

FLÁVIA VENDRAMINI DURLO

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 Ciências Médicas, área de Ciências Biomédicas da aluna **Flávia Vendramini Durlo**

Campinas, 15 de agosto de 2002.


Profª. Dra. Margaret de Castro
Orientadora

***EFEITO DA EXPANSÃO DO VOLUME EXTRACELULAR (EVEC)
SOBRE A SECREÇÃO DE PROLACTINA: MODULAÇÃO PELO EIXO
HIPOTÁLAMO – HIPÓFISE – ADRENAL***

CAMPINAS

2002

FLÁVIA VENDRAMINI DURLO

***EFEITO DA EXPANSÃO DO VOLUME EXTRACELULAR (EVEC)
SOBRE A SECREÇÃO DE PROLACTINA: MODULAÇÃO PELO EIXO
HIPOTÁLAMO – HIPÓFISE – ADRENAL***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção de título de Mestre
em Ciências Médicas, área de Ciências Biomédicas.*

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARGARET DE CASTRO

CAMPINAS

2002

iii

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	D935e
V	EX
TOMBO BC/	53355
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/04/03
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00181069-1

BIBID. 290700

D935e Durlo, Flávia Vendramini
 Efeito da expansão do volume extracelular (EVEC) sobre a secreção
 de prolactina : modulação pelo eixo hipotálamo – hipófise - adrenal /
 Flávia Vendramini Durlo. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Margaret de Castro
 Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipotálamo. 2. Prolactina. 3. Ocitocina. I. Margaret de
 Castro. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
 Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Margaret de Castro

Membros:

1. Prof. Dr. José Antunes Rodrigues

2. Prof. Dr. Gilberto D'Assunção Fernandes

3. Profa. Dra. Margaret de Castro

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

Data: 15.08.2002

200213905

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Jair e Débora, pelo amor incondicional e apoio irrestrito para a realização desse trabalho e em todos os momentos de minha vida, vocês são maravilhosos.

A minha irmã Juliana, minha eterna companheira, pelo carinho, incentivo e exemplo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela minha vida. A sua presença ampara, fortalece e guia a nossa caminhada. E, é somente através dele que somos capazes de realizar nossas tarefas.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Margaret de Castro**, obrigada pela oportunidade de aprender e, principalmente crescer. Obrigada pela amizade e companheirismo em minha jornada de trabalho e pelo exemplo de competência e profissionalismo.

Ao querido **Prof. Dr. José Antunes Rodrigues**, a eterna gratidão por abrir as portas da minha carreira científica e que, com toda a sua sabedoria e postura profissional, é um grande mestre.

À **Profa. Dra. Lucila Leico Kagohara Elias**, pela ajuda constante e valiosa na concretização desse trabalho e, em especial a sua doce amizade, muito obrigada.

À **Dra. Paula Lamparelli Elias**, pela importante presença e preciosa colaboração para a realização do meu trabalho.

À **Natália Torres**, minha grande companheira, agradeço pela oportunidade de ter construído uma amizade para a vida inteira.

À todos do laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, em especial **Marina e Valci**, pelo fundamental apoio técnico para a realização deste trabalho e importante amizade.

Aos amigas (os) **Danielle, Theresa, Ana Paula, Rildo e Dayane** pela amizade, aprendizado e momentos tão alegres que passamos juntos.

Aos alunos de iniciação científica **Wagner, Felipe e Heitor** pela alegria e companheirismo durante todo o período que permaneci no laboratório.

À amiga **Telma de Jesus Soares**, que desde o início do meu trabalho esteve sempre disposta a me ensinar algo novo, muito obrigada.

À amiga **Silvia Rossi**, pela amizade, paciência e dedicação dispensados para a montagem desse trabalho.

À **Elisa Maria Aleixo**, pela amizade e prontidão em tudo o que faz. Receba meus agradecimentos.

À **Marlucia, Carmem e Márcia** da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, obrigada pela disponibilidade em nos atender, sempre.

Ao amigo **Fernando Colbari Amaral**, por toda tranquilidade e amizade tão especiais, a sua presença é gratificante.

À minha querida tia **Regina Célia Vendramini**, pelo total apoio em minha vida. Meio tia, meio mãe, sempre me ensinou olhar em frente, você é um exemplo para todos nós.

Ao **Amílcar Ashcar**, por todo amor e carinho. Sua presença é muito importante em minha vida.

Ao tio **Gilberto**, tia **Regina, Anita, Camila, Júlia e Yasmim**, pela hospedagem, incentivo e carinho durante todo tempo que permaneci em Campinas. Muito obrigada.

À todos os **professores**, que de uma maneira geral contribuíram para a minha formação científica.

À todos os meus **familiares e amigos** que não estão citados aqui, minha eterna gratidão, pois sem o carinho e a compreensão de vocês, nada teria sentido.

“Alcançar o topo da mais alta montanha é o objetivo das pessoas que perseguem um ideal. É o desafio. O mais estimulante desafio de chegar lá no alto, em tudo o que se sonha e deseja. E na escalada, quando se chega lá, percebe-se que sempre haverá uma montanha mais alta ainda. Ou talvez as nuvens, o céu infinito delas, porque assim é o homem, infinito em seus desejos obstinado em seus desafios.”

Autor desconhecido

	<i>Pág</i>
RESUMO.....	<i>xxiii</i>
ABSTRACT.....	<i>xxvii</i>
INTRODUÇÃO.....	31
OBJETIVOS.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
RESULTADOS.....	53
DISCUSSÃO.....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXO.....	117

	<i>Pág</i>
TABELA I : Média (X) e erro padrão da média (EPM) dos valores plasmáticos de PRL (ng/ml), B (μ g/dl), ANP (pg/ml) e OT (pg/ml), em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais controles.....	55
TABELA II : Média (X) e erro padrão da média (EPM) dos valores plasmáticos de PRL (ng/ml), B (μ g/dl), ANP (pg/ml) e OT (pg/ml), em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com bromocriptina.....	61
TABELA III : Média (X) e erro padrão da média (EPM) dos valores plasmáticos de PRL (ng/ml), B (μ g/dl), ANP (pg/ml) e OT (pg/ml), em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com sulpirida.....	69
TABELA IV : Média (X) e erro padrão da média (EPM) dos valores plasmáticos de PRL (ng/ml), B (μ g/dl), ANP (pg/ml) e OT (pg/ml), em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com dexametasona.....	78

	<i>Pág</i>
FIGURA 1 : Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais controles.....	59
FIGURA 2 : Concentrações plasmáticas de B (µg/dl) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais controles.....	59
FIGURA 3 : Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais controles.....	60
FIGURA 4 : Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais controles.....	60
FIGURA 5 : Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina.....	67
FIGURA 6 : Concentrações plasmáticas de B (µg/dl) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina.....	67
FIGURA 7 : Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina.....	68
FIGURA 8 : Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina.....	68
FIGURA 9 : Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida.....	75
FIGURA 10 : Concentrações plasmáticas de B (µg/dl) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida.....	75

FIGURA 11 : Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida.....	76
FIGURA 12 : Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida.....	76
FIGURA 13 : Concentrações plasmáticas de PRL (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona.....	84
FIGURA 14 : Concentrações plasmáticas de B (μ g/dl) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona.....	85
FIGURA 15 : Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona.....	85
FIGURA 16 : Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml) em condições basais e após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona.....	86



RESUMO

A prolactina (PRL) é um hormônio polipeptídico e sua regulação é influenciada por um grande número de fatores que estimulam ou inibem a sua secreção. Em mamíferos, o controle exercido pelo hipotálamo sobre a secreção de PRL pela hipófise é predominantemente inibitório tendo como principal regulador a dopamina. Dentre as ações da PRL incluem a secreção de leite, regulação da reprodução e uma possível função no balanço de água e eletrólitos. Os efeitos da PRL sobre o equilíbrio hidroeletrolítico podem ser parcialmente mediados pela liberação de corticosterona (B), vasopressina (AVP), ou ainda serem dependentes de outros hormônios, como a ocitocina (OT) e o peptídeo natriurético atrial (ANP). O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da expansão de volume extracelular (EVEC), por meio da injeção endovenosa de solução salina isotônica (I) ou hipertônica (H) sobre a secreção de PRL, B, ANP e OT, em ratos. Avaliar, ainda, os efeitos de diferentes concentrações plasmáticas de PRL sobre a secreção de B, ANP e OT, induzidas pela EVEC I ou H, e a modulação destas respostas pelo eixo HHA. Foram utilizados ratos machos que, após ambientação, foram submetidos a diferentes manipulações experimentais: grupo controle, animais que não receberam nenhum tratamento; grupo tratado com bromocriptina; grupo tratado com sulpirida e grupo tratado com dexametasona. Após EVEC I, no grupo controle, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL, B, ANP e OT, o mesmo ocorrendo com EVEC H, porém com valores mais elevados de ANP e OT após EVEC H. Não houve modificação das respostas do ANP e OT após EVEC I e H nos grupos tratados com bromocriptina e sulpirida. As elevações de PRL e OT foram bloqueadas no grupo tratado com dexametasona, sendo que este tratamento não alterou a secreção de ANP induzida pela EVEC I e H. Em conjunto, os resultados obtidos indicam que a EVEC induzida pela injeção de salina isotônica ou hipertônica provocou elevações nas concentrações plasmáticas de PRL, B, ANP e OT. A elevação do ANP e OT frente ao estímulo da EVEC I e H foram independentes das concentrações plasmáticas de PRL. As elevações de PRL e OT foram bloqueadas pela inibição do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Entretanto, o tratamento com dexametasona não modificou o aumento da secreção de ANP induzido pela EVEC I e H. Portanto, PRL pode participar na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico dos mamíferos, porém, sem uma interação direta com os sistemas ANPérgico e ocitocinérgico. Adicionalmente, a resposta da PRL a EVEC I e H é modulada pelo eixo HHA.



ABSTRACT

Prolactin (PRL) regulation is influenced by a great number of factors that stimulate or inhibit its secretion. In mammals, the control of the PRL secretion is predominantly inhibitory and is exerted by dopamine, which is released from the hypothalamus. PRL acts on milk secretion, reproduction and probably on water and electrolyte balance. The effect of the PRL on the hydroelectrolytic balance can partially be mediated by corticosterone (B), vasopressin (AVP), oxytocin (OT) or atrial natriuretic peptide (ANP). The objective of this study was to evaluate the effect of the extracellular volume expansion (EVE) by endovenous injection of isotonic (I) or hypertonic (H) saline solution on the secretion of PRL, B, ANP and OT, in rats. We used Wistar male rats submitted to different experimental manipulations: control group, intact animals; group treated with bromocriptine; group treated with sulpiride and a group treated with dexamethasone. After EVE I, the control group presented a significant increase of the plasma concentrations of PRL, B, ANP and OT, the same results were observed after EVE H. The increase of ANP and OT levels in response to EVE H was more pronounced than to EVE I. Bromocriptine and sulpiride treatment did not modify B, ANP and OT responses to either EVE I and EVE H. The increase of PRL and OT observed after EVE I and H were blocked in the group treated with dexamethasone, while, there was no modification in the ANP secretion. In conclusion, these results indicate that the EVE I and EVE H induced by the injection of isotonic or hypertonic saline provoked an increased in PRL, B, ANP and OT plasma concentrations. The increase of ANP and OT by EVE I and EVE H were independent of PRL plasma concentrations. The increase of PRL and OT were blocked by the inhibition of the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis by dexamethasone. However, dexamethasone did not modify the increase of the ANP secretion induced by EVE I and EVE H. Therefore, PRL might participate in the regulation of the hydroelectrolytic balance in mammals, however, there is no evidence for direct interaction with ANPergic and oxytocinergic systems. Additionally, the response of the PRL induced by EVE I and EVE H is modulated by HPA axis.



INTRODUÇÃO

A prolactina (PRL) é um hormônio polipeptídico constituído de 197 aminoácidos em ratos (Cooke et al., 1980) e 199 aminoácidos em humanos (Shome & Parlow, 1977). A importante participação da PRL no processo de lactação, foi primeiramente verificada em 1928, quando se observou a existência de um fator hipofisário capaz de induzir a secreção de leite em coelhas (Stricker & Grueter, 1928), denominado posteriormente de prolactina (Riddle et al., 1933). A estrutura primária da PRL está intimamente relacionada àquela do hormônio de crescimento (GH) e dos hormônios lactogênicos placentários, como verificada pela avaliação das propriedades genéticas, estruturais e funcionais, que demonstrou que estes hormônios pertencem à mesma família de proteínas (Miller & Eberhardt, 1983).

A PRL plasmática é produzida por células acidófilas do lobo anterior da hipófise, as quais são divididas em duas categorias: os mamótrofos ou lactótrofos, células que secretam apenas este hormônio e os mamosomatótrofos, que secretam PRL e hormônio de crescimento (GH). Ainda na adenohipófise, os mamosomatótrofos, comumente encontrados em ratos neonatos (Hoeffler et al., 1985), possuem a capacidade de se diferenciar em lactótrofo na presença de estrógenos (Boockfor et al., 1986). Essas células têm localizações diferentes na adenohipófise e compreendem cerca de 25% do total das células, não havendo diferença entre sexo e idade (Halmi e cols., 1975). Desde o início de sua descoberta até 1970, era difícil distinguir a PRL do GH como entidades químicas independentes. Com a purificação da PRL e determinação da sua estrutura química foi possível produzir anticorpos específicos, padronizar a técnica de radioimunoensaio (RIE) e determinar as concentrações plasmáticas de PRL em diversas condições fisiológicas. Por outro lado, além da adenohipófise, a expressão do gene da PRL tem sido encontrada em diversas regiões do organismo como sistema nervoso central (SNC), células do sistema imunológico, miométrio uterino e células do epitélio mamário, entre outros. Embora estes locais não sejam a principal fonte de PRL plasmática, eles parecem estar associados com a secreção de PRL em outros compartimentos como no fluido cérebro espinhal, fluido amniótico, leite e fluido folicular ovariano (Ben-Jonathan et al., 1996).

A PRL apresenta, em várias espécies, um perfil circadiano de secreção com as concentrações plasmáticas de PRL mais altas no período da noite (Sassin et al., 1973). Estudos recentes demonstraram que este aumento de secreção está também presente em

homens e mulheres (Mattheij et al., 1978; Waldstreicher et al., 1996). Em ratos machos, a secreção de PRL apresenta um perfil circadiano de secreção semelhante aos humanos, também com maiores concentrações plasmáticas observadas no período da noite (Kiser et al., 1975; Dunn et al., 1972).

A secreção de PRL é influenciada por um grande número de fatores. Alguns destes fatores agem diretamente alterando a transcrição gênica e outros atuam ligando-se ao receptor específico na membrana celular ativando um segundo mensageiro. A regulação da secreção da PRL é controlada por fatores que estimulam ou inibem a sua secreção. Os estímulos fisiológicos mais importantes que proporcionam aumento na secreção de PRL são o estímulo da sucção mamilar, estresse e o aumento dos níveis de esteróides ovarianos, primariamente os estrógenos (Neill 1970,1972). Entre os inúmeros fatores estressores capazes de induzir aumento da secreção de PRL, podemos citar o estresse hemorrágico, térmico, anestésico e social (Jurcovicova et al., 1988; Banky et al., 1994). O interesse em relação à participação da PRL durante o estresse partiu das observações de Nicoll e col. (1960) de que a exposição a vários estímulos nociceptivos promovia, em grau variado, crescimento de mamas e a secreção de leite em ratas virgens tratadas com estrógenos. As respostas da PRL aos fatores estressores diferem de acordo com o paradigma de estresse aplicado, assim não podemos definir um mecanismo isolado e sim um conjunto de fatores que modulam a estimulação da secreção de PRL (Freeman et al., 2000).

Os estrógenos, também, exercem um importante controle sobre a secreção de PRL, sendo um dos principais fatores endógenos responsáveis pela estimulação da secreção deste hormônio, promovendo aumento da síntese, da secreção e do armazenamento intracelular de PRL (West & Dannies, 1980; Shin, 1979; Shull & Gorski, 1989; Yamamoto et al., 1986; Kiino & Dannies, 1981). Os efeitos do estrógeno podem ser verificados em ratas, após a remoção dos ovários, que resulta em diminuição do tamanho e do número de lactótrofos, assim como, dos grânulos intracelulares de PRL (De Paul et al., 1977). O estrógeno é o principal hormônio ovariano que reverte estes efeitos e, subsequêntemente, estimula a secreção de PRL (Chen & Meites, 1970). Estudos “in vivo” mostram que a administração de estrógenos leva ao aumento nos níveis de RNAm da PRL nos lactótrofos e, paralelamente, ao aumento de sua biossíntese (Maurer, 1982; Maurer, 1982; Shull

et al.,1984; Carrilo et al.,1987). Essa estimulação envolve, inicialmente, a ligação direta do estradiol ao seu receptor nuclear e, subseqüentemente, a ligação desse complexo aos elementos responsivos aos estrógenos, estimulando a síntese de proteínas intermediárias, que resultam na estimulação da síntese de PRL (Shull & Gorski, 1985; Shull & Gorski, 1986). Os efeitos do estrógeno na liberação de PRL pode ser, ainda, devido à modulação do efeito inibitório da dopamina (DA) sobre a transcrição do gene da PRL, a qual é mediada pela diminuição de AMP cíclico (Shull & Gorski, 1986; Shull & Gorski, 1989). Além disso, o estrógeno estimula a atividade mitótica, a síntese de DNA e proliferação dos lactótrofos (Yamamoto et al.,1986; Amara et al.,1987).

Os mecanismos envolvidos na estimulação da secreção de PRL são variados. Existem vários elementos que participam como segundo mensageiro, entre eles o AMP cíclico, o fosfatidilinositol e o cálcio intracelular. O aumento intracelular de AMP cíclico determina aumento da transcrição do gene da PRL, síntese e liberação do hormônio em algumas células (Maurer, 1882; Murdoch et al., 1982., Delbeke et al.,1984). Parece que esse efeito ocorre via ativação da proteína quinase dependente de AMP cíclico e é resultante da fosforilação da proteína ligante ao DNA específica (Day et al., 1989). Assim, os hormônios que agem pelo aumento de AMP cíclico intracelular como ocorre com o peptídio vasoativo intestinal (VIP), podem aumentar a secreção de PRL (Onali et al., 1983). Um grande número de fatores que influenciam a secreção de PRL age pela via do fosfatidil inositol. Como em outros sistemas, depois da interação hormônio-receptor via proteína G, o passo inicial é a hidrólise, pela fosfolipase C do fosfatidil inositol em trifosfato de inositol (IP₃) e diacilglicerol (DAG). O aumento no IP₃ causa a rápida liberação de Ca²⁺ do retículo endoplasmático e ativação dos canais de Ca²⁺ aumentando o conteúdo desse íon intracelularmente. Alterações no Ca²⁺ intracelular resultam na ativação da proteína quinase que, então, promove a fosforilação de outras proteínas (Lamberts et al., 1990) assim, ativando a transcrição gênica, síntese e liberação de PRL (La Verriere et al., 1988). Vários hormônios estimulam a secreção de PRL através do aumento de Ca²⁺, como o hormônio liberador de GH, o hormônio liberador de gonadotrofina, ocitocina, vasopressina, angiotensina II, dentre outros. Desde que, grande número desses hormônios são importantes na regulação osmótica corporal, sugere-se que a PRL também possa participar nesse controle. Uma outra via de produção de PRL ocorre por meio do ácido araquidônico, porém

esta via ainda não está bem definida. Estímulos sobre a fosfolipase A₂ resultam na liberação de PRL e ácido aracdônico em células adenohipofisárias cultivadas “in vitro” (Ross et al., 1988), levando a um aumento na produção desse hormônio (Bihorean et al., 1990).

Em mamíferos, o controle exercido pelo hipotálamo sobre a secreção de PRL pela hipófise é predominantemente inibitório (Ben - Jonathan, 1985). Adicionalmente, a secreção de PRL é também influenciada por fatores liberados pelos lactótrofos através de uma regulação autócrina, ou por outras células da própria hipófise, por uma regulação parácrina. O controle inibitório da secreção de PRL está bem estabelecido, tendo como principal regulador a dopamina. A DA vem sendo estudada como inibidor da secreção de PRL desde 1964 por Everett, sendo considerada o mais importante inibidor fisiológico da PRL. Além disso, estudos demonstram que drogas que afetam o metabolismo das catecolaminas também alteram a secreção de PRL (Arimura et al., 1972). Em 1968, Van Maanen e Smelik propuseram que a DA do tuberoinfundibular liberada nos vasos portais hipotalâmicos-hipofisários na eminência média é o agente inibidor da produção de PRL. Os axônios responsáveis pela liberação de DA na eminência média originam-se no pericário da porção dorso-medial do núcleo arqueado e porção inferior do núcleo ventro-medial do hipotálamo (Fuxe, 1963). Para ter seu efeito inibitório, a DA liga-se aos receptores D₂ nos lactótrofos, diminuindo o AMP cíclico, inibindo o metabolismo do fosfatidil inositol e diminuindo a mobilização de Ca²⁺ intracelular, com redução de seu transporte pelos canais. Adicionalmente, a DA pode se ligar intracelularmente aos grânulos secretores de PRL (Gallardo et al., 1985).

Além da dopamina, outros fatores como neurotransmissores, neuromoduladores e hormônios promovem inibição dos neurônios dopaminérgicos e, portanto, aumento da secreção de PRL. Contudo, muitos desses fatores podem ter múltiplas ações, freqüentemente com efeitos biológicos opostos, isto é, podem ter efeito direto sobre os lactótrofos que podem prevalecer em relação aos seus efeitos sobre neurônios dopaminérgicos (Freeman et al., 2000). Dentre estes fatores, o sistema noradrenérgico parece exercer um tônus inibitório na secreção basal e estimulada de PRL (Lawson, 1975). Adicionalmente, a ativação dos receptores muscarínicos da acetilcolina, diminuem a secreção basal de PRL (Wojcikiewicz et al., 1984). Está bem estabelecido que o efeito

inibitório da acetilcolina e do seu agonista sobre a secreção de PRL é mediado através da estimulação dos neurônios dopaminérgicos de origem tuberoinfundibular (Grandison et al., 1976). Estudos prévios tem demonstrado que o ácido gama aminobutírico (GABA) é parcialmente responsável pela atividade inibidora da PRL não dopaminérgica (Schally et al., 1977). Neurônios GABAérgicos no hipotálamo médio basal (HMB) recebem múltiplos impulsos intra e extra hipotalâmicos. Neurônios GABAérgicos estimulados pela serotonina e substância P atuam como neurônios inibitórios alterando a atividade dos neurônios dopaminérgicos (Meister, 1988).

