

DIOZE GUADAGNINI

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia Médica, Área Medicina Experimental
Campinas, 28 de fevereiro de 2005.

Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo
Orientador



**ESTUDO DA FILTRAÇÃO GLOMERULAR E DA MANIPULAÇÃO
TUBULAR RENAL DE SÓDIO EM ANIMAIS NORMOTENSOS
E HIPERTENSOS SUBMETIDOS À INJEÇÃO
INTRACEREBROVENTRICULAR DE SOLUÇÃO SALINA
HIPERTÔNICA: Influência da Denervação Renal Bilateral**

CAMPINAS

2005

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

DIOZE GUADAGNINI

**ESTUDO DA FILTRAÇÃO GLOMERULAR E DA MANIPULAÇÃO
TUBULAR RENAL DE SÓDIO EM ANIMAIS NORMOTENSOS
E HIPERTENSOS SUBMETIDOS À INJEÇÃO
INTRACEREBROVENTRICULAR DE SOLUÇÃO SALINA
HIPERTÔNICA: Influência da Denervação Renal Bilateral**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Fisiopatologia Médica, área de concentração em
Medicina Experimental.*

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ ANTONIO ROCHA GONTIJO

CAMPINAS

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/Unicamp
	G93e
V	EX
TOMBO BC/	64443
PROC.	16-P-00086-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	22/06/05
Nº CPD	

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS UNICAMP
 Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Bibid: 353662

G93e

Guadagnini, Dioze

Estudo da filtração glomerular e da manipulação tubular renal de sódio em animais normotensos e hipertensos submetidos à injeção intracerebroventricular de solução salina hipertônica: influência da denervação renal bilateral / Dioze Guadagnini. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : José Antonio Rocha Gontijo

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipertensão. 2. Natriurese. 3. Pressão arterial. 4. Hipertensão arterial. 5. Sistema Nervoso Simpático. I. Gontijo, José Antonio Rocha. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

(slb/fcm)

Banca examinadora de Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo

Membros:

1. Prof. Dr. José Francisco Figueiredo

2. Profª Drª Maria José Queiroz de Freitas Alves

3. Profª Drª Patricia Aline Bôer

Curso de pós-graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 28.02.2005

*Dedico este trabalho
com muito amor aos meus pais,
José Luís e Lúcia,
por terem sido meus primeiros mestres e modelo,
e aos meus irmãos, Diorles e Diogo.
Obrigada por acreditarem na realização deste sonho.*

“A Deus: Todo poder, toda honra e toda a glória”.

A Deus, por iluminar sempre o meu caminho, guiar os meus passos e conceder-me sabedoria, principalmente nos momentos de decisão.

Ao Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo, pela orientação segura, principalmente, pela confiança em mim depositada e pelos constantes incentivos durante a realização deste trabalho. Sempre em sintonia com a ciência e a arte de viver; dignidade, compreensão, firmeza e tolerância: referência ética em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. José Francisco Figueiredo, por ter aberto as portas do seu laboratório para a complementação de muitos itens deste trabalho e pela constante presença sábia.

À valiosa colaboração de todos os professores, mestres e sábios que já passaram pela minha vida, desde minhas primeiras garatujas até a formação mais complexa que pude alcançar. Em especial ao professor Elias Campos, referência de dignidade, luta e coragem, ao professor Luis Carlos Picca pelas encantadoras aulas durante a graduação e a professora Miriam M. O. Levada referência de dignidade e ética.

Aos amigos e colegas do laboratório que colaboraram com os experimentos, em especial, Adilton, Bety, Amanda, Keren, Noemi e Ivone.

A todos os colegas e funcionários do NMCE da Unicamp que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

A minha mãe, por ter me dado a vida como presente, pela árdua tarefa de Amar e Educar de forma tão sublime. Obrigada por tudo, principalmente pelo exemplo de fé, força, coragem e referência como Mulher e Mãe.

Ao meu pai, pela confiança em mim sempre depositada e, pelo melhor dos investimentos que pode ter feito: a educação de seus filhos. Obrigada pela força inexplicável de viver.

Aos meus irmãos, agradeço a paciência, o carinho e os risos alegres dispensados durante esta jornada.

Aos meus avós João e Luzia; Santo e Odila. Agradeço as orações e o carinho delicioso que vocês têm para comigo. Obrigada pela compreensão dos momentos em que estive ausente.

Ao meu querido Werner, pelo incessante apoio e incentivo durante esta jornada. Obrigada pelo companheirismo, pela paciência e, principalmente, pelas muitas vezes que segurou as minhas mãos e olhou serenamente em meus olhos.

A minha querida Helena pela doce e constante presença em minha vida. Obrigada pelo gostinho inexplicável de felicidade que me proporciona todas as vezes que me chama de “Madrinha”.

Ao CNPq (nº500868/91-3), PRONEX (0134/97), CAPES e FAPESP (00/12216-8) pelo auxílio financeiro a este estudo.

E, finalmente, agradeço a todos que, ultrapassando seus limites e tentando atingir seus sonhos, fornecem uma inspiração constante.

“Os jovens se cansam e se fatigam, e os moços de exaustos caem, mas os que esperam no Senhor renovam as sua forças, sobem com asas como águias, correm e não se cansam, caminham e não se fatigam”.

Isaías 40: 30-31

“O homem faz seus projetos, mas a resposta vem de Deus. A pessoa pode achar que sua conduta é certa, mas é Deus quem examina as consciências. Confie a Deus o que você faz, e seus projetos se realizarão”.

Provérbios 16: 1-3

	PÁG.
RESUMO.....	xxix
ABSTRACT.....	xxxiii
1- INTRODUÇÃO.....	37
1.1- Regulação do volume extracelular: mecanismos de reabsorção e excreção de íons sódio e água.....	43
1.2- Rato espontaneamente hipertenso (SHR).....	46
1.3- O fator sódio relacionado a distúrbios hormonais e neurais.....	49
1.4- Mecanismos neurais na gênese hipertensiva.....	50
1.5- Anormalidade das vias integrativas do sistema nervoso central.....	51
1.6- Fatores neurogênicos na hipertensão arterial humana.....	52
1.7- Ingestão de sódio e atividade autonômica simpática.....	53
1.8- Controle neural da excreção renal de sódio.....	54
1.9- Estímulo hipertônico no SNC.....	56
2- OBJETIVOS.....	59
2.1- Objetivo geral.....	61
2.2- Objetivos específicos.....	61
3- MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
3.1- Determinação da pressão arterial média.....	65
3.2- Manipulação cirúrgica.....	66
3.2.1- Implante da cânula intracerebroventricular.....	66
3.2.2- Denervação renal bilateral.....	69
3.3- Desenho experimental.....	72
3.3.1- Estudo funcional em gaiolas metabólicas.....	72
3.3.2- Constituição dos grupos experimentais.....	75
3.3.2.1- Desenho experimental Protocolo I.....	75
3.3.2.1.1- Protocolo I – NaCl i.c.v. nas concentrações 0.15, 0.30, 0.60 e 0.90M.....	75

3.3.2.2- Desenho experimental Protocolo II.....	76
3.3.2.2.1- Protocolo II – NaCl i.c.v. 0.90M em animais	
Dx e “Sham”	76
3.3.2.3- Representação esquemática.....	77
3.4- Avaliação funcional do nefro.....	78
3.4.1- “Clearance” de creatinina (CCr).....	78
3.4.2- “Clearance” de lítio (CLi).....	79
3.4.3- Descrição dos parâmetros funcionais a serem analisados.....	80
3.4.4- Fórmulas convencionais para cálculos de “clearances” e de fracção de excreção.....	83
3.4.5- Cálculos utilizados para avaliar o manuseio tubular de sódio, elaboradas a partir do “clearance” de lítio que é o marcador da reabsorção de sódio pelo túbulo proximal renal.....	84
3.5- Descrição das avaliações metodológicas.....	84
3.6- Análise dos parâmetros funcionais.....	84
3.7- Análise estatística.....	85
4- ARTIGO.....	87
4.1- ALTERED RENAL SODIUM HANDLING IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR) AFTER HIPERTONIC SALINE INTRACEREBROVENTRICULAR INJECTION: ROLE OF RENAL NERVES (submetido).....	89
5- DISCUSSÃO.....	115
6- CONCLUSÃO.....	123
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
8- APÊNDICE.....	145

ADH	Hormônio antidiurético
Ang II	Angiotensina II
AV3V	Região antero-ventral do terceiro ventrículo
C _{Cr}	“Clearance” de Creatinina
CF _{Na}	Carga filtrada de sódio
C _K	Carga filtrada de potássio
C _{Li}	“Clearance” de lítio
C _{Na}	“Clearance” de sódio
DBH	Dopamine-β-hidroxilase
Dx	Denervado renal bilateral
ERSNA	Atividade nervosa simpática renal eferente
FE _K	Fração de excreção de potássio
FE _{Li}	Fração de excreção de lítio
FE _{Na}	Fração de excreção de sódio
FEP _{Na}	Fração de excreção proximal de sódio
FEPP _{Na}	Fração de excreção pós-proximal de sódio
FG	Filtração glomerular
HA	Hipertensão arterial
i. c. v.	Intracerebroventricular
LiCl	Cloreto de lítio
NaCl	Cloreto de sódio
NAD	Noradrenalina
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
Na-K-ATPase	Sódio/potássio ATPase
NE	Norepinefrina
NTS	Núcleo do Trato Solitário
P	Concentração plasmática
PAM	Pressão arterial média

P _{Cr}	Creatinina plasmática
P _K	Potássio plasmático
P _{Li}	Lítio plasmático
P _{Na}	Sódio plasmático
PNMT	Feniletanolamine <i>N</i> -metiltransferase
RFG	Taxa de filtração glomerular
“Sham”	Tratamento e/ou cirurgia simulada
SHR	Rato espontaneamente hipertenso ou rato de Okamoto-Aoki
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SR	Animais resistentes ao sal
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SS	Animais sensíveis ao sal
TAUC	Área total sobre a curva
TCP	Túbulo contornado proximal
TF _{Li}	Concentração de lítio no final do túbulo
TP	Túbulo proximal
U	Concentração urinária
V'	Fluxo urinário minuto
VU	Carga excretada (volume urinário)
WKy	Rato controle normotenso ou rato Wistar-Kyoto
Δ% min ⁻¹	Unidade de expressão para TAUC

	PÁG.
Figura 1- Caixa pré-aquecida.....	66
Figura 2- Pletismografia de cauda.....	66
Figura 3- Aparelho estereotáxico.....	68
Figura 4- Posicionamento do animal.....	68
Figura 5- Parafusos de aço inoxidável.....	68
Figura 6- Cânula implantada e fixada.....	68
Figura 7- Encéfalo retirado após o “Clearance”.....	69
Figura 8- Cortes para verificação.....	69
Figura 9- Visualização do ventrículo lateral.....	69
Figura 10- Ventriculos laterais e III ventrículo corados.....	69
Figura 11- Incisão cirúrgica (~5cm).....	71
Figura 12- Incisão paravertebral (aponevrótica).....	71
Figura 13- Exposição do campo cirúrgico.....	71
Figura 14- Afastamento renal para acesso dos vasos renais.....	71
Figura 15- Feixe vâsculo nervoso.....	71
Figura 16- Despojamento da adventícia.....	71
Figura 17- Pedículo renal dissecado.....	72
Figura 18- Artéria renal denervada.....	72
Figura 19- Sutura do plano interno.....	72
Figura 20- Sutura do plano externo.....	72

Figura 21- Esquema do “clearance” de lítio e creatinina.....	74
Figura 22- Administração hídrica via oral.....	74
Figura 23- Gaiola metabólica.....	74
Figura 24- Representação esquemática do Protocolo um e dois.....	77

RESUMO

O mecanismo pelo qual o aumento da pressão sanguínea em grupos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) se estabelece, não foi totalmente esclarecido. Além disso, há uma surpreendente falta de dados experimentais sobre os mecanismos natriuréticos induzidos pela injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de salina hipertônica em SHR. No presente estudo, realça-se a hipótese de que a hipertensão em SHR pode ser resultado, pelo menos em parte, da contínua superatividade do nervo simpático renal, causada pela menor resposta central frente ao aumento da concentração de sódio no fluido cerebrospinal. Para testar esta hipótese, o estudo foi projetado para avaliar a influência da atividade nervosa renal, após injeção i.c.v. de salina hipertônica de concentrações crescentes sobre o manuseio renal de sódio urinário em SHR submetidos à denervação renal bilateral comparados a seus respectivos controles Wistar Kyoto (WKy). A presente investigação confirmou estudos anteriores, mostrando pronunciada resposta natriurética renal pós-injeção central de salina hipertônica, mas também demonstrou redução na taxa de filtração glomerular, estimado pelo "Clearance" de Creatinina endógena (C_{Cr}) associada à menor fração de excreção de sódio (FE_{Na}) relacionados à concentração administrada em ratos WKy, mas não nos SHR. Nos SHR, a elevação da FE_{Na} foi obtida somente pela administração central de NaCl na concentração de 0.90M. Este resultado foi consequência da rejeição à reabsorção de sódio nos segmentos tubulares proximais (FEP_{Na}) e pós-proximais ($FEPP_{Na}$) do nefro, sem entretanto, qualquer modificação do C_{Cr} . Estes resultados indicam que os mecanismos envolvidos em tal resposta estão relacionados ao efeito direto sobre os segmentos tubulares do nefro. A denervação renal causou um significativo efeito antinatriurético secundário, possivelmente, à diminuição do C_{Cr} e à elevada reabsorção de sódio na porção proximal dos túbulos (FEP_{Na}) renais em ratos WKy, mas não em SHR. Um aspecto novo do presente estudo mostrou que em animais normotensos, a natriurese está diretamente associada ao aumento do C_{Cr} e à menor reabsorção proximal de sódio, resultando em maior aporte de íons aos segmentos distais no nefro. A reabsorção desta elevada carga distal de íons, e fluxo dos segmentos proximais, não é completamente compensada por estes segmentos pós-proximais do nefro. Adicionalmente, a elevação da FE_{Na} em SHR somente após injeção i.c.v. de elevada concentração de salina (0.90M NaCl), com um desvio para a direita da curva concentração-resposta, sugere a possibilidade de que estes animais apresentem atenuação da resposta, via

receptores centrais circunventriculares, à concentrações de sódio em SHR, quando comparados a ratos WKy. Estes resultados poderiam estar relacionados à diminuição do número e/ou ao “downregulation” na área de sinalização de receptores de sódio em regiões periventriculares. Conseqüentemente, esta menor sensibilidade central estaria relacionada com a resposta pressórica inadequada e atenuada resposta neuro-humoral na linhagem SHR.

ABSTRACT

The mechanism by which blood pressure has risen in the spontaneously hypertensive rats (SHR) strain remains to be elucidated. Besides, there is a surprising lack of experimental data on the natriuretic mechanisms induced by intracerebroventricular (i.c.v.) injection of hypertonic saline in SHR. In the current study, we have hypothesized that SHR hypertension may result, at least in part, from sustained renal sympathetic nerve overactivity caused by decreased central response to elevated cerebrospinal fluid sodium concentration. To test this hypothesis, the study was designed to evaluate the influence of renal denervation activity after i.c.v. hypertonic saline injection at increasing concentration on renal urinary sodium handling in SHR compared with appropriate age-matched Wistar Kyoto (WKy) control subjects. The present investigation has confirmed previous data showing pronounced renal natriuretic response to i.c.v. hypertonic saline stimuli but, also, it has demonstrated a decreased creatinine clearance (C_{Cr}) and fractional sodium excretion (FE_{Na}) in a concentration-dependent manner in WKy rats but not in SHR. In SHR, it has increased FE_{Na} obtained by centrally administration of concentration of 0.90M NaCl. This result was produced by increases in proximal (FEP_{Na}) and post-proximal ($FEPP_{Na}$) fractional urinary sodium rejection without presenting changes in C_{Cr} , indicating a direct tubular effect. Renal denervation has caused significant antinatriuresis by decreased C_{Cr} and increased FEP_{Na} reabsorption in WKy but not in SHR. The novel finding of the present research has shown that natriuresis is associated with an increased C_{Cr} and ion delivery from the proximal tubule and that is incompletely compensated by more distal nephron segments. And, an enhanced FE_{Na} only after higher i.c.v. hypertonic saline (0.90M NaCl) injection with shift to right of dose-response curve provides evidence of a small response of sodium sensor receptors in periventricular areas of SHR compared to WKy rats. This may be interpreted as a down-regulation of target organ responsiveness to small concentrations of NaCl and/or that inappropriately decrease in the responsiveness would be related to impairment of blood pressure response and neuro-humoral factors release in SHR strain.

1- INTRODUÇÃO

A regulação da tonicidade corporal não é somente uma questão de mudanças na ingestão e excreção de água, mas também excreção de solutos. Muitos mamíferos, por exemplo, aumentam a excreção de sódio e potássio durante período de privação de água para manter constante a concentração iônica do organismo (SCHOORLEMMER et al., 2000).

A manutenção do meio interno, relativamente estável, é assegurada por interações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais, desenvolvidas ao longo da evolução. Excluindo-se o mecanismo da sede, a homeostasia da água e dos eletrólitos, no ser humano, é realizada quase exclusivamente por mudanças no volume e na composição da urina, comandada centralmente pelo hipotálamo. (SWANSON e SAWCHENKO, 1983).

Um dos maiores desafios que a evolução experimentou foi a passagem do animal marinho para a terra. Saindo de um meio aquático, onde não havia a preocupação de conservar a água, o animal precisou desenvolver um mecanismo para conservá-la no organismo. Desta forma, o antigo sistema excretor se especializou e formou o nefro como ele é hoje nos mamíferos, isto é, com uma disposição anatômica em alça e com uma heterogeneidade funcional entre os diversos segmentos. Só com esta configuração é que o rim foi capaz de desenvolver um mecanismo para conservar a água. (ZATZ, 2002). Esta concentração iônica relativamente constante nos vertebrados reflete a evolução genética de muitos mecanismos regulatórios – particularmente a regulação renal (DENTON et al., 1996).

O volume de líquido do compartimento extracelular é regulado, fundamentalmente, pelos mecanismos que controlam o balanço de sódio. Tendo em vista que a maior parte do volume de líquido extracelular corresponde à água, seria legítimo supor que a regulação deste volume fosse realizada por intermédio dos mecanismos que controlam o balanço de água. Entretanto, de um modo geral, o transporte ativo de sódio através das membranas celulares, fazendo-se acompanhar passivamente de um ânion a fim de manter a eletroneutralidade, cria os gradientes de pressão, hidrostática ou osmótica, responsáveis pela movimentação de água; garante-se assim, um transporte isotônico (sem variação da pressão osmótica) que atende aos requisitos de manutenção de volume e composição (MALNIC e MARCONDES, 1977).

Em conclusão, pode-se afirmar que o volume de líquido que ocupa o compartimento extracelular depende, primariamente, do transporte isotônico de fluido – transporte ativo de sódio que arrasta água na quantidade necessária para não haver variação de pressão osmótica – e, secundariamente, pela água que se desloca de modo independente do sódio e cujo efeito primordial é regular a pressão osmótica do fluido extracelular (MALNIC e MARCONDES, 1977).

Em vários estudos realizados em animais intactos, foi demonstrado que a excreção de uma quantidade expressiva de solutos, durante o “stress” da anestesia, cirurgia ou disfunção renal por isquemia (auto-transplante renal ou rins denervados cronicamente) foi comandada através do controle neural da função renal (QUINBY, 1916; MILLIKEN e KARR, 1925; SHURTSHIN e SCHANDT, 1956). Entretanto, nos animais denervados renais, a vasodilatação renal inicial foi seguida de uma queda da natriurese e da cloriurese (MARSHAL e KOLLS, 1919).

Dados obtidos em outros trabalhos revelavam que em animais anestesiados, o aumento da taxa de filtração glomerular (RFG) após denervação renal, poderia dificultar a reabsorção tubular renal de água e de sódio e as respostas (diurética e natriurética) observadas não podiam ser atribuídas apenas ao aumento desta RFG e, conseqüentemente, da carga filtrada de sódio e água (KAPLAN e RAPAPORT, 1951; BERNE, 1952; SARTORIUS e BURLINGTON, 1956; BLAKE, 1962; KOEPKE e DIBONA, 1986).

Com referência aos dados obtidos em humanos, o efeito da denervação renal no controle neural da função renal, foi avaliado em estudos piloto de transplantes renais realizados em gêmeos idênticos (MERRIL et al., 1956), nos quais o receptor do enxerto renal, comparado com seu doador idêntico, apresentava alterações no manuseio renal de sódio e expansão volêmica, sendo necessária restrição de sódio na dieta (BRICKER et al., 1956). Entretanto, GINN et al. (1960) não detectaram esta alteração, quando analisaram um período diferente de isquemia.

Na análise do controle neural da circulação renal foi detectada influência do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre a vasculatura renal que é mediada por neurotransmissores liberados dos terminais nervosos renais que interagem com receptores específicos nos elementos vasculares (DIBONA e KOPP, 1997).

Há mais de 140 anos BERNARD (1859), na tentativa de elucidar o controle neural da função renal, demonstrou que o cérebro podia produzir diabetes. Este fato foi comprovado experimentalmente em animais que apresentavam natriurese importante (BELLO-REUSS et al., 1975; BERNE, 1952), através da micropunção tubular proximal após uma denervação renal aguda (secção do nervo esplâncnico esquerdo – fibra pré e pós ganglionar simpática renal) no qual foi detectado aumento na excreção urinária de sódio, por um aumento da taxa de filtração glomerular e da carga filtrada de sódio e uma redução da reabsorção tubular renal de sódio. Em ratos denervados renais com expansão de volume, porém, foi observada redução da reabsorção tubular proximal de sódio (BELLO-REUSS et al., 1977). Outros estudos, entretanto, não revelaram alteração na resposta renal após hemorragia e expansão de volume em cães denervados renais (LIFSCHITZ, 1978).

É sabido que em animais conscientes, a inervação renal intacta é um fator necessário para realizar a conservação renal de sódio, comprovado experimentalmente em coelhos (GORDON et al., 1979), ratos (BENCATH et al., 1982; DIBONA e SAWIN, 1983; FERNANDES-REPOLLETE et al., 1997) e cães (BRUBACHER e VANDER, 1968; KACZMARCZYK et al., 1986; MIZELLE et al., 1987). Estes animais, mantidos sob dieta com restrição de sódio, revelaram inabilidade tubular renal ao sódio, resultando em queda na excreção urinária do mesmo.

Porém, em animais conscientes com denervação renal crônica, foi observada natriurese importante, identificando assim o papel do nervo simpático renal na homeostase tubular renal de sódio. Em controvérsia, na denervação renal crônica realizada em ratos anestesiados submetidos à privação de sódio, foi observado decréscimo na reabsorção fracional tubular proximal de sódio seguida de natriurese discreta ou ausente (mas não de diurese), permanecendo um aparente estado de repleção de volume intravascular (SZENASI et al., 1981).

Portanto, um sistema integrado sensível detecta mudanças no volume extravascular que é conjugado a um sistema efetor, sendo o responsável pela excreção renal de sódio e água. Dessa forma, o controle homeostático do sódio e da água corporal, assim como da pressão arterial, envolve a interação de mecanismos hormonais e renais, tendo

como determinantes os sistemas nervoso central e autônomo, o sistema cardiovascular e a função renal (GAUER e HENRY, 1963; GOLDFARBER, 1994).

Segundo DIBONA (1989), a restrição severa de sódio na dieta representa um desafio ao máximo desempenho de todos mecanismos (neural, hormonal e outros) requeridos para obter uma resposta adaptativa renal adequada, evitando-se o balanço negativo do sódio. Isto não ocorre caso exista disfunção de qualquer um destes mecanismos como o observado em cães submetidos a denervação renal unilateral crônica, quando apresentaram elevação da excreção urinária de sódio no rim denervado em relação ao innervado, apesar de ambos apresentarem RFG semelhante (KAPLAN e RAPAPORT, 1951). Porém, quando o animal é submetido à situação de “stress” tal como desidratação, este apresenta redução da excreção urinária de sódio do rim innervado, enquanto que no rim denervado a excreção não foi afetada.

Além do exposto acima, tem sido postulado que os rins apresentam papel principal na patogênese da hipertensão arterial como consequência de um defeito primário na função renal e/ou na hemodinâmica renal que promove retenção de sódio (FREY et al., 2000; STRAZZULO et al., 2003). Embora o mecanismo preciso pelo qual a elevação da pressão sanguínea em SHR permanece a ser elucidado, acredita-se que o controle renal do fluido e balanço eletrolítico apresenta um papel dominante no controle, em longo prazo, da pressão sanguínea arterial.

É surpreendente a falta de dados experimentais sobre o mecanismo natriurético induzido pela injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de salina hipertônica em animais hipertensos. No presente estudo, avalia-se o manuseio tubular renal de sódio em resposta à injeção i.c.v. de salina hipertônica em SHR com doze semanas de vida, comparando-os com WKy de idade pareada. Visto que mudanças no manuseio tubular renal de sódio, associado com a genética da hipertensão, não têm sido examinadas com detalhes, nossas hipóteses é que o desenvolvimento da hipertensão em SHR pode ser resultado, em menor parte, da contínua superatividade do nervo simpático renal, causado pela resposta central diminuída frente ao aumento da concentração de sódio do fluido cerebrospinal.

