão arterial foi registrada para a estabilização e a partir destes dados determinou-se a pressão basal média dos animais. Ao final do registro de pressão basal, os diferentes grupos de animais receberam microinjeções na ASM. O intervalo entre a primeira e a segunda injeção foi de 10 minutos. Os animais puderam se mover livremente nas caixas durante todo o experimento. Após as sessões experimentais os animais foram eutanaziados e os cérebros removidos para processamento histológicos.

Diferentes grupos de animais receberam microinjeções de:

Salina + Salina;

Salina + Atropina (2,5 nmol); e

Salina + Atropina (5,0 nmol) na ASM.

### Grupo Experimental III

- Avaliação do efeito da estimulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo estresse de restrição em ratos.

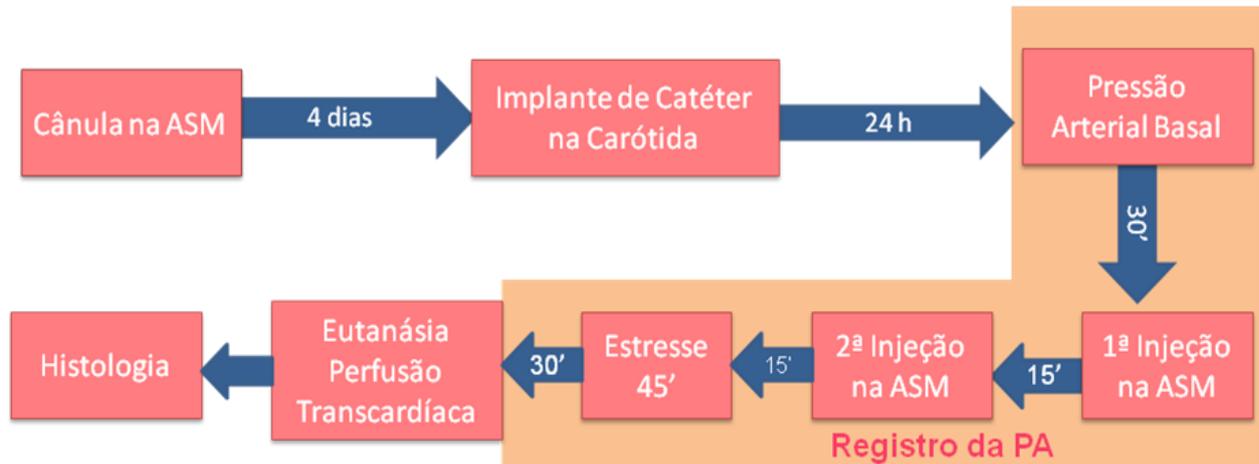


Figura 10: Desenho experimental do Grupo III. Os animais foram submetidos à cirurgia central para a canulação da ASM e, após 4 dias, foram submetidos à outro procedimento cirúrgico para o implante de cateter na artéria carótida esquerda, 24 horas antes das sessões experimentais. Nas sessões experimentais a pressão arterial dos animais foi registrada continuamente. Durante um período de 30 minutos antes das microinjeções a pressão arterial foi registrada para a estabilização e a partir destes dados determinou-se a pressão basal média dos animais. Ao final do registro de pressão basal, os diferentes grupos de animais receberam microinjeções na ASM. O intervalo entre a primeira e a segunda injeção foi de 15 minutos. Após 15 minutos da segunda injeção, os animais foram submetidos à 45 minutos de estresse de restrição e, após este período, retornaram para as caixas individuais para registro da pressão arterial por mais 30 minutos. Após as sessões experimentais os animais foram eutanaziados e os cérebros removidos para processamento histológicos.

Diferentes grupos de animais receberam microinjeções de:

Salina + Salina;

Salina + m-CPBG (160 nmol); e

Ondansetrona (160 nmol) + m-CPBG (160 nmol) na ASM.

### Procedimentos Histológicos

Os cérebros foram retirados e armazenados em solução de formol 10% por 24 horas, após este período, foram colocados em solução de PB 0,1M e glicose 30%. O processamento histológico foi realizado a partir de corte transversais dos cérebros no criostato (40µm de espessura) e coloração dos mesmos com a técnica de Nissl. Os cortes

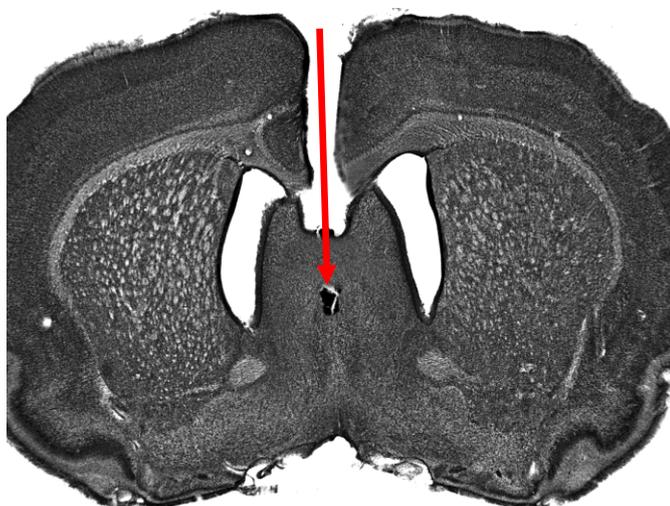
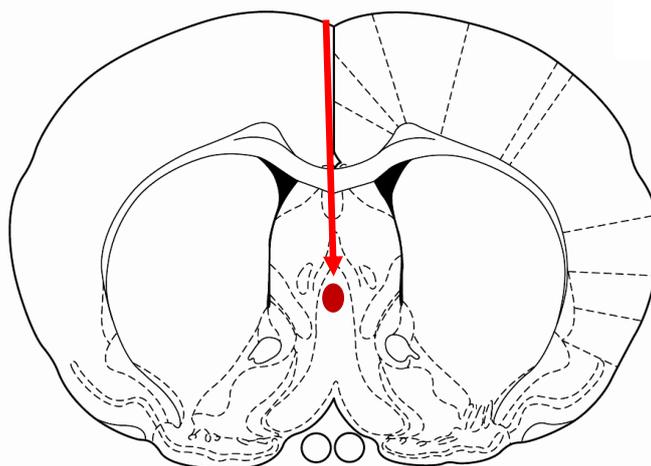
dos cérebros foram analisados ao microscópio óptico para a identificação do local da cânula implantada. Apenas os dados referentes aos animais cujas cânulas estavam localizadas na ASM foram utilizados nas análises de resultados.

### **Análises Estatísticas**

Para a análise estatística dos dados coletados foi utilizado o *software* GraphPad (GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, EUA). Os dados foram tratados com ANOVA “Two-Way”, para análise de variância de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Bonferroni para comparar cada tratamento. A relação de diferença entre os dados de cada grupo foi considerada estatisticamente significativa quando apresentavam valores de  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

A figura 11B mostra um desenho esquemático do Atlas de Paxinos (1998) de corte transversal cerebral mostrando a localização da área septal medial (ASM). Os resultados considerados no presente trabalho fazem referência aos dados de animais que apresentaram a cânula e microinjeção central posicionadas exatamente na ASM. A figura 11A mostra a microfotografia típica de corte cerebral com a cânula guia localizada na ASM.

**A****B**

Bregma: 0.2 mm

Figura 11: A. Microfotografia de corte transversal do cérebro do rato destacando a área septal medial (ASM). B. Desenho esquemático de corte transversal do cérebro do rato (PAXINOS, 1998).

## Grupo Experimental I

No presente trabalho foi avaliado o papel dos receptores colinérgicos muscarínicos na ASM sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> na mesma área, como é mostrado na Figura 12. Os animais que receberam, na ASM, a administração de salina, seguida de ondansetrona, antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, na dose de 160 nmol (SAL + OND 160 nmol), demonstraram, após 5 minutos da última microinjeção, aumento significativo na pressão arterial média (PAM) quando comparados aos animais do grupo controle (SAL + SAL). A administração prévia de atropina, antagonista colinérgico muscarínico, na dose de 5 nmol, seguida de ondansetrona na dose de 160 nmol, foi capaz de inibir o efeito hipertensor induzido pela ondansetrona. A análise dos dados mostra que a dose de 2.5 nmol da atropina não foi capaz de reverter de forma significativa o aumento da pressão induzido pela ondansetrona quando comparada com a dose de atropina de 5 nmol.