As ações da PRL têm sido estudadas desde o final dos anos 20, quando se descobriu que extratos pituitários poderiam induzir a secreção de leite (Stricker e et al., 1928). A partir de então vários trabalhos foram realizados para determinação de suas principais funções. Nicoll e Bern, 1972 concluíram que a PRL é o mais versátil de todos os hormônios. Ela possui receptores distribuídos por todo organismo, sendo encontrados nas mamas, fígado, córtex da adrenal, próstata, ovário, testículos, vesícula seminal, epidídimo, linfócitos, pulmão, miocárdio, cérebro e túbulos renais. A PRL tem a função de regular vários processos fisiológicos que são peculiares para diferentes grupos de vertebrados e podem ser agrupadas em seis categorias: balanço de água e eletrólitos, reprodução (produção de leite, secreção de gonadotrofinas), desenvolvimento, efeitos metabólicos, ações sobre a pele e a interação com os hormônios esteróides. A importância de cada grupo de ações varia de acordo com o grupo de vertebrados. Sabe-se que, em peixes e anfíbios, a PRL é muito importante para manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico, principalmente no momento do desenvolvimento, em que os anfíbios estão mudando de habitat, ou seja, passando do ambiente aquático para o terrestre. A aquisição de nova condição de vida na superfície terrestre coincide com a multiplicação de receptores para a PRL nos rins e bexiga, nos anfíbios. A PRL é fundamental na adaptação dos anfíbios à condição terrestre, aumentando o desempenho renal aumentando a reabsorção de água e sódio, bem como outros íons, incluindo o potássio pelo rim. Estudos indicam, ainda, que a PRL tem função osmorregulatória que são importantes para fetos de mamíferos. Alguns estudos evidenciam que, nos mamíferos, a ação osmorregulatória da PRL baseia-se na retenção de água e sódio (Shennan, 1994) contudo, outros estudos sugerem que esse efeito seja devido à contaminação da PRL pela vasopressina (AVP) utilizada nos experimentos.

Adicionalmente, a PRL pode ter efeito sobre o crescimento, porém, não está bem definido como essas ações se processam.

Várias são as evidências que demonstram a participação da PRL na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico: a PRL pode modificar direta ou indiretamente a função renal; a secreção de PRL pode ser alterada por mudanças no estado de hidratação do animal; a PRL pode, ainda, regular a secreção de outros hormônios como AVP e aldosterona, que participam no controle das funções renais; a PRL pode regular movimentos de fluidos e eletrólitos em vários sítios, como rins, membrana amniótica, olhos, pele e plexo coróide. O aumento da secreção de PRL foi demonstrado em resposta a um aumento da ingestão de água ou infusão de salina hipertônica (Bliss et al., 1981). Os efeitos da PRL sobre o equilíbrio hidroeletrolítico podem ser parcialmente mediados pela liberação de corticosteróide, AVP, ou ainda serem dependentes de outros hormônios, como o ANP. O ANP, administrado dentro do terceiro ventrículo, diminui as concentrações basais de PRL, em ratos machos, indicando que o ANP possa agir centralmente alterando as atividades neuronais responsáveis pelo controle hipotalâmico da secreção de PRL (Samson et al., 1988). Adicionalmente, a interação da PRL com o ANP na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico do organismo tem sido evidenciada (Gutkowska et al., 1997).

O ANP pertence à família dos peptídios natriuréticos, cujas ações estão diretamente relacionadas à regulação da pressão arterial, à homeostase hidroeletrolítica e à remodelação cardiovascular. Esse peptídio é sintetizado e liberado por miócitos atriais, descrito em 1981 por de Bold e colaboradores, que observaram um potente efeito natriurético e diurético de extratos de músculo atrial. O ANP está envolvido na homeostase cardiovascular e na regulação do balanço de água e eletrólitos atuando nos rins, adrenais, vasos sanguíneos e no sistema nervoso central (Needleman e Greenwald, 1986; McCann et al., 1994). Além de sua síntese no coração, o ANP é encontrado também em tecidos extracardíacos como no sistema nervoso central (SNC) (Gutkowska e Nemer, 1989). No SNC o grupo mais proeminente de neurônios ANP imunorreativos está no terceiro ventrículo. Rostralmente os neurônios ANPérgicos estão presentes na parede antero-ventral do terceiro ventrículo (AV3V), estando associados com a manutenção do equilíbrio hidrossalino (Jacobowitz et al., 1985; Standaert et al., 1986; Baldissera et al., 1989;

Antunes-Rodrigues et al., 1991). Caudalmente, estão localizados, principalmente, no núcleo paraventricular e núcleo arqueado (Standaert et al., 1986; Zamir et al., 1986). Através de estudo imuno-histoquímico observou-se que neurônios ANP positivos estão localizados na porção parvocelular do núcleo paraventricular e que suas fibras se estendem até a zona externa da eminência mediana (Kawata et al., 1985). O ANP está presente na eminência mediana em uma concentração no sangue portal hipofisário maior que no sangue periférico (Palkovits et al., 1987; Lim et al., 1990). Ainda, através de análise auto-radiográfica observou-se a presença de receptores para ANP na hipófise anterior nos corticotrofos, gonadotrofos e lactotrofos (Gutkowska e Nemer, 1989).

Fatores mecânicos e hormonais regulam a secreção de ANP, sendo, o aumento da pressão transmural na parede atrial o principal estímulo mecânico para a liberação do ANP (Walsh et al., 1988; Lang, 1985; Kinnunen, 1993). Estudos demonstram que as concentrações plasmáticas de ANP são elevadas por expansão de volume induzida pela infusão de salina isotônica ou hipertônica, na insuficiência cardíaca e em outras condições associadas com aumento da pressão intra-atrial (Pettersson, et al., 1986; Nicholls, 1987; Maack, 1996; Elias, 1997). Além disso, existem inúmeros estímulos químicos como agonistas adrenérgicos, acetilcolina, glicocorticóides, prostaglandinas, vasopressina, fatores de crescimento, hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e estradiol, que podem aumentar diretamente a liberação de ANP ou potencializar sua resposta frente a uma sobrecarga de volume (Antunes-Rodrigues, 1997; Levin, 1988; Bastos, 2001). A hiperosmolaridade do líquido extracelular aumenta a concentração plasmática de ocitocina (OT) e esta induz a liberação de ANP pelo átrio. (Antunes – Rodrigues, et al., 1991; Watenpugh, et al., 1992).

A OT é um nonapeptídeo sintetizado, principalmente, em neurônios magnocelulares e parvocelulares dos núcleos paraventriculares e supra-óptico do hipotálamo, transportada através do fluxo axoplasmático sendo estocada na neuro-hipófise (Brownstein et al., 1980). Muitos estudos têm indicado que, em certas condições experimentais, a OT pode estar envolvida em um controle estimulatório da secreção de PRL (Pan et al., 1990). Entretanto, a OT é mais conhecida por suas ações no sistema reprodutor feminino, causando contração na musculatura lisa uterina durante o parto e

promovendo a ejeção de leite, durante a amamentação, pela contração das células mioepiteliais das glândulas mamárias (McNeilly et al., 1983). A OT participa ainda, como neuromediador no controle de comportamentos sociais, adaptativos, sexuais e regulatórios da temperatura corporal e da pressão sanguínea (De Wied et al., 1993; Kovács e De Wied, 1994). Adicionalmente, OT é um peptídeo neuronal que desempenha um papel essencial na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico, promovendo natriurese, diurese ou antidiurese e inibindo o apetite ao sódio (Verbalis et al., 1991). Um dos estímulos efetivos para a secreção de OT é o aumento em cerca de 2% da osmolalidade, que também ocasiona secreção de arginina-vasopressina (AVP), pelos neurônios magnocelulares (Cunnighan e Sawchenko, 1991). Adicionalmente, estudos indicam que a expansão de volume induzida por salina isotônica ou hipertônica proporcionam aumento das concentrações plasmáticas de OT e, simultaneamente, de ANP (Huang et al., 1995; Haanwinckel et al., 1995). Além disso, muitos trabalhos têm dado ênfase à participação da OT na regulação do eixo HHA (hipotálamo-hipófise-adrenal), demonstrando que este hormônio é responsivo à diferentes paradigmas de estresse (Jonhson et al., 1992).

Considerando os possíveis papéis desempenhados pela PRL na homeostase hidroeletrolítica, objetivamos o estudo de sua interação com o ANP e a OT, hormônios diretamente envolvidos na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico, no modelo experimental de expansão de volume extracelular e suas prováveis interações com o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.



OBJETIVOS

1. Avaliar os efeitos da expansão de volume extracelular (EVEC), por meio da injeção endovenosa de solução salina, isotônica ou hipertônica, sobre a secreção de prolactina (PRL), corticosterona (B), peptídeo natriurético atrial (ANP) e ocitocina (OT) em ratos.
2. Avaliar os efeitos da PRL sobre a secreção de B, ANP e OT, induzidos pela EVEC isotônica ou hipertônica
- 3 Avaliar os efeitos de diferentes estados funcionais do eixo hipotálamo-hipófise adrenal sobre a secreção de PRL, ANP e OT induzidos pelo estímulo da EVEC isotônica ou hipertônica.



MATERIAL E MÉTODOS

a-) Animais estudados:

Foram utilizados ratos machos Wistar, 180-200g, provenientes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto - USP. Os animais foram mantidos no Biotério Setorial da Faculdade de Medicina – FMRP –USP, no Departamento de Fisiologia, em ambiente com temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luz controlada (12h de claro/12 horas de escuro). Após ambientação de 72 horas os animais foram submetidos às manipulações experimentais e divididos em diferentes grupos, com livre acesso à água e alimento.

- 1-) Grupo controle:** Corresponde aos animais que não receberam nenhum tratamento prévio.
- 2-) Grupo tratado com bromocriptina:** Corresponde aos animais que receberam diariamente, durante uma semana, bromocriptina (CB-154, Sigma), na dose de 0,4mg/100g de peso corporal, via intraperitoneal, em um volume de 200µl, dissolvida em salina 0,9%.
- 3-) Grupo tratado com sulpirida:** Corresponde aos animais que receberam sulpiride (Equilid – 50 mg, Hoechst). Um grama de sulpiride foi dissolvido em dois litros de água corrente com pH da solução ajustado em 7,5. Esta solução foi oferecida a estes animais, "ad libitum", durante uma semana. Os animais controles neste experimento receberam água corrente "ad libitum".
- 4-) Grupo tratado com dexametasona:** Corresponde aos animais que receberam por via subcutânea, injeção de dexametasona (Prodome) 100µg/100g de peso corporal , em um volume de 200µl, duas horas antes de serem submetidos à expansão do volume extracelular.

b-) Canulação da Veia Jugular:

Os animais foram anestesiados com tribromoetanol (25 mg/100g de peso corporal, via intraperitoneal) e submetidos aos procedimentos cirúrgicos para canulação da veia jugular externa direita, segundo técnica descrita por Harms e Ojeda (1974). Utilizamos

cânulas de silástico com o comprimento total de 11 cm, confeccionadas com suporte para sua fixação no músculo peitoral, que permitiu que apenas 2,2 cm da cânula fosse projetada em direção ao átrio direito. Após a tricotomia da região supra-clavicular direita, o trajeto da veia foi identificado por transparência, aplicando-se leve pressão acima da clavícula de modo a obstruir o retorno venoso. Após pequena incisão na pele, paralela ao trajeto venoso, o acesso à veia jugular externa foi obtido. A cânula foi introduzida na luz do vaso com auxílio de uma agulha especialmente confeccionada para sua adaptação na extremidade distal da cânula. Após transfixação venosa, o complexo agulha e cânula, exposto no músculo peitoral, foi desfeito e, sob leve tração a cânula foi reposicionada na luz do vaso, sendo, então fixada com fio de algodão ao músculo. Com auxílio de um trocater, a outra extremidade da cânula foi exteriorizada na região occipital dorsal, por percurso subcutâneo. Na incisão cirúrgica, os planos foram fechados em bloco com pontos simples, utilizando-se fios de algodão. Após este procedimento, a cânula foi lavada e preenchida com um pequeno volume de solução heparinizada (1:40 em NaCl 0.15M), para evitar obstrução da cânula com sangue coagulado. Antes de conectar a extremidade distal de cânula da seringa com solução de heparina, foi dado um laço para oclusão da cânula com auxílio de uma pinça. Através desta via, no dia do experimento, foi realizada a expansão de volume extracelular.

Após a cirurgia, os animais foram transferidos para a sala de experimentos em gaiolas plásticas individuais com livre acesso ao alimento e água e mantidos sem manipulação até o início do experimento, na manhã seguinte.

c-) Expansão de Volume Extracelular:

No dia do experimento, as cânulas foram lavadas com salina heparinizada (1:40), para testar o funcionamento das mesmas. Após a lavagem das cânulas, os ratos foram mantidos sem manipulação, durante um período de 60 min, até o início do experimento, em ambiente silencioso para minimizar o efeito dos fatores de estresse ambiente. A EVEC foi realizada por meio de infusão endovenosa de solução de NaCl isotônica (0,15M) ou hipertônica (0,3M). O volume injetado foi de 2 ml/100g de peso corporal durante um minuto e os ratos foram sacrificados por decapitação imediatamente antes (basal), aos 5, 10, 15 e 30 minutos após a EVEC.

d-) Coleta de sangue

Os ratos foram sacrificados por decapitação e, em seguida, o sangue coletado em tubos de polipropileno, mantidos sob gelo, contendo 3 gotas de heparina para a dosagem de prolactina, corticosterona e ocitocina plasmáticas. Para dosagem de ANP, o sangue foi coletado em tubos de polipropileno, mantidos sob gelo, contendo EDTA 10% (10µl/ml de sangue), fenilmetilsulfonilfluoreto (PMSF) (1mM, 10µl/ml de sangue) e Pepstatin A (500µM, 10µl/ml de sangue). O plasma foi separado por centrifugação a 3000 rpm, por 20 minutos, em centrífuga refrigerada a 4°C e, em seguida, estocado a -70°C, em alíquotas de 1 ml, até a realização das dosagens hormonais.

e-) Dosagens hormonais

Todas as dosagens hormonais foram realizadas por Radioimunoensaio (RIE), no Laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Todas as amostras provenientes de um mesmo experimento foram determinadas em duplicata, em um mesmo ensaio.

e-1) Radioimunoensaio da Prolactina

A determinação da concentração plasmática de PRL foi realizada por radioimunoensaio (RIE) de duplo anticorpo usando-se reagentes fornecidos pelo National Institute of Arthritis, Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Baltimore, Maryland, USA. O primeiro anticorpo empregado foi o NIADDK anti-rPRL-S8, cuja diluição final no ensaio era de 1:3000. A obtenção do segundo anticorpo (anti-gama-globulina do coelho produzida em cabra) foi realizada no Laboratório de Neuroendocrinologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. A iodação da PRL (rPRL-I5) foi realizada pelo método da cloramina T tendo-se usado o isótopo ^{125}I , em lugar do ^{131}I originalmente proposto pelos autores. A dose mínima detectável foi de 0,04 ng/ml. Os coeficientes de variação intra- e entre ensaios foram de 5,0% e 11,7% respectivamente.

e-2) Radioimunoensaio da Corticosterona

A B plasmática foi determinada, utilizando-se o método modificado de Vecsei e cols. (1979), com extração prévia do esteróide com etanol. Utilizamos o anticorpo anticorticosterona (AB-Cort-17984) obtido em coelhos, imunizados com o hormônio conjugado com albumina bovina (Steraloids Inc. Wilton, N.H. USA ; # Q 1559), preparado

no nosso laboratório. A especificidade do anticorpo foi testada através de reatividade cruzada com o cortisol (1%), 17OH-Progesterona (1%) e sulfato de dehidroepiandrosterona (12%). Utilizamos como hormônio marcado a corticosterona marcada [1,2-3 (H)] (New England Nuclear). A separação das frações livre e ligada foi realizada com a utilização da solução de carvão-dextrana 0.5/0,05%.

A dose mínima detectável foi de $0,4 \pm 0,1$ µg/dl. O coeficiente de variação intra- e entre ensaios foram, respectivamente, 5,7% e 8,4%.

e-3) Radioimunoensaio da Ocitocina

O radioimunoensaio da OT foi realizado após extração prévia do plasma com acetona e éter de petróleo. Após centrifugação (2500 rpm, 5 min., 4 °C), 1 ml de plasma foi transferido para um tubo contendo 2 ml de acetona (Laboratório Merck) seguido de agitação por 20 segundos e centrifugação (2500 rpm, 25 min., 4°C). A seguir o sobrenadante foi decantado para um tubo contendo 3,7 ml de éter de petróleo (Laboratório Reagen) e submetido, após agitação à centrifugação (2500 rpm, 25 min., 4°C) e a seguir ao congelamento, em nitrogênio líquido. A fase congelada, contendo a ocitocina, foi liofilizada e, no momento do ensaio, foi ressuspensa com 250 µl de tampão do ensaio (Tampão tris 0,05 M com albumina humana 0,25%) e ensaiada em duplicata. Utilizamos o primeiro anticorpo anti-OT, cedido gentilmente pela Dra Mariana Morris (Wright State University – Dayton, OH, USA) e o padrão de referência para a curva e para marcação foram adquiridos da Peninsula Laboratories (cat. OT-8152). Para separação das frações ligada e livre utilizamos um segundo anticorpo anti-gamaglobulina de coelho produzido em cabra, seguido de solução de polietilenoglicol 6000 6,25%.

A dose mínima detectável foi de 0,9 pg/ml. Os coeficientes de variação intra- e entre ensaios foram de 7,0% e 12,6 %, respectivamente.

e-4) Radioimunoensaio do Peptídeo Natriurético Atrial

A extração de ANP das amostras de plasma foi realizada utilizando-se columna C-18 (SEP – Column RIK – SEPCOL – I, Península Laboratories). O plasma (2ml) foi acidificado com 2ml de ácido trifluoroacético (TFA) 0,1% e após centrifugação o sobrenadante foi aplicado na coluna de C-18, previamente ativada com 20ml da solução de

acetonitrila 60% em TFA 0,1%. A eluição foi realizada com solução de acetonitrila (3ml) que foi seguida de liofilização. O extrato obtido foi mantido a -70°C até o momento da dosagem, quando foi resuspenso em 400 μl de tampão do ensaio (Tampão fosfato 0,05, pH 7,4, contendo NaCl 0,15M, albumina bovina 0,1% Triton X-100 0,1% e NaN_3 0,02%). O ANP (Península, # 9103) foi marcado com I^{125} , utilizando-se o método da lactoperoxidase. O primeiro anticorpo, anti-ANP, foi gentilmente cedido pela Profa. Gutkowska e o segundo anticorpo, anti-gama globulina de coelho foi produzido em cabras utilizando-se como antígeno gama-globulina de coelho normal (Sigma, # 0261) no Laboratório de Neuroendocrinologia da FMRP - USP. A especificidade do radioimunoensaio do ANP foi detalhadamente descrito por Gutkowska et al., 1984.

A dose mínima detectável foi de 7,0 pg/ml. Os coeficientes de variação intra- e entresaios foram de 5,8% e 11,7% respectivamente.

f-) Análise dos Resultados

Para análise estatística foram utilizados os seguintes procedimentos:

- índices de dispersão em torno da média (X) foram o desvio padrão da média (DP) e erro padrão da média (EPM). As figuras estão representadas em $X \pm \text{EPM}$.
- análise de variância Anova foi utilizada para comparação dos valores dentro do mesmo grupo experimental, porém nos diferentes períodos estudados.
- teste de Wilcoxon Mann Whitney foi utilizado para comparação dos valores entre grupos diferentes (EVEC I vs EVEC H).

O nível de significância adotado para a rejeição da hipótese de nulidade foi de 5% entretanto, níveis de p menores que 0,05 foram anotados no texto.

Para efeito de cálculo estatístico todos os valores não detectáveis (abaixo do limite de sensibilidade para o respectivo ensaio) foram arbitrariamente considerados como o valor da sensibilidade do método (dose mínima detectável).



RESULTADOS

A- EFEITO DA EXPANSÃO DE VOLUME EXTRACELULAR ISOTÔNICA (EVEC I) E HIPERTÔNICA (EVEC H) SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PRL, B, OT E ANP EM ANIMAIS CONTROLES

A tabela I apresenta os valores de PRL, B, ANP e OT, em média e erro padrão da média ($X \pm EPM$), sob condição basal (tempo 0) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H) nos animais intactos e controles.

Tabela I: Concentrações plasmáticas de Prolactina (PRL), Corticosterona (B), Ocitocina (OT) e Peptídeo Natriurético Atrial (ANP), em média e erro padrão da média ($X \pm EPM$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H) nos animais intactos e controles.

		Intactos	Tempo 0'	Tempo 5'	Tempo 10'	Tempo 15'	Tempo 30'
PRL (ng/ml)	EVEC I		5,3 $\pm$ 0,9	9,7 $\pm$ 1,9	16,3 $\pm$ 2,1	6,9 $\pm$ 2,4	5,6 $\pm$ 1,5
		4,7 $\pm$ 0,7					
	EVEC H		3,5 $\pm$ 0,7	12,5 $\pm$ 4,4	4,6 $\pm$ 0,6	4,7 $\pm$ 0,7	4,8 $\pm$ 0,8
B (μ g/dl)	EVEC I			14,1 $\pm$ 1,4	18,2 $\pm$ 2,4	11,3 $\pm$ 3,4	
		1,0 $\pm$ 0,1	6,7 $\pm$ 0,8				
	EVEC H			17,7 $\pm$ 1,7	19,0 $\pm$ 1,6	18,4 $\pm$ 0,7	
ANP (pg/ml)	EVEC I			504,8 $\pm$ 71,1	232,4 $\pm$ 40,5	289,9 $\pm$ 70,3	
		33,8 $\pm$ 3,5	54,2 $\pm$ 4,1				
	EVEC H			1559,0 $\pm$ 143,0	436,0 $\pm$ 56,7	201,0 $\pm$ 23,1	
OT (pg/ml)	EVEC I			23,5 $\pm$ 3,6	16,0 $\pm$ 3,9	7,0 $\pm$ 1,5	
		9,9 $\pm$ 0,6	6,3 $\pm$ 0,6				
	EVEC H			56,3 $\pm$ 6,6	52,1 $\pm$ 10,5	39,4 $\pm$ 3,5	

Concentrações plasmáticas de Prolactina

Os animais foram submetidos a EVEC com solução isotônica ou hipertônica e sacrificados após 5, 10, 15 e 30 minutos após EVEC. Os valores de PRL em ratos intactos, em condição basal foram de $4,7 \pm 0,7$ ng/ml. Os valores de PRL nos animais controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após EVEC isotônica foram de $5,3 \pm 0,9$; $9,7 \pm 1,9$; $16,3 \pm 2,1$; $6,9 \pm 2,4$; $5,6 \pm 1,5$ ng/ml, respectivamente. Os valores de PRL nos animais controles em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após EVEC hipertônica foram de $3,5 \pm 0,7$; $12,5 \pm 4,4$; $4,6 \pm 0,6$; $4,7 \pm 0,7$; $4,8 \pm 0,8$ ng/ml, respectivamente (Tabela I).