Para testar estas hipóteses, investigaram-se os efeitos da administração aguda de salina hipertônica i.c.v. em concentrações crescentes (NaCl injetado: 0.15M; 0.30M; 0.60M e 0.90M), sobre a função renal e o manuseio tubular de sódio, avaliados pelos “clearances” de creatinina e de lítio em SHR não denervados e seus controles apropriados, WKy. Posteriormente, os rins de SHR e WKy foram submetidos à denervação bilateral e comparados a controles expostos à cirurgia simulada (“sham”) para ambas as linhagens. Sete dias depois, os animais foram estudados após a administração i.c.v. de NaCl 0.90M.

1.1- Regulação do volume extracelular: mecanismos de reabsorção e excreção de íons sódio e água

A filtração e reabsorção de íons e água são, de longe, as operações mais significativas executadas pelo rim dos mamíferos. A excreção de frações muito pequenas das quantidades filtradas é suficiente para equilibrar a ingestão diária (PITTS, 1978).

O equilíbrio entre a ingestão e a excreção de Na^+ é denominado balanço de sódio, ou simplesmente balanço de sal, pois Na^+ e Cl^- são comumente transportados juntos. A ingestão de NaCl de um adulto normal é da ordem de 7g por dia, que, correspondem de 70 a 150mEq/dia. Em condições habituais não existe, na espécie humana, um apetite específico para sal, uma vez que este normalmente está em excesso na dieta. Apenas em situação de restrição prolongada, observa-se, principalmente em animais, fome específica para NaCl (AIRES, 1999).

O sódio é eliminado do organismo principalmente através da urina. É a excreção urinária variável de sódio que confere ao organismo a possibilidade de equilibrar a quantidade eliminada com a ingerida, mantendo assim o balanço de sódio (MALNIC e MARCONDES, 1977).

Em condições normais, com ritmo de filtração glomerular de 180 litros por dia e concentração plasmática de sódio de 140 mEq/l, a carga de sódio filtrado corresponde a 25200 mEq/dia. Desta carga, cerca de 67% é reabsorvida no túbulo proximal, 25% na alça de Henle, 5% no túbulo contorcido distal e, aproximadamente, 3% no ducto coletor.

Admitindo um fluxo urinário de 1ml/minuto, totalizando 1500ml/dia, e uma concentração urinária média normal de 100 mEq/l, pode-se dizer que a excreção urinária de sódio corresponde a cerca de 150 mEq/dia, ou 0,6% da carga filtrada (AIRES, 1999).

O rim pode regular a quantidade de sódio eliminada, variando o ritmo de filtração glomerular e/ou o ritmo de reabsorção de sódio (MALNIC e MARCONDES, 1977). Qualquer modificação nestes dois eventos poderá ameaçar o balanço de sódio e, conseqüentemente, a manutenção da concentração dos compartimentos de fluido no organismo. O fato de a concentração plasmática de sódio ser cautelosamente mantida dentro de estreitos limites mostra que os ajustes fisiológicos devem, rapidamente, ser acionados, quando o balanço de sódio é modificado (AIRES, 1999).

Existem duas grandes ameaças ao balanço de sódio: a) modificação do ritmo de filtração glomerular e, então, da carga filtrada de sódio, e b) modificação na ingestão de sódio. A primeira das ameaças é contraposta pelas compensações fisiológicas feitas pelo balanço glomerulotubular e pela auto-regulação do ritmo de filtração glomerular. Na presença de modificações da ingestão de sódio, o balanço de sódio é usualmente restabelecido por alterações secundárias do ritmo de filtração glomerular, por modificações na concentração plasmática de aldosterona e por um ou mais fatores adicionais. Esses fatores incluem, entre outros: modificações nas forças de Starling através das paredes dos capilares peritubulares, peptídeo atrial natriurético, modificação no ritmo de filtração glomerular por nefro e efeito direto da atividade nervosa simpática na reabsorção tubular de sódio (AIRES, 1999).

Na maior parte do nefro a reabsorção de sódio é ativa, sendo o processo primário responsável pela reabsorção de água. Exceções incluem a alça de Henle fina ascendente, na qual o transporte tubular de sódio é passivo. Na porção fina descendente ocorre apenas reabsorção de água. No túbulo proximal, o sódio é reabsorvido preferencialmente sob três formas: NaCl, NaHCO₃ e na forma de co-transporte com solutos orgânicos. A reabsorção proximal de água é passiva e isosmótica, como uma consequência da reabsorção de soluto. No segmento fino descendente, o sódio é secretado passivamente para a luz tubular, e a água é reabsorvida para o interstício medular hipertônico. A reabsorção de sódio e cloreto na porção fina ascendente é passiva, e, nessa

porção do nefro, a água não acompanha o soluto. Na porção grossa ascendente, a reabsorção de sódio é feita através de transporte ativo secundário e não ocorre reabsorção de água (epitélio impermeável à água) (AIRES, 1999).

A reabsorção de sódio no túbulo contorcido distal é passiva ou ativa secundária, pelo trocador Na^+/H^+ . Virtualmente, não existe reabsorção de água no túbulo contorcido distal, na presença ou não do ADH. No ducto coletor cortical e medular, a reabsorção de sódio é ativa e independente da reabsorção de água. Esta varia diretamente com a concentração plasmática de ADH, que aumenta a permeabilidade à água desses segmentos, permitindo que a água passe, a favor do gradiente de concentração, da luz tubular para o interstício peritubular hipertônico (AIRES, 1999).

Em resumo, o túbulo proximal realiza um intenso trabalho de absorção do sódio e da água filtrados no glomérulo. O motor desse processo é a atividade da Na-K-ATPase situada na membrana basolateral. Para facilitar esse transporte, o túbulo proximal utiliza-se de vários transportadores situados na membrana luminal, e dos complexos juncionais intercelulares, que oferecem pouca resistência à passagem de água e de solutos. Em sua primeira porção, o segmento S₁, predomina a absorção de NaHCO_3 , enquanto nas porções restantes o sódio é absorvido principalmente em associação com o cloreto. A absorção de água segue fielmente a de sódio, arrastando consigo outros solutos como o potássio. Cerca de 2/3 de toda a água e sódio filtrados no glomérulo são absorvidos ao longo dos três segmentos do túbulo proximal (ZATZ, 2002).

A alça de Henle divide-se em pelo menos três subsegmentos totalmente distintos entre si do ponto de vista funcional: a porção fina descendente, a porção fina ascendente e a porção espessa. As porções finas da alça de Henle são segmentos pouco adaptados à realização de transporte intenso de água ou soluto, entretanto, desempenham um papel essencial no mecanismo de contracorrente responsável pela formação de urina hipertônica. A porção fina descendente da alça de Henle é altamente permeável à água e pouco permeável a solutos, enquanto a porção fina ascendente apresenta uma peculiaridade importante: dissociação entre as permeabilidade à água e a solutos. Enquanto o sódio é capaz de cruzar as paredes desse segmento, a água é retida na luz tubular: trata-se de um segmento relativamente impermeável à água. A porção espessa ascendente da alça de Henle

é também pouco permeável à água e bastante permeável a eletrólitos como o sódio e o potássio. Além disso, suas células são ricas em mitocôndrias e Na-K-ATPase na membrana basolateral. Trata-se, portanto, de um epitélio altamente capacitado para o transporte maciço de NaCl: cerca de 25% da carga filtrada deste sal são reabsorvidos nesse segmento (ZATZ, 2002).

O túbulo distal é composto por dois segmentos básicos, o túbulo contorcido distal e o túbulo distal final. No túbulo contorcido distal a permeabilidade à água é muito baixa. Há em sua membrana um co-transportador Na^+/Cl^- , peculiar a esse segmento, que promove o transporte eletroneutro de um íon Na^+ e um íon Cl^- da luz tubular ao interior da célula. O transporte de sódio através da membrana luminal depende do gradiente eletroquímico favorável. O túbulo distal final apresenta atividade transportadora e propriedades eletrofisiológicas bastante semelhantes às do túbulo coletor (ZATZ, 2002).

No túbulo coletor, assim como na porção final do túbulo distal, o íon sódio penetra a membrana luminal das células principais, através de um canal específico. Uma vez no interior da célula, os íons sódio são bombeados através da membrana basolateral pela Na-K-ATPase. Estas células realizam um importante trabalho de absorção de sódio, o qual pode estar acoplado: 1) à absorção de cloreto através das junções intercelulares; 2) à secreção de potássio para a luz tubular. É esta última o que permite ao nefro manter o balanço de potássio, uma vez que este íon é quase totalmente absorvido no túbulo proximal e na porção espessa da alça de Henle. A absorção de água na porção final do túbulo distal e no túbulo coletor é dissociada da de sódio, estando intimamente relacionada com a regulação da tonicidade do meio interno e dependendo criticamente da presença do hormônio antidiurético (ZATZ, 2002).

1.2- Rato espontaneamente hipertenso (SHR)

Os ensaios em animais encontram dificuldades na definição de um modelo fisiopatológico adequado para a caracterização de doenças humanas da qual não se conhece a causa. Excluídas estas dificuldades, é certo que o conhecimento fisiopatológico em

modelos animais tem-se mostrado útil, quando os dados são coletados e entendidos, levando-se em conta as influências do procedimento experimental. Muitas vezes os conhecimentos obtidos são complementares ou análogos aos achados humanos.

O relacionando dos achados encontrados em SHR com aqueles característicos da hipertensão primária no homem revela que ambos desenvolvem hipertensão como produto de múltiplos fatores, alguns correlatos. Assim, o excesso na ingestão de sódio afeta, em ambos, o desenvolvimento de níveis tensionais elevados. A expectativa de sobrevida no animal hipertenso, tal qual no homem está diminuída. O peso corporal tende ser menor em relação a ratos normotensos. Tanto o homem hipertenso quanto SHR apresentam grande avidez e alto limiar de paladar ao sal. A hipertrofia cardíaca é um achado mais comum no homem e nos animais hipertensos. A redução do volume plasmático e do volume globular médio é observada em ambas as espécies (YAMORI e LOVENBERG, 1987).

Características hemodinâmicas como os aumentos da resistência vascular periférica, da frequência e débito cardíaco são análogos nestes animais. As excreções renais de água e sódio são normais, mas necessitam de alta pressão de perfusão glomerular. Observa-se também discreta diminuição na filtração glomerular e aumento da fração de filtração em ambas as espécies. A adaptação pressoreceptora e uma diminuição na excreção urinária de calicreína são defeitos observados em ambos. Uma intolerância à sobrecarga de carboidratos e à hiperprolactinemia são defeitos comuns às espécies (YAMORI et al., 1972; YAMORI, 1982).

Tem sido encontrado em SHRs e hipertensos humanos uma íntima associação entre a elevação da atividade autonômica, a alta ingestão de sódio e a hipertensão arterial (WINTERNITZ et al., 1981; OPARIL, 1986; ROBERTSON, 1987; DIBONA, 1989). O aumento na retenção salina renal, em animais geneticamente hipertensos, tem sido correlacionado ao aumento da atividade nervosa renal durante o desenvolvimento da hipertensão (HAUESLER et al., 1972; JUDY et al., 1976; WINTERNITZ et al., 1980; CARLSON et al., 2001). Existe a observação de que o estímulo simpático renal diminui a excreção renal de sódio e água (OPARIL, 1986). A denervação renal bilateral previne esta retenção e retarda o aparecimento hipertensivo em SHR jovens (LIARD, 1977;

WINTERNITZ et al., 1980). Há controvérsias com relação ao papel desta denervação sobre o metabolismo hidro-salino e a pressão arterial em animais adultos (OPARIL, 1986; NORMAN e DZIELAK, 1982).

Pesquisas indicam que, em SHR, alterações na concentração de catecolaminas no cérebro contribuem para a sensibilidade ao NaCl e desencadeamento da hipertensão. Do mesmo modo, mudanças na atividade e armazenamento de catecolaminas são observadas durante o desenvolvimento da fase hipertensiva em SHR (CHIBA e DOBA, 1976; SAAVEDRA et al., 1978; WIJNEN et al., 1997). Com quatro semanas, o SHR, comparado ao controle normotenso WKy, tem armazenamento de Na⁺ mais baixo em várias áreas, incluindo a anterior, paraventricular e dorsomedial do núcleo hipotalâmico (SAAVEDRA et al., 1978; WINTERNITZ et al., 1983; WIJNEN et al., 1997).

Observa-se ainda, decréscimo na atividade de dopamine-β-hidroxilase (DBH) paralelo à diminuição do conteúdo de sódio, sugerindo que a síntese de catecolaminas é reduzida nestas regiões. Adicionalmente, a atividade da enzima sintetizadora de adrenalina feniletanolamine *N*-metiltransferase (PNMT) está elevada nas áreas A₁ e A₂ do tronco cerebral em SHR com quatro semanas, comparado ao controle WKy (OPARIL et al., 1995).

Paralelamente a estas mudanças na atividade de enzimas relacionadas à síntese de adrenalina, ocorre uma elevação no balanço acumulado de sódio durante o início da hipertensão em SHR. Além disso, a destruição central de neurônios noradrenérgicos, pela injeção i.c.v. de 6-hidroxi-dopamina, previne o desenvolvimento de hipertensão em SHR alimentados com dieta normossódica (CHEN et al., 1991; OPARIL et al., 1996). Estes achados indicam que a atividade alterada em terminações catecolaminérgicas do hipotálamo pode estar relacionada ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático e hipertensão (CARLSON et al., 2001).

Dessa forma, os mecanismos que têm sido postulados ligando o sistema nervoso central à patogênese da hipertensão nos SHR incluem alterações na síntese, estoques e “turnover” de monoaminas; na sensibilidade barorreceptora; na reatividade vascular a agonistas alfa-adrenérgicos; na afinidade pré e pós-sináptica; no controle da

secreção e recaptação neural e para neural de aminas vasoativas; e modificações na manipulação renal de sódio e transporte celular transmembrana de íons moduladas por fatores genéticos e neurais (ABBOUD, 1982).

Assim, o estudo sistemático de áreas do sistema nervoso central em ratos espontaneamente hipertensos pode elucidar mecanismos sobre o desenvolvimento e a manutenção dos elevados níveis tensionais da hipertensão arterial humana.

1.3- O fator sódio relacionado a distúrbios hormonais e neurais

Em 1982, WILLIAN et al. levantaram a possibilidade de que alguns hipertensos expostos a dietas com diferentes teores de sódio, quando submetidos à depleção deste íon mantinham, inadequadamente, elevados os níveis séricos de aldosterona. Por outro lado, quando ingeriam dieta rica em sódio, evidenciava uma elevação insuficiente do fluxo sanguíneo renal e da carga excretada renal de sódio. Com tais informações, estes autores propuseram a existência de uma alteração primária na secreção ou em receptores da angiotensina II (AII), sendo que este peptídeo mediaría uma acentuada vasoconstrição associada à expansão do volume extracelular. Estas hipóteses não esclarecem, entretanto, os mecanismos responsáveis pela existência de hipertensos com níveis de respostas adequadas a AII e se contrapõem a achados epidemiológicos mostrando uma relação direta entre o desenvolvimento hipertensivo e a elevada ingestão de sódio.

O monitoramento pressórico contínuo tem identificado indivíduos que apresentam queda na pressão arterial após a ingestão, durante algumas semanas, de dieta hipossódica. Estes são indivíduos sensíveis ao sal (SS), enquanto outros não mostram quaisquer modificações e são os resistentes as sobrecargas de sal (SR). Tal comportamento vincula-se à presença ou não de história familiar para hipertensão arterial (CALHOUN e MUTINGA, 1997). SKRABAL et al. (1984, 1988), tem observado elevação na atividade adrenérgica e na reabsorção renal de sódio nos SS. Estas alterações estão correlacionadas com a diminuição na razão entre receptores alfa-2/beta, observada em células sanguíneas periféricas. Estes achados sugerem a existência de importante adaptação dos receptores

adrenérgicos na manutenção do balanço hidrossalino adequado e conseqüentemente dos níveis pressóricos. Tais observações baseiam-se em estudos realizados em pacientes normotensos que, embora possuam uma carga genética para hipertensão, obrigam a estudo prospectivo para sua confirmação.

1.4- Mecanismos neurais na gênese hipertensiva

O sistema nervoso é classicamente considerado como sendo somente um regulador, em curto prazo, da pressão arterial. Algumas pesquisas, porém, sugerem que o sistema nervoso também contribui, em longo prazo, para a regulação da pressão arterial e até para a hipertensão essencial. Observações indicam que o sistema nervoso simpático apresenta um papel significativo na elevação crônica da pressão arterial em alguns pacientes hipertensos. Por exemplo, pacientes hipertensos revelam níveis elevados de norepinefrina (NE) plasmática, notável quantidade de NE no leito vascular periférico, atividade nervosa simpática muscular aumentada, e mais taquicardia comparado aos controles normotensos (ESLER, 1995; MANCIA et al., 1997).

Além disto, uma superatividade do sistema nervoso simpático é correlacionada com a progressão da hipertensão em americanos oriundos da África (CALHOUN e MUTINGA, 1997) e vários relatos de hipertensão são fatores de riscos correlacionados ao aumento da atividade nervosa simpática, (MANCIA et al., 1997), por exemplo, tabagismo, (GROPPELLI et al., 1992) obesidade, (GRASSI et al., 1995) e diabetes tipo dois (ANDERSON et al., 1991; JAMERSON et al., 1993). Assim diferentes linhas de evidências sugerem que o sistema nervoso contribui para a hipertensão essencial.

Vários autores têm dado cada vez mais ênfase ao papel do sistema nervoso central (SNC) no controle da pressão arterial, responsabilizando anormalidades neste sistema pelo desenvolvimento hipertensivo (ABBOUD, 1982; CAMPESE, 1985; OPARIL, 1986). Estudos de MAJEWISKI e RAND (1981) demonstraram que animais submetidos a diferentes tipos de “stress” apresentam maior secreção adrenérgica decorrente do hiperestímulo de receptores beta-adrenérgico pré-sináptico.

OPARIL et al. (1996) demonstraram a importância do sistema nervoso simpático (SNS) no desenvolvimento hipertensivo em modelos experimentais, através de modificações no “turnover” de noradrenalina em algumas áreas do SNC. Estas mudanças poderiam ser responsáveis, como acredita DIBONA (2000a), pelo aumento da atividade simpática periférica; inclusive sobre o rim, elevando a reabsorção tubular de sódio.

O sistema cardiovascular está sob influência e controle do SNC. Este compreende neurônios aferentes, estruturas integrativas do SNC e vias eferentes simpáticas e parassimpáticas. As anormalidades funcionais destes controles neurogênicos podem causar elevação dos níveis pressóricos. A confirmação destas possibilidades esbarra em problemas metodológicos e em limitações na sua compreensão dados a complexidade do sistema envolvido. Muitas anormalidades neurológicas relacionadas à hipertensão arterial (HA) têm sido estudadas em diferentes modelos experimentais.

1.5- Anormalidade das vias integrativas do sistema nervoso central

Muitas evidências têm demonstrado que a disfunção de núcleos ou áreas localizadas no tronco encefálico e diencefalo estão envolvidos na gênese da HA. Destruições elétricas ou estímulos farmacológicos do núcleo do trato solitário (NTS) podem causar elevação pressórica ou determinar sua labilidade (REIS et al., 1984; JACOB et al., 1988).

Intervenções neuro cirúrgicas ou neuro químicas podem reverter ou prevenir o desenvolvimento hipertensivo em alguns modelos. Estímulos eletrolíticos na região ântero-ventral do III ventrículo (AV3V) pode reduzir, em ratos, os níveis pressóricos em modelos tais como: DOCA-Sal, hipertensão renal e Dahl-Sal sensíveis (BRODY et al., 1978).

Agentes simpatolíticos de ação central ou periférica reverterem o desenvolvimento hipertensivo em SHRs (HAUESLER, 1975; ERINOFF et al., 1975). A administração i.c.v. de 6-OH-dopamina previne a elevação pressórica em SHR, DOCA-Sal, modelos Goldblatt e em modelos de hipertensão neurogênica (HAUESLER, 1975; ERINOFF et al., 1975; DECHAMPLAIN et al., 1977; ANTONIACCIO et al., 1980).

Na hipertensão DOCA-Sal e em SHRs observa-se significativo decréscimo no “turnover” de noradrenalina no tronco cerebral associado ao aumento deste no sistema nervoso periférico (DECHAMPLAIN et al., 1977).

1.6- Fatores neurogênicos na hipertensão arterial humana

As maiores evidências a respeito do envolvimento do sistema simpático-adrenal na hipertensão essencial humana são indiretas. WALLIN et al. (1973) demonstraram, através de dosagens dos níveis plasmáticos de catecolamina, como provável marcador da atividade neural simpática, seu envolvimento na patogênese da HA primária. Uma revisão, de 32 estudos comparando os níveis plasmáticos de noradrenalina (NAD) em normotensos e hipertensos, mostrou níveis significativamente elevados em 88% dos hipertensos, com diferença mais pronunciada em indivíduos jovens (GOLDSTEIN, 1981a).

Pacientes hipertensos, durante o esforço isotônico ou isométrico, apresentam grande aumento nos níveis séricos de catecolamina (GOLDSTEIN, 1981b). FRANCO-MORSELLI et al. (1977) descreveram elevação de adrenalina, mas não de noradrenalina, no plasma de pacientes hipertensos. MAJEWSKI e RAND (1981) sugeriram a possibilidade de ocorrer modulação pré-juncional da adrenalina, amplificando a secreção de catecolaminas em terminações nervosas, através de sua ação neurotransmissora em receptores pré-juncionais alfa-1 e beta-adrenérgicos. No entanto, dada a observação de que somente uma pequena fração de catecolamina secretada entra em circulação, a interpretação das possibilidades acima, fica prejudicada.

ESLER et al (1981), através do estudo cinético com radio-traçadores para a NAD, têm demonstrado anormalidade na recaptação neuronal de catecolaminas em hipertensos. Por outro lado, GOLDSTEIN et al. (1983), utilizando-se de metodologia semelhante, obteve maior secreção monoaminérgica sináptica. Estudos farmacológicos como os de LOUIS et al. (1973), evidenciaram uma correlação entre o decréscimo da pressão arterial e da concentração sérica de NAD após a administração de pentolinium e clonidina.

1.7- Ingestão de sódio e atividade autonômica simpática

Tem sido verificado que o consumo diário de sódio pode influenciar a atividade simpática neural. Os níveis séricos de catecolaminas elevam-se durante ingestão hipossódica, bem como se observam uma correlação negativa entre os níveis sanguíneos destas aminas vasoativas e a excreção renal deste íon em indivíduos normotensos (ROMOFF et al., 1979). Esta implicação torna-se mais evidente, quando o consumo e a excreção urinária de Na^+ são inferiores a 50mEq/dia, enquanto a ingestão de sódio entre 800-1500mEq/dia pode suprimir a secreção de adrenalina e noradrenalina (LUFT et al., 1979).

Nos pacientes hipertensos, esta correlação não é observada. Após a ingestão de dieta hipossódica, não foi evidenciada qualquer diferença significativa em relação aos níveis basais de catecolaminas plasmáticas. Com o aumento progressivo da ingestão deste cátion, de modo contrário ao observado nos normotensos, há elevação pronunciada nos níveis séricos destas aminas, correlativa ao acréscimo pressórico (CAMPESE, 1983). Estas observações sugerem dificuldade dos indivíduos hipertensos em suprimir a atividade adrenérgica, quando a ingestão de sódio ultrapassa uma determinada concentração. DIETZ et al. (1981) observaram fenômeno semelhante em ratos SHR-SP.

Os mecanismos responsáveis pela ativação do sistema nervoso simpático após sobrecarga oral de sódio não são claros. WINTERNITZ et al. (1981) demonstraram elevação no conteúdo de NAD nos núcleos dorso-mediais e hipotalâmico anterior, os quais têm sido responsabilizados pela regulação cardiovascular em SHR, implicando esta modificação a alta ingestão de sódio e conseqüentemente a elevação pressórica. Por outro lado, DIETZ et al. (1981) observaram redução na recaptação de catecolaminas periféricas durante a alta ingestão de sódio, como um importante fator para a elevação da atividade autonômica. O aporte alimentar maior de sódio pode facilitar a secreção de NAD pela redução de receptores alfa-2-adrenérgicos pré-juncionais em SHR e ratos Dahl-sal sensíveis (ZIMMERMAN, 1983), ou ainda, pela supressão da atividade Na-K-ATPase nas terminações nervosas autonômicas centrais ou periféricas (SU et al., 1978). O aumento na ingestão deste íon pode também potencializar vasoconstrição miogênica pelo aumento da reatividade muscular lisa.

Vários estudos têm demonstrado diminuição na pressão arterial após suplementação dietética com K (TREASURE e PLOTH, 1983; TOBIAN et al., 1984). O mecanismo através do qual isto ocorre são desconhecidos. BATTARBEE et al. (1979) mostraram redução na excreção urinária de catecolaminas e na pressão arterial em ratos Sprague Dawley cujas dietas foram suplementadas com K. DIETZ et al. (1981) têm evidenciado menor resposta vascular e pressórica em ratos SHR-SP alimentados com dieta hiperssódica após suplementação de K em suas rações. Aparentemente, o estímulo à maior ingestão de potássio deprime a atividade simpática em Dahl-sal sensíveis, durante a alta ingestão de sódio (GOTO et al., 1981; TOBIAN et al., 1984).

Existem as observações de que tanto a secreção central de opiáceos quanto a sua afinidade por receptores específicos no SNC estão relacionadas à concentração de Na^+ intracelular. A elevação na concentração deste íon reduz esta afinidade, enquanto aumenta a efetividade de seus antagonistas (SNYDER et al., 1978). No SNC, os opióides apresentam modulação inibitória da secreção neuronal de acetilcolina, noradrenalina e substância P (BEAUMONT e HUGHES, 1979). Todos estes mecanismos, influenciados por modificações do equilíbrio salino orgânico, podem estar relacionados às alterações na secreção de catecolaminas e em seus efeitos sobre o controle da pressão arterial.