Os valores de pressão arterial média basal (antes das microinjeções) foram: salina + salina (controle) (PAM basal=104,0 ± 2,0 mmHg); salina + ondansetrona (160 nmol) (PAM basal=111,0 ± 2,0 mmHg); atropina (2,5 nmol) + ondansetrona (160 nmol) (PAM basal=100,0 ± 3,0 mmHg); e atropina (5,0 nmol) + ondansetrona (160 nmol) (PAM basal=105,0 ± 2,0 mmHg) (Tabela 1). As análises estatísticas da PAM mostraram que a variável tempo apresenta interação altamente significativa com o tratamento [ $F_{(638, 66)} = 3.026$   $p \leq 0.0001$ ], o tempo apresenta efeito significativo nos resultados [ $F_{(638, 22)} = 21.94$   $p \leq 0.0001$ ], de maneira semelhante à variável tratamento [ $F_{(638, 3)} = 26.16$   $p \leq 0.0001$ ].

Em relação à frequência cardíaca (FC), não houve alteração significativa entre os tratamentos quando comparados com o grupo controle (Figura 12B). A FC basal nos grupos de tratamento e controle foram: salina + salina (controle) (FC basal=71 ± 8bpm); salina + ondansetrona (160 nmol) (FC basal=324 ± 10bpm); atropina (2,5 nmol) + ondansetrona (160 nmol) (FC basal=342 ± 17 bpm); e atropina (5,0 nmol) + ondansetrona (160 nmol) (FC basal=336 ± 9 bpm). As análises estatísticas da FC mostraram que a variável tempo não apresenta interação significativa com o tratamento [ $F_{(638,66)} = 0.7264$   $p = 0.947$ ], o tempo apresenta efeito significativo nos resultados [ $F_{(638, 22)} = 5.543$   $p \leq 0.0001$ ], mas a variável tratamento não foi considerada significativa [ $F_{(638, 3)} = 1.265$   $p = 0.3049$ ].

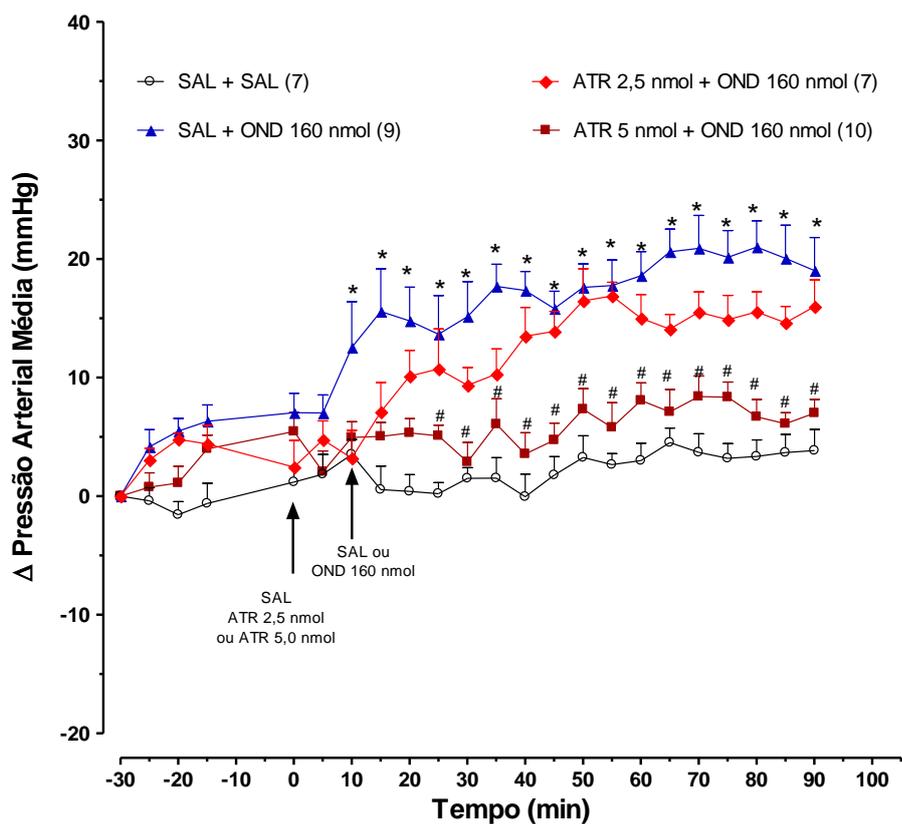
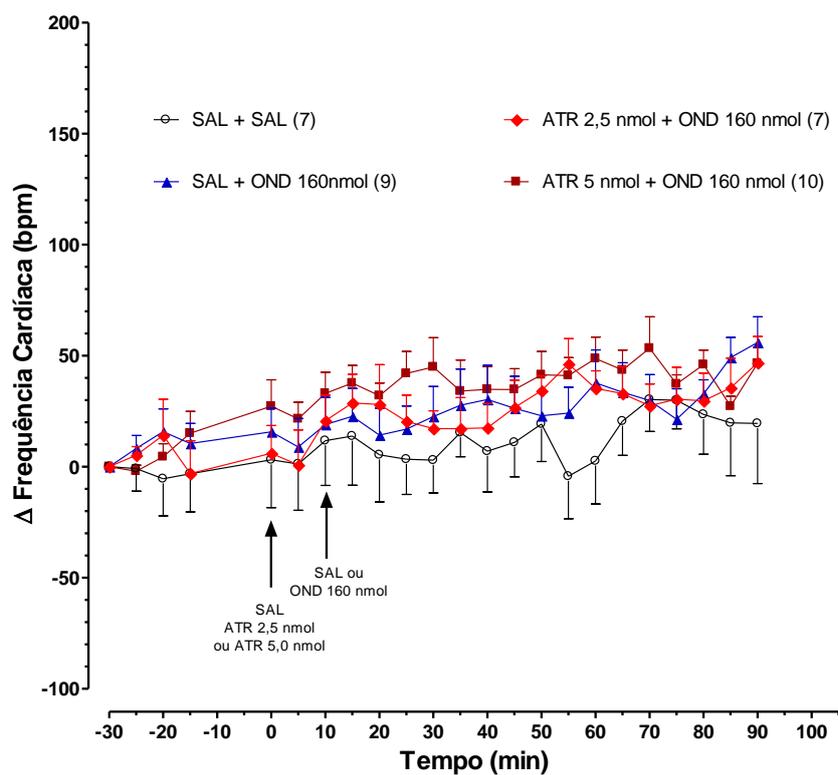
**A****B**

Figura 12: O bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM leva a hipertensão e esta resposta parece ser dependente da integridade dos receptores colinérgicos muscarínicos na mesma área. SAL+SAL (Salina 0,9% + Salina 0,9%), SAL+OND 160 nmol (Salina 0,9% + Ondansetrona 160 nmol), ATR 2,5 nmol + OND 160 nmol (Atropina 2,5 nmol + Ondansetrona 160 nmol) e ATR 5,0 nmol + Ondansetrona 160 nmol (Atropina 5,0 nmol + Ondansetrona). \*Diferença estatística significante quando comparados ao grupo controle. # Diferença estatística significante em relação ao grupo SAL + OND 160 nmol.

TABELA 1. Alterações na PAM em diferentes momentos das sessões experimentais de animais que receberam microinjeções de salina, ondansetrona (160 nmol) e atropina (2,5 e 5,0 nmol).

Drogas	PAM ± EPM (mmHg)	PERÍODO EXPERIMENTAL Δ PAM ± EPM (mmHg)					
	basal - 30 min	1ª injeção 0 min	2ª injeção 10 min	30 min	50 min	70 min	90 min
<i>Salina + Salina</i>	104,0 ± 2,0	1,2 ± 1,3	3,5 ± 1,3	1,5 ± 0,9	3,3 ± 1,8	3,7 ± 1,6	3,9 ± 1,8
<i>Salina + Ondansetrona 160 nmol</i>	111,0 ± 2,0	7,0 ± 1,6	12,6 ± 3,8*	15,1 ± 2,9*	17,6 ± 2,0*	20,9 ± 2,8*	19,0 ± 2,8*
<i>Atropina 2,5 nmol + Ondansetrona 160 nmol</i>	100,0 ± 3,0	2,4 ± 2,3	3,2 ± 2,3	9,4 ± 1,5	16,5 ± 2,7	15,5 ± 1,7	16,0 ± 2,3
<i>Atropina 5,0 nmol + Ondansetrona 160 nmol</i>	105,0 ± 2,0	5,5 ± 1,6	5,0 ± 1,3	2,9 ± 1,7#	7,3 ± 1,7#	8,4 ± 1,7#	7,0 ± 1,2#

Dados estão apresentados como média±EPM. Os valores de PAM basal estão expressos em números absolutos. Após as microinjeções, os valores estão expressos como ΔPAM. A análise estatística realizada foi ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ . \* Diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle. # Diferença estatística significativa em relação ao grupo SAL + OND 160 nmol.