Observa-se que após a expansão do volume extracelular, com salina isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,04$) e 10 minutos ($p=0,0013$), retornando aos valores comparáveis aos animais basais nos tempos 15 e 30 minutos. A expansão de volume com salina hipertônica, determinou um aumento significativo ($p=0,01$) das concentrações plasmáticas de PRL apenas aos 5 minutos (Figura 1), retornando aos valores basais nos períodos subsequentes.

Comparamos os valores plasmáticos de PRL obtidos após a EVEC com solução isotônica e hipertônica, em condições basais (tempo 0) e após os diferentes períodos estudados (5, 10, 15 e 30 minutos). Encontramos valores significativamente maiores no grupo expandido com solução isotônica apenas aos 10 minutos ($p=0,0043$).

Concentrações plasmáticas de corticosterona

Os valores de corticosterona em ratos intactos em condições basais, foram de $1,0 \pm 0,1$ µg/dl. No grupo controle, que corresponde aos animais submetidos a procedimentos cirúrgicos de canulação da veia jugular, houve um aumento da concentração plasmática de corticosterona ($6,7 \pm 0,8$ µg/dl) em relação ao grupo intacto, em condições basais, indicando ativação do eixo-HHA em resposta ao estresse anestésico e à dor.

Os valores de corticosterona, em ratos controles, em condição basal (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica foram de $6,7 \pm 0,8$; $14,1 \pm 1,4$; $18,2 \pm 2,4$; $11,3 \pm 3,4$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela I). Os valores de corticosterona, em ratos controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC hipertônica, foram de $6,7 \pm 0,8$; $17,7 \pm 1,7$; $19,0 \pm 1,6$; $18,4 \pm 0,7$ $\mu\text{g/dl}$ (Tabela I). As concentrações plasmáticas de corticosterona no grupo após EVEC isotônica elevaram-se significativamente aos 5 minutos ($p=0,0031$) e 10 minutos ($p=0,0013$), quando comparadas aos valores basais, retornando aos níveis similares aos basais aos 15 minutos de observação (Figura 2). No grupo que foi submetido à EVEC hipertônica, houve elevação da concentração plasmática de corticosterona nos primeiros 5 minutos ($p=0,0007$), permanecendo elevadas durante os outros períodos de observação: 10 minutos ($p=0,0007$) e 15 minutos ($p=0,0007$), quando comparados aos valores basais (Figura 2).

Comparamos os valores plasmáticos de corticosterona obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica em condições basais (tempo 0) e nos diferentes períodos após EVEC (5, 10 e 15 minutos) e não encontramos diferença significativa nas concentrações de B entre os dois procedimentos.

Concentrações plasmáticas de ANP

Os valores de ANP em ratos intactos, em condições basais, foram de $33,8 \pm 3,5$ pg/ml. Os valores de ANP nos animais controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica foram de $54,2 \pm 4,1$; $504,8 \pm 71,1$; $232,4 \pm 40,5$; $289,9 \pm 70,3$ pg/ml (Tabela I). Os valores de ANP nos animais controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC hipertônica foram de $54,2 \pm 4,1$; $1559,0 \pm 143,0$; $436,0 \pm 56,7$; $201,0 \pm 23,1$ pg/ml (Tabela I). Elevações agudas do volume de sangue circulante proporcionaram uma elevação plasmática do ANP aos 5 minutos ($p=0,0022$), 10 minutos ($p=0,0095$) e aos 15 minutos ($p=0,0095$) após EVEC isotônica, sendo maior aos 5 minutos de observação (Figura 3). No grupo após EVEC hipertônica observou-se uma elevação plasmática do ANP aos 5 minutos ($p=0,0043$), 10 minutos ($p=0,0022$) e 15 minutos ($p=0,0043$) quando comparados aos valores basais, sendo maior aos 5 minutos (Figura 3).

Comparamos os valores plasmáticos de ANP obtidos nos grupos após EVEC isotônica e hipertônica em condições basais (tempo 0) e nos diferentes períodos de tempos estudados após EVEC (5, 10 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores no grupo após EVEC hipertônica aos 5 minutos ($p=0,0043$) e aos 10 minutos ($p=0,019$).

Concentrações plasmáticas de OT

Os valores plasmáticos de OT em ratos intactos, em condições basais, foram de $9,9 \pm 0,6$ pg/ml. Os valores de OT nos animais controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica foram de $6,3 \pm 0,6$; $23,5 \pm 3,6$; $16,0 \pm 3,9$; $7,0 \pm 1,5$ pg/ml (Tabela I). Os valores de OT nos animais controles, em condição basal (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC hipertônica foram de $6,3 \pm 0,6$; $56,3 \pm 6,6$; $52,10 \pm 10,5$; $39,4 \pm 3,5$ pg/ml (Tabela I). Após a EVEC isotônica, houve aumento significativo das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,001$) e aos 10 minutos ($p=0,007$) de observação quando comparados aos valores basais (Figura 4). Após a EVEC hipertônica, houve aumento da concentração plasmática de OT aos 5 minutos ($p=0,0012$), 10 minutos ($p=0,0012$) e 15 minutos ($p=0,0012$) quando comparados aos valores basais (Figura 4).

Comparamos os valores plasmáticos de OT obtidos nos grupos após EVEC isotônica e hipertônica, em condições basais (tempo 0) e nos diferentes períodos de tempos estudados após a EVEC (5, 10 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após EVEC hipertônica, aos 5 minutos ($p=0,004$), 10 minutos ($p=0,03$) e 15 minutos ($p=0,002$) de observação.

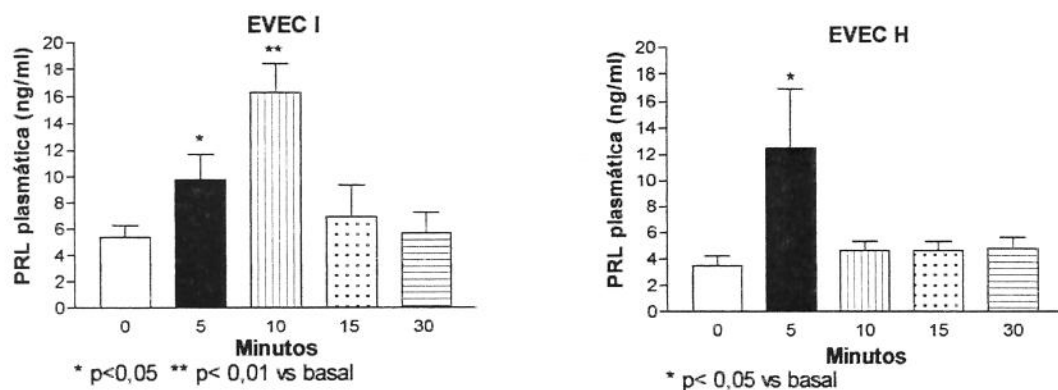


Figura 1: Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10, 15 e 30 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais controles. (n=6)

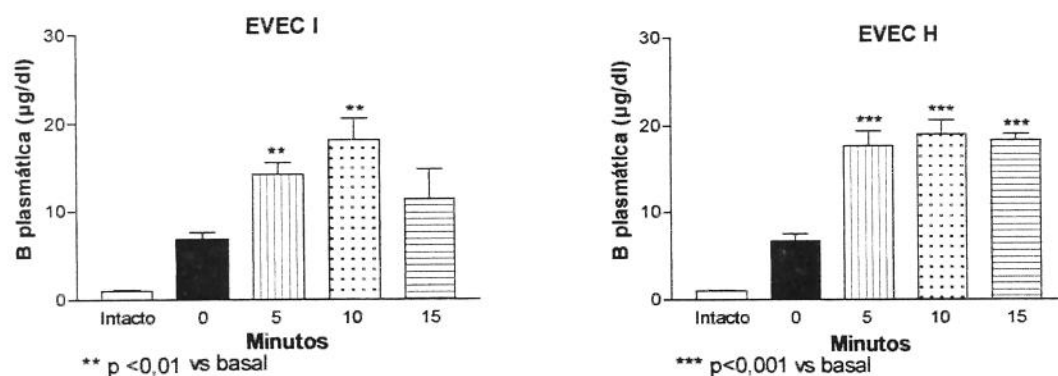


Figura 2: Concentrações plasmáticas de B (µg/dl), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10, 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais controles. (n=6)

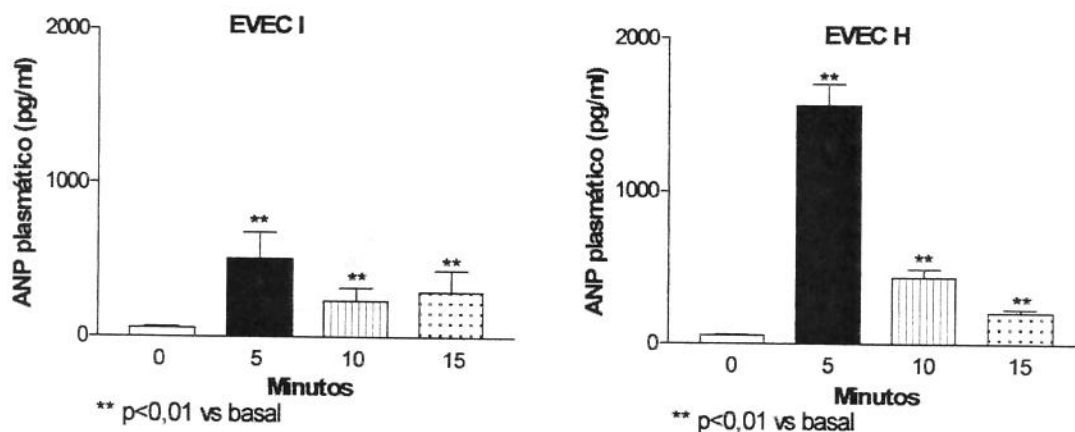


Figura 3: Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10, 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais controles. (n=6)

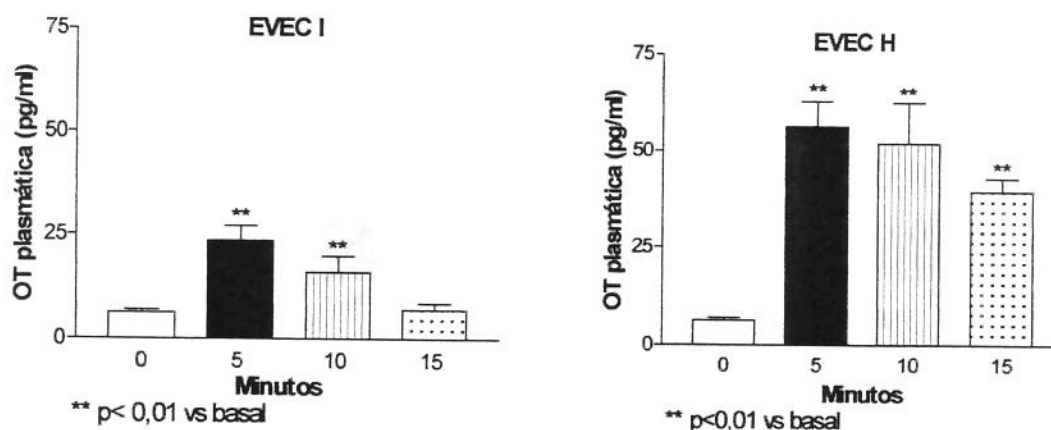


Figura 4: Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10, 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais controles. (n=6)

B- EFEITO DA EXPANSÃO DE VOLUME EXTRACELULAR ISOTÔNICA E HIPERTÔNICA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PRL, B, OT E ANP EM ANIMAIS TRATADOS COM O VEÍCULO OU COM BROMOCRIPTINA.

A Tabela II apresenta os resultados de PRL, B, OT e ANP, em média e erro padrão da média ($X \pm \text{EPM}$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais que receberam veículo ou bromocriptina.

Tabela II: Concentrações plasmáticas de PRL, B, OT e ANP, em média e erro padrão da média ($X \pm \text{EPM}$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais tratados com o veículo ou com bromocriptina.

		VEÍCULO			TRATADO		
		Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo
		0'	5'	15'	0'	5'	15'
PRL (ng/ml)	EVEC I		10,4 $\pm$ 1,1	7,8 $\pm$ 1,6		2,7 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,3
		4,5 $\pm$ 1,3			2,8 $\pm$ 0,7		
	EVEC H		11,4 $\pm$ 1,2	6,7 $\pm$ 0,7		2,9 $\pm$ 0,9	1,7 $\pm$ 0,2
B (μ g/dl)	EVEC I		22,8 $\pm$ 3,3	12,8 $\pm$ 1,2		16,7 $\pm$ 1,3	16,3 $\pm$ 0,4
		6,9 $\pm$ 1,3			11,6 $\pm$ 1,1		
	EVEC H		21,1 $\pm$ 2,5	26,7 $\pm$ 2,4		20,0 $\pm$ 2,5	21,3 $\pm$ 1,7
ANP (pg/ml)	EVEC I		484,3 $\pm$ 64,6	136,6 $\pm$ 34,8	75,9 $\pm$ 14,1	453,6 $\pm$ 68,9	101,6 $\pm$ 17,8
		54,8 $\pm$ 4,0					
	EVEC H		1461,0 $\pm$ 136,8	285,3 $\pm$ 27,7	68,7 $\pm$ 9,5	1019,0 $\pm$ 54,2	224,5 $\pm$ 32,4
OT (pg/ml)	EVEC I		18,6 $\pm$ 2,2	8,2 $\pm$ 1,2		13,3 $\pm$ 1,6	7,3 $\pm$ 0,6
		7,9 $\pm$ 0,6			8,6 $\pm$ 1,0		
	EVEC H		33,6 $\pm$ 4,9	17,7 $\pm$ 2,2		49,6 $\pm$ 7,0	15,2 $\pm$ 2,0

Concentrações plasmáticas de Prolactina

Os valores plasmáticos de PRL no grupo de animais que receberam veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica, foram de $4,5 \pm 1,3$; $10,4 \pm 1,1$; $7,8 \pm 1,6$ ng/ml, respectivamente (Tabela II). Nos animais tratados com bromocriptina os valores de PRL foram de $2,8 \pm 0,7$; $2,7 \pm 0,2$; $2,0 \pm 0,3$ ng/ml, respectivamente. Os resultados no grupo veículo demonstram que após EVEC isotônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,04$) de observação quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de PRL após EVEC, nos diferentes tempos estudados, 5 e 15 minutos, quando comparados aos valores basais. Não houve diferença entre os valores basais do grupo veículo e do grupo tratado com bromocriptina (NS). Entretanto, os níveis plasmáticos de PRL no grupo tratado com bromocriptina foram significativamente menores quando comparados ao veículo nos diferentes tempos estudados após EVEC I, 5 minutos ($p=0,015$) e 15 minutos ($p=0,007$), respectivamente. Os valores de PRL em condição basal e após EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina estão apresentados graficamente na figura 5.

Os valores de PRL no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica, foram $4,5 \pm 1,3$; $11,4 \pm 1,2$; $6,7 \pm 0,7$ ng/ml, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de PRL foram de $2,8 \pm 0,7$; $2,9 \pm 0,9$; $1,7 \pm 0,2$ ng/ml, respectivamente (Tabela II). Os resultados no grupo veículo demonstram que após EVEC hipertônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,01$), quando comparamos aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina não foram encontradas diferenças significativas nos valores de PRL após EVEC H, nos diferentes períodos de tempos estudados, 5 e 15 minutos, quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais de PRL observados no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina (NS). Porém, os valores de PRL no grupo veículo foram maiores que os encontrados no grupo tratado com bromocriptina, nos diferentes períodos de tempo estudados, aos 5 minutos ($p=0,007$) e 15 minutos ($p=0,007$), respectivamente. Os valores de

PRL, em condição basal e após EVEC hipertônica no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina estão apresentados graficamente na figura 5.

Comparamos os valores plasmáticos de PRL obtidos após EVEC isotônica e hipertônica, em condições basais (tempo 0) e nos diferentes períodos de tempos estudados após a EVEC (5, 10 e 15 minutos), nos animais veículo e tratado com bromocriptina e não foram encontradas diferenças significativas entre os dois procedimentos (NS).

Concentrações plasmáticas de corticosterona

Os valores plasmáticos de B no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $6,9 \pm 1,3$; $22,8 \pm 3,3$; $12,8 \pm 1,2$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de B foram de $11,6 \pm 1,1$; $16,7 \pm 1,3$; $16,3 \pm 0,4$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela II). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após a EVEC isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,031$) quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina, as concentrações plasmáticas de B também foram significativamente maiores após EVEC isotônica nos diferentes tempos estudados, 5 e 15 minutos ($p=0,028$), quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina (NS). Os valores de B em condição basal e após EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina, estão apresentados graficamente na figura 6.

Os valores de B no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC hipertônica foram de $6,9 \pm 1,3$; $21,1 \pm 2,5$; $26,7 \pm 2,4$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de B foram de $11,6 \pm 1,1$; $20,0 \pm 2,5$; $21,3 \pm 1,7$ $\mu\text{g/dl}$ (Tabela II). Os resultados demonstram que no grupo veículo após EVEC hipertônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,007$) e aos 15 minutos ($p=0,007$) de observação quando comparados aos valores basais (tempo 0). No grupo tratado com bromocriptina,

observamos também concentrações plasmáticas de B mais elevadas aos 5 minutos ($p=0,03$) e aos 15 minutos ($p=0,01$) de observação quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores de B em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC hipertônica entre os grupos veículo e tratado com bromocriptina (NS). Os valores de B em condição basal e após EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina, estão apresentados graficamente na figura 6.

Comparamos os valores plasmáticos de B obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com bromocriptina, em condições basais e nos diferentes períodos de tempos estudados após EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores no grupo veículo, após EVEC hipertônica aos 15 minutos ($p=0,007$).

Concentrações plasmáticas de ANP

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $54,8 \pm 4,0$; $484,3 \pm 64,6$; $136,6 \pm 34,8$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de ANP foram de $75,9 \pm 14,1$; $453,6 \pm 68,9$; $101,6 \pm 17,8$ pg/ml, respectivamente (Tabela II). Os resultados demonstram que, no grupo veículo, após a EVEC isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,003$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) de observação quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina, observamos um aumento significativo das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,028$) de observação quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa das concentrações plasmáticas de ANP em condição basal (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos de EVEC isotônica quando comparamos os grupos veículo e tratado com bromocriptina (NS). Os valores de ANP, em condições basais e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina estão apresentados graficamente na figura 7.

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica, foram de $54,8 \pm 4,0$; $1461,0 \pm 136,8$; $285,3,6 \pm 27,7$; pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de ANP foram de $68,7 \pm 9,5$; $1019,0 \pm 54,2$; $224,5 \pm 32,4$ pg/ml, respectivamente (Tabela II). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após EVEC hipertônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) quando comparamos aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina observamos uma resposta semelhante à descrita acima, ou seja, um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,015$) e aos 15 minutos ($p=0,019$) de observação, quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa nas concentrações plasmáticas de ANP entre os valores basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após a EVEC hipertônica ao compararmos os grupos veículo e tratado com bromocriptina (NS). Os valores de ANP em condição basal e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina, estão apresentados graficamente na figura 7.

Comparamos os valores plasmáticos de ANP obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com bromocriptina, em condições basais e nos diferentes períodos de tempos estudados após EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores tanto no grupo veículo, como no grupo tratado com bromocriptina após a EVEC hipertônica aos 5 minutos ($p=0,028$; $p=0,015$).

Concentrações plasmáticas de OT

Os valores de OT no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $7,9 \pm 0,6$; $18,6 \pm 2,2$; $8,2 \pm 1,2$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de OT foram de $8,6 \pm 1,0$; $13,3 \pm 1,6$; $7,3 \pm 0,6$ pg/ml, respectivamente (Tabela II). Os resultados no grupo veículo demonstram que após a EVEC isotônica houve um aumento das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,004$) de observação quando comparados aos valores basais. O mesmo ocorrendo com o grupo de animais tratados com bromocriptina ($p=0,028$).

Não foram encontradas diferenças nas concentrações plasmáticas de OT em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica entre os grupos veículo e tratados com bromocriptina (NS). Os valores de OT em condição basal e após EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina, estão apresentados graficamente na figura 8.

Os valores de OT no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $7,9 \pm 0,6$; $33,6 \pm 4,9$; $17,7 \pm 2,2$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com bromocriptina os valores de OT foram de $8,6 \pm 1,0$; $49,6 \pm 7,0$; $15,2 \pm 2,0$ pg/ml, respectivamente (Tabela II). Os resultados no grupo veículo demonstram que após EVEC hipertônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p < 0,0001$) e aos 15 minutos ($p = 0,001$) quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com bromocriptina, observamos também concentrações plasmáticas de OT elevadas aos 5 minutos ($p = 0,028$) de observação comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa nas concentrações plasmáticas de OT em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC hipertônica entre os grupos veículo e tratado com bromocriptina (NS). Os valores de OT em condição basal e após EVEC hipertônica no grupo veículo e no grupo tratado com bromocriptina estão apresentados graficamente na figura 8.

Comparamos os valores plasmáticos de OT obtidos após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com bromocriptina, em condições basais e nos diferentes períodos de tempos estudados após EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após EVEC hipertônica, no grupo veículo aos 5 minutos ($p = 0,008$) e no grupo tratado com bromocriptina aos 5 minutos ($p = 0,028$) e aos 15 minutos ($p = 0,016$).