1.8- Controle neural da excreção renal de sódio

Os mecanismos regulatórios da excreção urinária de eletrólitos têm sido muito estudados. A função de fatores físicos e hemodinâmicos sobre a reabsorção tubular de íons e água é bem estabelecida (KNOX e HASS, 1982). Recentemente verificou-se a importância da ação neurogênica e hormonal para a manutenção desta homeostase dos compartimentos hídricos corporais (DEWARDENER e CLARKSON, 1982; KNOX e HASS, 1982; DIBONA, 1989). Antigas observações (BERNARD, 1858), constatavam que lesões proximais às áreas diencefálicas promoviam acentuada natriurese. Posteriormente foram obtidos resultados semelhantes após a destruição elétrica de diversas regiões do hipotálamo (CORT e LICHARDUS, 1963), bem como pela estimulação de núcleos paraventriculares e da área pré-óptica (KELLER, 1972). Aparentemente, o hipotálamo é um

importante centro de integração das funções neuro-endócrinas relacionadas ao controle hidro-eletrolítico. Assim, a elevação da atividade simpática justaglomerular, estimulando a secreção de renina e angiotensina II, e esta atuando centralmente, em nível subcortical, modificaria a atividade neural autonômica e a secreção do hormônio antidiurético.

Muitos investigadores têm demonstrado que as funções de diferentes áreas do SNC tais como o hipotálamo posterior (NOVAKOVA e STEVENSON, 1971), o tronco encefálico (WISE e GANONG, 1960), a área septal (CAMARGO et al. 1976) e o terceiro ventrículo (DORN, et al. 1970), modificam a excreção renal de sódio e potássio. Está demonstrada a participação colinérgica da área septal medial e do hipotálamo lateral sobre o controle da excreção tubular de íons e água (SAAD et al., 1975; SILVA-NETTO et al., 1976). Os mecanismos pelos quais estas diferentes regiões influenciam a função renal em ratos, cabras e cães normotensos não estão bem esclarecidos. São escassas as observações relacionando a atividade neural destas áreas ao equilíbrio hidrossalino em ratos de linhagem hipertensa.

Estudos realizados até o momento não têm comprovado com precisão a participação de modificações significativas do sistema-renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), da pressão arterial, da atividade eferente simpática renal ou de mudanças hemodinâmicas renais sobre o transporte tubular de íons (SILVA-NETTO et al., 1976, 1980, 1983; PILLAR et al., 1977; BEARLER, 1988). Observações mais recentes têm demonstrado que a reabsorção tubular renal de sódio é afetada pela atividade adrenérgica de maneira independente às alterações hemodinâmicas renais (PILLAR et al., 1977). Existem também evidências de que as estimulações elétricas e farmacológicas de núcleos hipotalâmicos influenciam a atividade nervosa renal (SILVA-NETTO et al., 1985 e 1986; KOEPKE e DIBONA, 1986), bem como de que o controle neural simpático do rim seja influenciado indiretamente pelo “stress” psicológico em ratos hipertensos (KOEPKE e DIBONA, 1988a).

Têm sido descrito importantes modificações no balanço hidrossalino em SHRs com relação a animais normotensos (BEIRWALTES et al., 1982; GONTIJO, 1986). Existem verificações de que animais geneticamente hipertensos apresentam aumento na natriurese, após o estabelecimento de níveis pressóricos elevados e, que esta natriurese faz-

se acompanhar por acentuada perda corporal de K. Estas alterações são resistentes a denervação renal bilateral. Por outro lado, foi demonstrado que animais pré-hipertensos da linhagem SHR, apresentam retenção renal de sódio e de potássio concomitantemente à elevada ingestão de sódio e água. Este comportamento foi abolido pela denervação renal, o que torna sugestiva a influência neural periférica sobre a função renal e, de forma indireta, sobre o desenvolvimento e a manutenção dos elevados níveis tensionais nesta linhagem (GONTIJO, 1986).

KOEPKE e DIBONA (1985b) mostraram que a ingestão acentuada de sódio aumenta a atividade neural em rins de ratos. SANCHES e PETTINGER (1981) sugerem que estes aumentos, na atividade neural catecolaminérgica nos SHR, estão relacionados ao aumento na densidade de receptores alfa-2-adrenérgicos centrais.

Foi observado que SHRs, submetidos a “stress” apresentam antinatriurese na ausência de mudanças da filtração glomerular e no fluxo sanguíneo renal (LUNDIN e THOREN, 1982). Os efeitos verificados nestas condições, sobre os ratos Wistar Kyoto (WKy) normotensos, foram de pequena magnitude. Desta forma, a atividade simpática do SNC está implicada neste efeito anti-natriurético nos SHR (KOEPKE e DIBONA, 1986, 1988b). CAMARGO et al. (1976 e 1979) observaram que a injeção de um agonista beta-adrenérgico na área septal diminuía a excreção renal de Na^+ enquanto que a noradrenalina, injetada no núcleo hipotalâmico ventro-medial, hipotálamo lateral, área septal e terceiro ventrículo, aumentavam a eliminação urinária de sódio.

Estes estudos sugerem que mudanças na atividade autonômica central, em SHR, podem ser um importante mecanismo modulador da excreção hidro eletrolítica renal e, conseqüentemente, influenciar os níveis tensionais sistêmicos.

1.9- Estímulo hipertônico no SNC

Poucos estudos têm demonstrado que a injeção de salina hipertônica em áreas do SNC de ratos induz aumento da excreção urinária de sódio e da pressão arterial em ratos normotensos, efeitos estes acompanhados pela elevação significativa dos níveis locais de

angiotensina II (ROHMEISS et al., 1995). Injeções intracerebroventriculares de salina hipertônica causam acentuada natriurese em cães, cabras, gatos e ratos não anestesiados (ANDERSSON et al., 1969; DORN et al., 1969; CHIU e SAWYER, 1974; ROHMEISS et al., 1995). Este efeito tem sido aventado como evidência de um possível controle cerebral sobre a excreção de sódio. O tratamento prévio dos animais, com altas doses de mineralocorticóides ou vasopressina, não impediu esta resposta indicando que tais modificações nos níveis de aldosterona e vasopressina circulantes não foram responsáveis pela resposta natriurética. Em cães, a natriurese pós-estímulo central foi associado ao aumento discreto e transitório da pressão sanguínea arterial. A elevada excreção urinária de sódio persistiu mesmo após o retorno da pressão arterial para valores próximos aos níveis normais. Estas observações sugerem que os efeitos à administração intracerebroventricular de concentrações hipertônicas de NaCl podem ser mediados pela secreção de hormônios e peptídeos, oriundos do SNC, com ação natriurética (SHIMIZU et al., 1986; GRADIN e PERSSON, 1987; ASHTON e BALMENT, 1988; ROHMEISS et al., 1995).

Os estudos sobre os mecanismos pelos quais ocorre natriurese após um estímulo hipertônico do SNC são pouco esclarecedores em ratos normotensos e praticamente ausentes em animais hipertensos. Em revisão recente, ANTUNES-RODRIGUES et al. (2004) relatam que a exata origem dos mediadores natriuréticos centrais em WKy e SHR não estão adequadamente definidos. Assume-se que grupos neuronais, com receptores que respondem a variações na concentração de sódio ou a modificações osmóticas do líquido podem estar situados próximos ao terceiro ventrículo, possivelmente no hipotálamo. A administração de salina hipertônica pode estimular áreas simpáticas excitatórias do hipotálamo elevando a pressão arterial e, conseqüentemente, aumentando a pressão de perfusão renal. Por outro lado, substâncias secretadas pelo SNC poderiam agir sobre o transporte tubular aumentando a excreção urinária de sódio.

2- OBJETIVOS

Com base nos conhecimentos previamente descritos, o presente estudo visa avaliar a excreção renal de sódio, após administração intracerebroventricular (i.c.v.) de soluções salinas hipertônicas de concentrações crescentes, em ratos hipertensos e seus controles normotensos.

Nossa hipótese é que o desenvolvimento hipertensivo em SHR pode ser resultado, em menor parte, da contínua hiperatividade do nervo simpático renal, causado pela resposta central diminuída frente a uma elevada concentração de sódio no fluido cerebrospinal.

Para testar estas hipóteses, investigamos os efeitos da administração aguda i.c.v. de salina hipertônica sobre o manuseio tubular renal em ratos denervados renal bilateral e seus apropriados controles “sham” operados.

São objetivos do trabalho:

2.1- Geral

Avaliar os efeitos da salina hipertônica no ventrículo lateral cerebral sobre o manuseio tubular renal de sódio em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos, assim como o efeito da denervação renal bilateral sobre estes animais.

2.2- Específicos

- Estudar o efeito sobre a filtração glomerular e a excreção renal de sódio avaliado, respectivamente, pelos “clearances” de creatinina e lítio, após administração intracerebroventricular de soluções salinas hipertônicas em concentrações crescentes;
- Buscar estabelecer a influência da modulação neural renal, através da denervação renal bilateral, sobre as possíveis modificações na excreção renal de sódio nos modelos WKY e SHR;

- Avaliar a importância da integridade neural renal em ratos não anestesiados, após a administração central de soluções de cloreto de sódio hipertônicas, sobre a manipulação tubular renal de sódio, comparando os resultados a seus respectivos controles;
- Estabelecer uma possível relação entre a resposta neural central à administração intracerebroventricular de soluções hipertônicas e a atividade simpática renal em ratos SHR adultos, comparados a respectivos controles WKy.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

As orientações gerais estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) foram seguidas durante toda investigação. Os experimentos foram realizados, simultaneamente, em grupos de dez animais, estabelecidos ao acaso, entre ratos machos de linhagem Wistar Kyoto (WKy), e em número igual de animais escolhidos aleatoriamente da linhagem de Ratos espontaneamente hipertensos (SHR), ambos procedentes e fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), Campinas-SP. Antes da manipulação cirúrgica, estes animais permaneceram acondicionados em caixas coletivas com até cinco animais, com livre acesso à ingestão de água e ração sólida padronizada para ratos LABINA (Purina) contendo: 135 ± 3 $\mu\text{Eq/g}$ de sódio e 293 ± 5 $\mu\text{Eq/g}$ de potássio. A sala oferecia condições de temperatura (25°C), umidade (50%) e, luminosidade (luz das sete às 19 horas) constantes.

Para os experimentos foram utilizados animais de ambas as linhagens com doze semanas de idade com pesos corporais variando de 357 ± 36 gramas para WKy e 255 ± 30 gramas para SHR.

3.1- Determinação da pressão arterial média

Vinte e quatro horas antes da manipulação cirúrgica (implante da cânula intracerebroventricular e denervação renal bilateral), os ratos de ambas as linhagens passaram pelo procedimento de aferição da pressão arterial média, através da técnica indireta de pletismografia de cauda, baseada originalmente na técnica descrita por BYROM e WILSON (1938) e por WILLIAMS et al. (1939).

Antes do procedimento em si, os ratos, um a um, são colocados em uma caixa pré-aquecida ($\sim 50^{\circ}\text{C}$) e deixados por 10 minutos para WKy e cinco minutos para SHR (Fig 1). Assim que é retirado da caixa de aquecimento, o mesmo é colocado dentro de um suporte justo ao corpo do animal e fixo em uma mesa, a fim de que o rato permaneça imobilizado no momento em que for aferida a pressão arterial caudal. A partir deste momento, prossegue-se da maneira descrita abaixo (Fig 2).

No geral, uma bacia inflável é colocada na porção proximal da cauda, ao mesmo tempo em que a porção distal da cauda é anexada na câmara pletismográfica através de um transdutor. A pressão na bacia pneumática, a qual é conectada a um manômetro de mercúrio, é aumentada acima da pressão sistólica e então lentamente liberada. O aumento no volume da cauda devido ao influxo do sangue quando a pressão da bacia provoca oclusão alcançando a pressão sanguínea sistólica pode ser observado no manômetro pletismográfico (LOVENBERG, 1987). A ausculta é feita através de um fone de ouvido conectado a um amplificador de ruídos. Em cada rato, a pressão arterial é aferida três vezes e, então se faz a média dos três valores a fim de obter a pressão arterial média (PAM) de cada rato.



Figura 1 – Caixa pré-aquecida

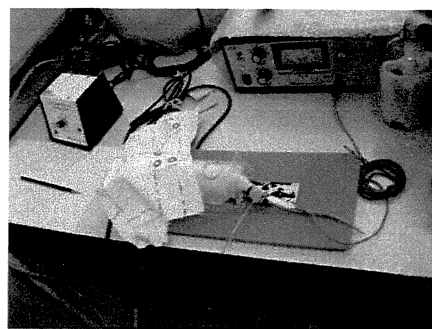


Figura 2 – Pletismografia de cauda

3.2- Manipulação cirúrgica

3.2.1- Implante da cânula intracerebroventricular

As cânulas para implante no ventrículo cerebral lateral esquerdo foram confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas metálicas (Ibrás S.A, Campinas-SP) com diâmetro externo de 0,9mm e diâmetro interno de 0,6mm, com 15mm de comprimento total. Uma agulha de Mizzy – cânula de infusão – e um obturador (mandril) com comprimento de 16mm foram também utilizados.

Os animais submetidos ao implante de cânula intracerebroventricular foram anestesiados com pentobarbital sódico de uso veterinário (Hypnol 3% Lab. Cristália SP, Brasil) na dose de 10mg/100g de peso animal por via intraperitoneal e colocados em aparelho estereotático (Stoelting Co, Modelo 234, USA), (Fig 3).

A barra vertical foi posicionada a 0° do plano lateral e a 90° do plano horizontal. Os animais foram posicionados apropriadamente no aparelho mediante prendedores acoplados à cabeça e ao focinho (Fig 4). Após tricotomia e anti-sepsia tegumentar cefálica dos animais, uma incisão na linha média do escalpo foi realizada de maneira a obter exposição da sutura sagital. O periósteo foi aberto e refletido do campo cirúrgico. As coordenadas ântero-posterior, lateral e dorsoventral para acesso ao ventrículo cerebral lateral esquerdo foram determinadas pelo Atlas de Pellegrino e seus valores foram 0,2mm; 1,5mm e 4,0mm, respectivamente. O bregma foi usado como ponto de referência, procedendo-se à trepanação do crânio junto ao osso frontal, na junção das coordenadas lateral e ântero-posterior, com broca esférica nº 7 acoplada a um motor de baixa rotação.

Cuidados especiais foram tomados de maneira a se evitar lesões de estruturas vasculares e de parênquima cerebral. Três outros orifícios foram posteriormente abertos ao redor do orifício central, para expor o campo cirúrgico e como pontos de retenção, sendo neles colocados parafusos de aço inoxidável (Fig 5). A cânula externa foi posicionada no orifício central e abaixada cuidadosamente até o ponto exato da coordenada dorsoventral.

A cânula foi rigidamente fixada ao crânio do animal por meio de resina acrílica de autopolimerização rápida – cimento cranioplástico (Acrílico polimerizável Jet, Brasil) (Fig 6), após a obtenção de conveniente e desejável hemostasia (SHANKAR et al., 1998). Após a polimerização do cimento, com conseqüente fixação segura da cânula, a mesma foi liberada do braço do aparelho estereotático e uma guia (mandril) foi inserida dentro da cânula externa para evitar obstrução e contaminação. Os ratos receberam injeção intramuscular de dose profilática de pentabiótico veterinário (Fort Dodge Campinas-SP) na dosagem de 0,3ml para 250g de peso animal.

Os animais foram retirados e colocados em caixas aquecidas, para se evitar hipotermia fatal, até a completa recuperação. Posteriormente, foram alojados em gaiolas individuais, nas mesmas condições de ingestão de água e ração, assim como temperatura, luminosidade e umidade; já descritos no início deste capítulo. Os cuidados diários foram rigorosamente seguidos, de maneira que fossem evitados acidentes como mau posicionamento ou obstrução da cânula, avulsão do cimento acrílico e infecções.

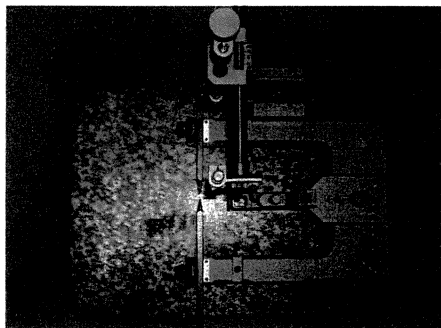


Figura 3 – Aparelho Estereotáxico

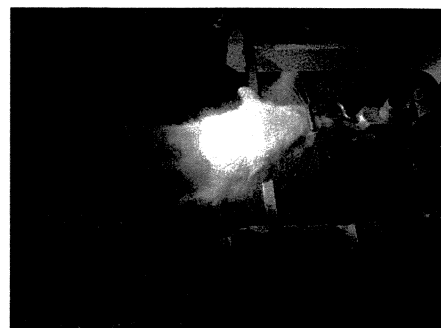


Figura 4 – Posicionamento do animal

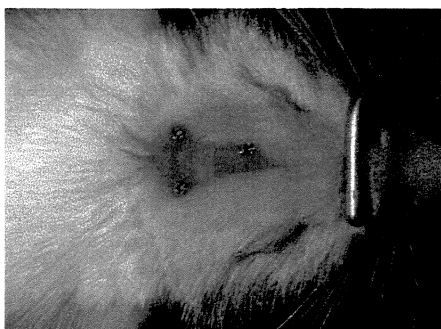


Figura 5 – Parafusos de aço inoxidável

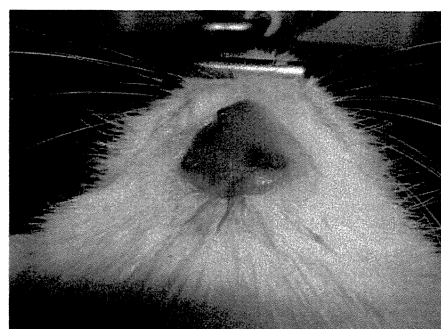
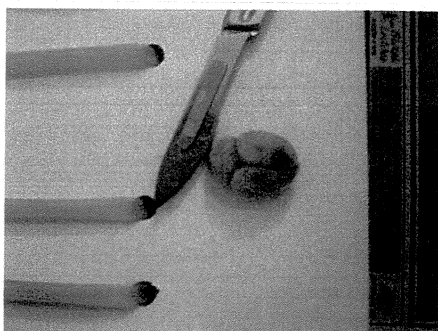


Figura 6 – Cânula implantada e fixada



**Figura 7 – Encéfalo retirado após
“Clearance”**

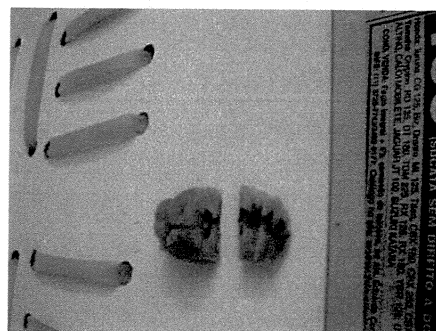


Figura 8 – Cortes para verificação

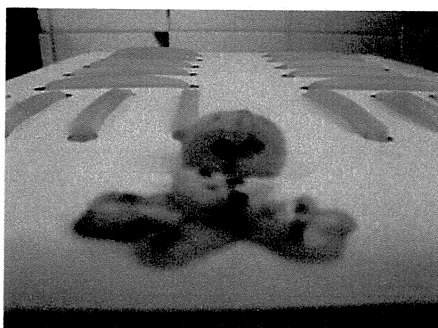


Figura 9 – Visualização do ventrículo lateral

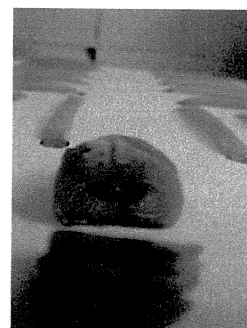


Figura 10 – Ventriculos III e laterais corados

3.2.2- Denervação renal bilateral

O procedimento foi realizado um dia após o implante da cânula i.c.v. Os animais foram novamente anestesiados, nas mesmas condições previamente definidas. Após tricotomia da região dorsal e assepsia com álcool iodado a 2% foi realizada incisão cirúrgica de aproximadamente 5cm ao longo dos processos espinhosos da coluna lombar (Fig 11). Após a exposição da musculatura paravertebral a pele foi rebatida e fixada, por meio de fios de algodão (Prolene 3-0), a um aro metálico colocado sobre a região. Dessa maneira obteve-se ampla exposição do campo cirúrgico retroperitoneal (Fig 13 e 14).

Foi realizada uma incisão paravertebral ao longo da linha aponevrótica para expor o retroperitônio (Fig 12). O pedículo renal foi dissecado cuidadosamente, evitando-se manipulações desnecessárias, de modo a livrá-lo da gordura e do tecido conjuntivo envolvente, com o auxílio de um estereomicroscópio (Nikon, Japão), (Fig 17 e 18). A seguir, a artéria renal foi separada do feixe vâsculo-nervoso em uma extensão de 5mm, aproximadamente, e delicadamente despojada de sua adventícia (Fig 15 e 16). A denervação foi então realizada nos nervos incisivos visíveis ao longo da artéria renal, com a desnudação do tecido conectivo que passa no curso da artéria e da veia renal.

Imediatamente após, foi aplicado em torno de toda circunferência arterial, uma solução de fenol a 10%, diluído em etanol a 95%. Finalmente, as suturas foram realizadas por planos, incluindo a musculatura, o tecido celular subcutâneo e a pele (Fig 19 e 20), (BELLO-REUSS et al., 1975). Este procedimento todo foi bilateralmente, ou seja, denervação renal direita e esquerda.

O controle cirúrgico para o grupo de animais submetidos à denervação renal foi o de animais não submetidos a denervação renal, ou seja, os “sham” denervados. Neste último, o procedimento cirúrgico segue o mesmo protocolo acima até a exposição do retroperitônio e posterior suturas, entretanto o pedículo renal não é dissecado e tão pouco o feixe vâsculo-nervoso é despojado de sua adventícia e aplicado fenol.

Os animais foram em seguida alojados nas mesmas condições, quando submetidos ao implante de cânula i.c.v. e utilizados após seis dias da cirurgia.

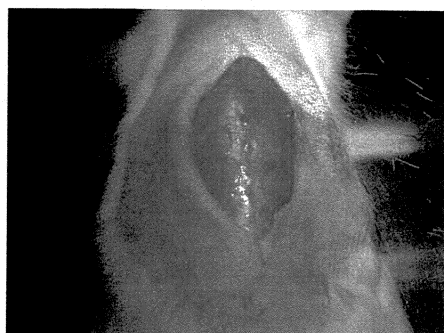
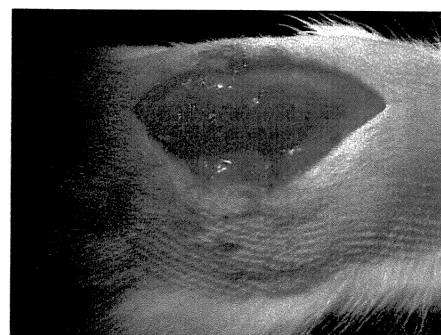


Figura 11 – Incisão cirúrgica (~5cm)



**Figura 12 - Incisão paravertebral
(aponevrótica)**



Figura 13 – Exposição campo cirúrgico

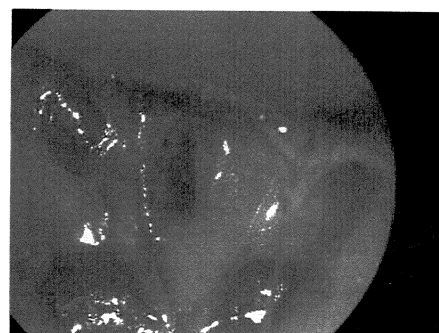


Figura 14 – Afastamento renal para acesso



Figura 15 – Feixe vâsculo nervoso



Figura 16 – Despojamento da adventícia



Figura 17 – Pedículo renal dissecado

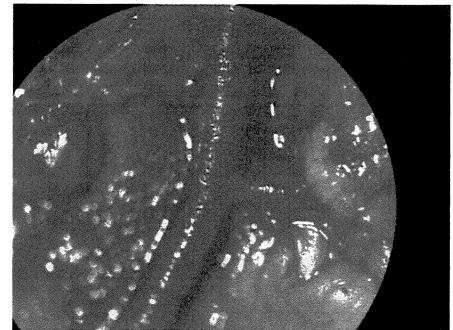


Figura 18 – Artéria renal denervada

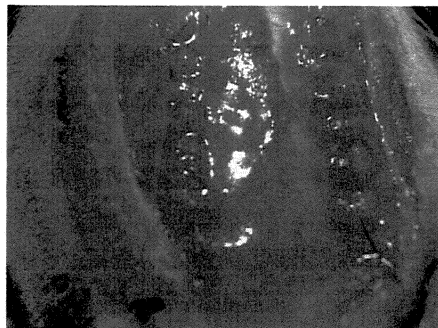


Figura 19 – Sutura plano interno

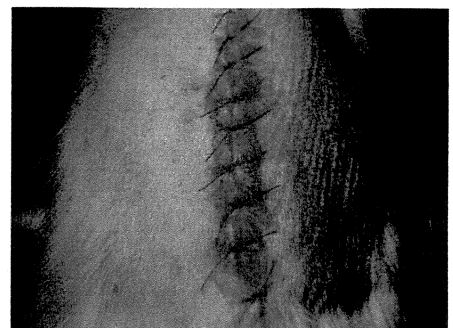


Figura 20 – Sutura plano externo

3.3- Desenho experimental

Foi delineado para o presente trabalho, dois protocolos experimentais, sendo que, em ambos, as duas espécies de ratos foram utilizadas: WKy e SHR.