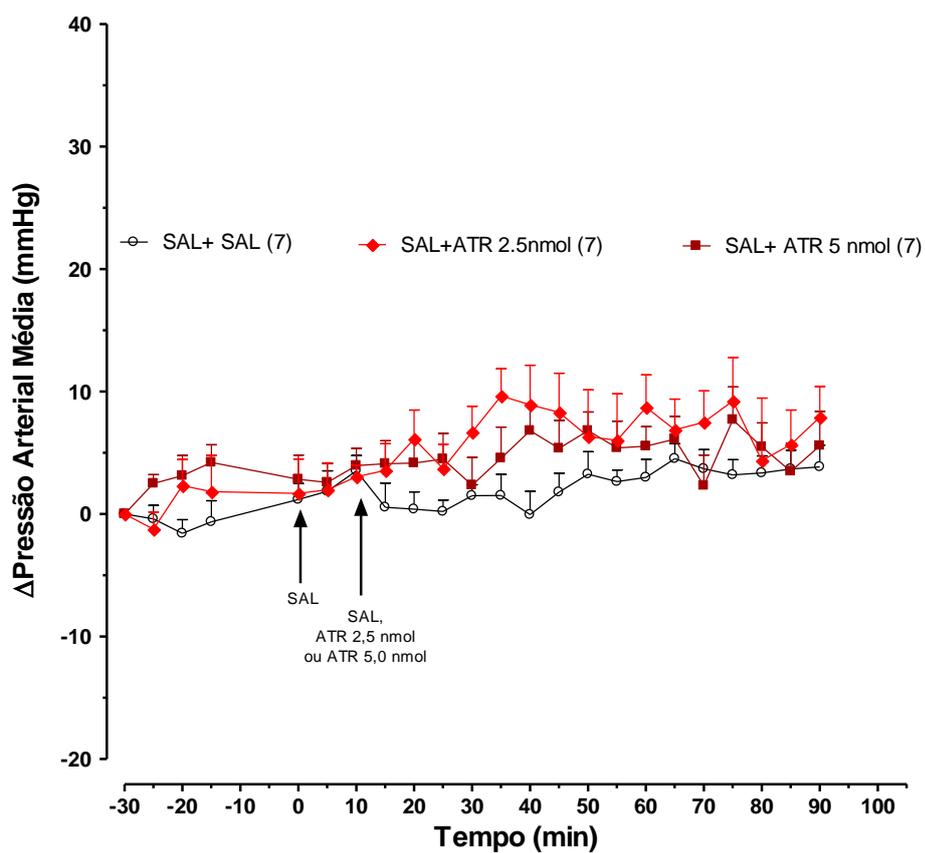
## Grupo Experimental II

Neste trabalho foi avaliado do efeito do bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos localizados na ASM sobre a regulação da pressão sanguínea em ratos não estressados. Na figura 13 observa-se o efeito da injeção de atropina na ASM sobre a PAM (A) e FC (B). Os animais que receberam salina e em seguida atropina nas doses de 2,5 nmol e 5 nmol não apresentaram alterações significativas na pressão arterial média (PAM) quando comparados aos animais controle, que receberam salina (SAL + SAL). Os dados de frequência cardíaca (FC) dos animais tratados com salina e atropina nas doses supracitadas também não apresentaram alterações significativas em relação ao grupo de animais controles.

Os dados de PAM basal nos animais tratados foram: salina + salina (controle) (PAM basal=104,0 ± 2,0 mmHg); salina + atropina (2,5 nmol) (PAM basal=108,0 ± 4,0 mmHg); e salina + atropina (5,0 nmol) (PAM basal=107,0 ± 2,0 mmHg) (Tabela 2). As análises estatísticas da PAM mostraram que a variável tempo apresenta interação significativa com o tratamento [ $F_{(396,22)} = 3.449$   $p \leq 0.0001$ ], mas a variável tempo não apresentou efeito significativo nos resultados [ $F_{(396,44)} = 0.9044$   $p = 0.6481$ ], de maneira semelhante à variável tratamento [ $F_{(396,2)} = 1.929$   $p = 0.1742$ ].

Os dados de FC basal dos animais foram: salina + salina (controle) (FC basal=371 ± 8 bpm); salina + atropina (2.5 nmol) (FC basal=359 ± 20 bpm); e salina + atropina (5.0 nmol) (FC basal=373 ± 11bpm). As análises estatísticas da FC mostraram que a variável tempo apresenta interação significativa com o tratamento [ $F_{(396,22)} = 3.642 \leq 0.0001$ ], mas a variável tempo não apresentou efeito significativo nos resultados [ $F_{(396,44)} = 0.9180$  p= 0.6239], de maneira semelhante à variável tratamento [ $F_{(396,2)} = 0.3479$  p= 0.71082].

A



B

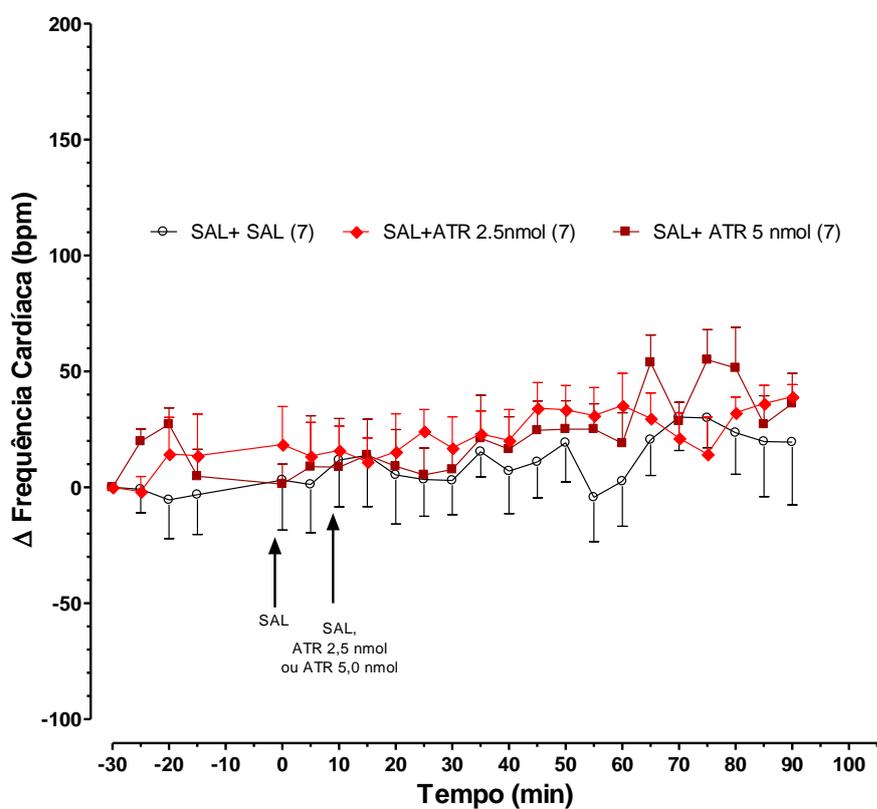


Figura 13: O bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos na ASM não altera a PAM(A) e FC(B) em animais não estressados. Os animais receberam atropina nas doses de 2,5 e 5,0 nmol. SAL+SAL (Salina 0,9% + Salina 0,9%), SAL+ATR 2,5 nmol (Salina 0,9% + Atropina 2,5 nmol) e SAL+ATR 5,0 nmol (Salina 0,9% + Atropina 5,0 nmol).

TABELA 2. Alterações na PAM em diferentes momentos das sessões experimentais de animais que receberam microinjeções de salina, ondansetrona (160 nmol) e atropina (2,5 e 5,0 nmol).