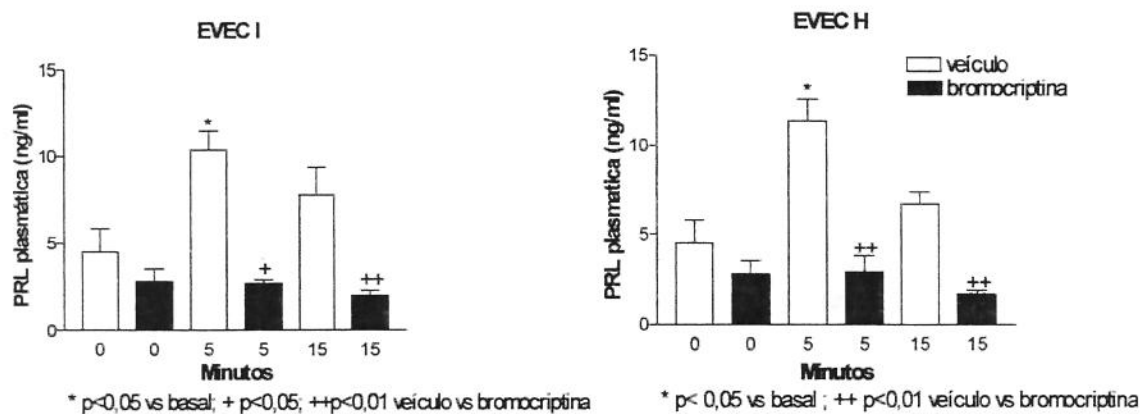


Figura 5: Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com bromocriptina. (n=5)

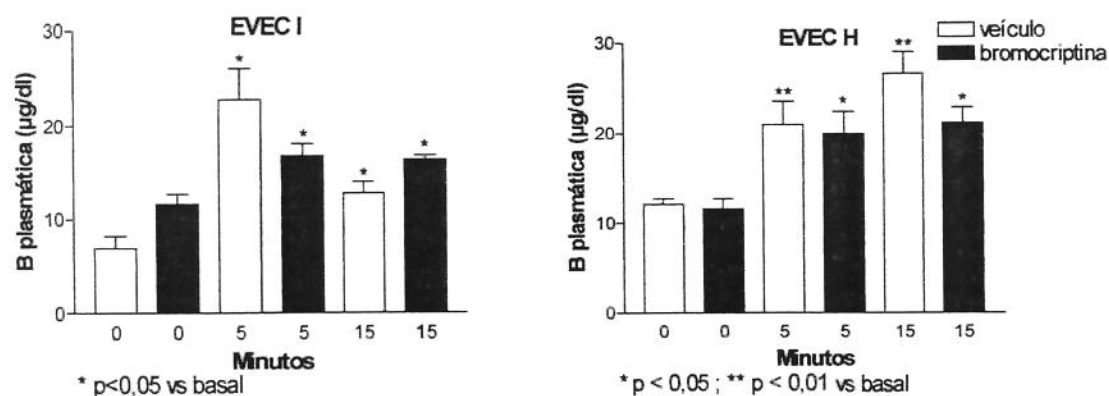


Figura 6: Concentrações plasmáticas de B (µg/dl), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com bromocriptina. (n=5)

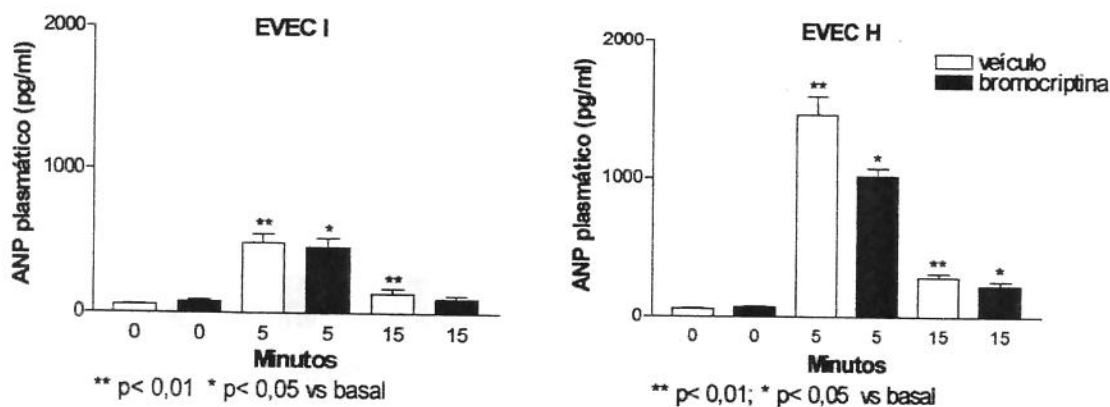


Figura 7: Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com bromocriptina. (n=5)

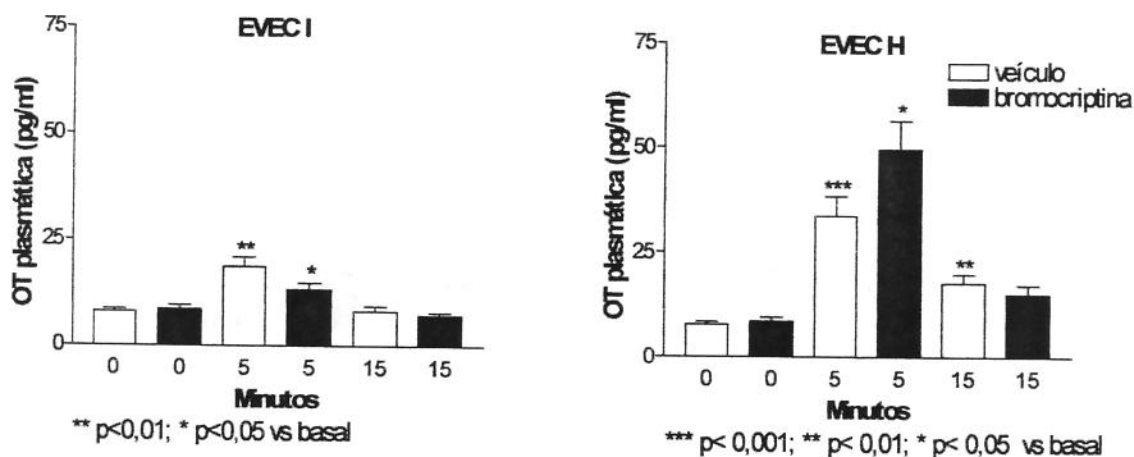


Figura 8: Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com bromocriptina. (n=5)

C- EFEITO DA EXPANSÃO DE VOLUME EXTRACELULAR ISOTÔNICA E HIPERTÔNICA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PRL, B, OT E ANP EM ANIMAIS TRATADOS COM O VEÍCULO OU COM SULPIRIDA.

A Tabela III apresenta os resultados de PRL, B, ANP e OT, em média e erro padrão da média ($X \pm EPM$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais tratados com o veículo ou sulpirida.

Tabela III: Concentrações plasmáticas de PRL, B, ANP e OT, em média e erro padrão da média ($X \pm EPM$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais veículo e tratado com sulpirida.

		VEÍCULO			TRATADO		
		Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo
		0'	5'	15'	0'	5'	15'
PRL (ng/ml)	EVEC I	4,0 $\pm$ 0,5	10,9 $\pm$ 1,0	6,9 $\pm$ 1,2	26,4 $\pm$ 1,8	47,7 $\pm$ 4,9	43,5 $\pm$ 5,7
	EVEC H	4,4 $\pm$ 0,9	11,7 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 1,5	25,7 $\pm$ 3,1	58,9 $\pm$ 8,2	46,9 $\pm$ 4,7
B (μ g/dl)	EVEC I		17,6 $\pm$ 2,9	10,7 $\pm$ 1,6	8,4 $\pm$ 0,9	24,5 $\pm$ 1,3	13,6 $\pm$ 5,8
	EVEC H	4,3 $\pm$ 1,6	18,4 $\pm$ 1,5	30,2 $\pm$ 2,4	7,4 $\pm$ 1,2	26,0 $\pm$ 0,9	22,4 $\pm$ 2,5
ANP (pg/ml)	EVEC I	71,3 $\pm$ 5,6	393,7 $\pm$ 26,4	188,5 $\pm$ 37,0	61,6 $\pm$ 6,7	303,2 $\pm$ 8,8	138,0 $\pm$ 19,4
	EVEC H	71,7 $\pm$ 7,6	1066,0 $\pm$ 52,4	213,5 $\pm$ 24,9	71,6 $\pm$ 4,8	959,0 $\pm$ 57,3	183,5 $\pm$ 22,6
OT (pg/ml)	EVEC I	4,2 $\pm$ 0,3	14,1 $\pm$ 1,6	8,5 $\pm$ 1,4	5,4 $\pm$ 0,3	12,8 $\pm$ 2,3	10,6 $\pm$ 0,9
	EVEC H	9,0 $\pm$ 1,4	53,0 $\pm$ 3,5	36,7 $\pm$ 6,3	10,4 $\pm$ 0,8	37,2 $\pm$ 6,6	26,8 $\pm$ 3,7

Concentrações plasmáticas de prolactina

Os valores de PRL no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica, foram de $4,0 \pm 0,5$; $10,9 \pm 1,0$; $6,9 \pm 1,2$ ng/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de PRL foram de $26,4 \pm 1,8$; $47,7 \pm 4,9$; $43,5 \pm 5,7$ ng/ml, respectivamente (Tabela III). No grupo veículo, após a EVEC isotônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,041$) de observação quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida, após EVEC isotônica, também houve aumento significativo nas concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,041$) de observação quando comparadas aos valores basais. Os animais tratados com sulpirida apresentaram concentrações de PRL mais elevadas em condição basal (tempo 0), ($p=0,002$), aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) após EVEC isotônica quando comparamos com o grupo que recebeu veículo. Os valores de PRL em condição basal e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida, estão apresentadas graficamente na figura 9.

Os valores de PRL no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $4,4 \pm 0,9$; $11,7 \pm 0,8$; $4,9 \pm 1,5$ ng/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de PRL foram de $25,7 \pm 3,1$; $58,9 \pm 8,2$; $46,9 \pm 4,7$ ng/ml, respectivamente (Tabela III). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após EVEC hipertônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,002$), quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida, após EVEC hipertônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) quando comparadas aos valores basais. Houve diferença significativa nas concentrações plasmáticas de PRL em condição basal (tempo 0) ($p=0,002$), aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) após EVEC hipertônica quando comparamos os grupos veículo e tratado com sulpirida. Os valores de PRL em condição basal e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpiride, estão apresentados graficamente na figura 9.

Comparamos os valores plasmáticos de PRL obtidos após EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com sulpirida, em condições basais e nos diferentes períodos de tempos estudados após a EVEC (5 e 15 minutos) e não foram encontradas diferenças significativas entre os dois procedimentos.

Concentrações plasmáticas de corticosterona

Os valores de B no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $4,3 \pm 1,6$; $17,6 \pm 2,9$; $10,7 \pm 1,6$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de B foram de $8,4 \pm 0,9$; $24,5 \pm 1,3$; $13,6 \pm 5,8$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela III). No grupo veículo, após a EVEC isotônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,028$) quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida, após EVEC isotônica, foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,028$) quando comparados aos valores basais. Houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) do grupo veículo e do grupo tratado com sulpirida ($p=0,028$). Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de B, aos 5 minutos e aos 15 minutos após EVEC isotônica entre os grupos veículo e tratados (NS). Os valores de B em condição basal e após EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida, estão apresentados graficamente na figura 10.

Os valores de B no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $4,3 \pm 1,6$; $18,4 \pm 1,5$; $30,2 \pm 2,4$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida, os valores de B foram de $7,4 \pm 1,2$; $26,0 \pm 0,9$; $22,4 \pm 2,5$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela III). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após a EVEC hipertônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,015$) quando comparados aos grupos basais. No grupo tratado com sulpirida, houve um aumento das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores

basais (tempo 0) do grupo veículo e do grupo tratado com sulpirida. Entretanto, foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de B, após EVEC hipertônica entre os grupos veículo e tratado, aos 5 minutos ($p=0,0009$) de observação. Os valores de B em condição basal e após EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida, estão apresentados graficamente na figura 10.

Comparamos os valores plasmáticos de B obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com sulpirida, em condições basais nos diferentes períodos estudados após a EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores no grupo veículo, após a EVEC hipertônica aos 15 minutos ($p=0,007$) de observação.

Concentrações plasmáticas de ANP

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $71,3 \pm 5,6$; $393,7 \pm 26,4$; $188,5 \pm 37,0$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida, os valores de ANP foram de $61,6 \pm 6,7$; $303,2 \pm 8,8$; $138,0 \pm 19,4$ pg/ml, respectivamente (Tabela III). Os resultados demonstram que no grupo veículo após a EVEC isotônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,009$) e aos 15 minutos ($p=0,009$) de observação quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida, após EVEC isotônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,028$) de observação, quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa das concentrações plasmáticas de ANP em condição basal (tempo 0), entre os grupos veículo e tratado com sulpirida (NS). Porém, as concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,028$) de observação, foram maiores no grupo veículo quando comparado ao grupo tratado com sulpirida. Os valores de ANP em condição basal e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida estão apresentados graficamente na figura 11.

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $71,7 \pm 7,6$; $1066,0 \pm 52,4$; $213,5 \pm 24,9$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de ANP foram de $71,6 \pm 4,8$; $959,0 \pm 57,3$; $183,5 \pm 22,6$ pg/ml, respectivamente (Tabela III). Os resultados demonstram que no grupo veículo após EVEC hipertônica houve um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,009$) e aos 15 minutos ($p=0,009$) quando comparamos aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida, após EVEC hipertônica houve um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,028$) de observação quando comparados aos valores basais. Não houve diferença significativa nas concentrações plasmáticas de ANP entre os valores basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica ao compararmos os grupos veículo e tratado com sulpirida (NS). Os valores de ANP em condição basal e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida estão apresentados graficamente na figura 11.

Comparamos os valores plasmáticos de ANP obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com sulpirida, em condições basais e nos diferentes períodos estudados após a EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após EVEC hipertônica aos 5 minutos de observação, no grupo veículo ($p=0,007$) e no grupo tratado com sulpirida ($p=0,007$).

Concentrações plasmáticas de OT

Os valores de OT no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $4,2 \pm 0,3$; $14,1 \pm 1,6$; $8,5 \pm 1,4$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de OT foram de $5,4 \pm 0,3$; $12,8 \pm 2,3$; $10,6 \pm 0,9$ pg/ml, respectivamente (Tabela III). Os resultados no grupo veículo demonstram que após a EVEC isotônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,028$) de observação quando comparamos aos valores basais. No grupo tratado com sulpirida observamos uma resposta semelhante à descrita acima, ou seja, um aumento das concentrações plasmáticas de OT aos

5 minutos ($p=0,028$) e aos 15 minutos ($p=0,028$) quando comparamos aos valores basais. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de OT, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica entre os grupos veículo e tratado com sulpirida (NS). Os valores de OT em condição basal e após EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida estão apresentados graficamente na figura 12.

Os valores de OT no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $9,0 \pm 1,4$; $53,0 \pm 3,5$; $36,7 \pm 6,3$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com sulpirida os valores de OT foram de $10,4 \pm 0,8$; $37,2 \pm 6,6$; $26,8 \pm 3,7$ pg/ml, respectivamente (Tabela III). Os resultados do grupo veículo e do grupo tratado com sulpirida demonstram que após EVEC hipertônica houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,028$ e $p=0,007$) e aos 15 minutos ($p=0,028$ e $p=0,007$) de observação quando comparamos aos valores basais. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de OT em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC hipertônica entre os grupos veículo e tratado com sulpirida (NS). Os valores de OT em condição basal e após EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com sulpirida, estão apresentados graficamente na figura 12.

Comparamos os valores plasmáticos de OT obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida, em condições basais e nos diferentes períodos de tempo estudados após a EVEC (5 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após a EVEC hipertônica, no grupo veículo aos 5 e 15 minutos ($p=0,007$) e no grupo tratado com sulpirida aos 5 e 15 minutos ($p=0,004$) de observação.

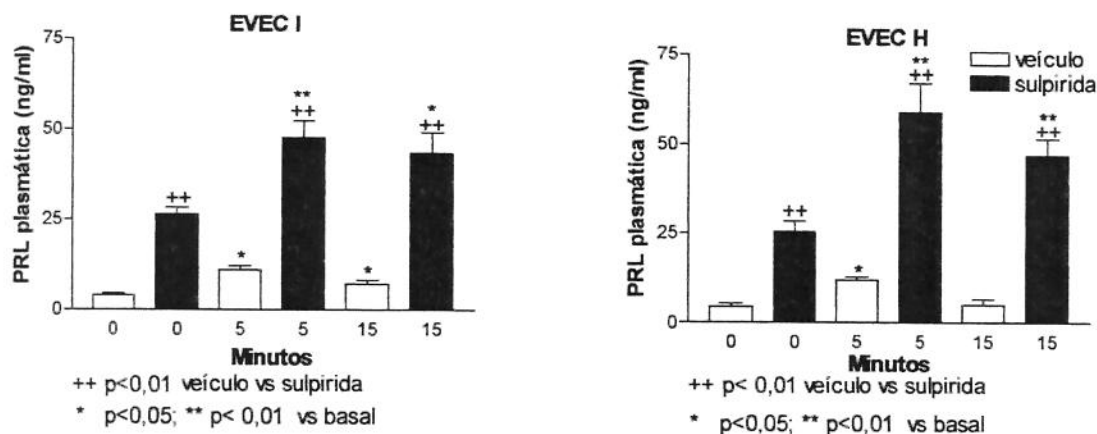


Figura 9: Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com sulpirida. (n=6)

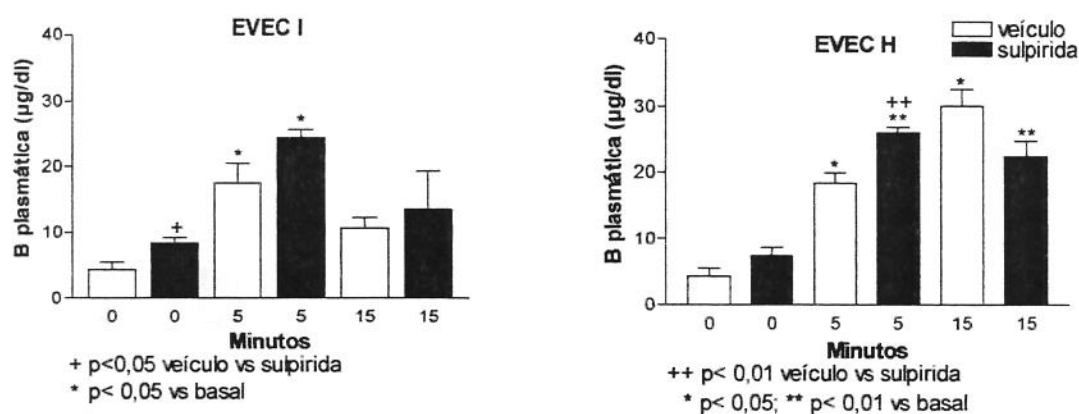


Figura 10: Concentrações plasmáticas de B (µg/dl), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com sulpirida. (n=5)

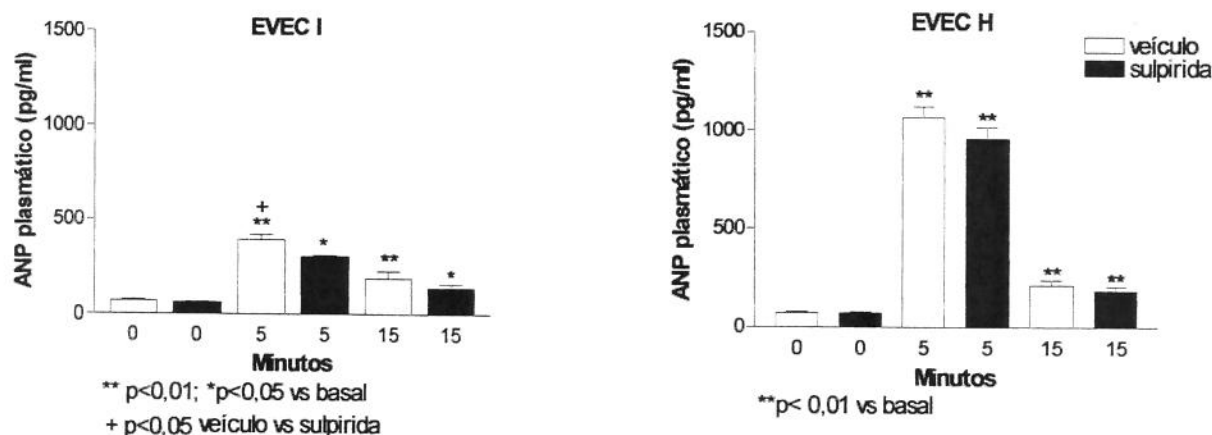


Figura 11: Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com sulpirida. (n=5)

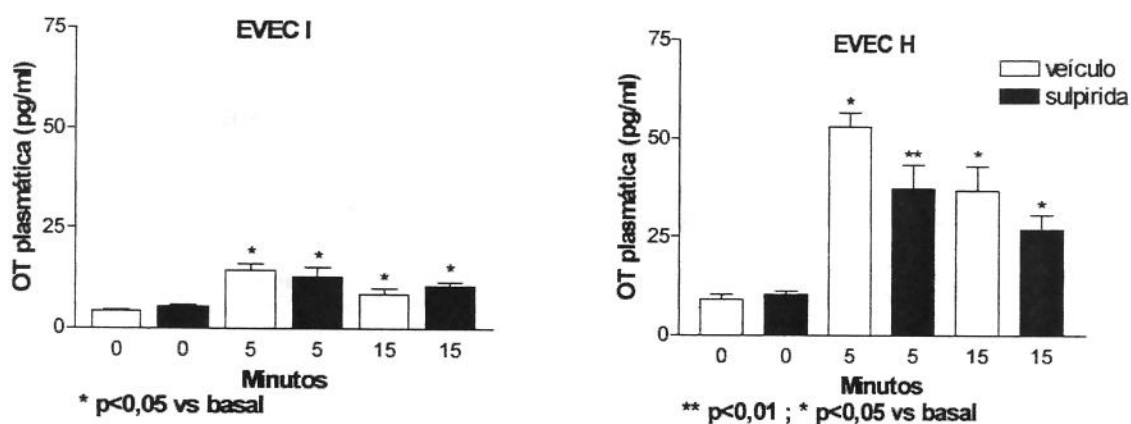


Figura 12: Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com sulpirida. (n=5)

D- EFEITO DA EXPANSÃO DE VOLUME EXTRACELULAR ISOTÔNICA E HIPERTÔNICA, SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PRL, B, OT E ANP EM ANIMAIS TRATADOS COM VEÍCULO OU COM DEXAMETASONA.

A Tabela IV apresenta os resultados de PRL, B, ANP e OT, em média e erro padrão da média ($X \pm EPM$), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais tratados com veículo ou com dexametasona.

Tabela IV: Concentrações plasmáticas de PRL, B, ANP e OT em média e erro padrão da média (X±EPM), em condições basais (tempo 0) e sob EVEC isotônica (EVEC I) e hipertônica (EVEC H), nos animais tratados com veículo ou com dexametasona.