3.3.1- Estudo funcional em gaiolas metabólicas

Foram considerados animais submetidos a estereotaxia (Protocolo um) e animais submetidos a estereotaxia mais denervação renal bilateral e animais submetidos a estereotaxia mais “Sham” denervados (Protocolo dois).

Para cada protocolo experimental dois grupos de ratos foram estudados.

Em todos os animais procedeu-se à administração via oral de 60 μ mol de LiCl/100g peso animal, cerca de 14 horas antes dos testes renais ("Clearance" de Lítio e Creatinina - Fig 21). Após uma noite de jejum apenas para ração, cada animal recebeu uma sobrecarga hídrica, via oral, de água com volume correspondente a 5% de seu peso corporal, não se excedendo, entretanto, volume superior a 15ml. Uma segunda sobrecarga, após cuidadoso esvaziamento vesical, com o mesmo volume, foi administrada uma hora após a primeira sobrecarga (Fig 22).

Os animais foram subseqüentemente mantidos em gaiolas metabólicas individuais (Fig 23) e, durante o intervalo de trinta minutos após a segunda administração via oral hídrica, foi considerado como período controle. Encerrado este último período, cada animal, diferentemente, foi microinjetado i.c.v. com um volume de 3 μ l de NaCl 0.15M ou de diferentes concentrações de soluções salinas hipertônicas (0.30, 0.60 e 0.90M) com uma microseringa de Hamilton. A urina emitida espontaneamente passava por um funil localizado na parte inferior da gaiola e foi coletada por quatro períodos de trinta minutos cada, em tubos graduados. A seguir, após mensuração do volume obtido em cada tempo, a urina era acondicionada em tubos de vidros previamente identificados e, sistematicamente, colocados em recipiente com gelo moído.

Ao final dos experimentos, os animais foram anestesiados mediante inalação de vapor de éter etílico e as amostras de sangue foram obtidas através da via caudal ou por punção cardíaca direta, após ampla e rápida abertura da cavidade torácica mediante dissecação romba.

O sangue colhido em Eppendorff ou seringa heparinizada foi centrifugado. As várias amostras de plasma e urinas foram mantidas hermeticamente fechadas e armazenadas, até a dosagem, em refrigerador com temperatura mínima de -50°C.

Para certificar-se de que a cânula estava corretamente posicionada no ventrículo lateral esquerdo, foi microinjetado 10 μ l de Azul de Evans 2% na cânula i.c.v. O cérebro foi removido da caixa craniana e congelado. No dia seguinte, com o auxílio de um bisturi,

cortes sagitais ântero-posteriores foram feitos e, confirmada visualmente a posição da cânula (Figs 7, 8, 9 e 10).

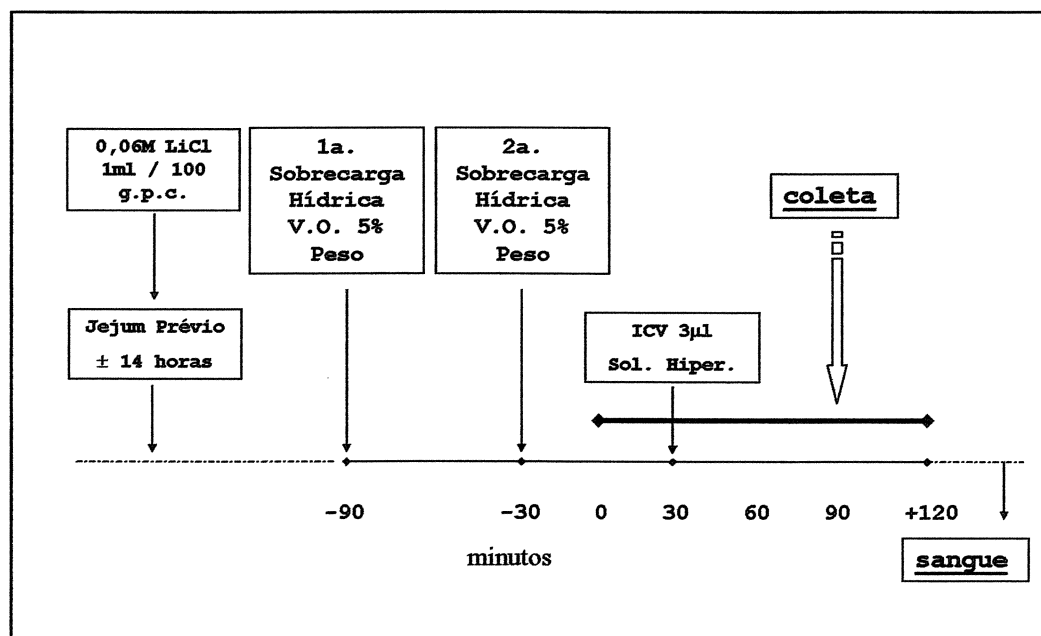


Figura 21



Figura 22 – Administração via oral hídrica



Figura 23 – Gaiola metabólica

3.3.2- Constituição dos grupos experimentais

Em todos os experimentos foram sempre considerados dois grupos de animais: grupo controle e grupo experimental.

Nos protocolos de coleta de material para o estudo funcional renal, um período de 30 minutos após a segunda sobrecarga hídrica; denominado período controle ou de estabilização, antecedeu qualquer procedimento.

Nos dois protocolos foram considerados quatro períodos experimentais, de 30 minutos cada, com coletas de urina aos 30, 60, 90 e 120 minutos após a microinjeção i.c.v. de solução salina hipertônica (NaCl) nas concentrações 0.15, 0.30, 0.60 e 0.90M.

3.3.2.1- Desenho experimental Protocolo I

Este desenho experimental foi realizado com a finalidade de estudar o comportamento da curva dose-resposta, dependente ou não, de NaCl i.c.v., com concentrações variadas (0.15, 0.30, 0.60 e 0.90M) em ratos íntegros, sobre o manuseio tubular renal de sódio em ambas as linhagens (Fig 24).

Foi considerado como período controle (tempo zero), o intervalo entre o término da segunda administração via oral hídrica e a administração i.c.v. da concentração de NaCl em questão. Este período teve duração de 30 minutos e foi determinado para todos os animais. Neste intervalo de tempo, também foi coletada uma amostra de urina.

3.3.2.1.1- Protocolo I – NaCl i.c.v. nas concentrações 0.15, 0.30, 0.60 e 0.90M

Para ambas as linhagens usadas, o único procedimento cirúrgico utilizado foi a estereotaxia. Após seis dias da implantação da cânula i.c.v., os dois grupos de ratos (WKy e SHR) foram submetidos aos testes renais de estudo funcional em gaiolas metabólicas.

Durante realização do estudo funcional, estes dois grupos receberam microinjeção i.c.v. de NaCl 0.15M e de diferentes concentrações de solução salina hipertônica (0.30, 0.60 e 0.90M).

Deste protocolo obteve-se os seguintes grupos:

Grupo controle	Grupo experimental
WKy 0.15M de NaCl i.c.v.	SHR 0.15M de NaCl i.c.v.
WKy 0.30M de NaCl i.c.v.	SHR 0.30M de NaCl i.c.v.
WKy 0.60M de NaCl i.c.v.	SHR 0.60M de NaCl i.c.v.
WKy 0.90M de NaCl i.c.v.	SHR 0.90M de NaCl i.c.v.

3.3.2.2- Desenho experimental Protocolo II

O desenho experimental para este protocolo foi realizado com a finalidade de avaliar o comportamento da curva dose-resposta, dependente ou não, sobre a excreção renal de sódio em animais denervados (Dx) e não denervados (“sham”) e a possível influência do SNC sobre o manuseio tubular renal (Fig 24).

Também foi considerado como período controle (tempo zero) os mesmos critérios adotados para o protocolo um.

As concentrações de NaCl para este protocolo foi de 0.90M, uma vez que apresentou resultados mais significativos e diferenciados entre os grupos controle e experimental, no que diz respeito à filtração glomerular e à excreção renal de sódio.

3.3.2.2.1- Protocolo II – NaCl i.c.v. 0.90M em animais Dx e “Sham”

Para este protocolo também foram utilizados os dois grupos de animais, WKy e SHR. Ambos os grupos, entretanto, foram submetidos aos dois procedimentos cirúrgicos: Estereotaxia e Denervação Renal Bilateral, acompanhado dos animais “sham” operados.

Os testes renais para ambos os grupos foram idênticos aos realizados no primeiro protocolo, entretanto, a concentração de solução salina hipertônica testada foi de 0.90M. Todos os procedimentos para realização do “Clearance”, injeção i.c.v., coletas de urina seriada e coleta de sangue e acondicionamento das amostras, seguiram os mesmos padrões estabelecidos pelo estudo em gaiolas metabólicas.

Deste protocolo obteve-se os seguintes grupos:

Grupo controle

WKy “Sham” 0.90M de NaCl i.c.v.

WKy Dx 0.90M de NaCl i.c.v.

Grupo experimental

SHR “Sham” 0.90M de NaCl i.c.v.

SHR Dx 0.90M de NaCl i.c.v.

3.3.2.3- Representação esquemática

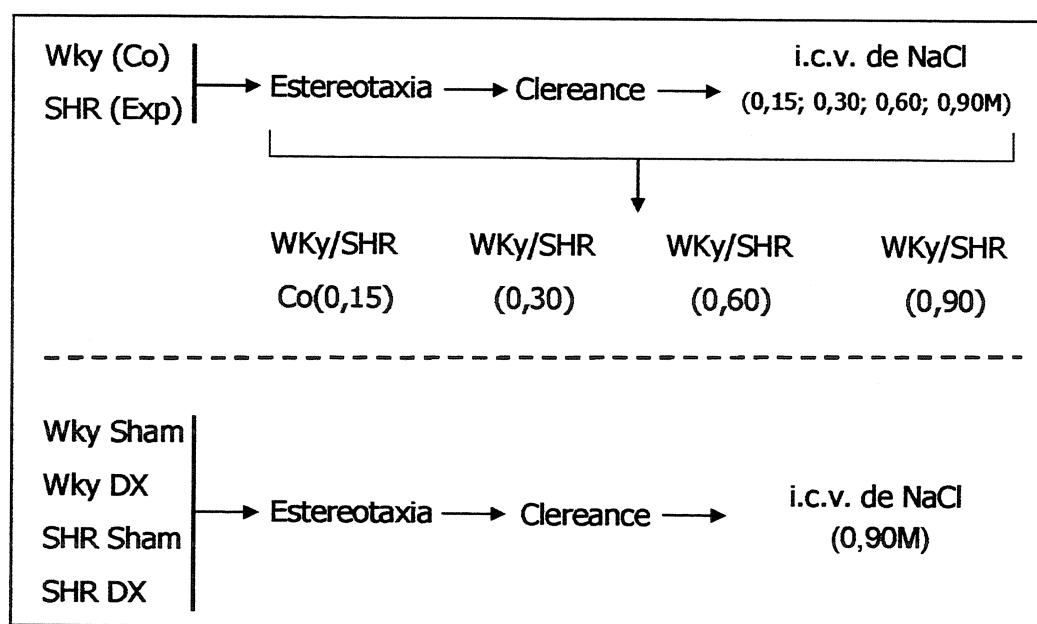


Figura 24

3.4- Avaliação funcional do nefro

3.4.1- “Clearance” de Creatinina (CCr)

“Clearance” é a medida da depuração plasmática de uma substância. O método consiste em se medir a quantidade absoluta de uma substância excretada pelos rins por unidade de tempo, relacionando-a com sua concentração plasmática.

Para conhecer o “clearance” renal, basta medir a quantidade absoluta da substância excretada na urina por minuto, e relaciona-la com sua concentração plasmática:

$$C = \frac{U \cdot V}{P} = \frac{\text{mg/ml} \cdot \text{ml/min}}{\text{mg/ml}} = \text{ml/min}$$

Onde:

C = depuração plasmática da substância, em ml/min

U = concentração urinária da substância, em mg/ml

V = fluxo urinário, em ml/min

P = concentração plasmática da substância, em mg/ml

O “clearance” constitui a técnica mais freqüentemente utilizada para se avaliar a RFG. Por isso utiliza-se compostos que são filtrados, mas não reabsorvidos ou secretados nos túbulos. Portanto, o “clearance” de uma substância filtrada nos glomérulos, mas não transportada pelos túbulos é exatamente igual a RFG. Na prática clínica, o mais utilizado desses marcadores é a creatinina, por duas razões: a) trata-se de uma substância endógena, por ser normalmente produzida no músculo esquelético; b) as técnicas utilizadas para a dosagem da creatinina são bastante simples. Mesmo sem a determinação de seu “clearance”, a creatinina pode servir de indicador da função renal, simplesmente através da medida de sua concentração plasmática (ZATZ, 2002).

Na verdade, a creatinina não é um marcador ideal da RFG, já que ocorre uma pequena secreção tubular desse composto. Além disso, existem no plasma outros compostos endógenos que interferem com a dosagem da creatinina, contribuindo para

superestimar sua concentração. Estes dois efeitos tendem a cancelar-se mutuamente, fazendo com que o “clearance” de creatinina seja uma estimativa bastante razoável da RFG (ZATZ, 2002).

3.4.2- “Clearance” de Lítio (CLi)

O interesse acerca da farmacologia do lítio desenvolveu-se a partir de seu uso em psiquiatria, tendo seu baixo índice terapêutico promovido estudos farmacocinéticos detalhados.

Após a administração via oral em dose única de LiCl 0,06M, (GONTIJO et al., 1992) observaram que o lítio apresenta uma estabilidade plasmática que mantém o seu nível estável entre 12 e 24 horas, apresentando um decaimento de 3-6% por hora a partir de 14 horas.

O lítio apresenta uma fase rápida de excreção urinária, que ocorre nas primeiras horas e uma fase lenta que se mantém por vários dias. Isto se deve a distribuição de lítio pelos compartimentos intracelulares pela afinidade diferente deste íon a vários tecidos orgânicos. Adicionalmente, após 3 horas de uma sobrecarga hídrica de 5% do peso corporal, observa-se que a excreção urinária de lítio foi semelhante àquela observada para excreção urinária não estimulada, e a concentração de lítio na urina diluída pela sobrecarga de água, medida pela fotometria de chama encontra-se na faixa de leitura confiável para a dosagem de lítio na urina (GONTIJO et al., 1992).

A passagem pelos túbulos renais do ultrafiltrado glomerular determina grandes modificações em função de processos de reabsorção e de secreção. As concentrações de íons (sódio, lítio) são determinadas pela dosagem laboratorial destas substâncias na urina. Como o lítio é provavelmente livremente filtrado pela barreira glomerular, infere-se reabsorção tubular. Em 1968, THOMSEN e SCHOU publicaram um trabalho pioneiro sugerindo que o lítio somente é reabsorvido no túbulo proximal em paralelo com sódio e água, propondo em trabalho posterior que o CLi pudesse ser um marcador válido da taxa de fluxo de líquido oriunda do túbulo proximal.

Sendo assim, a avaliação da manipulação no túbulo contornado proximal e pós-proximal de sódio foram estimadas pelo “Clearance” de Lítio (CLi), sendo este um método indireto, pelo qual se calcula o aporte de sódio ao túbulo distal proveniente do túbulo contornado proximal (TCP). O CLi é baseado na evidência de que a absorção do lítio no TCP ocorre na mesma proporção daquela evidenciada para o sódio e a água, ou seja, aporte distal de lítio a partir do TCP é similar à excreção fracional de sódio e água, sendo a fração de excreção de lítio (FELi) indicativa de manuseio de sódio nos segmentos proximais do nefro (GONTIJO et al., 1992; XAVIER et al., 2000; FURLAN et al., 2003; BOER et al., 2005).

A maior via de eliminação do lítio é o rim, sendo que o “Clearance” de Lítio representa cerca de 20-40% da FG. No presente momento, considera-se que o CLi é o melhor marcador do aporte de volume proximal (V_{prox}) disponível (V_{prox} = taxa do volume proximal de líquido).

Ao considerar o CLi como marcador do volume proximal de líquido assume-se que:

- A concentração de lítio no final do túbulo é igual à concentração de lítio no plasma ($TFLi/PLi = 1$).
- Nenhuma reabsorção ou secreção relevantes de lítio ocorreu além do TP.
- O lítio não altera a função renal.

3.4.3- Descrição dos parâmetros funcionais a serem analisados

Fluxo urinário minuto (V'):

O fluxo urinário coletado no período de 120 minutos foi dividido pelo tempo de coleta. Os resultados foram expressos em ml/min. Em nosso protocolo, o volume urinário foi corrigido pelo peso do rato sendo expresso por 100g de peso corporal. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

“Clearance” de creatinina (C_{Cr}):

Representa a depuração plasmática da creatinina por unidade de tempo pela totalidade dos glomérulos renais funcionantes, calculada pela fórmula ($U \times V/P$), sendo U a concentração urinária de creatinina, V o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de creatinina. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

“Clearance” de sódio (C_{Na}):

Representa a depuração plasmática do sódio por unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula ($U \times V/P$), sendo U a concentração urinária de sódio, V o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de sódio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

“Clearance” de lítio (C_{Li}):

Representa a depuração plasmática do lítio por unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula ($U \times V/P$), sendo U a concentração urinária de lítio, V o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de lítio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

“Clearance” de potássio (C_K):

Representa a depuração plasmática do potássio por unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula ($U \times V/P$), sendo U a concentração urinária de potássio, V o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de potássio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Fração de excreção de sódio (FE_{Na}):

Representa a fração de carga filtrada de sódio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula ($C_{Na} / C_{Cr} \times 100$), sendo C_{Na} o “clearance” de sódio e o C_{Cr} o “clearance” de creatinina. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Fração de excreção de lítio (FE_{Li}):

Representa a fração de carga filtrada de lítio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula $(C_{Li} / C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{Li} o “clearance” de lítio e o C_{Cr} o “clearance” de creatinina. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Fração de excreção de potássio (FE_K):

Representa a fração de carga filtrada de potássio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula $(C_K / C_{Cr} \times 100)$, sendo C_K o “clearance” de potássio e o C_{Cr} o “clearance” de creatinina. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Carga filtrada de sódio (CF_{Na}):

Representa a quantidade de sódio filtrada na unidade de tempo, calculada pela fórmula $(P_{Na} \times C_{Cr})$, sendo P_{Na} a concentração plasmática de sódio e o C_{Cr} o “clearance” de creatinina. Os resultados foram expressos em $\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Fração de excreção proximal de sódio (FEP_{Na}):

Representa a fração da carga filtrada de sódio excretada ao longo do túbulo proximal do nefro, calculada pela fórmula $(C_{Li} / C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{Li} o “clearance” de lítio e o C_{Cr} o “clearance” de creatinina. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Fração de excreção pós-proximal de sódio ($FEPP_{Na}$):

Representa a fração da carga filtrada de sódio excretada ao longo dos segmentos distais ao túbulo proximal do nefro, calculada pela fórmula $(C_{Na} / C_{Li} \times 100)$, sendo C_{Na} o “clearance” de sódio e o C_{Li} o “clearance” de lítio. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

3.4.4- Fórmulas convencionais para cálculos de “clearances” e de fração de excreção

Abrev	Parâmetros	Fórmulas	Unidade
V	Fluxo minuto urinário	VU/Tempo	ml/min
CCr	“Clearance” de creatinina	$(UCr \cdot V)/PCr$	ml/min
CLi	“Clearance” de lítio	$(ULi \cdot V)/PLi$	ml/min
CNa	“Clearance” de sódio	$(UNa \cdot V)/PNa$	ml/min
CK	“Clearance” de potássio	$(UK \cdot V)/PK$	ml/min
RFG	Taxa de filtração glomerular	CCr	ml/min
FF	Fração de filtração		%
CFNa	Carga filtrada de sódio	$(PNa \cdot CCr)$	$\mu Eq/min$
CENa	Carga excretada de sódio	$(UNa \cdot V)$	$\mu Eq/min$
TNa	Reabsorção tubular de sódio	$CFNa - CENa$	$\mu Eq/min$

Abrev	Parâmetros	Fórmulas	Unidade
FENa	Fração de excreção de sódio	$(UNa \cdot V)/(PNa \cdot CCr) \cdot 100$	%
FENa	Fração de excreção de sódio	$(CNa/CCr) \cdot 100$	%
FENa	Fração de excreção de sódio	$(CENa/CFNa) \cdot 100$	%
FENa	Fração de excreção de sódio	$(UNa/PNa) + (PCr/UCr) \cdot 100$	%
CFK	Carga filtrada de potássio	$(PK \cdot CCr)$	$\mu Eq/min$
CEK	Carga excretada de potássio	$(UK \cdot V)$	$\mu Eq/min$
FEK	Fração de excreção de potássio	$(UK \cdot V)/(PK \cdot CCr) \cdot 100$	%
FEK	Fração de excreção de potássio	$(CK/CCr) \cdot 100$	%
FEK	Fração de excreção de potássio	$(CEK/CFK) \cdot 100$	%
CFLi	Carga filtrada de lítio	$(PLi \cdot CCr)$	$\mu Eq/min$
CELi	Carga excretada de lítio	$(ULi \cdot V)$	$\mu Eq/min$
FELi	Fração de excreção de lítio	$(ULi \cdot V)/(PLi \cdot CCr) \cdot 100$	%
FELi	Fração de excreção de lítio	$(CLi/CCr) \cdot 100$	%
FELi	Fração de excreção de lítio	$(CELi/CFLi) \cdot 100$	%
RPNa	Reabsorção proximal de sódio	$CFNa - DDNa$	$\mu Eq/min$
RPFNa	Reabsorção proximal fracional de sódio	$(CFNa - DDNa)/CFNa \cdot 100$	%
RDNa	Reabsorção distal de sódio	$DDNa - CENa$	$\mu Eq/min$
RDFNa	Reabsorção distal fracional de sódio	$(DDNa - CENa)/DDNa \cdot 100$	%

3.4.5- Cálculos utilizados para avaliar o manuseio tubular de sódio, elaboradas a partir do “clearance” de lítio que é o marcador da reabsorção de sódio pelo túbulo proximal renal

Abrev	Parâmetros	Fórmulas	Unidade
FEPNa	Fração de excreção proximal de sódio	$(\text{CLi}/\text{CCr}) \cdot 100$	%
FEPPNa	Fração de excreção pós-proximal de sódio	$(\text{CNa}/\text{CLi}) \cdot 100$	%
DDNa	“Distal Delivery” (aporte distal) de sódio	$\text{CLi} \cdot \text{PNa}$	$\mu\text{Eq}/\text{min}$

3.5- Descrição das avaliações metodológicas

Parâmetros bioquímicos do sangue e urina

As dosagens laboratoriais das concentrações plasmáticas e urinárias de lítio, sódio e potássio foram realizadas por fotometria de chama, através de um fotômetro da Micronal (NV 262 São Paulo-SP), enquanto que as concentrações séricas e urinárias de creatinina foram dosadas em Espectrofotômetro (Micronal, NV 383 São Paulo-SP) pelo método de picrato alcalino, segundo a técnica de Jaffé.

3.6- Análise dos parâmetros funcionais

Os resultados são apresentados como média aritmética e erro-padrão desta média (Média $\pm$ EPM) por 100g de peso corporal para os valores obtidos em cada intervalo experimental (0, 30, 60, 90 e 120 minutos). Os resultados individuais para cada intervalo experimental comparado ao valor correspondente do período controle (tempo zero, pré-estímulo) (veja desenho experimental) foram expressos como variação percentual com relação a este período. A análise dos parâmetros funcionais renais após a administração das diferentes concentrações i.c.v. de NaCl foi calculada como a área sobre a curva da variação percentual *versus* tempo (TAUC, $\Delta\% \cdot \text{min}^{-1}$).

3.7- Análise estatística

As análises estatísticas dos dados das curvas foram feitos pela análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Para os resultados significativos, o teste de contraste de Bonferroni foi utilizado para determinar a extensão das diferenças. O teste *t* de Student também foi utilizado para comparar a média amostral com a média da população. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado para indicar diferenças significativas.

4- ARTIGO

4.1- Guadagnini, D. e Gontijo, J.A.R. *Altered renal sodium handling in spontaneously hypertensive rats (SHR) after hipertonic saline intracerebroventricular injection: Role of renal nerves.* Neuroscience Letters (submetido)

----- Mensagem Original -----

Assunto: Neuroscience Letters Submission Confirmation

Data: Thu, 10 Feb 2005 13:33:44 -0000

De: "Neuroscience Letters" <nsf@elsevier.com>

Para: <gontijo@fcm.unicamp.br>

Dear Prof gontijo,

Your submission entitled "Altered renal sodium handling in spontaneously hypertensive rats (SHR) after hypertonic saline intracerebroventricular injection: Role of renal nerves" has been received for consideration in Neuroscience Letters.

You will be able to check on the progress of your manuscript by logging on to the Elsevier Editorial System as an author: <http://ees.elsevier.com/nsf/>

Your paper will be given a manuscript number shortly and you will soon receive an e-mail with this number for your reference.

Thank you for submitting your manuscript to Neuroscience Letters. Should you have any questions, please feel free to contact our office.