Drogas	PAM $\pm$ EPM (mmHg)	PERÍODO EXPERIMENTAL $\Delta$ PAM $\pm$ EPM (mmHg)					
	basal - 30 min	1ª injeção 0 min	2ª injeção 10 min	30 min	50 min	70 min	90 min
<i>Salina + Salina</i>	104,0 $\pm$ 2,0	1,2 $\pm$ 1,3	3,5 $\pm$ 1,3	1,5 $\pm$ 0,9	3,3 $\pm$ 1,8	3,7 $\pm$ 1,6	3,9 $\pm$ 1,8
<i>Salina + Atropina 2,5 nmol</i>	108,0 $\pm$ 4,0	1,7 $\pm$ 2,8	3,0 $\pm$ 1,0	6,7 $\pm$ 2,1	6,3 $\pm$ 3,8	7,5 $\pm$ 2,6	7,9 $\pm$ 2,5
<i>Salina + Atropina 5,0 nmol</i>	107,0 $\pm$ 2,0	2,8 $\pm$ 2,0	4,0 $\pm$ 1,4	2,4 $\pm$ 2,3	6,8 $\pm$ 1,5	2,3 $\pm$ 2,5	5,6 $\pm$ 2,8

Dados estão apresentados como média $\pm$ EPM. Os valores de PAM basal estão expressos em números absolutos. Após as microinjeções, os valores estão expressos como  $\Delta$ PAM. A análise estatística realizada foi ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ .

### Grupo Experimental III

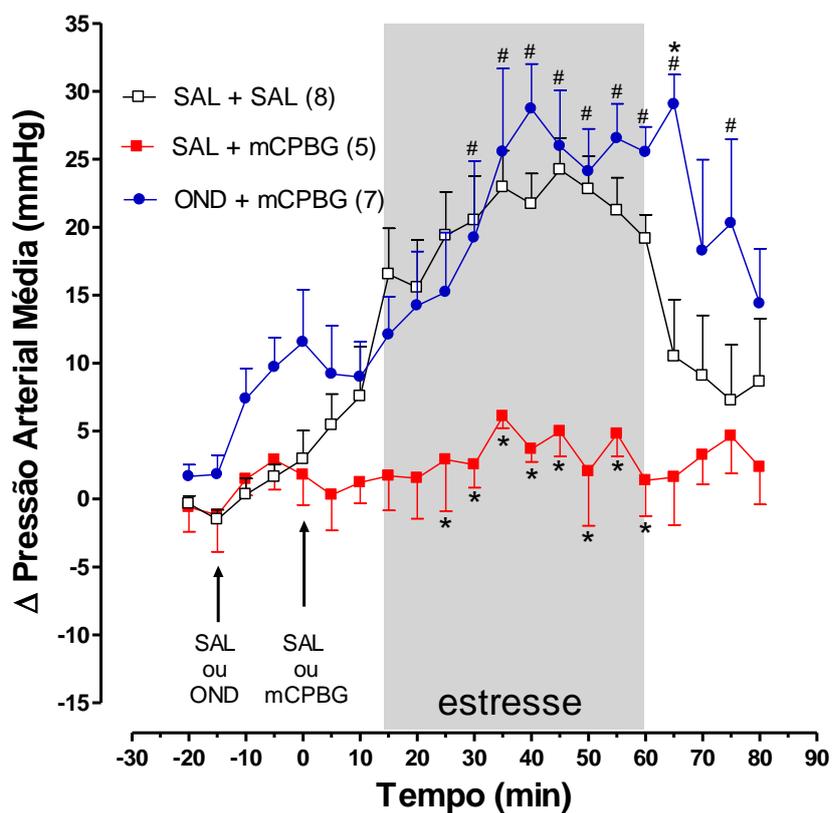
Grupos de animais foram submetidos ao estresse de restrição para a avaliação do efeito da estimulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM sobre as respostas cardiovasculares induzidas por estas condições adversas. Na figura 14 verifica-se o efeito da administração de m-CPBG na ASM sobre a PAM (A) e FC (B) durante o estresse de restrição. Os animais submetidos ao estresse de restrição que receberam a microinjeção de salina seguida da administração de m-CPBG, agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, na dose de 160 nmol (SAL + m-CPBG), apresentaram bloqueio da hipertensão induzida pelo estresse. Em contrapartida, os animais tratados previamente com ondansetrona na dose de 160 nmol, antagonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, e que receberam a microinjeção de m-CPBG, na mesma dose (OND + m-CPBG), mostraram aumento significativo da pressão arterial média durante o estresse, equivalente ao grupo controle analisado (SAL + SAL). Assim, o pré-tratamento com o antagonista serotoninérgico ondansetrona bloqueia o efeito anti-hipertensivo do m-CPBG no estresse.

Os animais que receberam salina seguida de m-CPBG na dose de 160 nmol (SAL + m-CPBG) apresentaram bloqueio da resposta taquicárdica induzida pelo estresse, enquanto o pré-tratamento com ondansetrona não apresentou efeito sobre a frequência cardíaca.

A PAM basal nos grupos de tratamento e controle foram: salina+salina (PAM basal=103,2 ± 2,1mmHg); salina+m-CPBG (160nmol) (PAM basal=109,4 ± 2,2 mmHg); e ondansetrona (160 nmol)+m-CPBG (160 nmol) (PAM basal=94,7 ± 4,1 mmHg) (Tabela 3). As análises estatísticas da FC mostraram que a variável tempo apresenta interação significativa com o tratamento [ $F_{(340,20)} = 14.42$   $p \leq 0.0001$ ], a variável tempo também apresentou efeito significativo nos resultados [ $F_{(340,40)} = 3.214$   $p \leq 0.0001$ ], de maneira semelhante à variável tratamento [ $F_{(340, 2)} = 11.21$   $p= 0.0008$ ].

A FC basal nos grupos de tratamento e controle foram salina+salina (FC basal=321,9 ± 13,54 bpm); salina+m-CPBG (160nmol) (FC basal=342,7 ± 16,0 bpm); e ondansetrona (160 nmol)+m-CPBG (160 nmol) (FC basal=310,0 ± 15,0 bpm). As análises estatísticas da FC mostraram que a variável tempo apresenta interação significativa com o tratamento [ $F_{(396,22)} = 3.642 \leq 0.000$ ], mas a variável tempo não apresentou efeito significativo nos resultados [ $F_{(396,44)} = 0.9180$   $p= 0.6239$ ], de maneira semelhante à variável tratamento [ $F_{(396,2)} = 0.3479$   $p= 0.71082$ ].

A



B

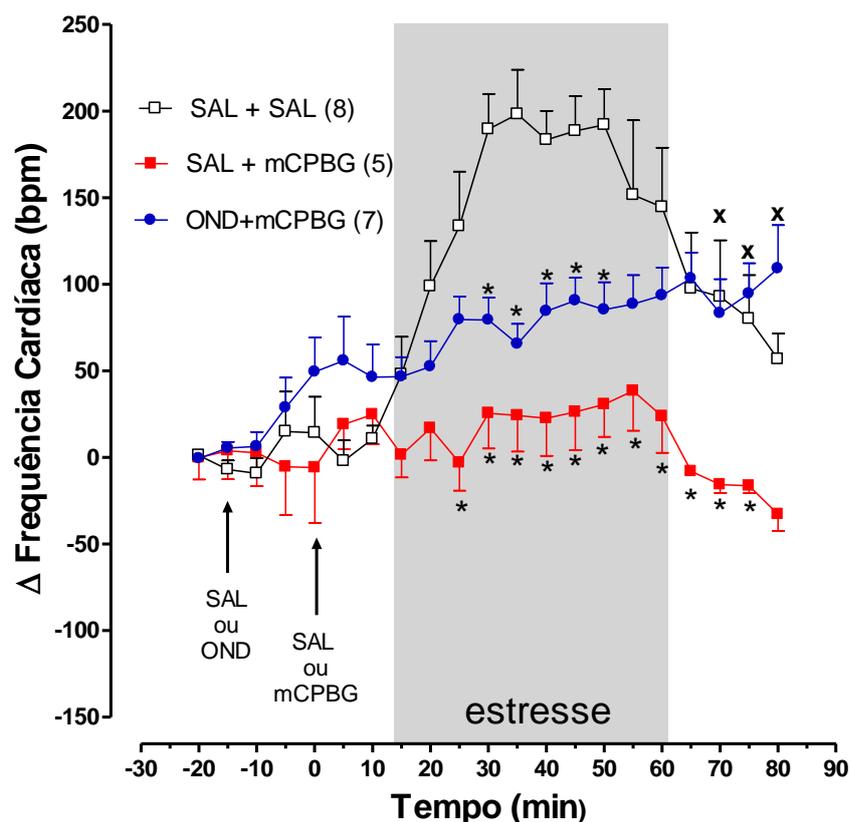


Figura 14. A estimulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> (m-CPBG) na ASM em animais submetidos a 45 minutos de estresse de restrição impede a resposta hipertensiva e taquicárdica induzida pelo estresse. Esta resposta hipotensora é totalmente dependente da via serotoninérgica na ASM, enquanto a bradicardia reflexa ao estresse é parcialmente dependente desta via (especificidade observada com o pré-tratamento com a ondansetrona). \*Diferença estatística significativa entre os tratamentos e o controle. #Diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo tratado com SAL + m-CPBG. X Diferença estatística significativa do grupo tratado com salina + m-CPBG em relação ao grupo tratado com Ondansetrona+m-CPBG.