		VEÍCULO					TRATADO				
		Tempo 0'	Tempo 5'	Tempo 10'	Tempo 15'	Tempo 0'	Tempo 5'	Tempo 10'	Tempo 15'		
PRL	EVEC I	4,5 ± 0,6	8,6 ± 0,8	11,9 ± 1,2	4,8 ± 0,4	2,8 ± 0,4	3,8 ± 1,2	3,0 ± 0,7	2,6 ± 0,9		
(ng/ml)											
	EVEC H	5,5 ± 0,9	13,6 ± 2,6	5,2 ± 0,6	4,8 ± 0,7	2,9 ± 0,5	5,4 ± 0,8	1,9 ± 0,2	2,5 ± 0,4		
B	EVEC I	9,2 ± 1,3	15,7 ± 1,2	16,0 ± 1,2	11,6 ± 0,7	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,4 ± 0,3		
(µg/dl)											
	EVEC H	7,6 ± 0,6	17,9 ± 1,5	18,8 ± 1,7	13,3 ± 0,8	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,4	2,2 ± 0,4		
ANP	EVEC I	64,1 ± 8,8	548,5 ± 27,8	293,7 ± 22,9	191,2 ± 18,1	66,7 ± 7,7	557,5 ± 25,6	369,0 ± 30,9	226,6 ± 21,1		
(pg/ml)											
	EVEC H	65,7 ± 5,4	1171 ± 77,2	416,0 ± 51,7	229,5 ± 12,3	67,4 ± 3,9	860,8 ± 99,7	451,4 ± 45,4	208,8 ± 18,3		
OT	EVEC I	6,6 ± 0,6	18,8 ± 1,5	8,1 ± 0,6	5,3 ± 0,3	4,9 ± 0,6	5,6 ± 0,4	5,2 ± 0,5	4,5 ± 0,4		
(pg/ml)											
	EVEC H	7,5 ± 0,7	45,9 ± 3,3	20,0 ± 2,2	17,3 ± 2,8	5,3 ± 0,5	6,6 ± 1,2	6,8 ± 0,6	6,1 ± 0,3		

Concentrações plasmáticas de prolactina

Os valores de PRL no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $4,5 \pm 0,6$; $8,6 \pm 0,8$; $11,9 \pm 1,2$; $4,8 \pm 0,4$ ng/ml, respectivamente (Tabela IV). Nos animais tratados com dexametasona os valores de PRL foram de $2,8 \pm 0,4$; $3,8 \pm 1,2$; $3,0 \pm 0,7$; $2,6 \pm 0,9$ ng/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após a EVEC isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,004$) e aos 10 minutos ($p=0,002$) de observação quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, após EVEC isotônica não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de PRL nos diferentes períodos de tempos estudados, quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença entre os valores basais de PRL do grupo veículo e do grupo tratado com dexametasona (NS). Entretanto, as concentrações plasmáticas de PRL no grupo tratado com dexametasona foram significativamente menores comparadas ao grupo veículo nos diferentes tempos estudados, 5 minutos ($p=0,015$) e 10 minutos ($p=0,002$) após EVEC isotônica. Os valores de PRL em condição basal e após EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona estão apresentados graficamente na figura 13.

Os valores de PRL no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $5,5 \pm 0,9$; $13,6 \pm 2,6$; $5,2 \pm 0,6$; $4,8 \pm 0,7$ ng/ml, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona, os valores de PRL foram de $2,9 \pm 0,5$; $5,4 \pm 0,8$; $1,9 \pm 0,2$; $2,5 \pm 0,4$ ng/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados no grupo veículo demonstram que após EVEC hipertônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de PRL aos 5 minutos ($p=0,026$) quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, não foram encontradas diferenças significativas nos valores de PRL, nos diferentes períodos de tempos estudados após a EVEC hipertônica 5, 10 e 15 minutos, quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) de PRL no grupo controle e no grupo veículo com dexametasona (NS). Entretanto as concentrações plasmáticas de PRL no grupo tratado com dexametasona foram significativamente menores comparado ao grupo veículo, nos diferentes períodos de tempo estudados após EVEC hipertônica, aos 5 minutos

($p=0,008$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,015$) respectivamente. Os valores de PRL em condição basal e após EVEC hipertônica no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona estão apresentados graficamente na figura 13.

Comparamos os valores plasmáticos de PRL obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratado com dexametasona, em condições basais e nos diferentes períodos estudados após a EVEC (5, 10 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após EVEC isotônica, no grupo veículo aos 10 minutos ($p=0,002$) de observação.

Concentrações plasmáticas de corticosterona

Os valores de B no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC isotônica, foram de $9,2\pm1,3$; $15,7\pm1,2$; $16,0\pm1,2$; $11,6\pm0,7$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona os valores de B foram de $1,7\pm0,2$; $1,6\pm0,2$; $2,2\pm0,3$; $2,4\pm0,3$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após a EVEC isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,008$) e aos 10 minutos ($p=0,008$) de observação, quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de B após EVEC isotônica nos diferentes períodos de tempos estudados 5, 10 e 15 minutos, quando comparados aos valores basais, isto é, os valores permaneceram baixos. Os valores de B foram significativamente menores no grupo tratado com dexametasona quando comparado ao grupo veículo nos tempos 0, 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica ($p=0,002$). Os valores de B em condição basal (tempo 0) e após EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona, estão apresentados graficamente na figura 14.

Os valores de B no grupo veículo em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC hipertônica foram de $7,6\pm0,6$; $17,9\pm1,5$; $18,8\pm1,7$; $13,3\pm0,8$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona dos valores de B foram de $1,2\pm0,2$; $1,5\pm0,3$; $2,1\pm0,4$; $2,2\pm0,4$ $\mu\text{g/dl}$, respectivamente (Tabela IV). Os resultados

demonstram que no grupo veículo, após EVEC hipertônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de B aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) quando comparados aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de B, que se mantiveram baixas, após EVEC hipertônica, nos diferentes períodos de tempos estudados 5, 10 e 15 minutos quando comparadas aos valores basais. Os valores de B foram significativamente menores no grupo tratado com dexametasona quando comparado ao grupo veículo nos tempos 0, 5, 10 e 15 minutos ($p=0,002$) após EVEC hipertônica. Os valores de B, em condição basal (tempo 0) e após EVEC hipertônica, no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona estão apresentados graficamente na figura 14.

Comparamos os valores plasmáticos de B obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais tratados com veículo e tratados com dexametasona, em condições basais e nos diferentes períodos estudados após a EVEC (5, 10 e 15 minutos) e não foram encontradas diferenças significativas entre os dois procedimentos

Concentrações plasmáticas de ANP

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $64,1 \pm 8,8$; $548,5 \pm 27,8$; $293,7 \pm 22,9$; $191,2 \pm 18,1$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona os valores de ANP foram de $66,7 \pm 7,7$; $557,5 \pm 25,6$; $369,0 \pm 30,9$; $226,6 \pm 21,1$ pg/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo, após EVEC isotônica, houve um aumento significativo das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$) de observação quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona a resposta foi semelhante à descrita acima, ou seja, um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,002$); 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,004$) de observação quando comparadas aos valores basais. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de ANP entre os grupos veículo e tratado com dexametasona nos diferentes

períodos de tempos estudados após EVEC isotônica. Os valores de ANP em condição basal e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC isotônica, no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona, estão apresentados graficamente na figura 15.

Os valores de ANP no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de $65,7 \pm 5,4$; $1171 \pm 77,2$; $416,0 \pm 51,7$; $229,5 \pm 12,3$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona, os valores de ANP foram de $67,4 \pm 3,9$; $860,8 \pm 99,7$; $451,4 \pm 45,4$; $208,8 \pm 18,3$ pg/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo após EVEC hipertônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$), respectivamente. No grupo tratado com dexametasona, a resposta foi semelhante à descrita acima, ou seja, um aumento das concentrações plasmáticas de ANP aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,026$) de observação quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) do grupo veículo e do grupo tratado com dexametasona. Entretanto, as concentrações plasmáticas de ANP após a EVEC hipertônica foram maiores no grupo tratado com veículo que no grupo tratado com dexametasona aos 5 minutos ($p=0,041$) de observação. Os valores de ANP, em condição basal e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC hipertônica estão apresentados graficamente na figura 15.

Comparamos os valores plasmáticos de ANP obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona, em condições basais e nos diferentes períodos de tempos após a EVEC (5, 10 e 15 minutos). Observamos valores significativamente maiores após a EVEC hipertônica, no grupo veículo aos 5 minutos ($p=0,002$) e aos 10 minutos ($p=0,026$) e no grupo tratado com dexametasona, aos 5 minutos ($p=0,015$).

Concentrações plasmáticas de OT

Os valores de OT no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC isotônica foram de $6,6 \pm 0,6$; $18,8 \pm 1,5$; $8,1 \pm 0,6$; $5,3 \pm 0,3$ pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona os valores de OT foram de

4,9±0,6; 5,6±0,4; 5,2±0,5; 4,5±0,4 pg/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo após EVEC isotônica, houve um aumento das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,002$) de observação quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de OT após EVEC isotônica, nos diferentes períodos de tempos estudados, 5, 10 e 15 minutos quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) de OT do grupo veículo e do grupo tratado com dexametasona (NS). Porém, os valores de OT foram significativamente menores no grupo tratado com dexametasona quando comparado ao grupo veículo, após EVEC isotônica aos 5 minutos ($p=0,002$) e 10 minutos ($p=0,008$), respectivamente. Os valores de OT em condição basal e após EVEC isotônica no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona estão apresentados graficamente na figura 16.

Os valores de OT no grupo veículo, em condições basais (tempo 0) e após 5, 10 e 15 minutos de EVEC hipertônica foram de 7,5±0,7; 45,9±3,3; 20,0±2,2; 17,3±2,8 pg/ml, respectivamente. Nos animais tratados com dexametasona os valores de OT foram de 5,3±0,5; 6,6±1,2; 6,8±0,6; 6,1±0,3 pg/ml, respectivamente (Tabela IV). Os resultados demonstram que no grupo veículo após EVEC hipertônica houve um aumento das concentrações plasmáticas de OT aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e aos 15 minutos ($p=0,002$), quando comparadas aos valores basais. No grupo tratado com dexametasona, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de OT após EVEC hipertônica nos diferentes períodos de tempo estudados, 5, 10 e 15 minutos quando comparadas aos valores basais. Não houve diferença significativa entre os valores basais (tempo 0) de OT do grupo veículo e do grupo tratado com dexametasona (NS). Entretanto, os valores de OT foram significativamente menores no grupo tratado com dexametasona quando comparado ao grupo veículo após EVEC hipertônica, aos 5 minutos ($p=0,002$), 10 minutos ($p=0,002$) e 15 minutos ($p=0,002$) de observação. Os valores de OT em condição basal e após EVEC hipertônica no grupo veículo e no grupo tratado com dexametasona estão apresentados graficamente na figura 16.

Comparamos os valores plasmáticos de OT obtidos após a EVEC isotônica e hipertônica, nos animais tratados com veículo e tratados com dexametasona em condições basais e nos diferentes períodos de tempos estudados após a EVEC (5, 10 e 15 minutos). Observamos valores de OT significativamente maiores após EVEC hipertônica no grupo veículo aos 5, 10 e 15 minutos ($p=0,002$), não havendo diferenças no grupo tratado com dexametasona.

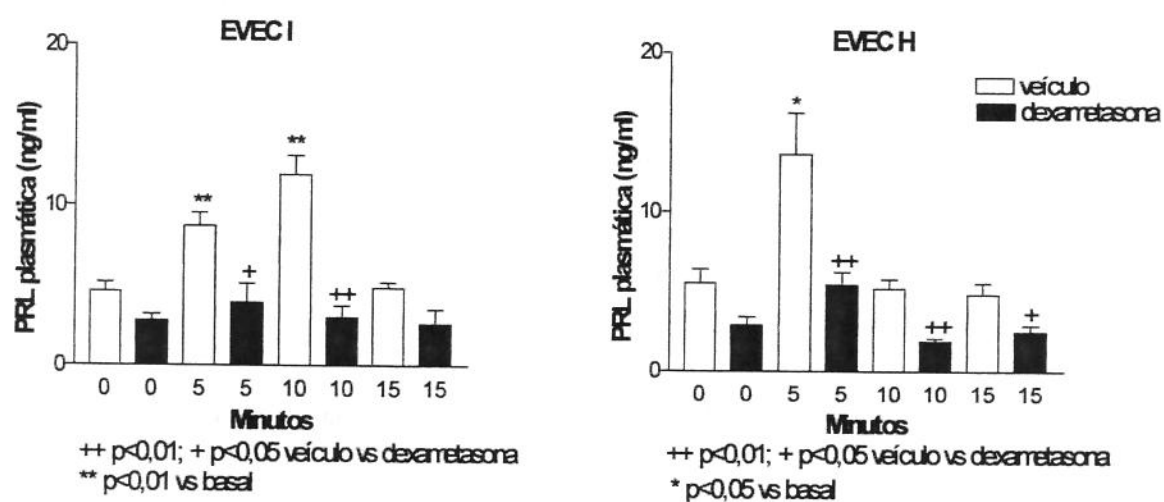


Figura 13: Concentrações plasmáticas de PRL (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com dexametasona. ($n=6$)

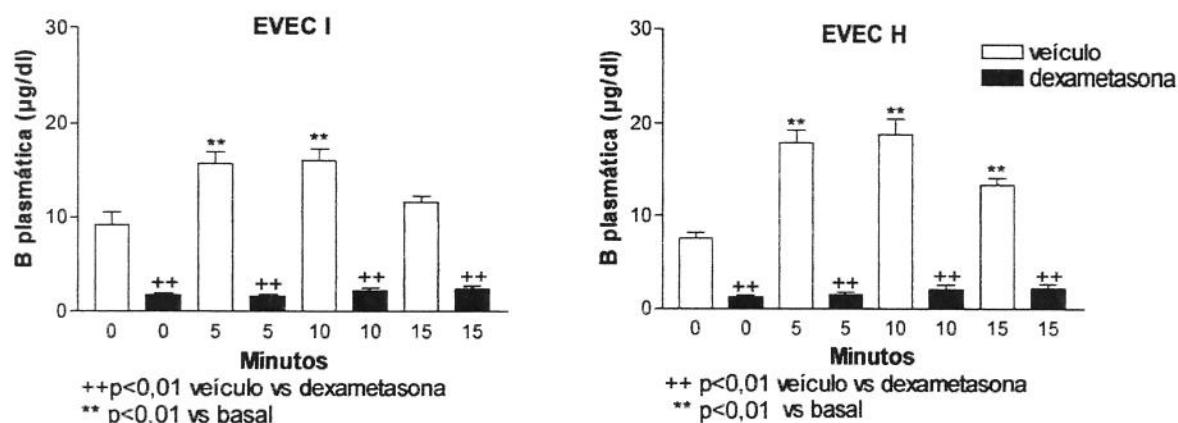


Figura 14: Concentrações plasmáticas de B (µg/dl), em X±EPM, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com dexametasona. (n=6)

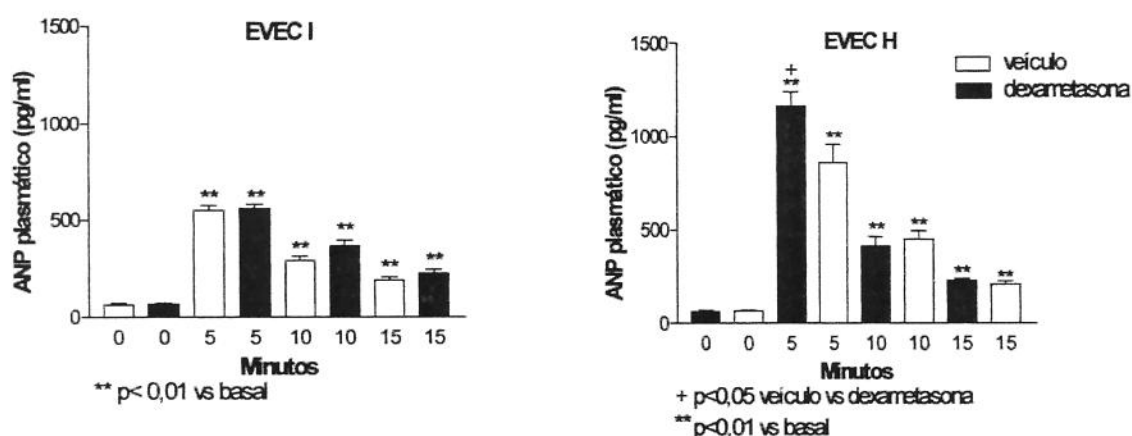


Figura 15: Concentrações plasmáticas de ANP (pg/ml), em X±EPM, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com dexametasona. (n=6)

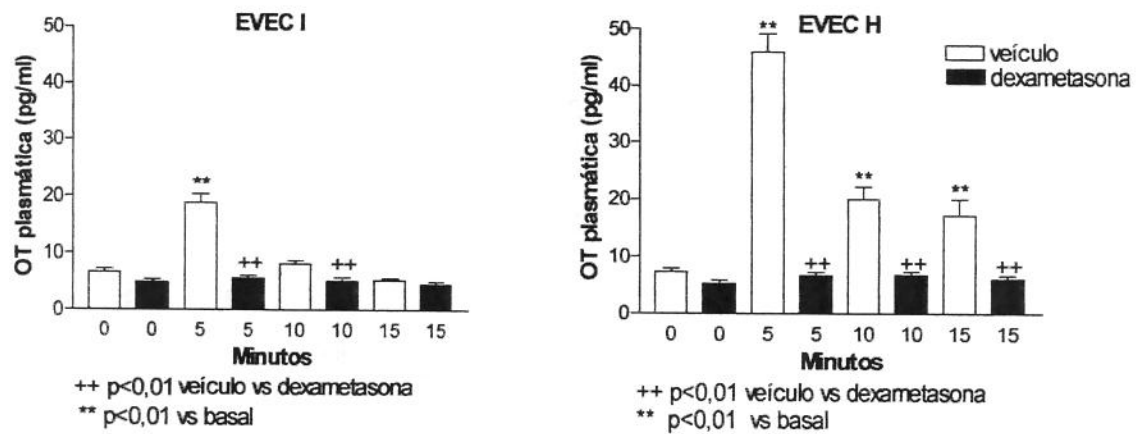


Figura 16: Concentrações plasmáticas de OT (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais (tempo 0) e aos 5, 10 e 15 minutos após EVEC isotônica (EVEC I) e EVEC hipertônica (EVEC H) nos animais veículo e tratado com dexametasona. (n=6)



DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos os efeitos da EVEC induzida por solução salina isotônica e hipertônica sobre a secreção de PRL e a sua interação com a secreção de OT e ANP. Adicionalmente, verificamos o papel do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no controle da secreção de PRL em resposta à EVEC. Os resultados obtidos demonstram que alterações agudas do volume do líquido extracelular induzidas com solução isotônica e hipertônica proporcionam uma elevação das concentrações plasmáticas de ANP e OT, bem como de PRL, nos primeiros 5 e 10 minutos de observação. Estes resultados indicam que estes hormônios podem estar envolvidos na regulação do balanço hidroeletrolítico em resposta à expansão aguda do volume do líquido extracelular.

Inicialmente descoberto no coração (De Bold et al., 1981), o ANP tem sido caracterizado pela sua importante participação no equilíbrio hidroeletrolítico do organismo (Blaine, 1990; Gutkowska, et al., 1997; Antunes-Rodrigues, et al., 1991., 1993). Sabe-se que o principal estímulo para secreção de ANP é mecânico, isto é, o aumento da pressão transmural na parede atrial (Walsh et al., 1988). Além disso, o ANP é capaz de aumentar a excreção de água e sódio por sua ação direta nos rins e, indiretamente, inibir a liberação de aldosterona pela zona glomerulosa adrenal ou inibir a liberação de renina pelas células justaglomerulares nos rins (Atlas e Maack, 1987). A presença do ANP dentro do SNC sugere que ele possa atuar como neuromediador (Elias et al., 1997). A expansão de volume extracelular induz um aumento do conteúdo de ANP nas regiões cerebrais onde há expressão deste hormônio, o inverso ocorrendo quando há diminuição de volume (Palkovits et al., 1995).

A OT, um peptídeo neuronal, desempenha um papel importante na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico promovendo natriurese, diurese ou antidiurese e inibindo o apetite ao sódio (Verbalis et al., 1991). Está bem estabelecido, que um dos estímulos efetivos para a secreção de OT é o aumento da osmolalidade plasmática (Haanwinckel, 1995). A OT liberada pela neuro-hipófise frente ao estímulo osmótico atinge a circulação sistêmica, liga-se a receptores específicos (OTR) e estimula a secreção de ANP pelos cardiomiócitos (Favaretto et al., 1997; Gutkowska et al., 2000). O ANP, secretado pelos cardiomiócitos, juntamente com a OT liberada pela neuro-hipófise, alcançam os rins promovendo natriurese e caliurese. O efeito natriurético da OT depende da ativação de

receptores que ativam a produção de óxido nítrico, nos túbulos distais e na mácula densa e, conseqüente liberação de cGMP, o qual, ativa a proteína quinase G resultando na diminuição da reabsorção de sódio pelos rins (Soares et al., 1999). Além da ação natriurética, direta ou indireta da OT, há evidências para a ação da OT central na modulação do apetite ao sódio, ação também exercida pelo ANP (Antunes-Rodrigues et al., 1986; Franci et al., 1997).

Observamos valores mais elevados de ANP e OT na EVEC com solução hipertônica quando comparadas com a EVEC com solução isotônica. Estes resultados podem ser justificados pelo aumento do volume sanguíneo circulante, que provoca estímulo dos barorreceptores carotídeos, aórticos e renais, estimulando a liberação de OT pela hipófise posterior, efeito este associado à elevação da osmolalidade plasmática (Haanwinckel., 1995). A ingestão de sal envolve um comportamento regulatório complexo no qual interagem mecanismos de controles inibitórios e excitatórios (Stricker e Verbalis, 1990). Estudos indicam ainda, que a lesão da região anteroventral ao terceiro ventrículo (AV3V) inibe o comportamento de ingestão de sódio bem como a liberação de ANP (Antunes et al., 1991; Rocha et al., 1999) e a secreção de OT frente ao estímulo osmótico (Cunningham e Sawchenko, 1991). A estimulação hiperosmótica induz a liberação de OT, entretanto, esta resposta apresenta diferença entre as espécies. No homem normal, não há alteração das concentrações plasmáticas de ocitocina com o aumento da osmolalidade (Gaitan et al., 1964; Nussey et al., 1986) enquanto que em ratos, a concentração plasmática de ocitocina elevada guarda relação direta com a osmolalidade plasmática (Balment et al., 1982). O aumento das concentrações plasmáticas de OT e da atividade dos neurônios ocitocinérgicos do sistema hipotálamo-neuro-hipofisário, em resposta à hipertonidade, dependem da ação do ANP endógeno, pois a imunoneutralização passiva desse peptídeo é capaz de inibir esta resposta. Assim, a hipertonidade do líquido extracelular parece mediar a ativação de neurônios ANPérgicos que por sua vez estimulam, direta ou indiretamente, a síntese e a liberação de OT (Chriquer et al., 2001).