Kind regards,

Lauren Coartney

Editorial Office

Neuroscience Letters

Elsevier

525 B Street, Suite 1900

San Diego, CA 92101-4495

USA

FAX: 619-699-6801

E-mail: nsf@elsevier.com

Altered renal sodium handling in spontaneously hypertensive rats (SHR) after hypertonic saline intracerebroventricular injection: Role of renal nerves

Running Title: Urinary Sodium Excretion Induced by Hypertonic Saline in SHR

Dioze Guadagnini and José Antonio Rocha Gontijo

Disciplina de Medicina Interna, Laboratório Balanço Hidro-Salino, Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 13083-100 Campinas, SP, Brazil.

Acknowledgments:

Grants from CNPq (500868/91-3), PRONEX (0134/97), CAPES and FAPESP (00/12216-8) supported this work. The authors wish to thank Ms. Amanda Roberta de Oliveira and Elizabeth Cristina Cambiucci for expert technical assistance.

Correspondence:

J. A. R. Gontijo, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 13083-592 Campinas, SP, Brazil.

Phone: 55-19-3788 8924; FAX: 55-19-3788 8925

E-mail: gontijo@fcm.unicamp.br

ABSTRACT

The mechanism by which blood pressure rises in the spontaneously hypertensive rats (SHR) strain remains to be elucidated. Also, there is a surprising lack of experimental data on the natriuretic mechanisms induced by intracerebroventricular (ICV) injection of hypertonic saline in SHR. In the present study, we hypothesized that SHR hypertension may result, at least in part, from sustained renal sympathetic nerve overactivity caused by decreased central response to elevated cerebrospinal fluid sodium concentration. To test this hypothesis, the study was designed to evaluate the influence of renal denervation activity after ICV hypertonic saline injection at increasing concentration on renal urinary sodium handling in SHR compared with appropriate age-matched Wistar Kyoto (WKy) control subjects. The present investigation confirmed previous data showing pronounced renal natriuretic response to ICV hypertonic saline stimuli but also demonstrated decreased creatinine clearance (C_{Cr}) and fractional sodium excretion (FE_{Na}) in a concentration-dependent manner in WKy rats but not in SHR. In SHR, increased FE_{Na} obtained by central administration of 0.90M NaCl was produced by increases in proximal (FEP_{Na}) and post-proximal ($FEPP_{Na}$) fractional urinary sodium rejection without changes in C_{Cr} , indicating a direct tubular effect. Renal denervation caused significant antinatriuresis by decreased C_{Cr} and increased FEP_{Na} reabsorption in WKy but not in SHR.

The novel finding of the present research shows that natriuresis is associated with an increased C_{Cr} and ion delivery from the proximal tubule and incompletely compensated by more distal nephron segments. Furthermore, an enhanced FE_{Na} only after higher ICV hypertonic saline (0.90M NaCl) injection with a shift to the right of dose-response curve provides evidence of a small response of sodium sensor receptors in periventricular areas of SHR compared to WKy rats. This may be interpreted as a down-regulation of target organ responsiveness to small concentrations of NaCl and/or that inappropriately decreased responsiveness would be related to impairment of blood pressure response and release of neuro-humoral factors in SHR strain.

Keywords: Arterial hypertension; hypertonic saline; SHR, kidney denervation; natriuresis; lithium clearance

INTRODUCTION

It has been postulated that the kidneys play a pivotal role in the pathogenesis of essential hypertension as consequence of a primary defect in kidney function and/or renal hemodynamics that promote retention of sodium [20,44]. Although the precise mechanism by which blood pressure rises in the SHR strain remains to be elucidated, renal control of the fluid and electrolyte balance is thought to play a dominant role in long-term control of arterial blood pressure. Sodium metabolism disturbances appear to be important in the pathogenic process in the Okamoto-Aoki strain of spontaneously hypertensive rats (SHR), since chronic consumption of excess sodium increases, whereas sodium restriction generally attenuates hypertension in this species [3,32]. In addition, cross-transplantation studies indicate that a defect in renal function plays an important role in determining the level of arterial pressure [6,7]. Previous balance studies [8,35] examining urinary sodium excretion throughout 3 to 7-week periods provide evidence of renal dysfunction in young genetically hypertensive rats of the Milan strain (MHS), SHR and stroke-prone sub-strain of SHR. These studies show decreased urinary salt and water excretion than in pair-fed age-matched normotensive Wistar Kyoto (WKy) rats. Similar results were reported by Herlitz *et al.* (1979) for 7-week-old SHR as compared with normotensive Wistar rats; sparse data were presented for the appropriate genetic control, WKy.

The role of CNS in the control of blood pressure and hydrosaline homeostasis has been remarkably demonstrated by several studies [9,15,16,22,34]. The mechanisms underlying this phenomenon are still not well understood but may be related to renal sodium handling. There is evidence of an important role of renal nerves in the pathogenesis of many experimental models of hypertension [30,35,45,47]. We have recently shown a role of sympathetic nerve activity in arterial blood pressure and renal function changes caused by chronic administration of nitric oxide synthase inhibitors [47]. There are reports that neural stimulation elicits enhanced renal release of norepinephrine [12] and that renal norepinephrine turnover is elevated in young SHR [36]. SHR kidneys exhibit a rightward shift of their pressure-natriuresis curve compared with normotensive WKy rats [31]. The larger depressor and natriuretic response in young SHR compared with WKy may reflect differences in efferent renal nerve activity, which is reported to be higher in SHR as young

as 5 weeks [29]. Further evidence suggestive of strain differences derives from pharmacological studies demonstrating that isolated perfused kidneys of 4 to 10-week old SHR exhibit exaggerated vascular response to electric stimulation of the renal nerves and infusion of vasoconstricting substances [5,12].

In rats bolus injection of hypertonic saline induced a concentration-dependent increase of renal sodium excretion in normotensive rats accompanied by significant increases in partly angiotensin-II mediated mean arterial pressure [38]. Intracerebroventricular injections of hypertonic saline caused marked natriuresis in conscious dogs, goats, cats and rats [1,10,19,38]. Treatment with high doses of mineralocorticoids or vasopressin did not prevent the response, indicating that changes in circulating vasopressin or aldosterone were not responsible for the natriuresis. In dogs, increased natriuresis was associated with a small rise in arterial blood pressure which gradually returned to control levels while sodium urinary excretion continued to rise. These observations led to the suggestion that hypertonic NaCl injected intracerebroventricularly may cause the release of some hormone or peptide with natriuretic effect from the brain [4,24,38,41].

There is a surprising lack of experimental data on the natriuretic mechanisms induced by intracerebroventricular (ICV) injection of hypertonic saline in hypertensive animals. In the present study, we assessed renal sodium handling in response to ICV injection of hypertonic saline in SHR, comparing them with age-matched WKy. Since the changes in renal sodium tubule handling associated with genetic hypertension have not been examined in detail, we hypothesized that SHR hypertension development may result, at least in part, from sustained renal sympathetic nerve overactivity caused by decreased central response to elevated cerebrospinal fluid sodium concentration. To test this hypothesis, we investigated the effects of acute ICV hypertonic saline administration on tubular sodium handling, evaluated by lithium clearance, in anaesthetized, unrestrained renal-denervated rats and their sham-operated appropriate WKy controls, randomly assigned to one of ten separate groups: (1) sham-operated ICV 0.15M NaCl-injected (pooled data, WKy n= 5; SHR n= 6), sham-operated ICV 0.30 M NaCl (WKy n= 5; SHR n= 6), 0.60 M NaCl (WKy n= 5; SHR n= 7) and 0.90 M NaCl (WKy n= 9; SHR n= 7) ICV-

injected rats, (2) renal-denervated ICV 0.90 M NaCl (WKy n= 5; SHR n= 5) ICV-injected rats. The effects of ICV 0.15 M NaCl injection in non-denervated groups were similar, so the data were pooled (WKy n = 5; SHR n= 6).

MATERIALS AND METHODS

The general guidelines established by the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) were followed throughout the investigation. The renal tests were conducted on age-matched, male offspring of sibling-mated SHR and randomly outbred WKy (aged 12 weeks after weaning). Our local colonies originated from breeding stock supplied by CEMIB/Unicamp, Campinas, SP, Brazil. Male Wistar-Kyoto (WKy) and Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) (250-320 g) were chronically instrumented with an ICV guide cannula [21] and kept under controlled temperature and lighting conditions in individual metabolic cages, with free access to tap water and standard laboratory rodent chow (Purina rat chow: Na content: 135 ± 3 $\mu\text{Eq/g}$; K content: 293 ± 5 $\mu\text{Eq/g}$). The animals were briefly anesthetized with an intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (50 mg kg^{-1} body weight) and a stainless steel cannula was stereotaxically implanted into the lateral cerebral ventricle (LCV) seven days before the experiments, using previously reported techniques and pre-established coordinates: anteroposterior -0.2 mm from bregma; lateral -1.5 mm; and vertical -2.8 mm. The position of the cannula was visually confirmed by blue Evans 2% infusion through the ICV cannula at the end of the experiment. In the renal bilateral-denervated (DNx) groups, the animals were anesthetized and both kidneys were surgically denervated under a stereomicroscope. Denervation was accomplished by cutting visible nerves along the renal artery and by stripping the connective tissue passing to and along the course of the renal artery and vein. Immediately thereafter, the renal vessels were surrounded with cotton previously soaked in 10% (v/v) phenol diluted in absolute ethanol [8,21,47]. Tail arterial pressure was estimated each week, one day before the renal test, in conscious restrained rats by the tail-cuff method, using an electrospigmomanometer (Narco Bio-System, Austin, TX, USA). This indirect approach permits repeated measurements with a close correlation (correlation coefficient = 0.975) compared to direct

intra-arterial recording [33]. The renal function tests were performed at 12-14 weeks of age in anaesthetized, unrestrained SHR and WKy rats. In order to evaluate the influence of renal denervation on tubular sodium handling, the rats were randomly assigned to one of four separate groups (SHR, WKy, DN_{XWKy} and DN_{XSHR}). Fourteen hours before the renal test, 60 $\mu\text{mol LiCl} / 100\text{g}^{-1}$ body weight was given by gavage. After an overnight fast, each animal received a load of tap water by gavage (5% of the body weight), followed by a second load of the same volume 1-hour later. Thirty minutes after the second load (control period), 0.15M NaCl or hypertonic saline solutions (0.30, 0.60, and 0.90 M) was ICV microinjected in the volume of 3 μl at different concentrations with a 10- μl Hamilton microsyringe and spontaneously voided urine was collected over four periods of 30 min into a graduated centrifuge tube. At the end of the experiment, blood samples were drawn through the cardiac puncture in anesthetized rats and urine and plasma samples were collected for analysis. Plasma and urine sodium, potassium and lithium concentration were measured by flame photometry (Micronal, B262, São Paulo, Brazil), while creatinine concentrations were determined spectrophotometrically (Instruments Laboratory, Genesys V, USA). Creatinine clearance was used to estimate glomerular filtration rate (GFR) and lithium clearance (C_{Li}) was used to assess proximal tubule output [8,21,22,47]. Fractional sodium excretion (FE_{Na}) was calculated as $C_{\text{Na}}/C_{\text{Cr}} \times 100$, where C_{Na} is sodium clearance and C_{Cr} is creatinine clearance. The fractional proximal (FEP_{Na}) and post-proximal (FEPP_{Na}) sodium excretion were calculated as $C_{\text{Li}}/C_{\text{Cr}} \times 100$ and $C_{\text{Na}}/C_{\text{Li}} \times 100$, respectively. Renal parameter responses to ICV saline were calculated as the total area under curve versus time (TAUC, $\Delta\%.\text{min}^{-1}$), where renal data was expressed as a percentage of its baseline value during the 30-min control period preceding each experimental interval. All data are reported as means $\pm$ SEM. Data obtained over time were analyzed using appropriate ANOVA. *Post hoc* comparisons between selected means were done with Bonferroni's contrast test when initial ANOVA indicated statistical differences between experimental groups. Comparisons involving only two means within or between groups were done using a Student's *t* test. A *p* value < 0.05 was considered significant.

RESULTS

Figures 1, 2 and Table 1 show the effects of ICV hypertonic saline or 0.15 M NaCl microinjection and renal bilateral denervation on renal Na^+ and K^+ handling, body weight, food intake and tail blood pressure levels in SHR and WKy rats expressed as mean $\pm$ SEM per 100-g b.w. All rats survived and were clinically healthy up to the sixth day after a cannula was positioned in the LCV. The tail arterial pressure in SHR appeared to reach a plateau after 12 weeks of age. As shown in Table 1, in 12-week old rats tail arterial pressure averaged 180.6 ± 8 mmHg in SHR and 114 ± 10 mmHg in WKy ($p < 0.01$). The body weight was significantly lower in SHR compared to age-matched normotensive strain. The tail arterial blood pressure of WKy and SHR was unchanged by renal bilateral phenol denervation (see Table 1). There were no significant differences between the daily solid rat chow intake (when normalized by body weight) and body weight, serum sodium, potassium, and lithium levels (Table 1) in sham-operated ICV 0.15M NaCl-injected WKy rats compared with the other groups.

The data for renal function and renal sodium handling are summarized in Fig. 1 and 2. All the calculated total area under curves to renal parameters is enhanced in a concentration-dependent fashion in WKy after intracerebroventricular administration of hypertonic saline when compared to 0.15 M NaCl ICV injections (Fig 1).

The urinary flow rates and the glomerular filtration rate estimated by C_{Cr} did not differ significantly among the non-denervated groups during the studies of renal tubule sodium handling (Fig. 1). In WKy rats, the ICV microinjection of hypertonic saline (0.30, 0.60 and 0.90 M) decreased the FE_{Na} in sham-operated rats from $460 \pm 42 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ to $307 \pm 41 \Delta\%.\text{min}^{-1}$, and from $307 \pm 41 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ to $189 \pm 19 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ and, FE_K in sham-operated rats from $825 \pm 88 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ to $577 \pm 32 \Delta\%.\text{min}^{-1}$, and from $577 \pm 32 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ to $476 \pm 29 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ (Fig. 1). The graded decrease in FE_{Na} and FE_K were accompanied by a significant fall in proximal sodium reabsorption rejection compared with the sham-operated ICV 0.15M NaCl-injected rats (Fig. 2). This decrease occurred directly associated with a parallel fall in C_{Cr} despite an unchanged $FEPP_{Na}$ (Fig. 1). Likewise, the C_{Cr} , higher natriuresis and kaliuresis responses to ICV 0.30M and 0.60M NaCl injections in

WKy sham-operated rats were unaffected in SHR ($P < 0.025$) (see Fig 2). This blunted urinary ion excretion response to hypertonic saline concentrations between 0.30M NaCl and 0.60M NaCl in SHR compared to normotensive rats, was associated with an unchanged tubule proximal and post-proximal sodium handling (Fig. 1). In the present study, this tendency was reversed when SHR were stimulated by ICV administration of 0.90M NaCl. Of particular interest is the observation that in SHR related to WKy, urinary sodium excretion obtained by ICV administration of concentration beyond 0.90M NaCl was produced by increases in proximal and post-proximal fractional urinary sodium rejection without changes in creatinine clearance, indicating a direct tubular effect. This is further highlighted by the significant differences in fractional sodium excretion during the same concentration-response stimuli (Fig. 1). The enhanced fractional sodium excretion only after higher ICV hypertonic saline (0.90M NaCl) injection was followed by significant increase in kaliuresis with a shift of dose-response curve to the right provides evidence of a small response of sodium sensor receptors in periventricular areas in SHR strain compared to WKy rats. The renal natriuretic responses in WKy, confirming previous studies in other normotensive strains, were not altered by ICV 0.15 M NaCl administration in sham-operated or denervated rats.

Figure 2 shows the renal test results for WKy and SHR subjected to bilateral renal denervation 7 days before the central administration of 0.90M NaCl. After ICV 0.90M NaCl injection, kidney denervation in WKy resulted in a transient decreased absolute and fractional urinary sodium excretion compared with WKy non-denervated animals. After ICV 0.90M NaCl injection, creatinine clearance and fractional urinary sodium excretion were significantly lower in renal denervated WKy and unaffected in SHR age-matched group, as follows: C_{Cr} : WKy: $810 \pm 74 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ and DN_{XWKy} : $611 \pm 39 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ ($P < 0.05$) ; SHR: $623 \pm 44 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ and DN_{XSHR} : $447 \pm 53 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ ($P < 0.2$); FE_{Na} : WKy: $291 \pm 38 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ and DN_{XWKy} : $202 \pm 29 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ ($P < 0.01$) ; SHR: $187 \pm 45 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ and DN_{XSHR} : $158 \pm 32 \Delta\%.\text{min}^{-1}$ ($P < 0.2$). This decreased FE_{Na} in WKy was accompanied by a significant fall in proximal sodium excretion (FEP_{Na}) ($P < 0.01$) and unchanged $FEPP_{Na}$ (Fig. 2). The decreased urinary sodium excretion

response in SHR was abolished by previous bilateral renal denervation as demonstrated in the data above (see Fig.2).

The consistently decreased FE_{Na} produced by ICV hypertonic saline injection in renal denervated and non-denervated rats was followed by a significant fall in kaliuresis responses for both strains (Fig. 1 and 2).

DISCUSSION

Many investigators, studying mammalian species, have demonstrated that administration of hypertonic saline into the cerebral ventricles elicit a large increase in renal sodium excretion [1,10,19,38]. This effect has been construed as evidence of cerebral control of sodium excretion. Intracerebroventricular (ICV) injection of hypertonic saline also results in increased water intake, vasopressin secretion, and higher arterial blood pressure [2].

The present study was designed to evaluate the influence of renal denervation activity after ICV hypertonic saline administration in a concentration-dependent fashion on renal urinary sodium handling determined by lithium clearance in adult Okamoto-Aoki rats compared with appropriate age-matched WKy control subjects. The present investigation confirmed previous data showing pronounced renal natriuretic response to ICV hypertonic saline injection but also demonstrated that central hypertonic saline administration decreased glomerular filtration rate and fractional sodium excretion in a concentration-dependent manner in WKy rats but not in SHR (Fig. 1). In SHR, urinary sodium excretion obtained by ICV administration of concentrations beyond 0.90M NaCl was produced by increases in proximal and post-proximal fractional urinary sodium rejection without changes in creatinine clearance, indicating a direct tubular effect. Renal denervation caused significant antinatriuresis by decreased glomerular filtration rate and increased proximal fractional sodium reabsorption in WKy but not in SHR. These results suggest that the natriuretic effect on renal proximal and post-proximal tubules after 0.90M NaCl ICV administration was not associated with neural activity in adult SHR. Despite repeated

demonstrations of the natriuretic effect of ICV hypertonic saline in various animals, that effect was not observed in genetic hypertensive rats and the precise mechanism of this phenomenon remains unknown. Three remarkable questions emerged from the present investigation: 1) why do intracerebroventricular hypertonic injections promote a decreased natriuresis in a concentration-dependent fashion? 2) Why do SHR show a large decrease in responsiveness of urinary sodium excretion to ICV hypertonic saline administration compared to WKY? and 3) Why does the natriuretic response to renal bilateral denervation decrease?

Several possibilities may be considered. First, the central nervous system may directly influence renal sodium excretion through neural routes. Second, hemodynamic factors may be responsible for the alterations in electrolyte excretion. Third, the natriuresis may result from fluctuations in the level of neural-borne factors which influence sodium tubule handling. Fourth, the data from Okamoto-Aoki hypertensive rats suggest a definite lack of relationship between ICV hypertonic saline concentrations and renal response.

There is considerable evidence supporting a role of the sympathetic nervous system in the control of urinary sodium excretion [14-16]. For example, natriuretic responses to volume expansion are impaired when sympathetic efferent pathways are interrupted. In addition, an increase in sodium excretion occurs when sympathetic innervation of the kidney is blocked. Although bilateral renal denervation generally increases urinary sodium excretion, our data demonstrated a decreased concentration-dependent natriuresis response in normotensive rats after ICV 0.30M and 0.60M hypertonic saline injections, suggesting progressive sympathetic nerve overexcitability.

Authors have suggested that denervated-natriuresis is mediated either by alterations in intrarenal hemodynamics or by a direct influence on active sodium transport [25,37]. Whatever the case may be, in the present study the glomerular filtration rate estimated by creatinine clearance data revealed a correlation with sodium excretion. Renal nerves, therefore, do not seem to be needed for saline-induced natriuresis in SHR. These results offer evidence that increased natriuresis after ICV hypertonic saline is not solely due to direct neural influences on the kidney.

Postganglionic sympathetic nerve-end blockers such as guanethidine did inhibit natriuretic responses to intraventricular hypertonic saline but it also suppressed the vasopressor responses. A previous study [10,11] demonstrated that the time-course of changes in sodium excretion and arterial pressure after ICV hypertonic saline is the same. Thus, since hemodynamic and natriuretic responses appear to depend on the magnitude of increased blood pressure, the inability of hypertensive kidneys to produce effective natriuresis after centrally administered hypertonic saline injection may reflect the ineffectiveness of inhibiting sympathetic activity responses and/or to modify the higher basal arterial pressor levels in SHR.

In opposition to our data on normotensive and hypertensive rats, Dorn *et al.* (1969) showed evidence of unchanged glomerular filtration rate (GFR) in dogs, after intraventricular hypertonic saline injection, whereas the present findings confirm results of Andersson *et al.* (1969), who observed a consistent rise of GFR in goats. The dose-response curve to C_{Cr} is directly associated with hypertonic saline-induced natriuresis in WKy but not in SHR, since there was consistent quantitative relationship between GFR and $FENa^+$ in the present normotensive experimental results.

It has been known that arterial pressure, as an independent factor, may affect sodium reabsorption and excretion. Other physical factors such as renal vascular resistance and renal blood flow can also influence renal handling of sodium [25]. Selkurt *et al.* (1965) and other researchers [25,37] proposed that elevated arterial pressure might impair sodium reabsorption through a washout of medullary solutes by increased medullary blood flow. On the other hand, some authors (Cowley, 1997) have suggested that an increase in interstitial volume and/or pressure due to a transient hydrostatic pressure gradient across the peritubular capillaries could impede tubular reabsorption and enhance sodium excretion. Thus, increased perfusion pressure and renal blood flow may enhance sodium excretion, whereas increased renal vascular resistance may have the opposite effect. In our experiments, the ICV dose-dependent hypertonic saline-induced GFR and natriuresis decrease may indicate a progressive enhancement of renal vascular resistance. However, the observed central insensitivity and unaffected natriuretic responses in SHR to up to ICV

0.90M NaCl injections may imply that the rise in renal perfusion pressure did not occur or may not exert a predominant role on electrolyte excretion in hypertensive rats.

Remarkable findings of the present investigation suggest that sodium tubule transport in renal denervated and non-denervated rats after centrally hypertonic stimuli (Fig. 1 and 2) was associated with a rise of proximal sodium reabsorption in normotensive strain. Although the rationale for renal denervation has generally been to interrupt sympathetic nerve activity directed to the kidney, denervation of the renal plexus also deprives the kidney of its sensory enervation. Selective renal afferent nerves may have markedly widespread effects on the renorenal sympathetic reflexes and urinary sodium excretion [14,23]. Since our experiments were not specifically designed to distinguish between the effects of efferent or afferent renal denervation, we cannot discount an influence of afferent renal nerves on our results. The exact origin of the centrally mediated different natriuretic response in WKy and SHR cannot be adequately determined by intraventricular injection. It is assumed that the neurons reacting to the hypertonic saline are situated in the vicinity of the third ventricle, possibly in the hypothalamus. Hypertonic saline might stimulate sympathetic centers in the hypothalamus and increase blood pressure. The elevated renal perfusion pressure, instead of any substance acting on tubular transport, may be the main factor responsible for the increased urinary sodium excretion. Although the data presented here do not offer any support for the humoral hypothesis suggested by some authors [2], we cannot rule out the possibility that several humoral factors may be involved in mediating the natriuresis observed in the present research.

During the last four decades a number of studies have attempted to identify brain areas specifically involved in regulation of water and electrolytes ingestion and excretion. Other authors have demonstrated that cholinergic and adrenergic central nervous system stimulation induced an increased urinary sodium and water excretion [22,42]. Mammals control the fluid body compartments in response to stimuli that arise from two kinds of sensor receptors: osmoreceptor- Na^+ receptors and volume or pressure receptors. This information is conveyed to specific areas of the CNS responsible for an integrated response, which is dependent on the integrity of the important structures involved in hydromineral balance. Such structures, once stimulated, may determine responses that

involve 1) the induction of thirst, salt appetite, or both; 2) changes in sympathetic activity; 3) activation of the rennin-angiotensin system; or 4) secretion of vasopressin and oxytocin from neurohypophysis and brain and atrial natriuretic peptides [2]. New evidence has emerged for the participation of humoral factors in mediating the pathophysiological mechanisms involved in hypertensive development.

A previous study has shown increased pressor responses to ICV hypertonic saline in SHR compared to WKy [46]. The enhanced hypertensive action of intraventricular NaCl in SHR was eliminated by pretreatment with AII antagonist. It is therefore possible that centrally administered hypertonic NaCl and centrally administered AII stimulate similar pathways. Additionally, induced-natriuresis responses after central administration of hypertonic saline is attenuated by ICV injection of AII AT1 receptor blockers [38] demonstrating the involvement of central angiotensinergic mechanisms in normotensive rats. These observations suggest an enhanced activity of brain rennin-angiotensin system, which may increase activity of the sympathetic nervous system and release of vasopressin, resulting in an enhanced development of hypertension. However, the present and previous studies have demonstrated an impairment of ICV hypertonic saline and AII response in SHR which seem to support the hypothesis that the CNS angiotensin system might be abnormal in these strains [18]. Neurohypophyseal hormones - vasopressin and oxytocin - have been associated with renal sodium excretion in rats [4]. Data suggests that disturbance in neurohypophyseal function in genetic hypertensive rats may contribute to hypertensive development in these animals [10]. On the other hand, experimental findings suggest that brain atrial natriuretic peptide (ANP) may be involved, either directly or through the rennin-angiotensin system, in CNS control of blood pressure [41]. However, the natriuresis and diuresis in response to central injection of ANP was reduced in SHR. Taking these data together with the present results, we may interpret them as downregulation of target organs and/or inappropriate decrease in responsiveness, possibly related to increase in blood pressure an/or sympathetic nerve activity during ICV hypertonic saline administration [24,37].