TABELA 3. Alterações na PAM em diferentes momentos das sessões experimentais de animais que receberam microinjeções de salina, ondansetrona (160 nmol) e m-CPBG (160 nmol).

Drogas	PAM ± EPM (mmHg)	PERÍODO EXPERIMENTAL Δ PAM ± EPM (mmHg)					
		basal - 20 min	1ª injeção -15 min	2ª injeção 0 min	estresse		
				15 min	30 min	50 min	
<i>Salina + Salina</i>	103,2 ± 2,1	-1,5 ± 0,7	0,3 ± 1,2	5,4 ± 2,3	15,6 ± 3,5	21,7 ± 2,3	19,1 ± 1,8
<i>Salina + m-CPBG 160 nmol</i>	109,4 ± 2,2	1,8 ± 1,4	7,4 ± 2,2	9,2 ± 3,5	4,2 ± 4,0*	28,7 ± 3,3*	25,5 ± 1,9
<i>Ondansetrona + m-CPBG 160 nmol</i>	94,7 ± 4,1	-1,2 ± 2,7	1,5 ± 1,2	0,3 ± 2,6	1,5 ± 3,0#	3,7 ± 1,0#	1,4 ± 2,6#*

Dados estão apresentados como média±EPM. Os valores de PAM basal estão expressos em números absolutos. Após as microinjeções, os valores estão expressos como ΔPAM. A análise estatística realizada foi ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,0001$ . \*Diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina que não foi submetido ao estresse de restrição. #Diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina submetido ao estresse de restrição.+Diferença estatística entre os grupos tratados com mepiramina nas doses de 200 e 50 nmol.

## 6. DISCUSSÃO

No presente trabalho foi observado que: 1) o bloqueio dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>3</sub> localizados na ASM leva a hipertensão em animais não estressados; 2) a resposta hipertensiva induzida pelo bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM parece ser dependente da integridade dos receptores colinérgicos muscarínicos; 3) o bloqueio dos receptores colinérgicos muscarínicos, apenas, na ASM não altera a PAM e FC em animais não estressados e, 4) a estimulação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> impede a resposta hipertensiva e taquicárdica induzida pelo estresse de restrição.

A administração na ASM de 160 nmol de ondansetrona, antagonista seletivo dos receptores do tipo 5-HT<sub>3</sub>, leva ao aumento da PAM, mas não altera a FC, em animais não estressados. Dados anteriores do Laboratório de Neurociências (ICS–UFBA), mostraram que animais que receberam microinjeção intracerebroventricular (i.c.v.) de ondansetrona apresentam aumento da pressão arterial média (PAM) quando comparados ao grupo de animais controle. Além disso, a administração de ondansetrona intracerebroventricular não altera a FC, mas a resposta taquicárdica reflexa à hipotensão induzida por nitroprussiato de sódio mostra-se aumentada em animais que receberam ondansetrona (FERREIRA, 2004). Dessa forma, os receptores 5-HT<sub>3</sub> parecem apresentar um tônus inibitório no controle central da pressão sanguínea e esta resposta pode estar relacionada a um mecanismo simpatoinibitório (FERREIRA, 2004; URZEDO-RODRIGUES, 2011). Em outro estudo do Laboratório de Neurociências mostrou-se que a administração de

ondansetrona no Septo Medial/Banda Diagonal de Broca (SM/BDv) resulta em aumento da pressão arterial de maneira dose-dependente e agentes antagonistas dos receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos (prazosin) e AT<sub>1</sub> angiotensinérgicos (losartan) administrados por via intravenosa nestes animais bloqueiam a resposta hipertensiva induzida pela ondansetrona. O aumento de pressão induzido pelo bloqueio seletivo dos receptores 5-HT<sub>3</sub> parece estar relacionado com o aumento da atividade angiotensinérgica que, por sua vez, também estimula a atividade simpática. Além disso, é possível que a atividade simpática por si só possa responder pelo efeito hipertensivo da ondansetrona (FERREIRA, 2004; URZEDO-RODRIGUES, 2011).

A ASM é rica em corpos celulares, terminações nervosas e receptores colinérgicos, tanto muscarínicos quanto nicotínicos (MOOR, 1995; ROUSE, 1996). Assim como os receptores serotoninérgicos, os receptores colinérgicos presentes na ASM participam da regulação de atividades essenciais para a homeostase, como a regulação cardiovascular e o balanço fluido-eletrolítico (HAIBARA, 1992; COLOMBARI, 1994; BARBOSA, 1995; PAULIN, 2009). A administração de 5 nmol de atropina, antagonista competitivo dos receptores colinérgicos muscarínicos, previamente à injeção de ondansetrona (160 nmol) impede a resposta hipertensiva induzida pelo bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> presentes na ASM. A dose de 2,5 nmol de atropina utilizada neste grupo experimental não foi capaz de reverter as respostas cardiovasculares induzidas pelo bloqueio serotoninérgico na ASM. Assim, ação pressórica da ondansetrona parece depender também da integridade dos receptores colinérgicos muscarínicos nesta área. Em contrapartida, no presente trabalho foi observado que a administração isolada de atropina nas doses de 2,5 e 5,0 nmol na ASM não altera a PAM e FC, em animais não estressados. Provavelmente, não há liberação basal de acetilcolina (ACh) que promova alteração pressórica na ASM. A administração de atropina na ASM não afeta a resposta pressora induzida pela administração intraperitoneal de pilocarpina (agonista colinérgico muscarínico). A administração prévia de atropina ou a lesão eletrolítica na ASM reduzem a resposta pressórica e dipsogênica induzidas pela injeção intracerebroventricular do agonista colinérgico muscarínico, carbacol, mas não produz mudanças nas respostas induzidas pela injeção intracerebroventricular de ANG II (BARBOSA, 1995; PAULIN, 2009). De maneira semelhante, a injeção de carbacol na ASM em animais conscientes leva ao aumento da pressão arterial e bradicardia (HAIBARA, 1992; COLOMBARI, 1994; BARBOSA, 1995).

Diversos trabalhos têm demonstrado haver interação entre os receptores serotoninérgicos e colinérgicos (RAMIREZ, 1996; DIEZ-ARIZA, 2002; FINK, 2007), indicando que os receptores serotoninérgicos modulam a liberação de acetilcolina (ACh) em várias áreas cerebrais em diferentes espécies animais. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> parecem apresentar um tônus inibitório sobre a liberação da acetilcolina (LADDHA, 2012; FINK, 2007; RAMIREZ, 1996; MOOR, 1995). A ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> inibe a liberação da ACh em estudos *in vitro* do córtex de rato e humano. Por outro lado, o bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> facilita a liberação de ACh. No hipocampo e em diversas áreas corticais os receptores 5-HT<sub>3</sub> estão presentes em interneurônios GABAérgicos e a administração de antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> bloqueia a ação inibitória do GABA sobre as vias colinérgicas, aumentando assim a liberação de ACh. Assim, o bloqueio concomitante destes dois receptores poderia ser importante para a restauração da função colinérgica diminuída (RAMIREZ, 1996; DIEZ-ARIZA, 1998; DIEZ-ARIZA, 2002). Por outro lado, Kumari (2007) demonstrou que a administração de atropina intraperitoneal pode causar um aumento marcante no nível de serotonina no núcleo dorsal da rafe (NDR). A maioria dos trabalhos referentes à interação de receptores serotoninérgicos e colinérgicos estão relacionados a memória ou a doenças neurodegenerativas e não há ainda dados mostrando o papel desses receptores presentes na ASM sobre a regulação cardiovascular. De fato, há uma importante interação entre os receptores colinérgicos muscarínicos e os receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>3</sub> na regulação da pressão sanguínea, como mostrado no presente estudo.