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que alterações agudas do volume do líquido extracelular induzidas com solução isotônica e hipertônica proporcionam além da elevação das concentrações de ANP e OT, também uma elevação das

concentrações plasmáticas de PRL. Estudos recentes têm demonstrado a importante participação da PRL na homeostase hidroeletrolítica. A regulação hidroeletrolítica é um aspecto essencial da homeostase de muitos organismos e a PRL está claramente envolvida neste contexto em quase todas as classes de vertebrados. Embora os efeitos sejam mais difíceis de serem demonstrados em mamíferos, a presença de receptores da PRL nos rins e também em vários outros tecidos envolvidos nos mecanismos de homeostase hidroeletrolítica sugere a participação da PRL nesta regulação. Adicionalmente, o hormônio polipeptídico PRL exerce função sobre o transporte de água e soluto através das membranas celulares de mamíferos, podendo ser chamado de hormônio osmorregulatório (Shennan, 1994). A PRL é, também, responsável pelo transporte de íons sódio, cálcio e cloro através das membranas das células epiteliais intestinais de mamíferos (Mainoya, 1975). Além disso, estudos prévios demonstraram um aumento das concentrações plasmáticas de PRL em resposta a um aumento da ingestão de água ou infusão de salina hipertônica (Bliss et al., 1981).

Para avaliarmos o papel da PRL na regulação da secreção de ANP e OT em resposta a EVEC I e H, realizamos experimentos utilizando drogas que inibem ou estimulam a secreção de PRL. Existem inúmeros fatores que modulam a secreção de PRL promovendo tanto a estimulação quanto a inibição de sua secreção. Dentre eles, está o controle da secreção de PRL pelo sistema nervoso central o qual é realizado pelas aminas biogênicas, como a dopamina que está presente em altas concentrações na eminência mediana (Fuxe, et al., 1977) e no sistema porta-hipofisário (Ben- Jonathan, 1985). Em mamíferos o controle hipotalâmico sobre a secreção hipofisária de PRL é largamente inibitório (Ben- Jonathan, 1985) e a dopamina é um dos fatores fisiologicamente mais importante neste controle. A bromocriptina é um conhecido agonista do receptor da dopamina, o qual inibe a secreção de PRL em machos e fêmeas de todas as espécies, em condições basais e em condições de estímulo (Fluckiger, 1978). Adicionalmente, a bromocriptina reduz a atividade dos neurônios dopaminérgicos da região hipotalâmica, presentes no núcleo arqueado, sugerindo que este sítio hipotalâmico participa efetivamente na inibição da secreção da PRL (Hökfelt & Fuxe., 1972).

Por outro lado, a sulpirida é um neuroléptico do grupo das benzamidas, antagonista farmacológico do receptor da dopamina, estruturalmente distinto dos fenotiazínicos, butirofenonas e tioxantenos. A sulpirida atua de forma bimodal: bloqueia os receptores dopaminérgicos pós-sinápticos, como os neurolépticos convencionais, porém atua, também, de forma seletiva bloqueando somente os receptores não-dependentes da adenilciclase (receptores D2). A sulpirida bloqueia também os receptores dopaminérgicos auto-inibitórios pré-sinápticos, aumentando a quantidade do neuro-transmissor na sinapse. Os resultados obtidos demonstram que o aumento de ANP e OT após a EVEC isotônica e hipertônica não foram diferentes nos grupos tratados com veículo, bromocriptina ou sulpirida. Esses resultados indicam que a resposta do ANP e OT à EVEC é independente da secreção de PRL.

As alterações agudas do volume do líquido extracelular induzidas com solução isotônica e hipertônica elevaram as concentrações plasmáticas de PRL, entretanto, esta alteração poderia ser secundária ao estresse dos animais em resposta ao procedimento experimental. Os dados obtidos sugerem que a PRL poderia estar envolvida na regulação do balanço hidroeletrolítico em resposta à expansão aguda do volume do líquido extracelular. Entretanto, está bem estabelecido que a PRL é hormônio responsivo a diferentes paradigmas de estresse. Vários estudos têm demonstrado a importante participação da PRL nas respostas adaptativas ao estresse, em humanos e em outros mamíferos. A elevação da concentração sérica de PRL foi observada após várias formas de estresse (Fenske et al., 1977). Sendo assim, existem inúmeros fatores estressores que induzem o aumento de PRL, dentre eles podemos citar o estresse hemorrágico, térmico, social e anestésico (Banky et al., 1994; Jonhson et al., 1992). O estresse é capaz de ativar uma série de alterações comportamentais e neuroendócrinas a curto e a longo prazo (Langer et al., 1983). Adicionalmente, existem evidências de que a PRL é um hormônio que atua sobre a competência do sistema imune (Talal et al., 1987). Entretanto, receptores para PRL são identificados em tecidos não diretamente envolvidos com o sistema imune, sugerindo que o aumento das concentrações plasmáticas de PRL induzidas pelo estresse pode ter outras funções fisiológicas (Gala, 1990). Outras respostas adaptativas ao estresse parecem estar relacionadas aos valores plasmáticos de PRL: ratos hiperprolactinêmicos apresentam menor sensibilidade à dor quando submetidos a testes algesimétricos com

choque elétrico e exibem atenuação na elevação da temperatura corporal, quando submetidos ao estresse de imobilização (Drago et al., 1985). Essas informações, quando reunidas, asseguram a participação efetiva da PRL nas respostas adaptativas ao estresse.

A ativação da resposta ao estresse envolve também a ativação do eixo HHA. A variação circadiana dos corticosteróides é uma importante característica do eixo HHA em muitas espécies, incluindo o rato. Neste animal de hábito noturno, os picos da concentração plasmática de corticosterona ocorrem antes do escurecer, em torno das (18:00 hs) e as concentrações mais baixas (nadir) ocorrem pela manhã (8:00–11:00 hs). Para afastarmos qualquer alteração secundária à variação circadiana, os animais deste estudo foram decapitados entre 8:30 e 10:30 hs, portanto, durante a fase de nadir do ritmo circadiano. A adaptabilidade ao estresse é o fenômeno essencial à sobrevivência (Seyle et al., 1950). Os principais componentes das alterações adaptativas que formam as bases do sistema de estresse estão assentados em pilares representados por dois sistemas. O primeiro representado pelo hormônio liberador de corticotrofina (CRH), cuja ativação no núcleo paraventricular estimula o eixo HHA e o sistema nervoso simpático, o outro, localizado no tronco cerebral, é representado, principalmente, pela ativação do locus coeruleus e sistema simpático. Todos estes componentes descritos acima, estimulados pelo estresse, juntamente com a ativação de várias outras redes neuronais em diversos níveis do SNC elevam a glicemia, frequência cardíaca e a pressão sanguínea (Chrousos et al., 1992). A exacerbação da vigilância, do estado de alerta e da ansiedade são respostas adaptativas fundamentais ao estresse que dependem de ativação de ambos os sistemas. Neurônios localizados na porção caudal do bulbo, também, participam do recrutamento de fibras noradrenérgicas ascendentes responsáveis pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Outros autores têm identificado fibras noradrenérgicas, originadas no locus coeruleus e área tegmental lateral que são projetadas para regiões hipotalâmicas, e desempenham um papel importante tanto na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal quanto na liberação de PRL (Gartside et al., 1995).

Portanto, para avaliarmos o papel da ativação do eixo HHA na secreção de PRL, OT e ANP em resposta à EVEC, realizamos experimentos bloqueando este eixo com a dexametasona, pois a função exercida pelos glicocorticóides através da retroalimentação

(feedback) negativa é um dos aspectos fundamentais no controle da regulação do eixo HHA. Está bem estabelecido que a injeção de glicocorticóides, segundos antes da administração de um estímulo, inibe o aumento das concentrações plasmáticas de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Após 10-12 minutos, a ação inibitória é demonstrável e este fenômeno é chamado feedback de resposta rápida. Uma a duas horas após, a liberação de ACTH está novamente supressa, sendo esta a fase inicial do feedback de resposta lenta ou de resposta intermediária. Uma terceira fase ocorre após 24 horas da administração do corticosteróide (Keller – Wood & Dalman, 1984). Portanto, utilizamos dexametasona 2 horas antes do procedimento experimental, inibindo, desta forma, a resposta do eixo HHA ao estresse da manipulação. Os resultados demonstram que a EVEC induzida pela injeção de solução salina isotônica e hipertônica proporciona elevações nas concentrações plasmáticas de PRL, OT, ANP e B. Entretanto, a elevação de PRL é bloqueada pela inibição do eixo HHA pela administração de dexametasona. Estes resultados sugerem que a liberação de PRL induzidas pela EVEC envolve mais a ativação do eixo HHA que um papel na regulação hidroeletrolítica em mamíferos, sob as condições experimentais estudadas.

Cabe salientar que quando utilizamos dexametasona 2 horas antes do procedimento experimental, isto é, EVEC induzida pela injeção de solução salina isotônica e hipertônica, a elevação de OT foi, também, bloqueada pela inibição do eixo HHA. Estes resultados sugerem que a liberação de OT induzidas pela EVEC I ou H envolve a ativação do eixo HHA. Vários autores têm relatado uma secreção estresse-induzida de OT pelos axônios terminais dos neurônios magno-celulares, dentro da circulação sanguínea, onde este peptídeo contribuiria para a resposta de adaptação ao estresse (Kasting, et al., 1988). Além disso, a OT tem sido demonstrada estar elevada em resposta ao estímulo de imobilização, de restrição, hipoglicemia e estímulo de natação forçada, entretanto, parece estar diminuída em estresse de comportamento em primatas não humanos (Lang et al., 1983; Gibbs, 1984).

Este peptídeo poderia, também, chegar ao sistema porta-hipofisário pela liberação dos neurônios da hipófise posterior ou através de uma via curta, os vasos portais, promovendo dessa forma uma ligação entre o sistema hipotalâmico neuro-hipofisário e o

sistema hipotálamo-hipófise-adrenal (Antoni et al., 1990). O aumento das concentrações plasmáticas de OT, frente a estímulos estressores, parece ser potencializado pela privação de água por 48 horas. Os mecanismos envolvidos na liberação de OT durante o estresse não estão bem definidos, esta liberação poderia ocorrer de neurônios hipotalâmicos parvo e magnocelulares onde há co-localização de OT e CRH (Gibbs, 1985).

As elevações das concentrações plasmáticas de ANP induzidas pela EVEC I e H não se modificaram após a inibição do eixo HHA pela dexametasona. Estudos indicam que em ratos, a administração de dexametasona por 2 a 4 dias, resultam em um aumento das concentrações de ANP nos miócitos atriais, *in vitro* (Matsubara et al., 1987). Adicionalmente, os glicocorticóides estimulam a transcrição do gene do ANP no miocárdio e a secreção de ANP por cardiomiócitos, em estudos *in vitro* e *in vivo*, em humanos e em ratos (Gardner et al., 1986; Shields et al., 1988; Huang et al., 1991). As informações descritas acima, quando reunidas, sugerem que os glicocorticóides podem agir diretamente modulando a síntese e a liberação de ANP pelos cardiomiócitos atriais (Weidmann et al., 1988). Em estudos prévios, em nosso laboratório, utilizando-se ratos submetidos à alimentação *ad libitum* ou sob restrição alimentar, foi demonstrado um paralelismo entre a variação circadiana de ANP e de corticosterona (Oliveira, 1993). Estes dados sugeriram uma possível interação entre o ANP e o eixo hipotálamo-hipófise adrenal. Entretanto, em humanos, demonstramos que as concentrações basais e a resposta de ANP obtida com a infusão de NaCl 0,9% (12ml/kg/60min) não eram diferentes quando comparadas com os valores obtidos pela manhã (8:30-10:30 hs) e à tarde (17:00-19:00 hs) (Elias, 1997). Adicionalmente, não se observou nenhuma correlação entre os valores médios de cortisol ou ACTH plasmáticos e o pico de ANP obtido com a infusão de salina. Estes resultados sugeriram que a liberação de ANP pelo coração não interage com a variação circadiana do eixo HHA. A inibição do eixo HHA pela administração de dexametasona não alterou o aumento de ANP em resposta à EVEC, indicando que o estiramento atrial induzido pela expansão aguda do volume do líquido extracelular é um potente estímulo para a liberação de ANP e, portanto, a supressão do eixo HHA não afetaria a secreção de ANP pelo coração.

Em conjunto, os resultados obtidos indicam que a EVEC induzida pela injeção de salina isotônica ou hipertônica provocou elevações nas concentrações plasmáticas de PRL, B, ANP e OT. A elevação do ANP e OT frente ao estímulo da EVEC I e H foram

independentes das concentrações plasmáticas de PRL. As elevações de PRL e OT foram bloqueadas pela inibição do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Entretanto, o tratamento com dexametasona não modificou o aumento da secreção de ANP induzido pela EVEC I e H. Portanto a PRL pode participar na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico dos mamíferos, porém, sem uma interação direta com os sistemas ANPérgico e ocitocinérgico. Adicionalmente, a resposta da PRL a EVEC I e H é modulada pelo eixo HHA.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADVIS, J.P. AND OJEDA, S.R. (1978). Hyperprolactinemia-precocious puberty in female rats: Ovarian site of action. Endocrinology 103:924-935.
- ATLAS, S.A. AND MAACK, T. (1987). Effects of atrial natriuretic factor on the kidney and the rennin angiotensin – aldosterone system. Endocrinol. Metab. Clin. North. Am. 16: 107-143.
- AMARA, J.F.; VAN ITALLIE, C. AND DANNIES, P.S. (1987). Regulation of prolactin production and cell growth by estradiol: difference in sensitivity to estradiol occurs at level of messenger ribonucleic acid accumulation. Endocrinology 120: 264-271.
- ANTONI, F.A.; FINK, G. AND SHEWARD, W.J. (1990). Corticotropin releasing peptides in rat hypophysial portal blood after paraventricular lesions: a marked reduction in the concentration of corticotropin-releasing factor 41, but no change in vasopressin. J. Endocr. 125, 175-183.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. AND COVIAN, M.R. (1963). Hypothalamic control of chloride and water intake. Acta Physiol Latinoamer. 13: 94-100.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. AND COVIAN, M.R. (1965). Specific changes in water intake and adipsia for water and sodium chloride ate hypothalamic lesions. Acta Physiol Latinoamer. 13: 94-100.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S.M.; SAMSON, W.K. (1986). Central administration of atrial natriuretic factor inhibits salt intake in the rat. Endocrinology 118: 1726-1729.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; TURRIN, M.Q.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1990). Blockade of volume expansion-induced release of atrial natriuretic peptide by median eminence lesions in the rat. Braz. J. Med. Biol. Res. 23(3-4):355-9.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; RAMALHO, M.J.; REIS, L.C.; MENANI, J.V.; TURRIN, M.Q.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1991). Lesions of the hypothalamus and pituitary inhibit volume-expansion-induced release of atrial natriuretic peptide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88(7):2956-60.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; MACHADO, B.H.; ANDRADE, H.A.; MAUAD, H.; RAMALHO, M.J.; REIS, L.C.; SILVA-NETTO, C.R.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1992). Carotid-aortic and renal baroreceptors mediate the atrial natriuretic peptide release induced by blood volume expansion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89(15):6828-31.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; RAMALHO, M.J.; REIS, L.C.; PICANCO-DINIZ, D.W.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1993). Possible role of endothelin acting within the hypothalamus to induce the release of atrial natriuretic peptide and natriuresis. Neuroendocrinology. 58(6):701-8.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; PICANÇO-DINIZ, D.W.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1993). Brain atrial natriuretic peptide neurons play an essential role in volume expansion-induced release of atrial natriuretic peptide and natriuresis. Neuroendocrinology. 58(6):696-700.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; MARUBAYASHI, U.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1993). Essential role of hypothalamic muscarinic and alpha-adrenergic receptors in atrial natriuretic peptide release induced by blood volume expansion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90(21):10240-4.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; FAVARETTO, A.L.; BALLEJO, G.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1996). ANP as a neuroendocrine modulator of body fluid homeostasis. Rev. Bras. Biol. 56 Su 1 Pt 2:221-31. Review.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND MCCANN, S.M. (1997). The neuroendocrine control of atrial natriuretic peptide release. Mol. Psychiatry. 2(5):359-67. Review.

BALDISSERA, S.; MENANI, J.W.; DOS SANTOS, L.F.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J.; TURRIN, M.Q.; MCCANN, S.M. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1989). Role of the hypothalamus in the control of atrial natriuretic peptide release. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86(23):9621-5.

BALLERMAN, B.J. AND BRENNER, B.M. (1987). Atrial natriuretic peptide and the kidney. Am. J. Kidneys Dis. 10(1): 7-12.

BALMENT, R.J., BRIMBLE, M.J. FORSLING, M.L. (1982). Oxytocin release and renal actions in normal and Brattleboro rats. Ann. N.Y. Acad. Sci. 394, 241-253.

BANKY Z, NAGY, G.M. AND HALÁSZ, B. (1994). Analysis of pituitary prolactin and adrenocortical response to ether, formalin or restraint in lactating rats: rise in corticosterone, but no increase in plasma prolactin levels after exposure to stress. Neuroendocrinology 59: 63 – 71.

BARTSCH, P.; SHAW, S.; FRANCIOLLI, M.; GNADINGER, M.P.; WEIMANN, P. (1988). Atrial natriuretic peptide in acute mountain sickness. J. Appl. Physiol. 65 (5): 1929-1937.

BEN-JONATHAN, N. (1985). Dopamine: a prolactin – inhibiting hormone. Endocrinology Review 6: 564-589.

BEN-JONATHAN, N.; ARBOGAST, L.A.; HYDE, J.F. (1989). Neuroendocrine regulation of prolactin release. Prog. Neurobiol. 33: 399-447.

BEN-JONATHAN, N.; MERSHON, J.L.; ALLEN, D.L.; STEINMETZ, R.W. (1996). Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, function and clinical aspects. Endocr. Rev. 17: 639-669.

BENKER, G.; JASPERS, C.; HAUSLER, G.; REINWEIN, D. (1990). Control of prolactin secretion. Klin Wochenschr 23: 1157-1167.

BIHOREAU, C.; RASOLONJANCIHARY, R.; GEROZISSIS, K.; CLAUSUER, H. AND KORDON, C. (1990). Arachidonate metabolism in the anterior pituitary: effect of arachidonate inhibitors on basal and stimulated secretion of prolactin. J. Neuroendocrinol. 2:445-452.

BLAINE, E.H. (1990). Atrial Natriuretic Factor plays a significant role in body fluid homeostasis. Hypertension. 15: 2-8.

- BLISS, D.J. AND LOTE, C.J. (1982). Prolactin release in response to infusion of isotonic or hypertonic saline. Journal of Endocrinology. 92:273-278.
- BLIZARD, D. A. AND MORRIS, M.(1987). Acute stress increases plasma concentrations of atrial natriuretic peptides. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 184: 123 – 126.
- BOOCKFOR, F.R.; HOEFFELER, J.P.; FRAWLEY, L.S. (1986). Estradiol induces a shift in cultured cell that release prolactin or growth hormone. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 250: E100-E103.
- BROWNSTEIN, M.J.; RUSSELL, J.T. AND GAINER, H. (1980). Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones. Science 207: 373-378.
- CARRILLO, A. J.; SHARP, Z.D. AND DE PAOLO, L.V. (1987). Correlation of rat pituitary prolactin messenger ribonucleic and hormone content with serum levels during the estrogen-induced surge. Endocrinology. 121: 1993-1999.
- CHEN, C.L.; MEITES, J. (1970).Effects of estrogen and progesterone on serum and pituitary prolactin levels in ovariectomized rats. Endocrinology 86: 503-505.
- CHRIGUER, R.S.; ROCHA, M.J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. AND FRANCI, C.R. (2001). Hypothalamic atrial natriuretic peptide and secretion of oxytocin. Brain Res. 889 (1-2):239-42.
- CHROUSOS, G.P. & GOLD, P.W. (1992). The concept of stress and stress system disorders. JAMA., 267: 1244.
- CONOLLY, T.M. AND VECSEI, P. (1978). Simple radioimmunoassay of cortisol in diluted samples of human plasma. Clin. Chem. 24(9): 1468-72.
- COOKE, N.E.; COIT, D.; WEINER, R.I.; BAXTER, J.D.; MARTIAL, J.A.(1980). Structure od DNA cloned complementary to rat prolactin messenger RNA. J. Biol. Chem. 255: 6502-6510.

- CUNNINGHAM, E.T. JR. AND SAWCHENKO, P. E. (1991). Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. Tins. 14: 406-410.
- DALE, H.H. (1906). On some physiological actions of ergot. J. Physiol. London 163-206
Citado por Pickering, B T (1995). Oxytocin In: Endocrinology (Eds. De Groot, L.J), W. B Saunders Company, 3 rd Ed, p.p 421-431.
- DAY, R.N.; WALDER, J. A. AND MAURER, R.A. (1989). A protein kinase inhibitor genee reduces both basal and multihormone stimulated prolactin gene transcription. J. Biol. Chem. 264:431-436.
- De BOLD, A.J.; BORESTEIN, H.B.; VERESS, A.T.; SONNENBERG, H. (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci. 28: 84-91
- De CASTRO E SILVA, E.J. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1989). Central adrenoceptors and basal prolactin release in the rat. Horm. Metab. Res. 21(4):179-81.
- DELBEKE, D.; KOJIMA, I.; DANNIES, P.S. AND RASMUSSEN, H. (1984). Synergistic stimulation of prolactin release by phorbol ester, A23187 and forskolin. Biochem. Biophys Res. Commun. 123: 735-741.
- De PAUL, A.L.; PONS, P.; AOKI, A. (1997). Heterogeneity of pituitary lactotrophs: immunocytochemical identification of functional subtypes. Acta. Histochem. 99: 277-289.
- DRAGO, F., CONTINELLA, G.; CONFORTO, G. & SCAPAGNANINI, U. (1985). Prolactin inhibits the development of stress-induced ulcers in the rat. Life Sci., 36: 191-197.
- DUNN, J.D.; ARIMURA, A.; SCHEVING, L.E.(1972). Effects of stress on circadian periodicity in serum LH and prolactin concentration. Endocrinology 90:29-33.
- ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. AND MOREIRA, A.C. (1997). Release of plasma atrial natriuretic peptide after volume expansion is not related to pituitary-adrenal axis diurnal variation in normal subjects. Braz. J. Med. Biol. Res. 30(5):621-5.