Interpretation of research on urinary sodium excretion in adult hypertensive rats is puzzling by the interdependency of renal salt excretion and increased arterial pressure. Several reports indicate that basal rates of ion excretion are similar in adult WKy and SHR with established hypertension [26,27,39]. However, when glomerular perfusion pressure was reduced to the range observed in the normotensive strain, urinary sodium excretion in SHR was reduced [39]. The present and previous studies indicate that SHR kidneys require higher arterial pressure than kidneys of normotensive rats to excrete the same amount of salt under basal conditions. The present findings were consistent with the view that decreased urinary sodium excretion after ICV hypertonic saline may result from interaction of a variety of mechanisms, such as renal arteriolar vasoconstriction [43] and hyperactivity of the sympathetic nervous system [44]. Evidence supporting functional overactivity of glomerular vasculature associated with reduced glomerular filtration rate and renal blood flow is provided by other studies [17,48].

The influence of the sympathetic nervous system on renal function in hypertensive animals is a relatively unexplored field of research. Results of several investigations suggest that the involvement of the sympathetic nervous system in the pathogenesis of genetic hypertension may be mediated, at least in part, by its influence on renal function. Thus, an elevated efferent renal adrenergic tone after intraventricular hypertonic stimuli could promote urinary retention of salt by eliciting arteriolar constriction and/or enhancing tubular reabsorption. Electric stimulation of the renal nerves in acute experiments enhances sodium reabsorption, particularly in the proximal convoluted tubule [15,16], and efferent renal nerve traffic as assessed by multifiber and single unit activity [29] is elevated in SHR beyond the age of 8 weeks. The most interesting, and novel, finding of the present research shows that natriuresis is associated with an increased glomerular filtration rate and ion delivery from the proximal tubule and incompletely compensated by more distal nephron segments. The enhanced fractional sodium excretion only after higher ICV hypertonic saline (0.09M NaCl) injection with a shift to the right of dose-response curve provides evidence of a small response of sodium sensor receptors in periventricular areas in SHR strain compared to WKy rats. This may be interpreted as a downregulation of target organ responsiveness to small concentrations of NaCl and the inappropriately large decrease in responsiveness would be related to impairment of blood pressure response and

neuro-humoral factors release in SHR strain. In conclusion, although the precise mechanism responsible for the subsequent different natriuretic response observed in WKy and SHR is still unclear, the current data led us to hypothesize that efferent neural pathways and/or humoral factors may play an instrumental role on renal sodium handling as a result of significant and sustained sympathetic nervous system overexcitability. Speculatively, it seems interesting to suggest that perhaps one of the efferent nerve signal defects and CNS inappropriate Na⁺ response may result in inability of renal tubules to handle the hydro-electrolyte balance, consequently causing development of arterial hypertension.

REFERENCES

1. Andersson B, Dallman MF, Olsson K. Evidence for a hypothalamic control of renal sodium excretion. *Acta Physiologica Scandinavia* 1969; 496-510.
2. Antunes-Rodrigues J, Castro M, Elias LLK, Valenca MM, McCann SM. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiological Review* 2004; 84: 169-208.
3. Aoki K, Yamori Y, Ooshima A, Okamoto K. Effects of high or low sodium intake in spontaneously hypertensive rats. *Japanese Circulation. Journal* 1972; 36: 539.
4. Ashton N, Balment RJ. Neurohypophyseal hormone influence on renal function in the New Zealand genetically hypertensive rats. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)* 1988; 118: 422-428.
5. Berecek KH, Schwertschlag U, Takacs L. Alterations in renal vascular resistance and reactivity in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology* 1980; 238: H287-H293.
6. Bianchi G, Bauer PG, Fox U, Duzzi L, Pagetti D, Giovanetti AM. Changes in rennin, water balance, and sodium balance during development of high blood pressure in genetically hypertensive rats. *Circulation Research* 1975; 36/37 (suppl 1): 153-161.

7. Bianchi G, Fox U, DiFrancesco GF, Giovanneti AM, Bagetti D. Blood pressure changes produced by kidney cross-transplantation between spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive rats (NR). *Clinical Science and Molecular Medicine* 1974; 47: 435.
8. Boer PA, Morelli JM, Figueiredo JF, Gontijo JAR. Early altered renal sodium handling determined by lithium clearance in spontaneously hypertensive rats (SHR): Role of renal nerves. *Life Sciences* 2005; 76: 1805-1815.
9. Brody MJ, Johnson AK. Role of the anteroventral third ventricle region in fluid and electrolyte balances, arterial pressure regulation and hypertension. In: Martini L, Ganong WF, Editors. *Frontiers in Neuroendocrinology*, Raven Press, New York, 1980, pp 249-268.
10. Chiu PJS, Sawyer WH. Third ventricle injection of hypertonic NaCl and natriuresis in cats. *American Journal of Physiology* 1974; 226: 463-469.
11. Chui EK, Wang H, McNeill JR. Role of sodium and water excretion in the antihypertensive effect of vasopressin in the spontaneously hypertensive rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1992; 70: 1309-1314.
12. Collis MG, DeMey C, Vanhoutte PM. Renal vascular reactivity in young hypertensive rats. *Hypertension* 1980; 2: 45-52.
13. Cowley AW Jr. Role of the renal medulla in volume and arterial pressure regulation. *American Journal of Physiology* 1997; 273: R1-15.
14. DiBona GF, Kopp UC. Neural control of renal function. *Physiological Review* 1997; 77: 75-197.
15. DiBona GF. Nervous Kidney. Interaction between renal sympathetic nerves and rennin-angiotensin system in the control of renal function. *Hypertension* 2000a; 36: 1083-1088.

16. DiBona GF. Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. *American Journal of Physiology* 2000b; 279: R1517-R1524.
17. Dilley JR, Stier CT, Arendshorst WJ. Abnormalities in glomerular function in rats developing spontaneous hypertension. *American Journal of Physiology* 1984; 246: F12-F20.
18. DiNicolantonio R, Mendelsohn FA, Hutchinson JS, Rawlyk K, Shelton J, Doyle AE. Impaired angiotensin-induced drinking in spontaneously hypertensive rats. *Life Sciences* 1982; 31: 1051-1057.
19. Dorn JB, Levine N, Kaley G, Rothballer AB. Natriuresis induced by injection of hypertonic saline into the third cerebral ventricle of dogs. *Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine* 1969; 131: 240-242.
20. Frey BAJ, Grisk O, Bandelow N, Wussow S, Bie P, Rettig R. Sodium homeostasis in transplanted rats with a spontaneously hypertensive rat kidney. *American Journal of Physiology* 2000; 279: R1099-R1104.
21. Furlan FC, Marshal PS, Macedo RF, Carvalheira JB, Michelotto JB, Gontijo JAR. Acute intracerebroventricular insulin microinjection after nitric oxide synthase inhibition of renal sodium handling in rats. *Life Sciences* 2003;72:2561-2569.
22. Gontijo JAR, Garcia WE, Figueiredo JF, Silva-Netto CR, Furtado MRF. Renal sodium handling after noradrenergic stimulation of the lateral hypothalamus area in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1992; 25: 937-942.
23. Gontijo JR, Smith LA, Kopp UC. CGRP activates renal pelvic substance P receptors by retarding substance P metabolism. *Hypertension* 1999; 33: 493-498.
24. Gradin K, Persson B. Renal and cardiovascular effects of atrial natriuretic peptide in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats during a chronic salt loading. *Acta Physiologica Scandinavica* 1987; 131: 273-281.

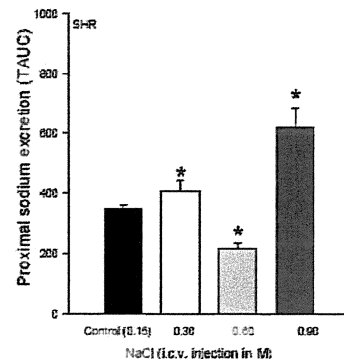
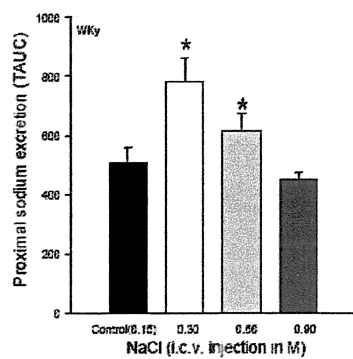
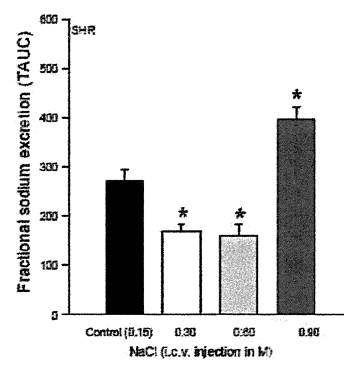
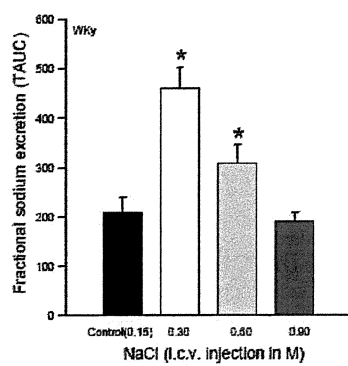
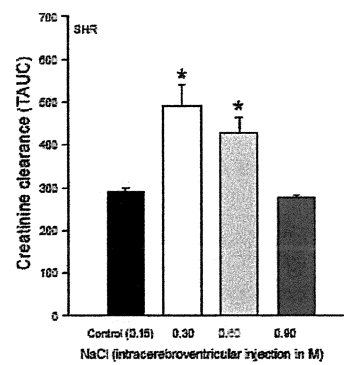
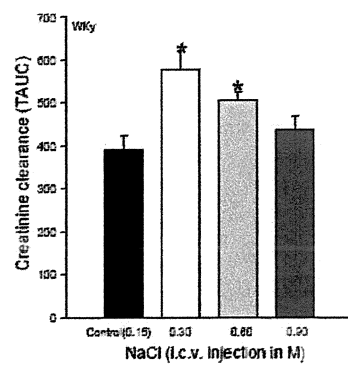
25. Granger JP, Alexander BT, Llinas M. Mechanisms of pressure natriuresis. *Current Hypertension Reports* 2002; 4: 152-9.
26. Hall JE, Guyton AC, Brands MW. Pressure-volume regulation in hypertension. *Kidney International*, Suppl 1996; 55: S35-S41.
27. Harrap SB. Genetic analysis of blood pressure and sodium balance in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1986; 8: 572-582.
28. Herlitz H, Lundin S, Ricksten SE, Gothberg G, Aurell M, Hallback M, Berglund G. Sodium balance and structural vascular changes in the kidney during development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Acta Medica Scandinavia* 1979; 206 (suppl 625): 111.
29. Judy WV, Farrel SK. Arterial baroreceptor reflex control of sympathetic nerve activity in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1979; 1: 605-614.
30. Kline RL. Renal nerves and experimental hypertension: evidence and controversy. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1987; 65: 1540-1547.
31. Kubota J, Nishimura H, Ueyama M, Kawamura K. Effects of renal denervation on pressure-natriuresis in spontaneously hypertensive rats. *Japanese Circulation Journal* 1993; 57: 1097-1105.
32. Louis WJ, Tabei R, Spector S. Effects of sodium intake on inherited hypertension in the rat *Lancet* 1971; 2: 1283.
33. Lovenberg W. Techniques for measurements of blood pressure. *Hypertension* 1987; 9: 15-16.
34. McCann SM, Franci CR, Favaretto ALV, Gutkovska J, Antunes-Rodrigues J. Neuroendocrine regulation of salt and water metabolism. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1997; 30: 427-441.

35. Oparil S. The renal afferent nerves in the pathogenesis of hypertension. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1987; 65: 1548-1558.
36. Patel KP, Kline RL, Mercer PF. Noradrenergic mechanism in the brain and peripheral organs of normotensive and spontaneously hypertensive rats at various ages. *Hypertension* 1981; 3: 682-690.
37. Persson PB. Renal blood flow autoregulation in blood pressure control. *Current Opinion of Nephrology and Hypertension* 2002; 11: 67-72.
38. Rohmeiss P, Beyer C, Nagy E, Tschope C, Hohle S, Strauch M, Unger T. NaCl injections in brain induce natriuresis and blood pressure responses sensitive to ANG II AT1 receptors. *American Journal of Physiology* 1995; 269: F282-F288.
39. Roman JR, Cowley AW Jr. Abnormal pressure-diuresis-natriuresis response in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology* 1985; 248: F199-F205.
40. Selkurt EE, Womack I, Dailey WN. Mechanism of natriuresis and diuresis during elevated renal arterial pressure. *American Journal of Physiology* 1965; 95-99.
41. Shimizu T, Katsuura G, Nakamura M, Nakao K, Morii N, Itoh Y, Shiono S, Imura H. Effect of intracerebroventricular atrial natriuretic polypeptide on blood pressure and urine production in rats. *Life Sciences* 1986; 39: 1263-1270.
42. Silva-Netto CR, Jackson RH, Colindres RE. Cholinergic stimulation of hypothalamus and natriuresis in rats: role of renal nerves. *American Journal of Physiology* 1986; 250: F322-F328.
43. Sofola OA, Knill A, Hainsworth R, Drinkhill M. Change in endothelial function in mesenteric arteries of Sprague-Dawley rats fed a high salt diet. *Journal of Physiology* 2002; 543(Pt 1): 255-60.

44. Strazzullo P, Barbato A, Viotto P, Galletti F. Relationships between salt sensitivity of blood pressure and sympathetic nervous system activity: a short review of evidence. *Clinical and Experimental Hypertension* 2001; 23: 25-33.
45. Strazzullo P, Galletti F, Barba G. Altered renal handling of sodium I human hypertension. Short review of the evidence. *Hypertension* 2003; 41: 1000-1005.
46. Takata Y, Yamashita Y, Takishita S, Tsuchihashi T, Tomita Y, Kimura Y, Koga T, Fujishima M. Central and peripheral mechanisms of the enhanced hypertension following long-term salt loading in spontaneously hypertensive rats. *Japanese Circulation Journal* 1988; 52: 1317-1322.
47. Xavier F, Magalhães AMF, Gontijo JAR. Effect of inhibition of nitric oxide synthase on blood pressure and renal sodium handling in renal denervated rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000; 33: 347-354.
48. Zhou X, Frohlich ED. Functional and structural involvement of afferent and efferent glomerular arterioles in hypertension. *American Journal of Kidney Disease* 2001; 37: 1092-7.

Table 1 – Body weight as related to age, tail blood pressure (TBP), sodium intake, serum sodium, potassium and lithium levels in spontaneously hypertensive (SHR) and strain normotensive (WKy) rats compared with bilateral renal denervated SHR (DN_xSHR) fed a standard diet. The data are reported as the means $\pm$ SEM. * $P \leq 0.05$ vs WKy (Student's *t* test).

Groups	Na ⁺ (mM)	K ⁺ (mM)	Li ⁺ (μ M)	Body weight (g) 12-wk	TBP (mmHg)	Sodium Intake (mmol/wk/100 g)
WKy (n = 5)	142 $\pm$ 2.6	4.3 $\pm$ 0,6	85 $\pm$ 19	362 $\pm$ 15	114.0 $\pm$ 10	12.7 $\pm$ 2.3
SHR (n = 6)	141 $\pm$ 3.1	4.2 $\pm$ 0,4	79 $\pm$ 15	254 $\pm$ 13*	180.6 $\pm$ 8*	11.8 $\pm$ 1.9
DN _x WKy (n = 5)	136 $\pm$ 3.3	3.7 $\pm$ 0,9	92 $\pm$ 22	348 $\pm$ 15*	119.2 $\pm$ 11	13.1 $\pm$ 2.7
DN _x SHR (n = 5)	140 $\pm$ 3.3	3.4 $\pm$ 0,9	92 $\pm$ 22	255 $\pm$ 15*	187.3 $\pm$ 12*	13.1 $\pm$ 2.7



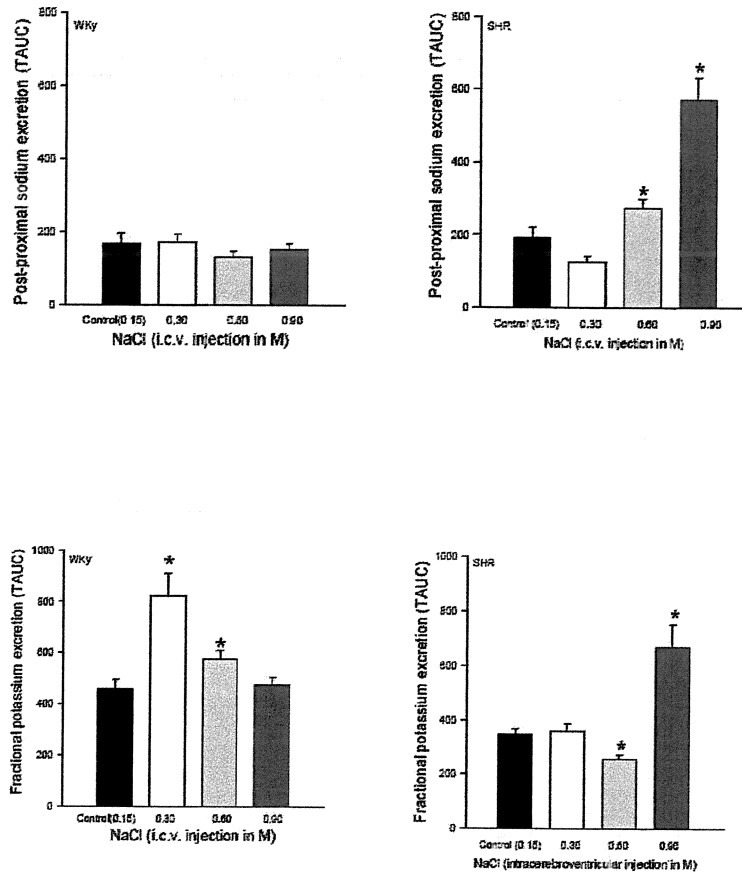


Figure 1- Bar graph of creatinine clearance (C_{Cr}), fractional sodium excretion (FE_{Na}), proximal (FEP_{Na}) and post-proximal ($FEPP_{Na}$) fractional sodium excretion and fractional potassium excretion (FE_K) response to i.c.v. administration of NaCl at increasing concentrations in SHR and WKY rats ($\Delta\%.\text{min}^{-1}$). The data are reported as the means $\pm$ SEM. * $P \leq 0.05$ vs WKY over time data (ANOVA and Bonferroni's contrast test). See Results for statistical analysis details.

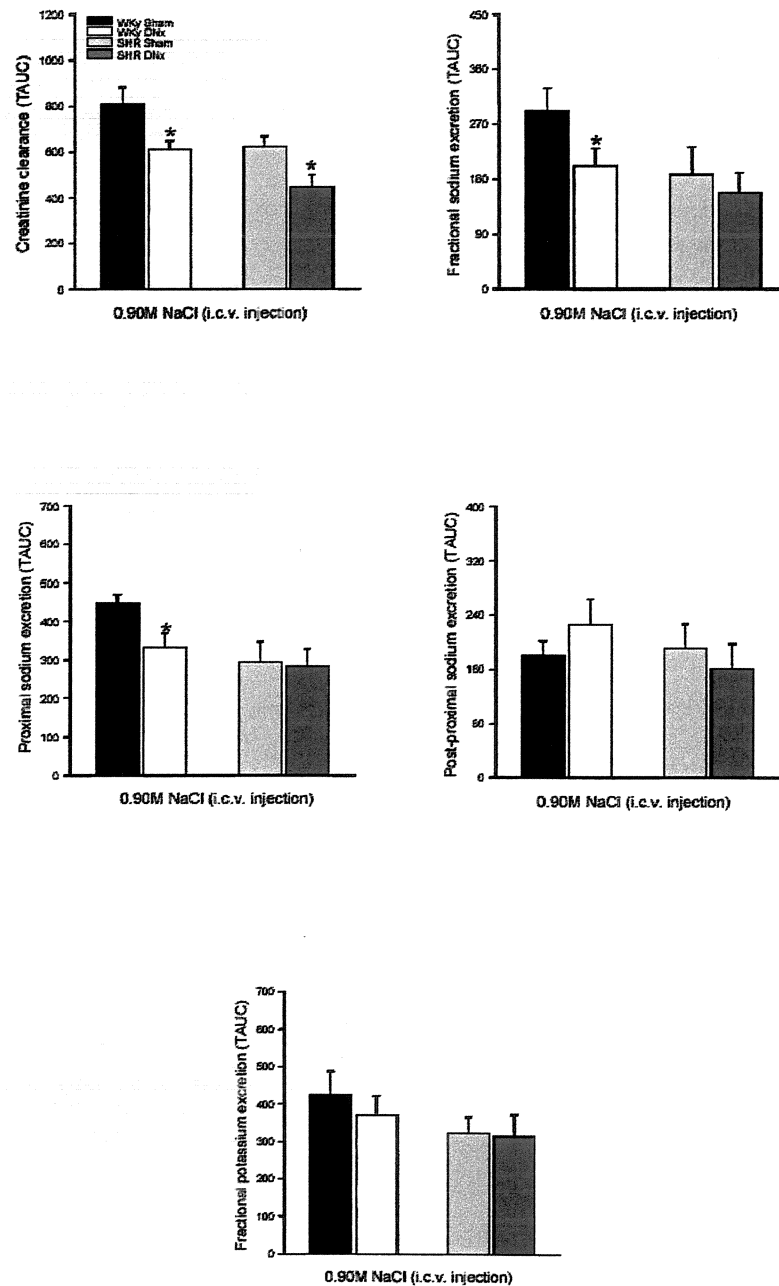


Figure 2 - Bar graph of creatinine clearance (C_{Cr}), fractional sodium excretion (FE_{Na}), proximal (FEP_{Na}) and post-proximal ($FEPP_{Na}$) fractional sodium excretion and fractional potassium excretion (FE_K) response to i.c.v. administration of NaCl at increasing concentrations in SHR, WKy, DN_{WKy} and DN_{SHR} rats ($\Delta\% \cdot \text{min}^{-1}$). The data are reported as the means $\pm$ SEM. * $P \leq 0.05$ vs WKy over time data (ANOVA and Bonferroni's contrast test). See Results for statistical analysis details.

5- DISCUSSÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da administração de diferentes concentrações salina hipertônica no ventrículo lateral cerebral sobre a função renal e o manuseio tubular renal de sódio urinário, estimados pelos “clearances” de creatinina e lítio em ratos adultos normotensos (WKy) e espontaneamente hipertensos (SHR), assim como o efeito da denervação renal bilateral nestes animais.

Nosso estudo confirmou dados prévios mostrando, em ratos WKy, pronunciada resposta natriurética renal à injeção i.c.v. de salina hipertônica. Paralelamente foi demonstrado que nestes animais a administração central de concentrações crescentes de NaCl hipertônico diminuiu, proporcionalmente, a taxa de filtração glomerular e a fração de excreção de sódio e, tais diminuições não foram observadas em SHR.

Em SHR, foi obtida elevação na excreção urinária de sódio somente pela administração i.c.v. de NaCl 0.90M, como decorrência do aumento da rejeição tubular proximal e pós-proximal ao transporte de sódio, como demonstrado pela elevação das frações de excreção proximais e pós-proximais. Não foram obtidas modificações significativas do “clearance” de creatinina endógena, indicando efeito tubular direto.

A denervação renal bilateral promoveu, em ratos normotensos, significativa antinatriurese associada à também significativa diminuição da taxa de filtração glomerular e elevação da reabsorção proximal de sódio. Os SHR não apresentaram tais respostas, sugerindo que o efeito natriurético observado nestes animais após administração i.c.v. de NaCl 0.90M, pelo menos parcialmente, não estão relacionados à atividade neural renal.

Apesar de existirem demonstrações prévias sobre o efeito natriurético da administração i.c.v. de salina hipertônica em várias espécies de animais, os mecanismos envolvidos neste fenômeno permanecem desconhecidos e, não têm sido descritos estudos sobre este efeito em ratos geneticamente hipertensos. O presente estudo suscitou algumas questões tais como: 1) Por que a injeção progressiva de concentrações crescentes de salina hipertônica i.c.v. promoveu menor natriurese em WKy? 2) Por que a linhagem SHR comparada aos WKy, apresentou menor excreção urinária de sódio após administração i.c.v. de salina hipertônica (0.30 a 0.60M)? E, 3) Por que a resposta natriurética à denervação renal bilateral foi menor nos animais normotensos?

Várias possibilidades podem ser consideradas. Primeiro, o sistema nervoso central pode influenciar diretamente a excreção renal de sódio através de vias neurais. Segundo, modificações hemodinâmicas induzidas pela estimulação central podem ser as responsáveis pelas alterações na excreção de eletrólitos. Terceiro, a natriurese pode resultar de flutuações nos níveis de fatores neurais secretados pelo SNC, os quais influenciam no manuseio tubular de sódio. Quarto, os resultados observados em SHR sugerem uma não correlação entre a concentração de salina hipertônica administrada i.c.v. e resposta natriurética renal.