Em estudos anteriores do Laboratório de Neurociências (ICS – UFBA) mostrou-se que a administração do m-CPBG na dose de 160 nmol, agonista seletivo dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, intracerebroventricular, reduz a pressão sanguínea (FERREIRA, 2004) enquanto a administração no SM/BDv (Septo Medial/Banda Diagonal de Broca) não altera a PAM, em animais não estressados (URZEDO-RODRIGUES, 2011). Dessa maneira, neste trabalho foi analisada a ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> localizados na ASM em animais estressados e observou-se que a administração do m-CPBG impede a resposta hipertensora e taquicárdica induzida pelo estresse. A administração prévia de ondansetrona reverte o controle da PAM desempenhado pelo m-CPBG, o que sugere que a hipertensão, no estresse, depende totalmente da via serotoninérgica na ASM. Na FC, o pré-tratamento com a ondansetrona altera de maneira parcial a resposta do tratamento com o m-CPBG apenas, provavelmente porque a FC é modulada por outras vias além da

serotoninérgica e, assim, mesmo com o bloqueio serotoninérgico a resposta taquicárdica apresenta-se parcialmente. Estes resultados corroboram dados anteriores do laboratório que mostraram que a administração de m-CPBG no 3º ventrículo bloqueia o aumento na PAM e na FC induzidos pelo estresse (FERREIRA, 2004). Ferreira e cols (2004) observaram que a administração intracerebroventricular de ondansetrona (160 nmol) não gera alteração na PAM em animais estressados, provavelmente porque a pressão já está alta e a ondansetrona não leva a aumento adicional. A soma de vários mecanismos hipertensivos integrados relacionados à resposta ao estresse e exercidos por diferentes neurotransmissores pode ultrapassar o efeito inibitório dependente dos receptores 5-HT<sub>3</sub> (FERREIRA, 2004). Dessa maneira, a ação da ondansetrona, apenas, nas respostas ao estresse não foi verificada e foi dado enfoque para ação do agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, m-CPBG, na ASM, que não havia mostrado influência cardiovascular em trabalhos anteriores com animais não estressados.

A serotonina está envolvida na regulação das respostas adaptativas ao estresse em diversas áreas centrais. O estresse pode ser definido de maneira ampla como uma reação do organismo a estímulos internos ou externos que são interpretados como perturbações à homeostase e ameaças à sobrevivência (ULRICH-LAI, 2010; MORA, 2012). A excitação ou a sensação de perigo geralmente produz o perfil comportamental padrão chamado de resposta de fuga ou luta (ou reação de alerta). Em determinadas circunstâncias, como a prática de atividades físicas, o despertar de emoções, a dor, o estresse e a hemorragia, a pressão arterial deve permanecer equilibrada para que a homeostase seja mantida (MOHRMAN, 2007). A exposição a condições estressantes gera uma série de respostas adaptativas no intuito de garantir maior chance de sobrevivência ao indivíduo e, de maneira geral, todas as partes do corpo são influenciadas pelo estímulo estressante, mas os sistemas cardiovascular, neuroendócrino, imune e gastrointestinal são os principais sistemas alvos do estresse (MORA, 2012). A resposta cardiovascular ao estímulo estressante é caracterizada pelo aumento da atividade simpática e pela redução da atividade parassimpática levando a taquicardia, hipertensão, redistribuição do fluxo sanguíneo, aumento da contratilidade do coração, do débito cardíaco, do tônus vascular e da resistência vascular periférica (BUSNARDO, 2010; LOURES, 2002; PACÁK, 2001). A resposta neuroendócrina ao estresse é considerada um importante mecanismo de reação a estímulos ameaçadores e a regulação da função neuroendócrina apresenta influência fundamental dos neurônios

serotoninérgicos (CARRASCO, 2003). Evidências indicam que a síntese e a liberação de serotonina (5-HT) estão relacionadas à resposta a estímulos estressantes. A exposição ao estresse agudo leva ao aumento do metabolismo da 5-HT em várias regiões centrais e a concentração extracelular de 5-HT em diversas áreas centrais é aumentada após diferentes tipos de estímulos estressantes (ADELL, 1997). O estresse de restrição, por exemplo, tem sido relacionado a síntese e metabolismo de serotonina em algumas áreas do sistema límbico. O sistema nervoso autônomo e o eixo hipotálamo – hipófise – adrenal estão diretamente relacionados as respostas adaptativas ao estresse (ULRICH-LAI, 2010) e os neurônios serotoninérgicos parecem interagir com neurônios contendo fator de liberação da corticotrofina (CRF). Além disso, a liberação de alguns hormônios induzida pelo estresse pode ser mediada pelo bloqueio de receptores 5-HT<sub>3</sub> (CARRASCO, 2003). No presente trabalho observou-se que a ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> presentes na ASM exerce tônus inibitório sobre a hipertensão induzida por estresse.

Os receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> foram alvos deste trabalho por estarem diretamente relacionados à regulação de atividades essenciais à homeostase e o papel destes receptores ainda não está completamente esclarecido. Os receptores 5-HT<sub>3</sub> participam das respostas ansiolíticas, antipsicóticas, cognitivas e, na medicina, os antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub> são usados para o tratamento de náuseas e vômito, associados à profilaxia do câncer, além de ter participação no tratamento de doenças como a síndrome do intestino irritável e Mal de Alzheimer. Na literatura, a investigação da participação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> presentes na ASM no controle central da pressão sanguínea é escassa. Dados do Laboratório de Neurociências (ICS – Universidade Federal da Bahia) e da literatura (FERREIRA, 2004, CALARESU, 1976, SAXENA, 1995, COLERIDGE, 1980) mostram que os receptores 5-HT<sub>3</sub> centrais estão intimamente relacionados à regulação da pressão sanguínea. A administração sistêmica de m-CPBG, agonista dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, gera redução da pressão sanguínea e da frequência cardíaca (COLERIDGE, 1980). A importância do conhecimento sobre as funções e atuação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> está relacionada ao papel fisiológico e clínico destes receptores.

## 7. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho permitem sugerir que os receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> localizados na ASM participam da regulação cardiovascular em condições basais e no estresse. O bloqueio dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM gera uma resposta hipertensora que parece depender da integridade dos receptores colinérgicos muscarínicos na mesma área, em animais não estressados. A liberação basal de acetilcolina (ACh) parece não estar relacionada à atividade cardiovascular na ASM, uma vez que, em animais não hipertensos/estressados o bloqueio dos receptores muscarínicos não altera a PAM e FC. Por outro lado, a ativação dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> na ASM impede as respostas cardiovasculares hipertensora e taquicárdica induzidas pelo estresse de restrição e esta resposta pressora está totalmente relacionada a via serotoninérgica na ASM, enquanto a FC é alterada apenas parcialmente pelo bloqueio serotoninérgico prévio, o que sugere que a FC possa estar sendo modulada por outras vias neurotransmissoras além da serotoninérgica, nas condições de estresse.

## 8. RECOMENDAÇÕES

O sistema cardiovascular apresenta papel fundamental na manutenção da homeostase e a regulação deste sistema está intimamente relacionada com a sobrevivência. Os sistemas no corpo encontram-se, geralmente, em equilíbrio dinâmico e as perturbações externas e internas podem desencadear alterações fisiológicas a nível neural e sistêmico. Diversas circunstâncias, como estímulos estressantes (físicos, psicológicos e fisiológicos) e doenças agudas ou crônicas podem levar a alterações na pressão sanguínea. A maquinaria responsável pela regulação cardiovascular é bastante diversa e, apesar do conhecimento sobre a atividade cardiovascular ser amplo, há algumas etapas que ainda não estão completamente definidas.

O presente trabalho contribui para a elucidação da participação da área septal medial e das vias serotoninérgicas e colinérgicas nos mecanismos neurais de regulação cardiovascular. Dados anteriores do laboratório, com injeções intracerebroventriculares, mostraram que a ativação dos receptores 5-T<sub>3</sub> leva a redução da pressão sanguínea, provavelmente por um mecanismo simpatoinibitório, enquanto o bloqueio desses receptores leva ao aumento da pressão sanguínea. Além disso, em outro estudo do laboratório foi observado que a ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> no MS/BDv não altera a pressão sanguínea. Diante dos resultados anteriores, optou-se por avaliar o efeito da ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub> na ASM na resposta cardiovascular ao estresse e as possíveis interações entre as vias serotoninérgicas e colinérgicas na regulação cardiovascular.

As vias serotoninérgicas e colinérgicas estão relacionadas a diversas atividades essenciais à homeostase e encontram-se amplamente distribuídas no sistema nervoso central. Essas vias interagem intensamente e participam de atividades como a regulação cardiovascular e o equilíbrio hidro-eletrolítico, além disso, as vias colinérgicas apresentam papel fundamental na memória e em outras atividades cognitivas. A interação entre as vias serotoninérgicas e colinérgicas é bastante consolidada, mas a maior parte dos trabalhos relacionados a esta interação refere-se a atividades cognitivas e doenças neurológicas (Mal de Alzheimer, Parkinson, entre outras). A investigação da interação dessas vias sobre a regulação da atividade cardiovascular parece ser fundamental para a

compreensão das respostas cardiovasculares em condições normais e associadas ao estresse e a doenças, além da descoberta de novos mecanismos regulatórios.