ELIAS, L.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; ELIAS, P.C. AND MOREIRA, A.C. (1997). Effect of plasma osmolality on pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide changes in central diabetes insipidus. J. Clin. Endocrinol. Metab. 82(4):1243-7.

EVERETT, J.W. (1964). Central Neural Control of Reproductive Functions of the Adenohypophysis. Physiol. Rev. 44, 373-431

FALCONER I.R., LANGLEY J.V. AND VACEK A.T. (1983). Effect of prolactin on $^{86}\text{Rb}^{+}$ uptake, potassium content and [G- ^3H] ouabain binding of lactating rabbit mammary tissue. J. Physiol (Lond). 334: 1-17.

FAVARETTO, A. L. V.; BALLEJO, G.O.; ALBUQUERQUE-ARAUJO, W.I.C.; GUTKOWSKA, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S. M. (1997). Oxytocin releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts negative inotropic and chronotropic action. Peptides 18 (9): 1377-1381.

FENSKE, M. & WUTTKE, W. (1977). Development of stress-induced pituitary prolactin and TSH release in male rats. Acta Endocrinol. (Copenh), 85: 729-735.

FINK, G.; DOW, R.C.; CASLEY, D.; JOHNSTON, C.I.; LIM, A.T. COPOLOV, D.L.; BENNIE, J.; CARROL, S.; DICK, H. (1991). Atrial natriuretic peptide is a physiological inhibitor of ACTH release: evidence from immunoneutralization in vitro. J. Endocrinol. 135: 9-12.

FINK, G.; DOW, R.C.; CASLEY, D.; JOHNSTON, C.I.; BENNIE, J.; CARROLL, S.; DICK, H. (1992). Atrial natriuretic peptide is involved in the ACTH response to stress and glucocorticoid negative feedback in the rat. J.Endocrinol (1): 37-43.

FISCHMAN, A.J.; KASTIN, A.J.; GRAF, M.V. AND MOLDOW, R.L. (1998). Constant light and dark affect the circadian rhythm of the hypothalamic –pituitary-adrenal-axis. Neuroendocrinology. 47: 309-16.

FLUCKIGER, E. (1978). Effects of bromocriptine on the hypothalamo – pituitary axis. Acta Endocrinologica, Suppl, 216, 88:111-117.

FRANCI, C.R.; ANSELMO-FRANCI, J.A. AND MCCANN, S.M. (1992). The role of endogenous atrial natriuretic peptide in resting and stress-induced release of corticotropin, prolactin, growth hormone and thyroid-stimulation hormone. Proc. Natl. Acad. USA. 89: 11391-11395.

FRANCI, C.R.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; KOZLOWSKI, G.P. AND MCCANN, S.M. (1993). Actions of endogenous vasopressin and oxytocin on anterior pituitary hormone secretion. Neuroendocrinology 57:693-9.

FRANCI, C.R.(1997). Possible dual effect of endogenous ANP on water and sodium intake and role of AII. Neurosc. Biob. Reviews 21 (5) 525-529.

FREEMAN, M.E; KANYICKSKA, B; LERANT, A. AND NAGY, G. (2000). Prolactin: Structure, Function and Regulation of Secretion. Physiol Rev. 80(4):1523-1631.

FUXE, K. (1963). Cellular localization of monoamines in the median eminence and in the infundibular stem of some mammals. Acta. Physiol. Scand. 58:383-384

FUXE K, HOKFELT T, ENEROTH P, GUSTAFSSON J. A. AND SKETT P. (1977). Prolactin-like immunoreactivity: localization in nerve terminals of rat hypothalamus. Science 196: 899-900.

GAITAN, E., COBO, E.; MIZRACHI, M. Evidence for the differential secretion of oxytocin and vasopressin in man. J. Clin. Invest., 43, 2310-2322.

GALLA, R.R (1990). The physiology and mechanisms of the stress- induced changes in prolactin secretion in the rat. Life Sci.46 (20):1407-14020.

GALLARDO, M.G.P.; BIHUSKI, M.; CHIOCCHIO, S.R. AND TRAMEZZANI, J.H. (1985). Dopamine enters lactotrophs and reaches their secretory granules. Endocrinology. 104: 23-28.

GARDNER, D.G.; HANE, S.; TRACHEWSKY, D.; SCHENK, D.; BAXTER, J.D. (1986). Atrial natriuretic peptide mRNA is regulated by glucocorticoids in vivo. Biochem.Biophys Res. Commun. 139: 3: 1047-54.

- GARTSIDE, S.E., SAUD-CHAGNY & TAPPAZ, M. (1985). Evidence that activation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis by electrical stimulation of noradrenergic A1 groups is not mediated by noradrenaline. Neuroendocrinology, 62:2-12.
- GIBBS, D.M. (1984). Dissociation of oxytocin, vasopressin and corticotropin secretion during different types of stress. Life Sci. 35: 487:491.
- GIBBS, D.M. & NEILL, J.D. (1985). Hypothalamic epinephrine is released into hypophysial portal blood stress. Brain Res. 335: 360-364.
- GIBBS, D. M. (1986). Vasopressin and oxytocin: hypothalamic modulators of the stress response : a review. Psyconeuroendocrinology 11, 131-140.
- GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. (2001). The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. Physiol. Rev.(2): 629-683.
- GOFFIN, V.; SHIVERICK, K.T.; KELLY, P.A.; MARTIAL, J.A. (1996). Sequence – function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen and related proteins in mammals. Endocr. Rev. 17: 385-410.
- GUTKOWSKA, J. AND NEMER, M. (1989). Structure, expression, and function of atrial natriuretic factor in extraatrial tissues. Endocr. Rev. 10:519-536.
- GUTKOWSKA, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. AND MCCANN S.M. (1997). Atrial Natriuretic Peptide in Brain and Pituitary Gland. Physiological Review. 77:465:511.
- GUTKOWSKA, J.; JANKOWSKI, M.; MUKADDAM-DAHER. S. AND MCCANN, S.M. (2000). Oxytocin is a cardiovascular hormone. Braz. J. Med. Biol. Res. 33(6): 625-633.
- HAANWINCKEL, M.A.; ANTUNES-RODRIGUES, J. AND DE CASTRO E SILVA, E. (1991). Role of central beta-adrenoceptors on stress-induced prolactin release in rats. Horm. Metab. Res. 23(7):318-20.
- HAANWINCKEL, M.A.; ELIAS, L.K.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J.; MCCANN, S.M. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1995). Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 5;92(17):7902-6.

- HARMS, P.G. & OJEDA, S.R. (1974). A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular vein. J. Appl. Physiol. 36, 391-392.
- HERMANN, J. P.; CULLINAN, W.E (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo- pituitary- adrenocortical axis. Trends. Neurosci. 20, 78-84.
- HOEFFLER, J.P.; BOOCKFOR, F.R.; FRAWLEY, L.S.(1985). Ontogeny of prolactin cell in neonatal rats: initial prolactin secretors also release growth hormone. Endocrinology. 117:187:195.
- HOKFELT T. AND FUXE K. (1972). Effects of prolactin and ergot alkaloids on the tubero-infundibular dopamine (DA) neurons. Neuroendocrinology 9:100-122.
- HORVATH K.M.;BANKY Z.;TOTH BE.; HALASZ B.; NAGY G M.(2001).Effect of - adrenalectomy and dexamethasone treatment on prolactin secretion of lactating rats. Brain Res. Bull 56(6): 589-92.
- HUANG, W.; LEE, S.L. AND SJÖQUIST, M. (1995). Natriuretic role of endogenous oxytocin in male rats infused with hipertonic NaCl. Am. J. Physiol. 268: R634-R640.
- JEZOVA, D.; GUILLAUME, V.; JURANKOVA, E.; CARAYON, P.; OLIVER, C. (1994). Studies on the physiological role of the ANF in ACTH regulation. Endocr. Regul. 28 (4): 163-169.
- JOHNSON, E.O.; KAMILARIS. T.C.; CHROUSOS, G.P. AND GOLD. P.W. (1992). Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. Neurosci. Biobehav 16:115-130.
- JURCOVICOVA, J.; DOBRAKOVOVA, M.; JEZOVA, D.; OPRSALOVA, Z.; KVETNANSKY, R.; VIGAS, M. (1988). Different pattern of prolactin release under various acute stress stimuli in rats. Endocrinol. Exp.(4): 235-242.
- CASTING, N.W. (1998). Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat. Can. J. Physiol. Pharmac. 66, 22-26.

- KELLER-WOOD, M., DALLMAN, M. (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. Endocr. Rev. 5:1-24.
- KIINO, D.R.; DANNIES, P.S. (1981). Insulin and 17beta-estradiol increase the intracellular prolactin content of GH4C1 cells. Endocrinology 109: 1264-1269.
- KINNUNEN, P.; VUOLTEENAHO, O.; RUSKOAHO, H. (1993). Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. Endocrinology 132, 1961-1970.
- KISER, J.S.; ZIVIN, J.A.; JACOBOWITZ, D.M.; KOPIN, I.J.(1975). The nyctohemeral rhythm of plasma prolactin: effects of ganglionectomy, pinealectomy, constant light, constant darkness or 6-OH-dopamine administration. Endocrinology 96(3):1230:1240.
- LA VERRIERE J. N.; VIDAL, A. T.; BUISSON, N.; MORIN, A. MARTIAL, J.A. AND GOURDJ, D. (1988). Preferential role of calcium in the regulation of prolactin gene transcription by thyrotropin-releasing hormone in GH₃ pituitary cells. Endocrinology 58:383-384.
- LAMBERTS, S.W.J. AND MacLEOD, R.M. (1990). Regulation of prolactin secretion at the levels of the lactotroph. Physiol. Rev. 70: 279-318.
- LANG, R. E.; HEIL, J.W.E.; GANTEN, D.; HERMANN, K.; UNGER, T.; RASCHER, W. (1983). Oxytocin unlike vasopressin is a stress hormone in the rat. Neuroendocrinology 37:314-16.
- LANG, R.E.;THOLKEN, H.; GANTEN, D.; LUFT, F.C.; RUSKOAHO, H.; UNGER, T. (1985).Atrial natriuretic factor-a circulating hormone stimulated by volume loading. Nature 314: 264-266.
- LANGER, P.; FOLDES, O.; KVEYNANSKY, RR.; CULMAN, J. TORDA, T. & EL DAHER, F. (1983). Pituitary-thyroid function during acute immobilization stress in rats. Exp. Clin. Endocrinol., 82: 51-60.

- LAWSON, D.M. AND GALA, R.R. (1975). The influence of adrenergic, dopaminergic, cholinergic and serotonergic drugs on plasma prolactin levels in ovariectomized, estrogen-treated rats. Endocrinology 96:313-318.
- LEDSONE, J.R.; KING, K.A. (1995). Mechanisms of release of atrial natriuretic factor in vivo. Adv. Exp. Med. Biol. 381:175:186.
- LEVIN, E.R.; GARDNER, D.G.; SAMSON, W.K. (1988). Natriuretic peptides. N. Engl. J. Med. 339:321-328
- MAACK, T.; CAMARGO, M. J.; KLEINERT, H. D.; LARAGH, J.H.; ATLAS, S. (1985). Atrial natriuretic factor: structure and functional properties. (1985). Kidney Int. 27: 607-615.
- MAACK, T.(1996). Role of atrial natriuretic factor in volume control. Kidney Int. 49(6):1732-1737.
- MAINOYA, J.R. (1975). Further studies on the action of prolactin on fluid and ion absorption by the rat jejunum. Endocrinology 96 (5): 1158-64.
- MILLER, W.L.; EBERHARDT, N.L.(1983).Structure and evolution of growth hormone gene family.(1983).Endocr.Rev. 4:97-130.
- MOORE, K.E.; DEMAREST, K.T.; LOOKINGLAND, K.J (1987). Stress, prolactin and hypothalamic dopaminergic neurons. Neuropharmacology 26 (7B): 801-808.
- MAINOYA J.R. (1975). Further studies on the on the action of prolactin on fluid and ion absorption by the rat jejunum. Endocrinology 96: 1158–1164.
- MARUBAYASHI, U.; MCCANN, S.M. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1989). Altered gonadotropin and prolactin release induced by median eminence (ME) lesions and pharmacological manipulation of prolactin release: further evidence for separate hypothalamic control of FSH and LH release. Brain Res. Bull. 23(3):193-200.

MATSUBARA, H.; HIRATA, Y.; YOSHIMI, H.; TAKATA, S.; TAKAGY, Y.; LIDA, T.; YAMANE, Y.; UMEDA, Y.; NISHIKAWA, M.; INADA, M. (1987). Effects of steroid and thyroid hormones on synthesis of atrial natriuretic peptide by cultured atrial myocytes of rat. Biochem. Biophys. Res. Commum. 145:336.

MATTHEIJ, J.A.; SWARTS, J.J.(1978). Circadian variations in the plasma concentration of prolactin in the adult male rat. J. Endocrinol. 79(1):85-89.

MAURER, R. A. (1982). Estradiol regulates the transcription of the prolactin gene. J. Biol. Chem. 257: 2133-2136.

MAURER, R. A. (1982). Adenosine 3' 5' - monophosphate derivatives increases prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid levels in ergocryptine-treated pituitary cells. Endocrinology 110: 1957-1963.

MAURER, R. A. (1982). Relationship between estradiol, ergocryptine and thyroid hormone: effects on prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic and levels. Endocrinology 110: 1515-1520.

MAURER, R. A. (1982). Thyroid hormone specifically inhibits prolactin synthesis and decreases prolactin messenger ribonucleic acid levels in culture pituitary cells. Endocrinology 110: 1507-1514.

MCCANN, S.M.; FRANCI, C.R. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1989). Hormonal control of water and electrolyte intake and output. Acta Physiol. Scand. Suppl. 583:97-104. Review.

MCCANN, S.M.; GUTKOWSKA, J.; FRANCI, C.R.; FAVARETTO, A.L. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1994). Hypothalamic control of water and salt intake and excretion. Braz. J. Med. Biol. Res. 27(4):865-84. Review.

MCCANN, S.M.; FRANCI, C.R.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J. AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (1997). Neuroendocrine regulation of salt and water metabolism. Braz. J. Med. Biol. Res. 30(4):427-41. Review.

- MCCANN, S.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; FRANCI, C.R.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; KARANTH, S. AND RETTORI, V. (2000). Role of the hypothalamic pituitary adrenal axis in the control of the response to stress and infection. Braz. J. Med. Biol. Res. 33(10):1121-31. Review.
- MCNEILLY, A.S.; ROBINSON, I.C.; HOUSTON, M.J.; HOWIE, P.W.(1983). Release of oxytocin and prolactin in response to suckling. Br. Med. J. (6361): 257-259.
- MEISTER, B. AND HOKFELD, T. (1988). Peptide and transmitter-containing neurons in the mediobasal hypothalamus and their relation to GABAergic systems: possible roles in control of prolactin and growth hormone secretion. Synapse. 2:585-605.
- MILLER, W.L.; EBERHARDT, N.L. (1983). Structure and evolution of growth hormone gene family. Endocr. Rev. 4:97-130.
- MUIR, J.L.; PFISTER, H.P. (1986). Corticosterone and prolactin responses to predictable and unpredictable novelty stress in rats. Physiol. Behav. 37(2):285-288.
- MURDOCH, G.H.; ROSENFELD, M.G. AND EVANS, R.M. (1982). Eukaryotic transcriptional regulation and chromatin-associated protein phosphorylation by cyclic AMP. Science 218:1315-1317.
- NEILL, J.D. (1970). Effect of "stress" on serum prolactin and luteinizing hormone levels during the estrous cycle of the rat. Endocrinology 87:1192-1197.
- NEILL, J.D. (1972). Sexual differences in the hypothalamic regulation on prolactin secretion. Endocrinology 90: 1154-1159.
- NEILL, J.D. (1974). Prolactin: its secretion and control. In: Handbook of *Physiology*. *Endocrinology*. The Pituitary Gland and Its Neuroendocrine Control. Washington, DC: Am. Physiol. Soc. 4:469-488.
- NICHOLLS, M.G., RICHARDS, A.M.(1987). Human studies with atrial natriuretic factor. *Endocrinol. Metabol. Clin. North. Am.*v.16, p. 199-223.

NICOLL, C.S.; TALWALKER, P.K. AND MEITES, J. (1960). Initiation of lactation in rats by nonspecific stresses. Am. J. Physiol. 198:1103-1106.

NISHIOKA, T.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; LI, P.; CALLAHAN, M.F.; MORRIS, M.(1998). Stress increases oxytocin release within the hypothalamic paraventricular nucleus. Brain Res (1-2): 56-60.

NISWENDER, G.D.; CHEN, C.L.; MIDGLEY, A.R.; MEITES, J., JR. AND ELLIS, S. (1969). Radioimmunoassay for rat prolactin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130:793-797.

NUSSEY, S.S.; ANG, V.T.Y.; FINER, R.; JENKINS, J.S. (1986). Responses of neurohypophysial peptides to hypertonic saline and insulin – induced hypoglycaemia in man. Clin. Endocrinol., 24: 97-105.

OLIVEIRA, M.H.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; LEAL, A.M.; ELIAS, L.L. AND MOREIRA, A.C. (1993). Circadian variations of plasma atrial natriuretic peptide and corticosterone in rats with continuous or restricted access to food. Life Sci. 53(24):1795-801.

ONALI, P.; EVA, C.; OHANAS, M.C.; SCHWARTZ, J.P. AND COSTA, E. (1983). In GH₃ pituitary cells, acetylcholine and vasoactive intestinal peptide antagonistically modulate adenylate cyclase, cyclic AMP content and prolactin secretion. Mol. Pharmacol. 23: 189-194.

OTT, I. AND SCOTT, J.C. (1910). The action of infundibulin upon the mammary secretion. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 8: 48-49. Citado por Pickering, B. T. (1995). Oxytocin. In : Endocrinology (Eds: De Groot, L.J.), 3 rd Ed, W.B. Saunders Company, pp. 421-431.

PALKOVITS, M.; BAHNER, U.; GEIGER, H. (1995). Preoptic neural circuit: atrial natriuretic peptide-containing neurons are sensitive to acute and chronic alterations in body fluid volume. Miner Eletrol. Metab. 21: 423-427.

PAN, J.T. (1991) Neuroendocrine control of prolactin secretion: the role of the serotonergic system. Chin. J. Physiol 34(1): 45-64.

- PETTERSON, A.; HEDNER, J.; RICKSTEN, S.E.; TOWLE, A.C.; HEDNER, T. (1986). Acute volume expansion as a physiological stimulus for the release of atrial natriuretic peptides in the rat. Life Sci 38(12):1127-1133.
- RAMALHO, M.J.; REIS, L.C.; NONAKA, K.; ANTUNES-RODRIGUES, J. AND DE-CASTRO-E-SILVA, E. (1990). Thyroidectomy reduces stress-induced prolactin secretion in rats. Participation of brain serotonergic systems. Braz. J. Med. Biol. Res. 23(8):747-50.
- RANKIN, A.J. (1987). Mechanisms for the release of atrial natriuretic peptide. Can J. Physiol. Pharmacol. (8): 1673-1679.
- RIDDLE, O.; BATES, R.W.; DYKSHOM, S.W. (1933). The preparation, identification and assay of prolactin – a hormone of anterior pituitary. Am. J. Physiol. 105: 191 –216.
- ROCHA, M.J.A.; BELTZ, T.G.; DORNELLES, R.C.M.; JOHNSON, A.K.; FRANCI, C.R. (1999). Anteroventral third ventricle (AV3V) lesions alter c-fos expression induced by salt loading. Brain Res.
- ROSS, P.C.; JUDD, A.M. AND MACLEOD, R.M. (1988). The dynamics of arachidonic acid liberation and prolactin release: a comparison of thyrotropin-releasing hormone, angiotensin II and neurotensin stimulation in perfused rat anterior pituitary cells. Endocrinology 123: 2445-2453.
- RUSKOAHO, H. (1992). Atrial Natriuretic Peptide: synthesis, release and metabolism. Pharmacol. Review. 44: 459 – 611.
- SASSIN, J.F.; FRANTZ, A.G.; KAPEN, S.; WEITZMAN, E.D.(1973). The nocturnal rise of human prolactin is dependent on sleep. J. Endocrinol. Metab. 37:4366-4440.
- SAXENHOFER, H.; ANGST, M.; WEIDMANN, P.; SHAW, S.G.; FERRIER, C. (1988).Corticosteroid- induced stimulation of atrial natriuretic peptide in man. Acta Endocrinol 118 (2): 179-186.
- SCHALLY, A.V.; REDDING, T.W.; ARIMURA, A.; DUPONT, A. AND LINTHICUM, G.L. (1977). Isolation of gamma-amino butyric acid from pig hypothalami and demonstration of its prolactin release-inhibiting (PIF) activity in vivo and in vitro. Endocrinology 100:681-691.

- SEYLE, H. (1950). The physiology and pathology of exposure to stress. Acta Inc. Medical Publishers, Montreal, Canada.
- SHENNAN, D.B. (1994). Regulation of water and solute transport across mammalian plasma cell membranes by prolactin. J. Dairy Res. 61:155-166.
- SHIELDS, P.P.; DIXON, J.E.; GLEMBOTSKI, C.C. (1988). The secretion of atrial natriuretic factor-(99-126) by cultured cardiac myocytes is regulated by glucocorticoids. J.Biol. Chem. 263(25): 12619 – 28.
- SHIN, S.H. (1979). Estradiol generates pulses of prolactin secretion in castrated male rats. Neuroendocrinology 29: 270-275.
- SHOME, B.; PARLOW, A.F.(1977). Human pituitary prolactin (hPRL): the entire linear amino sequence. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 1112-1115.
- SHULL, J.D. AND GORSKI, J. (1984). Estrogene stimulates prolactin gene transcription by a mechanism independent of pituitary protein synthesis. Endocrinology 114: 1550-1557.
- SHULL, J.D. AND GORSKI, J. (1986). The hormonal regulation of prolactin gene expression on: an examination of mechanisms controlling prolactin synthesis and the possible relationship of estrogen to these mechanisms. Vitam. Horm. 43: 197-249.
- SHULL, J.D. AND GORSKI, J. (1989). Regulation of prolactin gene transcription in vivo: interactions between estrogen, pimozone and α -ergocryptine. Mol. Pharmacol. 37: 215-228.
- SOARES, T.J.; COIMBRA, T.M.; MARTINS, A.R.; PEREIRA, A. G. F.; CARNIO, E.C.; BRANCO, L. G. S.; ALBUQUERQUE-ARAUJO, W. I.C.; NUCCI, G.; FAVARETTO, A. L. V.; GUTKOWSKA, J.; MCCANN, S.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J. (1999). Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. National Academy of Sciences 96(1) 278-283.
- STANDAERT, D. G.; SAPER, C.B.; CECETTO, D.F.; NEEDLEMAN, P. (1987). Inhibition of the firing of vasopressin neurons by atriopeptin. Nature 329: 151-153.