Há evidências consideráveis sobre a participação do sistema nervoso autonômico no controle da excreção urinária de sódio (DiBONA e KOPP, 1997; DiBONA, 2000a; 2000b). Assim, a resposta natriurética frente à expansão de volume é prejudicada quando as vias eferentes simpáticas são destruídas. Adicionalmente, ocorre aumento na excreção de sódio quando a inervação simpática do rim é bloqueada. Embora a denervação renal bilateral geralmente aumente a excreção urinária de sódio, nossos resultados demonstraram menor resposta natriurética à progressiva elevação na concentração salina microinjetada intracerebroventricularmente (de 0.30M a 0.90M), sugerindo suposta progressividade da atividade neural simpática.

Alguns pesquisadores têm sugerido que a natriurese, induzida pela denervação renal bilateral, seja mediada por modificações hemodinâmicas intra-renais ou por efeito direto sobre o transporte transtubular de sódio através da denervação de vias neurais eferentes a segmentos tubulares. (GRANGER, 2002; PERSSON, 2002). No presente estudo, a atividade nervosa simpática renal não pareceu ter sido a única responsável pelo aumento da excreção de sódio após administração i.c.v. de salina hipertônica em SHR.

Estudos prévios de CHIU e SAWYER (1974) demonstraram uma relação temporal entre modificações na excreção renal de sódio e aumento da pressão arterial, após administração i.c.v. de salina hipertônica. Sendo assim, uma vez que a resposta natriurética parece depender de alterações hemodinâmicas, em particular do aumento da pressão arterial, a menor natriurese observada após injeção central de salina hipertônica nos SHR pode indicar uma incapacidade nestes animais de inibir as vias autonômicas simpáticas, que

aferem de áreas periventriculares, e, desta forma, promover variações significativas na já elevada pressão de perfusão renal observada nestes animais.

Inversamente aos resultados do presente estudo, DORN et al., (1969) estudando a função renal em cães, não obtiveram modificações significativas na taxa de filtração glomerular após a administração i.c.v. de salina hipertônica; no entanto, confirmam as observações de ANDERSSON et al. (1969) em estudo com cabras. A curva dose-resposta para C_{cr} , após administração central de salina hipertônica, está diretamente associada à natriurese observada em ratos WKy, mas não em SHR.

É sabido que a pressão arterial, como um fator independente, pode afetar a excreção e a reabsorção tubular renal de sódio. Outros fatores físicos tais como resistência vascular e fluxo sanguíneo dos vasos peritubulares renais podem também influenciar no manuseio renal de sódio (GRANGER, 2002). SELKURT et al. (1965) propuseram que a elevação na pressão arterial e no fluxo sanguíneo renal diminui pronunciadamente a reabsorção de sódio em consequência do aumento da pressão intersticial associado ao “washout” de solutos na medula renal. Outros estudos (COWLEY, 1997) têm sugerido que o aumento no volume e/ou pressão intersticial em razão de um gradiente transitório e crescente da pressão hidrostática através de capilares peritubulares, poderia impedir a reabsorção tubular e aumentar a excreção de sódio. Assim, a elevação na pressão de perfusão e no fluxo sanguíneo renal poderia aumentar a excreção urinária de sódio, ao passo que o aumento da resistência vascular renal pode ter o efeito oposto.

Em nossos experimentos, a administração i.c.v. de concentrações crescentes de salina induziu a queda da taxa de filtração glomerular e da natriurese indicando, nesta situação, um aumento progressivo na resistência vascular renal. No entanto, observou-se menor sensibilidade de áreas periventriculares do SNC em SHR, às concentrações utilizadas no presente estudo, o que poderia sugerir a inexistência de modificações hemodinâmicas renais significativas na linhagem de ratos geneticamente hipertensos.

O presente estudo demonstra que em WKy a progressiva antinatriurese, observada após a estimulação hipertônica central em ratos íntegros (não-denervados) e denervados (após a administração de NaCl 0.90M), está intimamente associada a mecanismos que elevam a reabsorção proximal de sódio nestes animais.

Os achados do nosso estudo sugerem que o transporte tubular de sódio em WKy, denervado ou não denervado, após estímulo hipertônico central, foi associado à elevação na reabsorção proximal de sódio. Embora a denervação renal bilateral tenha o propósito inicial de interromper a atividade do nervo simpático diretamente sobre o rim, esta manipulação cirúrgica do plexo renal também priva os rins de inervação sensora, podendo apresentar efeitos acentuadamente difundidos sobre a excreção urinária de sódio e reflexos simpáticos renorenal (DiBONA e KOPP, 1997; GONTIJO et al., 1999).

A exata origem da resposta natriurética, após estímulo hipertônico central, diferente em WKy e SHR, não pode ser adequadamente determinada pela administração i.c.v de NaCl de concentrações crescentes. Presume-se que os neurônios que reagem à salina hipertônica estejam situados nas proximidades do terceiro ventrículo, possivelmente no hipotálamo. A salina hipertônica pode estimular centros simpáticos no hipotálamo e elevar a pressão sanguínea. O aumento na pressão de perfusão renal pode ser o principal fator responsável pela elevada fração de excreção de sódio.

Embora os dados apresentados neste trabalho não ofereçam suporte para a hipótese da presença de fatores humorais mediando resposta natriurética (ANTUNES-RODRIGUES, 2004), nós não podemos excluir a possibilidade de que vários fatores humorais, incluindo o sistema renina-angiotensina-aldosterona, podem estar diretamente envolvidos na resposta natriurética observada neste estudo.

Vários estudos tentaram identificar áreas cerebrais especificamente envolvidas na regulação da ingestão e excreção de água e eletrólitos. GONTIJO (1992) e SILVA-NETO (1986) demonstraram que a estimulação do SNC colinérgico e adrenérgico induzia um aumento na excreção urinária de sódio e água. Áreas específicas do SNC, responsáveis pelo balanço hidromineral, quando estimuladas podem determinar respostas que envolvem: 1) indução a sede, apetite por sal ou ambos; 2) alteração na atividade simpática; 3) ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona; ou 4) secreção de vasopressina, oxitocina e peptídeo natriurético atrial (ANTUNES-RODRIGUES, 2004). Evidências mais recentes apontam para a participação de fatores humorais mediando mecanismos patofisiológicos envolvidos no desenvolvimento hipertensivo.

O aumento na fração de excreção de sódio somente após administração i.c.v. de salina hipertônica (0.90M) com uma mudança para a direita da curva concentração-resposta, proporcionou evidência de uma resposta atenuada dos receptores de sódio em áreas periventriculares de ratos SHR quando comparados aos WKy. Estes resultados poderiam estar relacionados ao “downregulation” de receptores de regiões periventriculares ao sódio e/ou à diminuição do número destes receptores nestas regiões. Esta menor sensibilidade central estaria envolvida à inadequada resposta pressórica e à atenuada resposta neuro-humoral na linhagem SHR.

6- CONCLUSÃO

Após considerar os resultados obtidos para os diferentes grupos experimentais, tais como:

- a) a injeção i.c.v. de concentrações progressivamente maiores de salina promoveu pronunciada resposta natriurética renal acompanhada por diminuição gradual do “clearance” de creatinina e da fração de excreção de sódio (FE_{Na}) em ratos WKy;
- b) em SHR, a elevação na FE_{Na} após a administração hipertônica central somente foi obtida com a administração i.c.v. de NaCl 0.90M. Esse aumento na fração de excreção de sódio foi decorrente da elevação simultânea do C_{Cr} (RFG) e da pronunciada rejeição de sódio nos segmentos tubulares proximais e pós-proximais, indicando efeito tubular direto;
- c) a denervação renal bilateral causou aumento da retenção renal de sódio após o estímulo central com solução salina 0.90M em ratos WKy, sem promover, no entanto, qualquer modificação funcional renal em SHRs.

Pode-se afirmar que os mecanismos responsáveis pelas diferentes respostas, observadas na função renal e na manipulação renal de sódio, após a estimulação hipertônica central em WKy e SHR, ainda não estão totalmente esclarecidos. Os resultados do presente estudo leva-nos a sugerir a hipótese de que vias neurais eferentes e aferentes e/ou fatores humorais podem apresentar importante papel sobre os parâmetros estudados. Especulativamente, parece interessante sugerir que nos SHR a atenuação inapropriada da atividade neural eferente renal e/ou atenuada resposta central à elevação da concentração líquórica de sódio poderia resultar, na incapacidade dos rins, como órgão efetor do controle hidro-salino, em manter a excreção urinária de sódio adequada e, conseqüentemente, possibilitar o desenvolvimento de hipertensão arterial nesta linhagem.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOUD, F. M. The sympathetic system in hypertension. **Hypertension**, 4 (suppl 2): 208-25, 1982.

AIRES, M. M. Fisiologia. 2.ed.rev. Rio Janeiro: **Guanabara Koogan**, 1999. 934p.

ANDERSON, E. A.; HOFFMAN, R. P.; BALON, T. W. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. **J Clin Invest**, 87: 2246-52, 1991.

ANDERSSON, B.; DALLMAN, M. F.; OLSSON K. Evidence for a Hypothalamic Control of Renal Sodium Excretion. **Acta Physiologica Scandinavia**, 13: 496-510, 1969.

ANTONIACCIO, M. J.; FERRONE, R. A.; WAUGH, M.; RUBIN, B. Sympathoadrenal and rennin-angiotensin systems in the development of the two kidney, one-clip renal hypertension in rats. **Hypertension**, 2: 723-31, 1980.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; CASTRO, M.; ELIAS, L. L. K.; VALENCA, M. M.; MCCANN, S. M. Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism. **Physiological Review** 84: 169-208, 2004.

ASHTON, N.; BALMENT, R. J. Neurohypophyseal hormone influence on renal function in the New Zealand genetically hypertensive rats. **Acta Endocrinologica (Copenhagen)** 118: 422-8, 1988.

BATTARBEE, H. D.; FUNCH, D. P.; DAILEY, J. W. The effect of dietary sodium and potassium upon blood pressure and catecholamine excretion in the rat. **Proc Soc Exp Biol Med**, 161: 32-7, 1979.

BEARLER, S. L. Acute hypertensive and natriuretic responses following preoptic hypothalamic lesions. **Am J Med Sci**, 295: 346-51, 1988.

BEAUMONT, A.; HUGHES, J. Biology of opioid peptides. **Ann Rev Pharmacol Toxicol**, 19: 245-67, 1979.

BEIRWALTES, W. R.; ARENDSHORST, W. J.; KLEMMER, P. J. Electrolyte and water balance in young spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, 4: 908-15, 1982.

BELLO-REUSS, E.; COLINDRES, R. E.; PASTORIZA-MUNOS, E.; MUELLER, R. A.; GOTTSCHALK, C. W. Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. **J Clin Invest**, 56: 208-17, 1975.

BELLO-REUSS, E.; PASTORIZA-MUNOS, E.; COLINDRES, R. E.; Acute unilateral renal denervation in rats with extracellular volume expansion. **Am J Physiol** 232 (Renal Fluid Electrolyte Physiol), 1: 26-32, 1977.

BENCSETH, P.; FEKETE, M. I.; KANYICSKA, B.; SZENASI, G.; TAKACS, L. Renal excretion of sodium after bilateral renal sympathectomy in the anesthetized and conscious rat. **J Physiol Lond**, 331: 443-50, 1982.

BERNARD, C. Leçons sur la physiologie et la pathologie du système nerveux. **Bailliere**, Paris, 1858.

BERNARD, C. Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. **Bailliere et Fils**, 2: 170-1, 1859.

BERNE, R. M. Hemodynamics and sodium excretion of denervated kidney in anesthetized and unanesthetized dog. **Am J Physiol**, 171: 148-52, 1952.

BLAKE, W. D. Relative roles of glomerular filtration and tubular reabsorption in denervation diuresis. **Am J Physiol**, 202: 777-80, 1962.

BOER, P. A.; MORELLI, J. M.; FIGUEIREDO, J. F.; GONTIJO, J. A. R. Early altered renal sodium handling determined by lithium clearance in spontaneously hypertensive rats (SHR): Role of renal nerves. **Life Sciences** 2005 (In Press, Corrected Proof, Available on line 25 January 2005).

BRICKER, N. S.; GUILD, W. R.; REARDAN, J. B.; MERRILL, J. P. Studies on the functional capacity of a denervated homotransplanted kidney in an identical twin with parallel observations in the donor. **J Clin Invest**, 35: 1364-80, 1956.

- BRODY, M. J.; BUGGY, J.; GORDON, F. J.; JOHNSON, A. K. The role of the anteroventral third ventricle (AV3V) region in experimental hypertension. **Circ Res**, 43(suppl 1): 2-13, 1978.
- BRUBACHER, E. S.; VANDER, A. J. Sodium deprivation and rennin secretion in unanesthetized dogs. **Am J Physiol**, 214: 15-21, 1968.
- BYROM, F. B.; WILSON, C. A. A plethysmographic method for measuring blood pressure in the rat. **J Physiol**, 93: 301-4, 1938.
- CALHOUN, D. A.; MUTINGA, M. L. Race, family history of hypertension, and sympathetic response to cold pressor testing. **Blood Press**, 6: 209-13, 1997.
- CAMARGO, L. A.; SAAD, W. A.; SILVA-NETTO, C. R.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M. R. Effect of beta-adrenergic stimulation of the septal area on renal excretion of electrolytes and water in the rat. **Pharmacol Biochem Behav**, 11: 141-4, 1979.
- CAMARGO, L. A.; SAAD, W. A.; SILVA-NETTO, C. R.; GENTIL, C. G.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M. R. Effects of catecholamines injected into the septal area of the rat brain on natriuresis, kaliuresis and diuresis. **Canad J Physiol Pharmacol**, 54: 219-28, 1976.
- CAMPESE, V. M. Adrenergic nervous system in hipertensión. **Contr Nephrol**, 49: 145-55, 1985.
- CAMPESE, V. M. Sympatho-adrenal system and the kidney in hipertensión. **Am J Nephrol**, 3: 128-38, 1983.
- CARLSON, S. H.; ROYSOMUTTI, S.; PENG, N.; WYSS, J. M. The role of the central nervous system in NaCl-sensitive hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertension**, 14: 155-62, 2001.
- CHEN, C. W.; CHEN, Y. F.; MENG, Q. C.; WYSS, J.M.; OPARIL, S. Decreased norepinephrine release in anterior hypothalamus of NaCl-sensitive spontaneously hypertensive rats during high NaCl intake. **Brain Res**, 565: 135-41, 1991.

- CHIBA, T.; DOBA, N. Catecholaminergic axo-axonic synapses in the nucleus of the tractus solitarii (pars commissuralis) of the cat: possible relation to presynaptic regulation of baroreceptor reflexes. **Brain Res**, 102: 255-65, 1976.
- CHIU, P. J. S.; SAWYER, W. H. Third ventricle injection of hypertonic NaCl and natriuresis in cats. **American Journal of Physiology**, 226: 463-9, 1974.
- CORT, J. H.; LICHARDUS, H. Role of the hypothalamus in the renal response to the carotid sinus pressor reflex. **Physiol Bohemoslov**, 12: 389-96, 1963.
- COWLEY, A. W. J. R. Role of the renal medulla in volume and arterial pressure regulation. **American Journal of Physiology**, 273: R1-15, 1997.
- DECHAMPLAIN, J.; COUSINEAU, D.; MARC-AURELE, T. The role of the sympathetic system in experimental and human hypertension. **Post-Grad Med J**, 53(suppl 3): 15-30, 1977.
- DENTON, D. A.; MCKINLEY, M. J.; WEISINGER, R. S. Hypothalamic integration of body fluid regulation. **Proc Natl Acad Sci USA**, 93: 7397-404, 1996.
- DEWARDENER, H. C.; CLARKSON, E. M. The natriuretic hormone: recent developments. **Clin Sci**, 63: 415-31, 1982.
- DiBONA, G. F. Nervous Kidney. Interaction between renal sympathetic nerves and rennin-angiotensin system in the control of renal function. **Hypertension**, 36: 1083-88, 2000a.
- DiBONA, G. F. Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. **American Journal of Physiology**, 279: R1517-R1524, 2000b.
- DiBONA, G. F. Neural control of renal function: Cardiovascular Implications. **Hypertension**, 13: 539-48, 1989.
- DiBONA, G. F.; KOPP, U. C. Neural control of renal function. **Physiol Rev**, 77: 75-198, 1997.

DiBONA, G. F.; SAWIN, L. L. Renal nerves in renal adaptation to dietary sodium restriction. **Am J Physiol** 245 (Renal Fluid Electrolyte Physiol), 14: 322-7, 1983.

DIETZ, R.; SCHOMIG, A.; RASCHEE, W.; STRASSER, R.; KUBLER, W. Partial replacement of sodium by potassium in the diet restored impaired noradrenaline inactivation and lowers blood pressure in SHR-SP. **Sci Meet Int Soc Hypert**, 8: 1-108, 1981.

DORN, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. McCANN, S. M. Natriuresis in the rat following intraventricular carbachol. **Am J Physiol**, 219: 1292-8, 1970.

DORN, J. B.; LEVINE, N.; KALEY, G.; ROTHBALLER, A. B. Natriuresis induced by injection of hypertonic saline into the third cerebral ventricle of dogs. **Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine**, 131: 240-2, 1969.

ERINOFF, L.; ELLER, A.; OPARIL, S. Prevention of hypertension in SHR: effect of differential central catecholamine depletion. **Proc Soc Exp Biol Med**, 150: 748-54, 1975.

ESLER, M.; JACKMAN, G.; BOBIK, A.; SKEWS, H.; JENNINGS, G.; KORNER, P. Norepinephrine kinetics in essential hypertension. Defective neuronal uptake of norepinephrine in some patients. **Hypertension**, 3: 149-56, 1981.

ESLER, M. D. Sympathetic nervous system: contribution to human hypertension and related cardiovascular diseases. **J Cardiovasc Pharmacol**, 26: 24-8, 1995.

FERNANDES-REPOLLET, E.; SILVA-NETTO, C. R.; COLINDRES, R. E.; DUNBAR, J. C.; HU, Y.; LU, H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. **Diabetes**, 46: 2040-3, 1997.

FRANCO-MORSELLI, R.; JOLY, E.; DiGIULIO, S.; MEYER, P. Increased plasma adrenaline concentrations in benign essential hypertension. **Br Med J**, 2: 1251-4, 1977.

FREY, B. A. J.; GRISK, O.; BANDELOW, N.; WUSSOW, S.; BIE, P.; RETTIG, R. Sodium homeostasis in transplanted rats with a spontaneously hypertensive rat kidney. **Am J Physiol**, 279: 1099-104, 2000.

- FURLAN, F. C.; MARSHAL, P. S.; MACEDO, R. F.; CARVALHEIRA, J. B.; MICHELOTTO, J. B.; GONTIJO, J. A. R. Acute intracerebroventricular insulin microinjection after nitric oxide synthase inhibition of renal sodium handling in rats. **Life Sciences**, 72: 2561-9, 2003.
- GAUER, O. H.; HENRY, J. P. Circulatory basis of fluid volume control. **Physiol Rev**, 43: 423-81, 1963.
- GINN, E.; UNGER, A. M.; HUME, D. M.; SCHILLING, J. A. Human renal transplantation: an investigation of the functional status of the denervated kidney after successful homotransplantations in identical twins. **J Lab Clin Med**, 56: 1-13, 1960.
- GOLDFARBER, D. A. The rennin-angiotensin system. New concepts in regulation of blood pressure and renal function. **Urol Clin N Am**, 21(2): 187-94, 1994.
- GOLDSTEIN, D. J. Plasma norepinephrine during stress in essential hypertension. **Hypertension**, 3: 551-6, 1981a.
- GOLDSTEIN, D. J. Plasma norepinephrine in essential hypertension. A study of the studies. **Hypertension**, 3: 48-52, 1981b.
- GOLDSTEIN, D. J.; HORWITZ, D.; KEISER, H. R.; POLINSKY, F. R.; KOPIN, I. J. Plasma 1-H*-norepinephrine, d-C*-norepinephrine and d,1-H*-isoproterenol. **J Clin Invest**, 72: 1748-58, 1983.
- GONTIJO, J. A. R. Efeitos de extratos de átrios sobre a função renal de ratos normotensos e de ratos espontaneamente hipertensos. Ribeirão Preto, 1986. (**Dissertação Mestrado** – Universidade Estadual de Ribeirão Preto).
- GONTIJO, J. A. R.; GARCIA, W. E.; FIGUEIREDO, J. F.; SILVA-NETTO, C. R.; FURTADO, M. R. F. Renal sodium handling after noradrenergic stimulation of the lateral hypothalamus area in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 25: 937-42, 1992.

- GONTIJO, J. R.; SMITH, L. A.; KOPP, U. C. CGRP activates renal pelvic substance P receptors by retarding substance P metabolism. **Hypertension**, 33: 493-8, 1999.
- GORDON, D.; PEART, W.S.; WILCOX, C. S. Requirement of the adrenergic nervous system for conservation of sodium by rabbit kidney. **J Physiol Lond**, 293: 24-9, 1979.
- GOTO, A.; TOBIAN, L.; IWAI, I. Potassium feeding reduces hyperactive central nervous system pressor responses in Dahl-salt-sensitive rats. **Hypertension**, 3(suppl 1): 128-34, 1981.
- GRADIN, K.; PERSSON, B. Renal and cardiovascular effects of atrial natriuretic peptide in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats during a chronic salt loading. **Acta Physiologica Scandinavica**, 131: 273-81, 1987.
- GRANGER, J. P.; ALEXANDER, B. T.; LLINAS, M. Mechanisms of pressure natriuresis. **Current Hypertension Reports**, 4: 152-9, 2002.
- GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CATTANEO, B. M.; BOLLA, G. B.; LANFRANCHI, A.; COLOMBO, M. et al. Sympathetic activation in obese normotensive subjects. **Hypertension**, 25: 560-3, 1995.
- GROPPELLI, A.; GIORGI, D. M.; OMBONI, S.; PARATI, G.; MANCIA, G. Persistent blood pressure increase induced by heavy smoking. **J Hypertens**, 10: 495-9, 1992.
- HAUESLER, G. Cardiovascular regulation by central adrenergic mechanism and its alterations by hypotensive drugs. **Circ Res**, 36/37(suppl1): 223-32, 1975.
- HAUESLER, G.; FINCH, L.; THOENEN, H. Central adrenergic neurons and the initiation and development of experimental hypertension. **Experientia Basel**, 28: 1200-5, 1972.
- JACOB, H. J.; BARRES, C. P.; MACHADO, B. H.; BRODY, M. J. Studies on neural and humoral contribution to arterial pressure lability. **Am J Med Sci**, 295: 341-5, 1988.
- JAMERSON, K. A.; JULIUS, S.; GUDBRANDSSON, T. Reflex sympathetic activation induces acute insulin resistance in the human forearm. **Hypertension**, 21: 618-23, 1993.

- JUDY, W. V.; WATANABE, A. M.; HENRY, D. P.; BESCH, H. R.; HOCKEL, G. M. Sympathetic nerve activity: Role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. **Circ Res**, 38: 121-9, 1976.
- KACZMARCZYK, G.; MOHNHAUPT, R.; REINHARDT, H. W. Renal sodium handling in intact and renal denervated dogs. **Pfluegers Arch**, 407: 382-7, 1986.
- KAPLAN, S. A.; RAPAPORT, S. Urinary excretion of sodium and chloride after splanchnicotomy: effect on the proximal tubule. **Am J Physiol**, 164: 175-81, 1951.
- KELLER, R. Natriuresis after preoptic lesions in rats. **Canad J Physiol Pharmacol**, 50: 561-7, 1972.
- KNOX, F. G.; HASS, J. A. Factors influencing renal sodium reabsorption in volume expansion. **Rev Physio Biochem Pharmacol**, 92: 76-103, 1982.
- KOEPKE, J. P.; DiBONA, G. F. Central adrenergic receptor. Control of renal function in conscious hypertensive rats. **Hypertension**, 8: 133-41, 1986.
- KOEPKE, J. P.; DiBONA, G. F. Central beta-adrenergic receptors mediate renal nerves activity during stress in conscious SHR. **Hypertension**, 7: 350-6, 1985a.
- KOEPKE, J. P.; DiBONA, G. F. High sodium intake enhances renal nerve and antinatriuretic response in stress in SHR. **Hypertension Dallas**, 7: 357-63, 1985b.
- KOEPKE, J. P.; DiBONA, G. F. Stress increase nerve activity and decrease sodium excretion in Dahl rats. **Hypertension**, 11: 334-8, 1988a.
- KOEPKE, J. P.; DiBONA, G. F.; JONES, S. Sodium responsiveness of central alpha-2 adrenergic receptors in SHR. **Hypertension**, 11: 326-33, 1988b.
- LIARD, J. F. Renal denervation delays blood pressure increase in spontaneously hypertensive rats. **Experientia Basel**, 33: 339-40, 1977.
- LIFSCHITZ, M. D. Lack of the role for the renal nerves in renal sodium reabsorption in conscious dog. **Clin Scien**, 54: 567-72, 1978.