A elaboração de trabalhos que permitam identificar os sistemas de neurotransmissão relacionados com a regulação cardiovascular e as possíveis interações entre as diversas vias centrais é necessária para o esclarecimento e melhor compreensão dos resultados encontrados.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELL, A.; CASANOVAS, J.M.; ARTIGAS, F. Comparative Study in the Rat of the Actions of Different Types of Stress on the Release of 5-HT in Raphe Nuclei and Forebrain Areas. *Neuropharmacology*, v. 36, n. 4/5, p. 735-741, 1997.

ALREJA, M. Excitatory Actions of Serotonin on GABAergic Neurons of the Medial Septum and Diagonal Band of Broca, *Journal Synapse*, v. 22, p. 15-27, 1996.

BANDLER, R.; KEAY, K.A.; FLOYD, N.; PRICE, J. Central circuits mediating patterned autonomic activity during active vs. passive emotional coping. *Brain Research Bulletin*, v. 53, n. 1, p. 95–104, 2000.

BARBOSA, S.P.; FRATUCCI DE GOBBI, J.I.; ZILIOI, L.; CAMARGO, L.A.A.; SAAD, W.A.; RENZI, A.; DE LUCA, L.A. JR.; MENANI, J.V. Role of Cholinergic and Adrenergic Pathways of the Medial Septal Area in the Water Intake and Pressor Response to Central Angiotensin II and Carbachol in Rats. *Brain Research*, v. 37, n. 5, p. 463-466, 1995.

BARNES, N.M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their functions. *Neuropharmacology*, v. 38, p. 1083–1152, 1999.

BELL, A.A.; BUTZ, B.L.; ALPER, R.H. Cardiovascular Responses Produced by Microinjection of Serotonin-Receptor Agonists into the Paraventricular Nucleus in Conscious Rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 33, p. 175-180, 1999.

BERGER, M.; GRAY, J.A.; ROTH, B.L. The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, v. 60, p. 355–366, 2009.

BUISSON-DEFFERIER, S.; VAN DEN BUUSE, M. Cardiovascular Effects of the 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Ligand, MDL 73005EF, in Conscious Spontaneously Hypertensive Rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 223, p. 133-141, 1992.

BUSNARDO, C.; TAVARES, R.F.; RESSTEL, L.B.M.; ELIAS, L.L.K.; CORREA, F.M.A. Paraventricular Nucleus Modulates Autonomic and Neuroendocrine Responses to Acute

Restraint Stress in Rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, v. 158, p. 51–57, 2010.

CALARESU, F.R.; CIRIELLO, J.; MONGENSON, G.J. Identification of Pathways Mediating Cardiovascular Response Elicited by Estimulation of the Septum in the Rat. *The Journal of Physiology*, v. 260, p. 515-530, 1976.

CAO, C.; HAN, J.H.; KIM, S.Z.; CHO, K.W.; KIM, S.H. Diverse Regulation of Atrial Natriuretic Peptide Secretion by Serotonin Receptor Subtypes. *Cardiovascular Research*, v. 59, p. 360-368, 2003.

CARRASCO, G.A.; VAN DE KAR, L.D. Neuroendocrine Pharmacology of Stress. *European Journal of Pharmacology*, v. 463, p. 235–272, 2003.

CHANDRA, M.; CHANDRA, N. Serotonergic Mechanisms in Hypertension. *International Journal of Cardiology*, v. 42, p. 189–196, 1993.

COLERIDGE, H.M.; COLERIDGE, J.C. Cardiovascular Afferents Involved in Regulation of Peripheral Vessels. *Annual Review of Physiology*, v. 42, p. 413-427, 1980.

COLOMBARI, D.S.A.; HAIBARA, A.S.; CAMARGO, L.A.A.; SAAD, W.A.; RENZI, A. DE LUCA, L.A., JR; MENANI, J.V. Role of the Medial Septal Area on the Cardiovascular, Fluid and Electrolytic Responses to Angiotensin II and Cholinergic Activation into the Subfornical Organ in Rats. *Brain Research*, v. 33, p. 249-254, 1994.

CÔTÉ, F.; FLIGNY, C.; FROMES, Y.; MALLET, J.; VODJDANI, G. Recent Advances in Understanding Serotonin Regulation of Cardiovascular Function. *Trends in Molecular Medicine*, v. 10, p. 233-238, 2004.

DABIRÉ, H.; CHERQUI, C.; FOURNIER, B.; SCHMITT, H. Comparison of Effects of some 5-HT<sub>1</sub> Agonists on Blood Pressure and Heart Rate of Normotensive Anaesthetized Rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 140, p. 259–266, 1987.

DE VRIES, P.; HEILIGERS, J.P.; VILLALÓN, C.M.; SAXENA, P.R. Blockade of Porcine Carotid Vascular Response to Sumatriptan by GR 127935, a Selective 5-HT<sub>1D</sub> Receptor Antagonist. *British Journal of Pharmacology*, v. 118, p. 85-92, 1996.

DIEZ-ARIZA, M.; GARCÍA-ALLOZA, M.; LASHERAS, B.; DEL RÍO, J.; RAMÍREZ, M.J. GABA<sub>A</sub> receptor antagonists enhance cortical acetylcholine release induced by 5-HT<sub>3</sub> receptor blockade in freely moving rats. *Brain Research*, v. 956, p. 81-85, 2002.

DIEZ-ARIZA, M.; RAMÍREZ, M.J.; LASHERAS, B.; DEL RÍO, J. Differential Interaction Between 5-HT<sub>3</sub> Receptors And GABAergic Neurons Inhibiting Acetylcholine Release in Rat Entorhinal Cortex Slices. *Brain Research*, v. 801, p. 228-232, 1998.

DUBIN, A.E.; HUVAR, R.; D'ANDREA, M.R.; PYATI, J.; ZHU, J.Y.; JOY, K.C.; WILSON, S.J.; GALINDO, J.E.; GLASS, C.A.; LUO, L.; JACKSON, M.R.; LOVENBERG, T.W.; ERLANDER, M.G. The Pharmacological and Functional Characteristics of the Serotonin 5-HT(3A) Receptor are Specifically Modified by a 5-HT(3B) Receptor Subunit. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 274, p. 30799- 30810, 1999.

DUXON, M.S.; FLANIGAN, T.P.; REAVLEY, A.C.; BAXTER, G.S.; BLACKBURN, T.P.; FONE, K.C. Evidence for Expression of the 5-Hydroxytryptamine-2B Receptor Protein in the Rat Central Nervous System. *Neuroscience*, v. 76, p. 323–329, 1997.

FERREIRA, H.S.; DE CASTRO E SILVA, E.; COINTEIRO, C.; OLIVEIRA, E.; FAUSTINO, T.N.; FREGONEZE, J.B. Role of Central 5-HT<sub>3</sub> Receptors in the Control of Blood Pressure in Stressed and Non-Stressed Rats. *Brain Research*, v. 1028, p. 48-58, 2004.

FILIP, M.; BADER, M. Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological Reports*, v. 61, p. 761-777, 2009.

FINK, K.B.; GOTHERT, M. 5-HT Receptor Regulation of Neurotransmitter Release. *Pharmacological Reviews*, v. 59, n.4, p. 360-417, 2007.

FRANCO, J.A.T. PROGRAMA DEL CURSO NEUROBIOQUÍMICA. Disponível em:<<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/programneuro.htm>>. Acesso em: 20 de Junho de 2012.

FREGONEZE, J.; OLIVEIRA, E.; RIBEIRO, V.; FERREIRA, H.; DE CASTRO E SILVA, E. Multiple opioid receptors mediate the hypotensive response induced by central 5-HT<sub>3</sub> receptor stimulation. *Journal Neuropeptides*, v. 45, p. 219–227, 2011.

GAVELLO-BAUDY, S.; MERRER, J.; DECORTE, L.; DAVID, V.; CAZALA, P. Self-administration of the GABAA agonist muscimol into the medial septum: dependence on dopaminergic mechanisms. *Psychopharmacology*, v. 201, n. 2, p. 219-228, 2008.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Tratado de Fisiologia Médica (Tradução de Bárbara de Alencar Martins et al), 11 ed, 4ª tiragem. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HAIBARA, A.S.; SAAD, W.A.; CAMARGO, A.A.; MENANI, J.V.; RENZI, A.; DE LUCA, L.A., JR.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Opiate Activation Suppresses the Drinking, Pressor and Natriuretic Responses Induced by Cholinergic Stimulation of the Medial Septal Area. *Brain Research*, v. 28, p. 155-160, 1992.