STRICKER, P.; GRUETER, R. (1928). Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. C. R. Soc. Biol. 99: 1978-1980.

STRICKER, E.M. AND VERBALIS, J.G. (1990). Sodium appetite. In: Handbook of Behavioral Neurology 10: Neurobiology of Food and Fluid Intake, edited by E.M. Stricker. New York: Plenum, 387-419.

VAN DEN BERGHE, G. (2001). The neuroendocrine response to stress is a dynamic process. Best Pract. Res. Clin. Endocrinology Metab. 15(4):405-419.

VECSEI, P. (1979). Glucocorticoids : cortisol, corticosterone and compounds. In: Jaffe B.M.; Berhman H. R. Methods of radioumunoassay. New York, Academic Press. 39: 767-792.

VERBALIS, J.G., MANGIONE, M. P. AND STRICKER, E. M. (1991). Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. Endocrinology 128: 1317-1322.

WALDSTREICHER, J.; DUFFY, J.F.; BROWN, E.N.; ROGACZ, S.; ALLAN, J.S.; CZEISLER, C.A. (1996). Gender differences in the temporal organization of prolactin (PRL) secretion: evidence for a sleep-independent circadian rhythm of circulating prolactin levels – a clinical research center study. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 81: 1483:1487.

WALSH, M.; ELLENBOGEN, K.A.; ROGERS, R.; MOHANTY, P.K. (1988). Increased circulating atrial natriuretic factor (ANF) release during induced ventricular tachycardia. Am. Heart J. 116: 1233-8.

WATENPAUGH, D.E.; YANCY, C.W.; BUCKEY, J.C.; LANE, L.D.; HARGENS, A.R.; BLOMQVIST, C.G. (1992). Role of natriuretic peptide in systemic responses to acute isotonic volume expansion. J.Appl.Physiol. 73(4):1218-26.

WEIDMANN, P., MATTER, D.R., MATTER, E.E., GNADNGER, M.P., UEHLINGER, D.E., SHAW S., HESS, C. (1988). Glucocorticoid and mineralocorticoid stimulation of atrial natriuretic peptide release in man. J.Clin. Endocrinolol. Metab. 6:1233-1239.

- WEINMANN, M. (2001). Stress-induced hormonal alterations. Crit. Care Clin. 17(1):1-10.
- WEST, B.; DANNIES, P.S. (1980). Effects of estradiol on prolactin production and dihydroergocryptine-induced inhibition of prolactin production in primary cultures of rat pituitary cells. Endocrinology 106: 1108-1113.
- YAMAMOTO, N.; SEO, H. AND SUGANUMA, N. (1986). Effect of estrogen on prolactin mRNA in the rat pituitary. J. Neuroendocrinol. 42:494-497.
- YELVINGTON, D.B.; WEISS, G.K.; RATNER, A. (1984). Effect of corticosterone on the prolactin response to psychological and physical stress in rats. Life Sci. (16): 1705-1711.



ANEXOS

Tabela 1- Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais controles

Animais	Controles					
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15	Tempo 30
1	6,8	3,6	17,3	7,9	4,6	9,7
2	3,4	2,7	9,9	18,0	5,1	9,8
3	4,2	4,7	7,7	18,6	3,8	1,6
4	5,1	7,3	7,6	19,6	2,8	7,4
5	6,3	4,1	6,2	17,6	18,8	4,2
6	7,4	2,5			6,4	1,4
7	4,4	7,6				
8		2,6				
9		11,2				
10		7,1				
X	4,7	5,3	9,7	16,3	6,9	5,6
EPM	0,7	0,9	1,9	2,1	2,4	1,5

Tabela 2 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais controles

Animais	Controles					
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15	Tempo 30
1	6,8	2,6	32,2	7,5	4,8	5,6
2	3,4	3,2	18,5	4,0	5,4	2,6
3	4,2	1,6	7,3	5,6	2,2	6,6
4	5,1	3,9	7,5	2,8	4,4	2,7
5	6,3	6,6	3,6	3,7	7,6	7,6
6	7,4	1,4	6,0	4,4	3,9	3,8
7	4,4	0,8				
8		6,8				
9		6,9				
10		1,5				
X	4,7	3,5	12,5	4,6	4,7	4,8
EPM	0,7	0,7	4,4	0,6	0,7	0,8

Tabela 3 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $\bar{X} \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	0,7	8,7	9,5	20,6	15,3
2	1,4	8,0	16,2	22,7	2,0
3	1,8	5,5	13,2	23,2	4,2
4	1,0	6,0	18,0	11,6	19,3
5	1,2	9,8	14,0	21,4	15,9
6	1,4	2,3		9,7	
7	0,4	8,5			
8	0,3	5,2			
9	0,8				
10	0,9				
X	1,0	6,7	14,1	18,2	11,3
EPM	0,1	0,8	1,4	2,4	3,4

Tabela 4 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $\bar{X} \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	0,7	8,7	16,4	25,3	20,4
2	1,4	8,0	22,0	14,6	20,5
3	1,8	5,5	20,7	18,3	17,0
4	1,0	6,0	21,4	20,3	19,2
5	1,2	9,8	14,4	20,7	17,2
6	1,4	2,3	11,4	15,2	16,3
7	0,4	8,5			
8	0,3	5,2			
9	0,8				
10	0,9				
X	1,0	6,7	17,7	19,0	18,4
EPM	0,1	0,8	1,7	1,6	0,7

Tabela 5 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	45,9	52,6	729,6	304,0	421,2
2	35,4	47,8	400,8	151,2	232,8
3	53,6	69,0	356,8	173,2	132,0
4	50,6	64,0	730,8	300,0	409,6
5	39,1	49,6	414,8	278,5	411,0
6	33,7	42,4	396,0		
7					
8					
9					
10					
X	33,8	54,2	504,8	232,4	289,9
EPM	3,5	4,1	71,1	40,5	70,3

Tabela 6 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	45,9	52,6	1202,8	661,2	174,4
2	35,4	47,8	1307,2	424,8	161,6
3	53,6	69,0	1513,6	538,0	172,0
4	50,6	64,0	1924,0	301,8	288,0
5	39,1	49,6	1848,0	323,4	209,0
6	33,7	42,4		367,6	
7					
8					
9					
10					
X	33,8	54,2	1559,0	436,0	201,0
EPM	3,5	4,1	143,0	56,7	23,1

Tabela 7 - Valores individuais de OT plasmática (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	12,6	6,7	31,3	12,8	11,2
2	19,5	6,5	32,0	15,2	12,0
3	9,2	7,9	16,5	9,0	4,6
4	12,6	3,9	14,6	31,2	3,2
5	19,5	4,2	23,1	11,7	6,0
6	6,15	6,7			5,4
7	8,8	8,6			
8	9,3				
9	8,1				
10	18,6				
X	9,9	6,3	23,5	16,0	7,0
EPM	0,6	0,6	3,6	3,9	1,5

Tabela 8 - Valores individuais de OT plasmática (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais controles

Animais	Controles				
	Intactos	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	12,6	6,7	56,3	49,2	39,0
2	19,5	6,5	51,3	12,3	30,9
3	9,2	7,9	53,2	74,0	53,0
4	12,6	3,9	52,4	31,7	34,0
5	19,5	4,2	37,7	74,4	46,5
6	6,1	6,7	87,0	71,3	33,3
7	8,8	8,6			
8	9,3				
9	8,1				
10	18,6				
X	9,9	6,3	56,3	52,1	39,4
EPM	0,6	0,6	6,6	10,5	3,5

Tabela 9 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo			Tratados com bromocriptina		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	3,7	9,7	7,8	1,7	2,7	1,3
2	2,5	11,5	13,9	2,3	2,1	2,0
3	10,7	14,2	4,9	5,4	3,4	2,3
4	12,7	7,8	6,6	1,4	2,5	2,8
5	1,6	8,9	5,7	1,7	3,0	1,7
6	1,5			1,1		
7	1,8			1,2		
8	2,5					
9	4,0					
10						
X	4,5	10,4	7,8	2,8	2,7	2,0
EPM	1,3	1,1	1,6	0,7	0,2	0,3

Tabela 10 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo			Tratados com bromocriptina		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	3,7	11,6	5,3	1,7	5,3	2,4
2	2,5	11,8	6,4	2,3	5,3	1,3
3	10,7	7,0	9,1	5,4	1,3	1,3
4	12,7	14,0	7,2	1,4	1,4	1,9
5	1,6	12,8	5,5	1,7	1,4	1,9
6	1,5			1,1		
7	1,8			1,2		
8	2,5					
9	4,0					
10						
X	4,5	11,4	6,7	2,8	2,9	1,7
EPM	1,3	1,2	0,7	0,7	0,9	0,2

Tabela 11 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $X \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo	Tratados com bromocriptina				
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	12,2	15,9	13,1	7,9	19,4	17,4
2	11,4	25,7	13,2	12,6	16,2	15,2
3	10,0	30,7	16,5	11,5	13,2	15,9
4	9,0	19,0	12,4	13,2	18,0	16,8
5	9,3		9,0	8,4		
6	3,9					
7	5,5					
8						
9						
10						
X	6,9	22,8	12,8	11,6	16,7	16,3
EPM	1,3	3,3	1,2	1,1	1,3	0,4

Tabela 12 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $X \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo	Tratados com Bromocriptina				
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	12,2	17,1	24,7	7,9	13,2	20,7
2	11,4	19,2	20,4	12,6	18,5	24,2
3	10,0	21,6	23,8	11,5	17,4	20,6
4	9,0	30,8	32,9	13,2	23,7	15,4
5	9,3	16,8	32,0	8,4	27,5	25,6
6	3,9					
7	5,5					
8						
9						
10						
X	6,9	21,1	26,7	11,6	20,0	21,3
EPM	1,3	2,5	2,4	1,1	2,5	1,7

Tabela 13 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo			Tratados com bromocriptina		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	42,0	552,0	78,0	56,4	475,2	104,4
2	48,0	308,6	262,8	85,2	321,6	150,0
3	43,2	471,6	116,4	111,6	380,4	67,2
4	74,4	604,8	72,0	50,4	637,2	84,6
5	60,6	501,2	153,6	77,1	387,6	68,3
6	50,4					
7	72,0					
8	45,6					
9	57,6					
10						
X	54,8	484,3	136,6	75,9	453,6	101,6
EPM	4,0	64,6	34,8	14,1	68,9	17,8

Tabela 14 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo			Tratados com bromocriptina		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	42,0	1380,0	242,0	93,6	891,0	187,0
2	48,0	1120,6	233,4	47,4	1142,0	288,8
3	43,2	1593,0	323,8	69,6	946,8	259,2
4	74,4	1752,0	341,9	64,2	960,0	79,2
5	60,6	1559,3	245,7	55,8	1155,0	260,4
6	50,4					272,4
7	72,0					
8	45,6					
9	57,6					
10						
X	54,8	1461,0	285,3	68,7	1019,0	224,5
EPM	4,0	136,8	27,7	9,5	54,2	32,4

Tabela 16 - Valores individuais de OT plasmática (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com bromocriptina

Animais	Veículo			Tratados com bromocriptina		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	6,1	22,0	11,2	11,1	69,0	10,6
2	10,2	22,0	20,2	6,0	43,0	10,7
3	8,1	40,0	14,0	8,1	36,2	16,0
4	5,4	38,0	23,0	9,3	50,5	21,3
5	7,5	46,0	20,3	8,7	39,4	17,8
6	7,8					
7	10,6					
8	8,2					
9						
10						
X	7,9	33,6	17,7	8,6	49,6	15,2
EPM	0,6	4,9	2,2	1,0	7,0	2,0

Tabela 17 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com sulpirida.

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	2,8	14,4	12,0	24,5	41,0	56,3
2	2,4	8,0	6,0	27,1	33,0	36,4
3	5,2	10,4	3,6	26,4	38,0	59,6
4	4,4	10,6	6,2	28,8	58,4	51,7
5	3,6	8,8	4,9	32,7	53,1	31,0
6	5,8	13,2	8,7	19,3	62,7	26,3
7						
8						
9						
10						
X	4,0	10,9	6,9	26,4	47,7	43,5
EPM	0,5	1,0	1,2	1,8	4,9	5,7

Tabela 18 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	6,0	12,4	12,0	23,3	44,8	45,3
2	6,0	13,2	6,0	20,9	58,2	37,7
3	2,8	9,2	3,6	12,8	61,3	46,6
4	1,6	10,4	2,2	32,2	39,8	39,3
5	2,8	10,6	3,2	31,1	97,0	69,7
6	7,4	14,4	2,4	30,7	52,7	43,2
7						
8						
9						
10						
X	4,4	11,7	4,9	25,7	58,9	46,9
EPM	0,9	0,8	1,5	3,1	8,2	4,7

Tabela 19 - Valores individuais de B plasmática (µg/dl), em X±EPM, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	4,1	21,5	6,7	6,8	28,0	5,4
2	5,0	16,3	14,1	8,5	22,1	30,2
3	1,2	22,9	9,8	11,0	25,2	13,1
4	6,8	10,0	12,2	7,3	23,0	5,8
5	4,7	16,1	10,8	8,4	21,5	11,7
6						
7						
8						
9						
10						
X	4,3	17,6	10,7	8,4	24,5	13,6
EPM	1,6	2,9	1,6	0,9	1,3	5,8

Tabela 20 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $\bar{X} \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	4,1	21,8	31,8	5,2	27,7	21,9
2	5,0	18,6	39,0	8,8	29,5	26,9
3	1,2	14,2	27,8	8,5	26,6	20,4
4	6,8	19,0	26,0	7,7	23,1	28,9
5	4,7	17,4	26,3	2,8	25,2	25,0
6				11,4	24,3	11,5
7						
8						
9						
10						
X	4,3	18,4	30,2	7,4	26,0	22,4
EPM	1,6	1,5	2,4	1,2	0,9	2,5

Tabela 21 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $\bar{X} \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	59,2	384,0	285,2	56,2	321,6	118,6
2	81,2	397,6	112,8	47,2	298,0	172,2
3	57,6	332,4	202,0	78,8	312,0	92,8
4	71,2	460,8	154,0	64,2	281,2	168,4
5	66,4	320,6	173,7	61,2	294,6	133,4
6	93,6					
7						
8						
9						
10						
X	71,3	393,7	188,5	61,6	303,2	138,0
EPM	5,6	26,4	37,0	6,7	8,8	19,4

Tabela 22 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	56,0	960,0	246,0	68,1	842,0	246,0
2	62,0	1108,0	139,8	84,0	954,0	139,8
3	81,8	1192,0	181,7	61,0	1116,0	181,7
4	105,2	1002,0	166,3	73,2	926,0	166,3
5	59,2	993,2	158,6	71,5	896,3	182,5
6	66,4					
7						
8						
9						
10						
X	71,7	1066,0	213,5	71,6	959,0	183,5
EPM	7,6	52,4	24,9	4,8	57,3	22,6

Tabela 23 - Valores individuais de OT plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	4,5	18,4	6,2	5,7	16,1	9,8
2	3,4	13,7	7,2	4,4	8,7	8,6
3	4,9	13,8	8,0	5,5	17,7	11,4
4	4,3	10,6	12,6	6,2	9,0	12,8
5	5,2	14,5	7,9	4,8	11,0	10,7
6						
7						
8						
9						
10						
X	4,2	14,1	8,5	5,4	12,8	10,6
EPM	0,3	1,6	1,4	0,3	2,3	0,9

Tabela 24 - Valores individuais de OT plasmático (pg/ml), em $X \pm EPM$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com sulpirida

Animais	Veículo			Tratados com sulpirida		
	Tempo 0	Tempo 5	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 15
1	5,6	49,1	18,9	11,7	56,4	41,3
2	8,7	62,7	43,1	6,8	22,8	14,4
3	12,6	46,4	47,7	9,5	26,7	26,8
4	9,3	53,8	37,4	7,5	33,0	25,0
5	8,9	48,6	35,9	13,4	59,0	22,3
6				12,7	25,4	31,3
7				11,2		
8				10,7		
9						
10						
X	9,0	53,0	36,7	10,4	37,2	26,8
EPM	1,4	3,5	6,3	0,8	6,6	3,7

Tabela 25 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	6,3	9,9	8,1	3,7	3,4	1,5	1,2	1,3	
2	3,8	7,7	12,2	6,2	2,7	5,0	2,4	2,0	
3	5,5	10,9	9,0	3,6	4,2	4,6	5,7	1,4	
4	4,9	10,2	11,9	5,2	1,3	1,6	1,3	1,3	
5	2,2	7,3	16,1	4,3	3,0	1,8	3,6	7,2	
6	4,8	6,0	14,3	5,9	2,4	8,8	4,0	2,3	
7									
8									
9									
10									
X	4,5	8,6	11,9	4,8	2,8	3,8	3,0	2,6	
EPM	0,6	0,8	1,2	0,4	0,4	1,2	0,7	0,9	

Tabela 26 - Valores individuais de PRL plasmática (ng/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	2,6	22,1	7,5	4,8	1,9	8,1	2,2	1,8	
2	3,2	19,6	4,0	6,3	3,3	3,0	2,0	3,2	
3	4,6	7,3	5,6	4,3	4,0	3,7	1,3	3,8	
4	7,8	7,5	6,3	7,6	1,6	4,1	2,7	2,2	
5	8,3	16,0	3,7	3,9	2,1	7,2	1,2	1,4	
6	6,7	9,2	4,4	2,2	4,7	6,4	2,4	2,6	
7									
8									
9									
10									
X	5,5	13,6	5,2	4,8	2,9	5,4	1,9	2,5	
EPM	0,9	2,6	0,6	0,7	0,5	0,8	0,2	0,4	

Tabela 27 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $X \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	8,7	15,9	16,0	13,6	1,8	1,3	1,5	1,8	
2	8,0	15,7	18,7	13,1	2,5	1,2	2,3	2,0	
3	6,3	20,7	11,0	11,5	2,0	2,0	2,5	2,2	
4	15,4	12,1	14,3	12,4	0,8	2,2	1,7	1,9	
5	7,5	16,8	17,2	9,0	1,6	1,4	1,6	3,5	
6	9,8	13,0	19,0	10,2	1,3	1,0	3,4	2,1	
7									
8									
9									
10									
X	9,2	15,7	16,0	11,6	1,7	1,6	2,2	2,4	
EPM	1,3	1,2	1,2	0,7	0,2	0,2	0,3	0,3	

Tabela 28 - Valores individuais de B plasmática ($\mu\text{g/dl}$), em $X \pm \text{EPM}$, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	8,7	14,1	26,4	14,7	0,5	0,9	1,9	1,3	
2	8,0	19,2	17,2	10,4	0,8	0,8	0,9	2,4	
3	6,3	21,6	20,4	13,8	0,8	1,9	2,7	2,1	
4	5,4	20,8	16,8	12,9	1,8	2,7	1,6	1,1	
5	7,5	12,9	14,3	12,0	2,0	1,5	1,4	3,4	
6	9,8	19,0	18,0	16,2	1,4	1,1	2,4	2,0	
7									
8									
9									
10									
X	7,6	17,9	18,8	13,3	1,2	1,5	2,1	2,2	
EPM	0,6	1,5	1,7	0,8	0,2	0,3	0,4	0,4	

Tabela 29 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	42,0		552,0	403,2	187,2	62,8	548,1	356,4	225,0
2	48,0		462,0	295,2	210,2	83,6	606,0	447,6	246,0
3	74,4		471,0	244,8	129,0	89,6	471,0	464,4	260,4
4	57,6		604,8	270,0	153,6	53,6	626,7	348,6	236,4
5	60,6		626,1	279,6	251,4	69,6	594,0	336,9	266,1
6	102,0		574,2	269,1	215,7	38,4	498,0	259,8	125,7
7									
8									
9									
10									
X	64,1		548,5	293,7	191,2	66,7	557,5	369,0	226,6
EPM	8,8		27,8	22,9	18,1	7,7	25,6	30,9	21,1

Tabela 30 - Valores individuais de ANP plasmático (pg/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	86,0	1449,6	546,9	258,6	71,6	870,0	541,8	252,0	
2	76,8	903,0	604,2	261,0	60,0	722,4	572,4	135,0	
3	56,0	1221,0	321,9	189,0	62,8	1164,0	343,8	258,6	
4	58,6	1045,2	372,9	205,5	57,0	727,2	500,4	214,8	
5	66,4	1269,3	341,1	215,7	69,0	550,2	457,2	192,6	
6	50,8	1134,6	308,7	246,9	83,8	1131,0	292,8	198,9	
7									
8									
9									
10									
X	65,7	1171,0	416,0	229,5	67,4	860,8	451,4	208,8	
EPM	5,4	77,2	51,7	12,3	3,9	99,7	45,4	18,3	

Tabela 31 - Valores individuais de OT plasmática (pg/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC isotônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	6,7	18,1	9,0	5,5	4,7	5,3	4,0	4,2	
2	6,4	15,7	10,4	5,0	4,9	4,4	7,1	4,7	
3	7,9	15,5	6,5	4,7	3,6	6,6	4,8	6,0	
4	8,1	25,0	8,4	6,7	7,2	5,8	6,3	3,1	
5	4,2	21,3	6,4	5,2	5,0	6,9	5,2	5,5	
6	6,7	17,2	8,1	4,5	3,2	4,6	3,7	4,0	
7									
8									
9									
10									
X	6,6	18,8	8,1	5,3	4,9	5,6	5,2	4,5	
EPM	0,6	1,5	0,6	0,3	0,6	0,4	0,5	0,4	

Tabela 32 - Valores individuais de OT plasmática (pg/ml), em X±EPM, em condições basais e após EVEC hipertônica nos animais veículo e tratados com dexametasona

Animais	Veículo	Tratados com dexametasona							
		Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo15	Tempo 0	Tempo 5	Tempo 10	Tempo 15
1	6,1	52,0	18,4	10,2	4,2	4,6	8,0	4,2	
2	10,2	38,0	19,3	20,0	6,6	6,5	6,8	5,1	
3	8,1	40,4	11,2	13,0	7,0	8,1	4,4	5,6	
4	5,4	38,0	24,0	18,7	5,0	7,4	7,6	7,0	
5	7,5	56,0	20,3	12,6	3,7	8,0	8,2	8,4	
6	6,8	51,2	27,2	29,1	5,6	5,3	6,3	6,3	
7									
8									
9									
10									
X	7,5	45,9	20,0	17,3	5,3	6,6	6,8	6,1	
EPM	0,7	3,3	2,2	2,8	0,5	1,2	0,6	0,3	