- LOUIS, W. J.; DOYLE, A. E.; ANAVEKAR, S. Plasma norepinephrine level in essential hypertension. **New Engl J Med**, 288: 559-61, 1973.
- LOUIS, W. J.; TABEL, R.; SPECTOR, S. Effects of sodium intake on inherited hypertension in the rat. **Lancet**, 2: 1283, 1971.
- LOVENBERG, W. Techniques for measurements of blood pressure. **Hypertension**, 9: 15-6, 1987.
- LUFT, F. C.; RANKIN, L. I.; HENRY, D. P.; WEYMAN, A. E.; MURRAY, R. H.; WEINBERG, M. H. Plasma and urinary norepinephrine values at extreme of sodium intake in normal man. **Hypertension**, 1: 261-6, 1979.
- LUNDIN, S.; THOREN, P. Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and SHR. **Acta Physiol Scand**, 115: 115-24, 1982.
- MAJEWSKI, H.; RAND, M. J. Adrenaline mediated hypertension: a clue to the anti-hypertensive effect of beta-adrenoceptor blocking drugs. **Trends Pharmacol Sci**, 2: 24-26, 1981.
- MALNIC, G.; MARCONDES, M. Fisiologia Renal. 2.ed.rev. São Paulo: **Edart**, 1977. 236p.
- MANCIA, G.; GRASSI, G.; PARATI, G.; ZANCHETTI, A. The sympathetic nervous system in human hypertension. **Acta Physiol Scand Suppl**, 640: 117-21, 1997.
- MARSHAL, E. K.; KOLLS, A. C. Studies on the nervous control of the kidneys in relation to diuresis after unilateral splanchnicotomy. **Am J Physiol**, 49: 339-43, 1919.
- MERRILL, J. P.; MURRAY, J. H.; HARRINSON, J. H.; GUILD, W. R. Successful homotransplantations of the human kidney between identical twins. **J Am Med Asso**, 160: 277-83, 1956.
- MILLIKEN, L. R.; KARR, W.G. Influence of the nerves on kidney functions in relation to the problem of renal sympathectomy. **J Urol**, 13: 1-15, 1925.

MIZELLE, H. L.; HALL, J. E.; WOODS, J.P.; MONTANI, J. P.; DZIELAK, D. J.; PAN, Y. J. Role of renal nerves in compensatory adaptation to chronic reductions in sodium intakes. **Am J Physiol** 252 (Renal Fluid Electrolyte Physiol), 21: 291-8, 1987.

NORMAN, R. A.; DZIELAK, D. J. Role of renal nerves in the onset and maintenance of spontaneous hypertension. **Am J Physiol**, 243: 284-8, 1982.

NOVAKOVA, A.; STEVENSON, J. A. F. Effect of posterior hypothalamus lesions on renal function in the rat. **Canad J Physiol Pharmacol**, 49: 941-50, 1971.

OPARIL, S. The sympathetic nervous system in clinical and experimental hypertension. **Kidney Int**, 30: 437-52, 1986.

OPARIL, S.; CHEN, Y. F.; BERECEK, K.; CALHOUN, D. A.; WYSS, J. M. The role of the central nervous system in hypertension. Hypertension: Pathophysiology, **Diagnosis and Management**, 64: 713-40, 1995.

OPARIL, S.; CHEN, Y. F.; PENG, N.; WYSS, J. M. Anterior hypothalamic norepinephrine, atrial natriuretic peptide, and hypertension. **Front Neuroendocrinol**, 17: 212-46, 1996.

PERSSON, P. B. Renal blood flow autoregulation in blood pressure control. *Current Opinion of Nephrology and Hypertension*, 11: 67-72, 2002.

PILLAR, A. X.; SILVA-NETTO, C. R.; CAMARGO, L. A.; SAAD, W. A.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M. R. Adrenergic stimulation of the lateral hypothalamic area on sodium and potassium excretion. **Pharmacol Biochem Behav**, 6: 145-9, 1977.

PITTS, R. F. **Fisiologia Renal e dos Líquidos Corporais**. 3.ed.rev. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. 313p.

QUINBY, W. C. The function of the kidney when deprived of its nerves. **J Exp Med**, 23: 535-48, 1916.

- REIS, D.; GRANATA, A. R.; JOH, T. H.; ROSS, C. A.; PARK, D. H. Brain stem catecholamines mechanism in tonic and reflex control of blood pressure. **Hypertension**, 6 (suppl II): 7-15, 1984.
- ROBERTSON, J. I. S. Salt, volume and hypertension: Causation or correlation? **Kidney Int**, 32: 590-602, 1987.
- ROHMEISS, P.; BEYER, C.; NAGY, E.; TSCHOPE, C.; HOHLE, S.; STRAUCH, M.; UNGER, T. NaCl injections in brain induce natriuresis and blood pressure responses sensitive to ANG II AT1 receptors. **American Journal of Physiology**, 269: F282-F288, 1995.
- ROMOFF, M. S.; KEUSCH, G.; CAMPESE, V. M.; WANT, M. S.; WEIDMANN, P.; MASSRY, S. G. Effects of sodium intake on plasma catecholamines in normal subjects. **J Clin End Metab**, 48: 26-31, 1979.
- SAAD, W. A.; CAMARGO, L. A.; SILVA-NETTO, C. R.; GENTIL, C.G.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M. R. Natriuresis, kaliuresis and diuresis in the rat following microinjections of carbachol into the septal area. **Pharmacol Biochem Behav**, 3: 985-92, 1975.
- SAAVEDRA, J. M.; GROBECKER, H.; AXELROD, J. H. Changes in central catecholaminergic neurons in the spontaneously (genetic) hypertensive rat. **Circ Res**, 42: 529-34, 1978.
- SANCHES, A.; PETTINGER, W. A. Dietary sodium regulation of blood pressure and renal alpha-1 and alpha-2 receptors in Wky and SHR rats. **Life Sci**, 29: 2795-802, 1981.
- SARTORIUS, O. W.; BURLINGTON, H. Acute effects of denervation on kidney function in the dog. **Am J Physiol**, 185: 407-12, 1956.
- SHANKAR, R.; ZHU, J. S.; LADD, B.; HENRY, D.; SHEN, H. Q.; BARON, A. D. Central nervous system nitric oxide synthase activity regulates insulin secretion and insulin action. **J Clin Invest**, 102(7): 1403-12, 1998.

- SCHORLEMMER, G. H. M.; JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R. L. Effect of hyperosmotic solutions on salt excretion and thirst in rats. **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol**, 278: 917-23, 2000.
- SELKURT, E. E.; WOMACK, I.; DAILEY, W. N. Mechanism of natriuresis and diuresis during elevated renal arterial pressure. **American Journal of Physiology**, 95-9, 1965.
- SHIMIZU, T.; KATSUURA, G.; NAKAMURA, M.; NAKAO, K.; MORII, N.; ITOH, Y.; SHIONO, S.; IMURA, H. Effect of intracerebroventricular atrial natriuretic polypeptide on blood pressure and urine production in rats. **Life Sciences** , 39: 1263-70, 1986.
- SHURTSHIN, A.; SCHANDT, P. Comparasion of continuously collected urine from two normal kidney and some effects of unilateral denervation. **J Physiol Lond**, 185: 418-25, 1956.
- SILVA-NETTO, C. R.; JACKSON, R. H.; COLINDRES, R. E. Cholinergic stimulation of the hypothalamus and natriuresis in rats: role of the renal nerves. **Am J Physiol**, 250: 322-8, 1986.
- SILVA-NETTO, C. R.; JACKSON, R. H.; COLINDRES, R. E. Factors causing natriuresis after hypothalamic injection of a cholinergic drug in rats. **Am J Physiol**, 244: 64-9, 1983.
- SILVA-NETTO, C. R.; JACKSON, R. H.; COLINDRES, R. E. Study of sodium and potassium excretion after renal denervation and cholinergic stimulation of the lateral hypothalamic area of the rat. **Brazilian J Med Biol Res**, 18: 29-36, 1985.
- SILVA-NETTO, C. R.; MELLO-AIRES, M.; MALNIC, G. Hypothalamic stimulation and eletrolyte excretion: a micro puncture study. **Am J Physiol**, 239: 206-14, 1980.
- SILVA-NETTO, C. R.; SAAD, W. A.; CAMARGO, L. A.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M. R. Cholinergic stimulation of the lateral hypothalamic area on sodium and potassium excretion. **J Physiol**, 72: 917-29, 1976.

SKRABAL, F.; HERHOLZ, H.; NEUMAYR, M.; SPORER, H.; HORTNOGL, H.; SCHONITZER, D. Salt sensitivity in humans is linked to enhanced sympathetic responsiveness and to enhanced proximal tubular reabsorption. **Hypertension**, 6: 152-158, 1984.

SKRABAL, F.; KATANKO P.; RIEGER, E.; LUEGER, A. Current concepts of the patogénesis of essential hipertensión: Discusión of hipótesis and their possible links to the operative adrenoceptor ratio concept. **Pflugers Arch Eur J Physiol**, 412 (suppl 1): 4-5, 1988.

SNYDER, S. H.; PERT, C. B.; PASTERNAK, G. W. The opiate receptor. **Ann Int Med**, 81: 534-40, 1978.

STRAZZULLO, P.; BARBATO, A.; VUOTTO, P.; GALLETTI, F. Relationships between salt sensitivity of blood pressure and sympathetic nervous system activity: a short review of evidence. **Clinical and Experimental Hypertension**, 23: 25-33, 2001.

STRAZZULLO, P.; GALLETTI, F.; BARBA, G. Altered renal handling of sodium I human hypertension. Short review of the evidence. **Hypertension**, 41: 1000-5, 2003.

SU, C.; TSURU, H.; SU, M. O. Effects of adenosine triphosphate and prostaglandins on vascular adrenergic transmission. **J Pharmacol Exp Ther**, 207: 34-9, 1978.

SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. **Ann Rev Neurosci**, 6: 269-324, 1983.

SZENASI, G.; BENCSATH, P.; LEHOCZKY, E.; TAKACS, L. Tubular transport and urinary excretion of phosphate after renal denervation in anesthetized rat. **Am J Physiol** 240 (Renal Fluid Electrolyte Physiol), 9: 481-6, 1981.

THOMSEN, K.; SCHOU, M. Renal lithium excretion in man. **Am J Physiol**, 215: 823-827, 1968.

TOBIAN, L.; MACNEILL, D.; GANGULI, M.; IWAI, J. Potassium protection against lesion of the renal tubules, arteries and glomeruli and nephron loss in hypertensive Dahl-S-rats. **Hypertension**, 6(suppl1):170-6, 1984.

TREASURE, J.; PLOTH, D. Role of dietary potassium in the treatment of hypertension. **Hypertension**, 5: 864-72, 1983.

WALLIN, B. G.; DELIUS, W.; HAGBARTH, K. E. Comparison of sympathetic activity in normo and hypertensive subjects. **Circ Res**, 33: 9-21, 1973.

WIJNEN, H. J. L. M.; VERSTEEG, D. H. G.; PALKOVITS, M.; DEJONG, W. Increased adrenaline content of individual nuclei of the hypothalamus and the medulla oblongata of genetically hypertensive rats. **Brain Res**, 135: 180-5, 1987.

WILLIAMS, J. R.; HARRISON, T. R.; GROLLMAN, A. A simple method for determining the systolic blood pressure of the unanesthetized rat. **J Clin Invest**, 18: 373-6, 1939.

WILLIAN, G. H.; TUCK, M. L.; SULLIVAN, J. M.; HOLLENBERG, N. K. Parallel adrenal and renal abnormalities in young patients with essential hypertension. **Am J Med**, 72: 907-14, 1982.

WINTERNITZ, S. R.; KATHOLI, R. E.; OPARIL, S. Role of the renal nerves in development and maintenance of hypertension in SHR. **J Clin Invest**, 66: 971-8, 1980.

WINTERNITZ, S. R.; WYSS, J.; MEADOWS, J. R.; OPARIL, S. Increased noradrenaline content of hypothalamic nuclei in association with worsening of hypertension after high sodium intake in the young spontaneously hypertensive rat. **Clin Sci Mol Med**, 63: 339-42, 1983.

WINTERNITZ, S. R.; WYSS, J. M.; MEADOWS, J. R.; OPARIL, S. Influence of high sodium intake on blood pressure and norepinephrine content of hypothalamic nuclei in SHR. **Clin Res**, 29: 866-72, 1981.

WISE, B. L.; GANONG, W. F. Effect of brainstem stimulation on renal function. **Am J Physiol**, 198: 1291-5, 1960.

XAVIER, F.; MAGALHÃES, A. M. F.; GONTIJO, J. A. R. Effect of inhibition of nitric oxide synthase on blood pressure and renal sodium handling in renal denervated rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33: 347-54, 2000.

YAMORI, Y. The SHR model and its relation to human essential hypertension. **Hypertension**, 4: 37-77, 1982.

YAMORI, Y.; LOVENBERG, W. Spontaneously Hypertensive rats. **Hypertension**, 9: 13-14, 1987.

YAMORI, Y.; OOSHIMA, A.; NOSAKA, A.; OKAMOTO, K. Metabolic basis for central blood pressure regulation in SHR. **Hypertension**, 1: 73-8, 1972.

ZATZ, R. Fisiopatologia Renal. 2.ed.rev. São Paulo: **Atheneu**, 2002. V2 (Série Fisiopatologia Clínica). 328p.

ZIMMERMAN, B. G. Peripheral neurogenic factors in acute and chronic alterations of arterial pressure. **Circ Res**, 53: 121-30, 1983.

8- APÊNDICE

“Clearance” de Creatinina

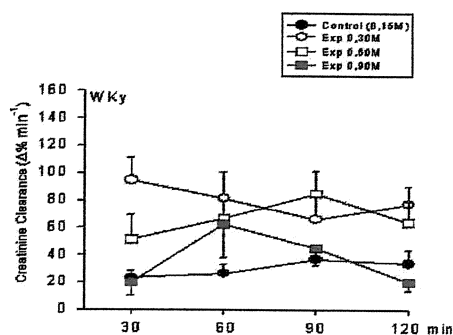


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Creatinina ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

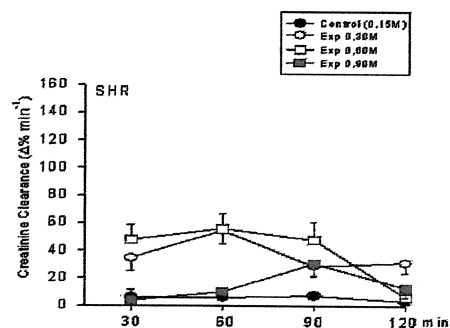


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Creatinina ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

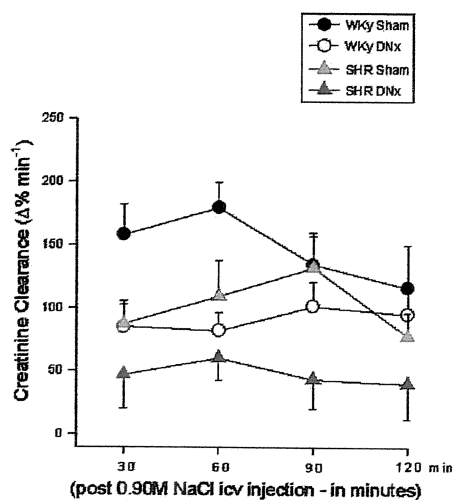


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Creatinina ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

Fração de excreção de potássio

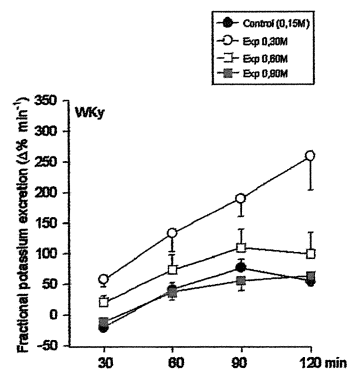


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção de potássio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

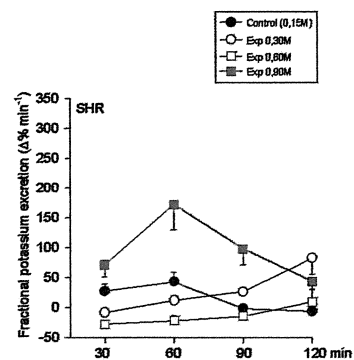


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção de potássio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

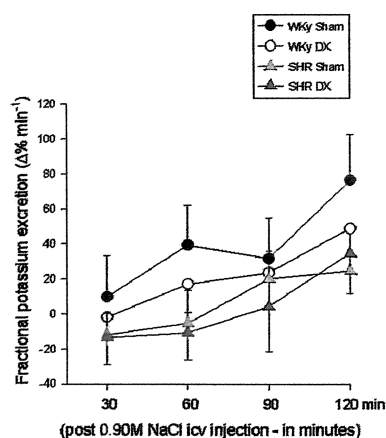


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o fração de excreção de potássio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

“Clearance” de Lítio

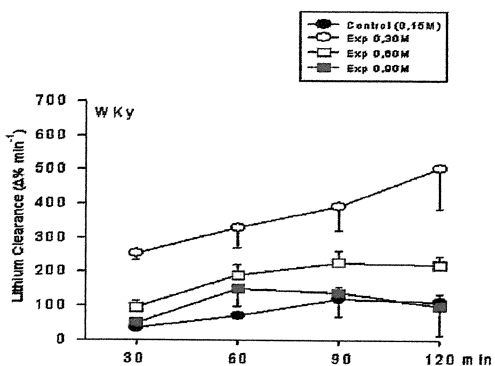


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Lítio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

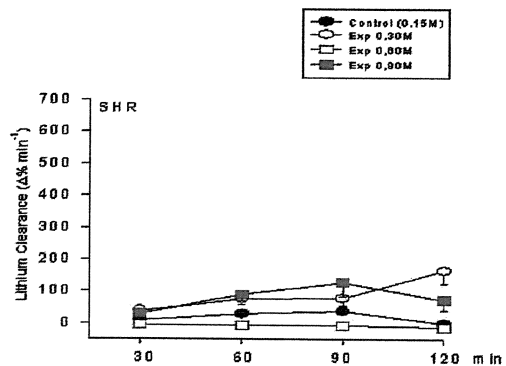


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Lítio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

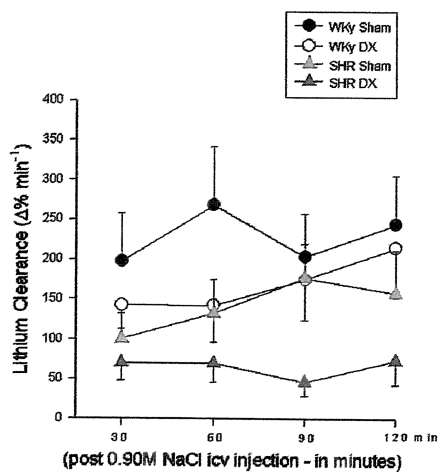


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para o “Clearance” de Lítio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

Fração de excreção de sódio

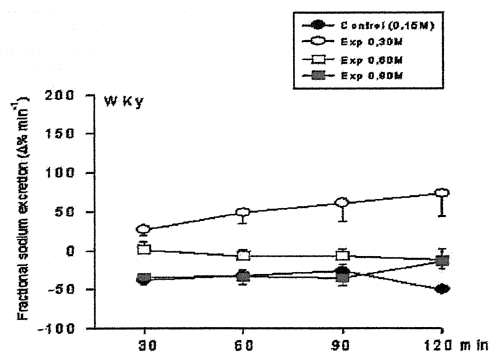


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

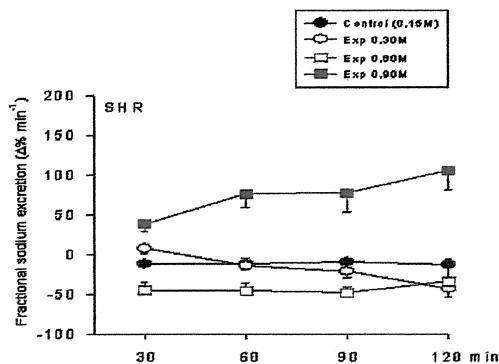


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

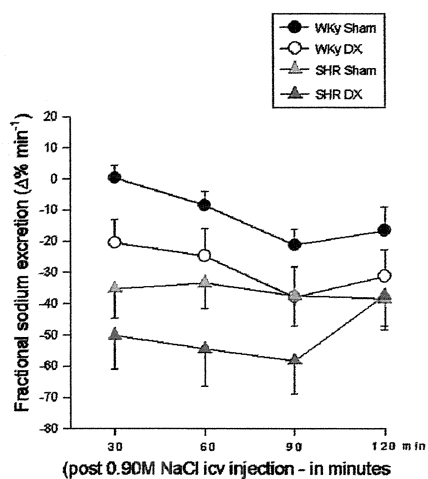


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

Fração de excreção proximal de sódio

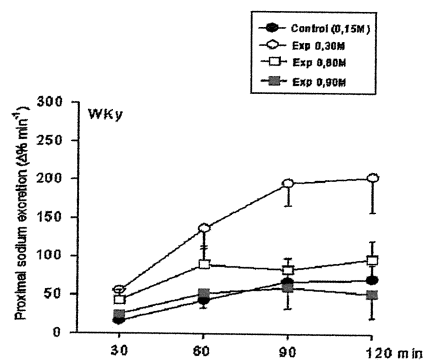


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

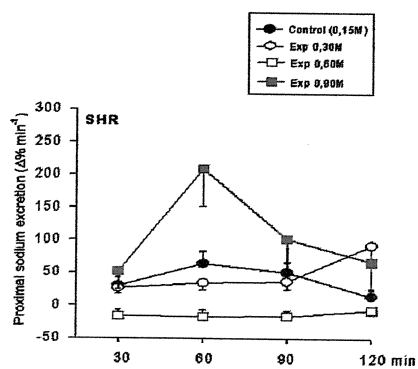


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

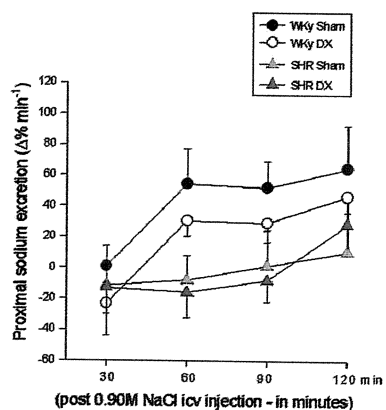


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

Fração de excreção pós-proximal de sódio

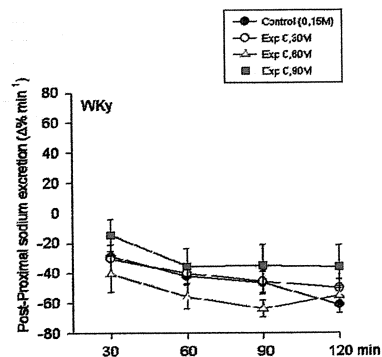


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção pós-proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

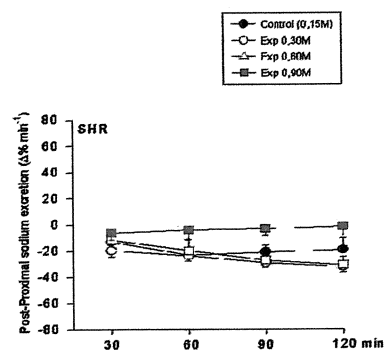


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção pós-proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

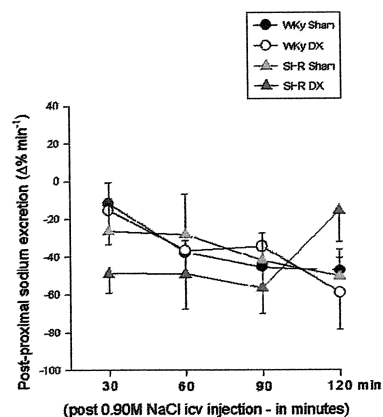


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para fração de excreção pós-proximal de sódio ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.

Taxa de fluxo urinário

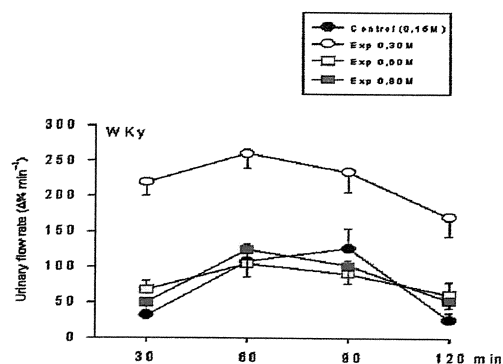


Figura A - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para taxa de fluxo urinário ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy.

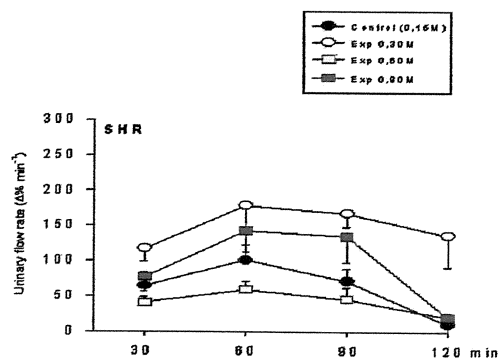


Figura B - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para taxa de fluxo urinário ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos SHR.

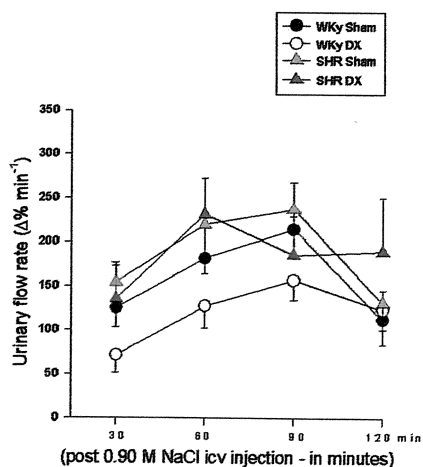


Figura C - Variação temporal em minutos para os valores obtidos para taxa de fluxo urinário ($\Delta\% \text{ min}^{-1}$) para ratos WKy e SHR, denervados e não-denervados.