

Carla Beatriz Collares Buzato

Estudo sobre o efeito do estresse no esvaziamento gástrico
de líquidos em ratos: envolvimento do
núcleo paraventricular do hipotálamo.

Este exemplar corresponde à redação final da tese
defendida pela candidata Carla Beatriz Collares
Buzato e aprovada pela comissão julgadora
Campinas 28/5/91

Gilberto A. Fernandes

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas para ob-
tenção do grau de Mestre em Ciências, na área
de Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto D'Assunção Fernandes

Campinas - 1991

BC/9105496

Aos meus pais Edgard e Marta
À minha vó Celina (*in memorium*)
Ao Eduardo
com imensa gratidão e admiração,
DEDICO.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Gilberto D'Assunção Fernandes, pela orientação científica e convívio amigo durante a execução deste trabalho, meu especial agradecimento.

Ao Prof. Dr. Tabajara O. Martins, do Departamento de Biofísica da Escola Paulista de Medicina, agradeço em particular por me transmitir os princípios básicos da estereotaxia.

A todos funcionários do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (UNICAMP), em especial ao Roberto César Stahl, à Tereza Carvalho Baptiston e ao William Adalberto Silva pelo apoio técnico e grande amizade.

Ao funcionário Antonio Carlos Galvan, do Laboratório de Patologia Clínica (UNICAMP), pelo precioso auxílio técnico na coloração H.E. dos cortes histológicos.

À Ana Lúcia E. Catalan e ao David Antonio Oliveira, do Laboratório de Patologia Clínica (UNICAMP), pela grande ajuda nas dosagens de radioimunoensaio.

À Profa. Dra. Liliana A. L. De Angelo Andrade e ao Marco A. Gongora, do Departamento de Anatomia Patológica (UNICAMP), pela dedicação na confecção das fotomicrografias.

Ao Prof. Dr. José Antonio R. Gontijo e ao Dr. Waldir Eduardo Garcia, do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (UNICAMP), por me facultarem, gentilmente, a utilização do aparelho estereotáxico, bem como do laboratório.

Ao CNPq, FAPESP e CAPES, pelas bolsas de estudo concedidas.

A todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento dessa tese.

Por fim, aos meus pais, pela sua participação ativa na realização deste trabalho e, acima de tudo, pelo apoio incondicional e sempre presente.

Índice

| | |
|---|----|
| • Introdução..... | 1 |
| • Material & Métodos..... | 9 |
| 1. Delineamento Experimental..... | 10 |
| 2. Animais..... | 13 |
| 3. Refeições de Prova..... | 15 |
| 4. Avaliação do Esvaziamento Gástrico..... | 15 |
| 5. Modelo de Estresse..... | 22 |
| 6. Dosagem de Corticosterona..... | 24 |
| 7. Pré-tratamento com Cimetidina..... | 24 |
| 8. Cirurgias..... | 25 |
| 8.1. Secção do Nervos Vago..... | 25 |
| 8.2. Lesão do Núcleo Paraventricular..... | 26 |
| 9. Análise Histológica..... | 26 |
| 10. Análise Estatística..... | 27 |
| • Resultados..... | 28 |
| 1. Etapa 1 - Modelo experimental de estresse..... | 29 |
| 2. Etapa 2 - Envolvimento da secreção ácida na alteração da retenção gástrica induzida pelo estresse..... | 34 |
| 3. Etapa 3 - Envolvimento do Sistema Nervoso na alteração da retenção gástrica induzida pelo estresse..... | 41 |
| 3.1. Vagotomia..... | 41 |
| 3.2. Lesão do Núcleo Paraventricular..... | 43 |
| • Discussão..... | 47 |
| • Conclusões..... | 64 |
| • Resumo..... | 66 |
| • Summary..... | 69 |
| • Referências Bibliográficas..... | 72 |
| • Apêndice..... | i |

Introdução

O trato gastrointestinal desempenha uma das funções mais essenciais do organismo vivo que é a de processar e assimilar, de maneira adequada, todo o substrato nutricional necessário para a sobrevivência. Nesse contexto, o estômago exerce um papel importante cuja função é participar do processo da digestão, fragmentar os alimentos sólidos ingeridos e liberar ordenadamente o seu conteúdo para o intestino delgado, onde se processará praticamente todo o fenômeno de absorção. Embora um comprometimento da digestão gástrica não resulte em grandes danos ao organismo, uma interferência na transferência do conteúdo alimentar do estômago para o intestino delgado pode causar desconforto, diarreia e má-nutrição (HUNT & KNOX, 1968; HUNT, 1983). Esse processo de transferência, denominado esvaziamento gástrico, é regulado de tal forma a permitir uma perfeita adequação da liberação do quimo aos processos de absorção e secreção que ocorrem no intestino delgado.