HANNA, M.C.; DAVIES, P.A.; HALES, T.G.; KIRKNESS, E.F. Evidence for Expression of Heteromeric Serotonin 5-HT(3) Receptors in Rodents. *Journal of Neurochemistry*, v. 75, p. 240-247, 2000.

HASSANZADEH, G.R.; BEHZADI, G. Projections of Dorsal and Median Raphe Nuclei to Dorsal and Ventral Striatum. *Acta Medica Iranica*, v. 45, n. 5, p. 339-344, 2007.

HELLWEG, R.; THOMAS, H.; ARNSWALD, A.; VON RICHTHOFEN, S.; KAY, S.; FINKB, H.; MORGENSTERNB, R.; HORTNAGLB, H. Serotonergic lesion of median raphe nucleus alters nerve growth factor content and vulnerability of cholinergic septohippocampal neurons in rat. *Brain Research*, v. 907, p. 100–108, 2001.

HUO, R.; CHEN, C.; CHEN, Y.; LI, Z.; HOU, Y.; DONG, D. 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists protect against pressure overload-induced cardiac hypertrophy in murine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 2, n. 1, p. 16–22, 2012.

KUHN, D.M.; WOLF, W.A.; LOVENBERG, W. Review of the Role of the Central Serotonergic Neuronal System in Blood Pressure Regulation. *Hypertension*, v. 2, p. 243-255, 1980.

KUMARI, A.; SREETAMA, S.; MOHANAKUMAR, K.P. Atropine, a Muscarinic Cholinergic Receptor Antagonist Increases Serotonin, but Not Dopamine Levels in Discrete Brain Regions of Mice. *Neuroscience Letters*, v. 423, p. 100-103, 2007.

LADDHA, G.P.; VIDYASAGAR, G.; BAVASKAR, S.R.; BAILE, S.B.; SURALKAR, S.S. Serotonin: A Dive of Pleasure and Misery. *Der Pharmacia Lettre*, v. 4, n.2, p.443-455, 2012.

LAER, S.; REMMERS, F.; SCHOLZ, H.; STEIN, B.; MULLER, F.U.; NEUMANN, J. Receptor Mechanisms Involved in the 5-HT-Induced Inotropic Action in the Rat Isolated Atrium. *British Journal of Pharmacology*, v. 123, p. 1182–1188, 1998.

LAM, D.D.; GARFIELD, A.S.; MARSTON, O.J.; SHAW, J.; HEISLER, L.K. Brain Serotonin System in the Coordination of Food Intake and Body Weight. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 97, p. 84-91, 2010.

LANFUMEY, L.; HAMON, M. 5-HT<sub>1</sub> receptors. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders*, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2000.

LIGHTMAN, S.L.; EVERITT, B.J. *Neuroendocrinology*. Blackwell Scientific Publications, cap. 13, p. 331-359, 1986.

LOURES, D.L.; SANT'ANNA, I.; BALDOTO, C.S.R.; SOUZA, E.B.; NÓBREGA, A.C.L. Estresse Mental e Sistema Cardiovascular. *Revista Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 78, n. 5, p. 525-30, 2002.

MARTIN, G.R. Vascular Receptors for 5-Hydroxytryptamine: Distribution, Function and Classification. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 62, p. 283-324, 1994.

MASSON, J.; EMERIT, M.B.; HAMON, M.; DARMON, M. Serotonergic signaling: multiple effectors and pleiotropic effects. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, doi: 10.1002/wmts.50, 2012.

MOHRMAN, D.E.; HELLER, L.J. (Tradução Adriana Rozentul, Denise Costa Rodrigues). *Fisiologia Cardiovascular*, 6 ed, p.1-17. São Paulo: McGraw-Hill, 2007.

MOOR, E.; DEBOER, P.; AUTH, F.; WESTERINK, B.H.C. Characterisation of Muscarinic Autoreceptors in the Septo-hippocampal System of the Rat: a Microdialysis Study. *European Journal of Pharmacology*, v. 294, p. 155-161, 1995.

MORA, F.; SEGOVIA, G.; DEL ARCOA, A.; DE BLASA, M.; GARRIDO, P. Stress, Neurotransmitters, Corticosterone and Body–Brain Integration. *Brain Research*, Article in Press, 2012.

PACÁK, K.; PALKOVITS, M. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. *Endocrine Reviews*, v. 22, n. 4, p. 502–548, 2001.

PAULIN, R.F.; MENANI, J.V.; COLOMBARI, E.; DE PAULA, P.M.; COLOMBARI, D.S.A. Role of the Medial Septal Area on Pilocarpine-induced Salivary Secretion and Water Intake. *Brain Research*, v. 1298, p. 145-152, 2009.

PAXINOS, G.; WATSON, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego, California: Academic Press, 4 ed., 1998.

RAMAGE, A.G. Central Cardiovascular Regulation and 5 – hydroxytryptamine receptors. *Brain Research*, v. 56, n. 5, p. 425–439, 2001.

RAMIREZ, M.J.; CENARRUZABEITIA, E.; LASHERAS, B.; DEL RIO, J. Involvement of GABA Systems in Acetylcholine Release Induced by 5-HT<sub>3</sub> Receptor Blockade in Slices from Rat Entorhinal Cortex. *Brain Research*, v. 712, p. 274-280, 1996.

ROUSE, S.T.; LEVEY, A.I. Expression of m1-m4 Muscarinic Acetylcholine Receptor Immunoreactivity in Septohippocampal Neurons and Other Identified Hippocampal Afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 375, p. 406-416, 1996.

SAAD, W.A.; CAMARGO, L.A.A.; GUARDA, I.F.M.S.; DOS SANTOS, T.A.F.B.; GUARDA, R.S.; SAAD, W.A.; SIMÕES, S.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Interaction Between Supraoptic Nucleus and Septal Area in the Control of Water, Sodium Intake and Arterial Blood Pressure Induced by Injection of Angiotensin II. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 77, p. 667–674, 2004.

SAXENA, P. Serotonin Receptors: Subtypes, Functional Responses and Therapeutic Relevance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 66, p. 339-368, 1995.

SAXENA, P.R.; VILLALÓN, C.M. 5-Hydroxytryptamine: a Chameleon in the Heart. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 12, p. 223-227, 1991.

SHERWOOD, L. *Fisiologia Humana: das células aos sistemas*, 7 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

SILBERNAGL, S.; DESPOPOULOS, A. *Fisiologia: Texto e Atlas (Tradução Ludmila de Campos Fruchi)*, 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

ULRICH-LAI, Y.M.; CHRISTIANSEN, A.M.; OSTRANDER, M.M.; JONES, A.A.; JONES, K.R.; CHOI, D.C.; KRAUSE, E.G.; EVANSON, N.K.; FURAY, A.R.; DAVIS, J.F.; SOLOMON, M.B.; KLOET, A.D.; TAMASHIRO, K.L.; SAKAI, R.R.; SEELEY, R.J.; WOODS, S.C.; HERMAN, J.P. Pleasurable Behaviors Reduce Stress Via Brain Reward Pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 107, n. 47, p. 20529–20534, 2010.

URZEDO-RODRIGUES, L.S.; FERREIRA, H.S.; ALMEIDA, D.O.; MEDEIROS, J.P.; BATISTA, A.; DE CASTRO E SILVA, E.; FREGONEZE, J.B. Blockade Of 5-HT<sub>3</sub> Receptors at Septal Área Increase Blood Pressure in Unanaesthetized Rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, v. 159, p. 51-61, 2011.

THINDSCHIMITD, J.S.; FRAZIER, C.J.; KING, M.A.; MEYER, E.M.; PAPKE, R.L. Septal innervation regulates the function of  $\alpha 7$  nicotinic receptors in CA1 hippocampal interneurons. *Experimental Neurology*, v. 195, p. 342 – 352, 2005.

VILLALÓN, C.M.; DE VRIES, P.; SAXENA, P.R. Serotonin Receptors as Cardiovascular Targets. *Drug Discovery Today*, v. 2, n. 7, p. 294-300, 1997.

WHITE, A.M. *What Happened? Alcohol, Memory Blackouts, and the Brain*, 2004. Disponível em: < <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh27-2/186-196.htm> >. Acesso em: 20 de Junho de 2012.