Com relação à motilidade e esvaziamento gástrico, o estômago pode ser dividido em duas regiões de propriedades anatômicas e eletromotoras distintas: as porções proximal e distal (HUNT, 1983; EHRLEIN & AKKERMANS, 1984; MINAMI & MCCALLUM, 1984; WEISBRODT, 1984; BURKS et.al., 1985; READ & HOUGHTON, 1989). A região proximal, que inclui o fundo e parte do corpo gástrico, é caracterizada por uma atividade motora tônica. Sua função consiste em armazenar o alimento recém-ingerido e promover sua transferência para a porção mais distal do estômago. A região distal, por sua vez, que inclui a parte terminal do corpo e o antro, exibe atividade peristáltica e é particularmente responsável pela mistura e trituração das partículas sólidas e pela passagem do quimo para a região duodenal. A contração de ambas as áreas, que está sob o controle hormonal e nervoso, modula o processo de esvaziamento gástrico (EHRLEIN & AKKERMANS, 1984; READ & HOUGHTON, 1989). As contrações tônicas do estômago proximal desempenham um grande papel no controle do esvaziamento gástrico

de líquidos, enquanto que as contrações peristálticas do antro são fundamentais na trituração e posterior esvaziamento tanto de sólidos como de líquidos.

O ritmo de esvaziamento gástrico pode ser afetado por uma série de fatores, sendo a distensão gástrica, a qual é proporcional ao volume do conteúdo estomacal, o único estímulo natural e facilitador do esvaziamento gástrico (HUNT & MACDONALD, 1954; HUNT & KNOX, 1968). Por outro lado, a consistência da refeição, bem como sua osmolaridade, proporção de nutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras) e quantidade de ácidos, exercem efeitos inibitórios sobre o ritmo do esvaziamento (HUNT & KNOX, 1968; MINAMI & MCCALLUM, 1984; BURKS et.al., 1985). Receptores localizados no intestino delgado, sensíveis a essas características quantitativas e qualitativas dos componentes da refeição, são os responsáveis pelo desencadeamento dos estímulos que, via neural e hormonal, diminuem a velocidade do esvaziamento gástrico (EHRLEIN & AKKERMANS, 1984; HUNT, 1985).

Em adição a esses fatores, inúmeras desordens sistêmicas podem afetar o esvaziamento gástrico (ROSE, 1979; READ & HOUGHTON, 1989). O estresse, caracterizado pela ativação dos sistemas endócrino e autonômico, envolvendo portanto uma reação complexa por parte do organismo afetado, tem sido também implicado em algumas patologias gastrointestinais (WOLF, 1981). Essa associação entre distúrbios emocionais resultantes de eventos estressantes e disfunção gástrica já é amplamente conhecida há muitos séculos; contudo, foi somente descrita pela primeira vez em meados do século XIX, por Beaumont, em sua clássica monografia datada de 1833 (*apud* WOLF, 1981). Nessa publicação, o autor relata, num adulto portador de uma fístula gástrica permanente, significativa supressão das secreções no estômago e considerável atraso da digestão e esvaziamento gástrico quando este era submetido a experiências emocionais desagradáveis.

Desde então, têm-se avolumado investigações no sentido de se averiguar os distúrbios gastrointestinais induzidos por estímulo estressante e os possíveis mecanismos endógenos implicados. A fisiopatologia das úlceras gástricas, por exemplo, tem sido um tema constante na maioria dos trabalhos conduzidos nessa linha de pesquisa. Já está amplamente documentada a participação do estresse na formação de úlceras gástricas, tanto no homem (WOLF, 1981; PETERS & RICHARDSON, 1983; ROBERT & KAUFFMAN, 1983) como em animais experimentais (MENGUY, 1960 ; KITAGAWA, FUJIWARA & OSUMI, 1979; GARRICK, BUACK & BASS, 1986; GARRICK et. al., 1986; HAYASE & TAKEUCHI, 1986; GARRICK et. al., 1987). Tais estudos têm indicado a existência de pelo menos três fatores determinantes da patogênese das lesões gástricas induzidas pelo estresse: hipersecreção de ácido (BRODIE, MARSHALL & MORENO, 1962; KITAGAWA, FUJIWARA & OSUMI, 1979; PETERS & RICHARDSON, 1983; MURAKAMI et. al., 1985); diminuição do fluxo sanguíneo na mucosa gástrica (KITAGAWA, FUJIWARA & OSUMI, 1979; MURAKAMI et. al., 1985; HAYASE & TAKEUCHI, 1986); e alterações da motilidade do estômago como hipermotilidade (YANO, AKAHANE & HARADA, 1978) e a presença de contrações musculares peculiares, caracterizadas pela baixa frequência e alta amplitude e duração (GARRICK, BUACK & BASS, 1986; GARRICK et. al., 1986).

Todas essas alterações gástricas que se manifestam numa situação de estresse, independente de sua importância como determinantes da ulceração, poderiam resultar teoricamente em distúrbio do esvaziamento gástrico. Entretanto, trabalhos abordando semelhante assunto, diferentemente do que ocorre com temas como úlcera gástrica, são escassos e muitas vezes contraditórios entre si. Vários autores têm constatado aumento, diminuição, ou mesmo nenhum efeito significativo no esvaziamento gástrico sob estímulo estressante. CANN et. al. (1983) e WILLIAMS et. al. (1987), estudando diferentes

modelos experimentais de estresse (psicológico e de contenção, respectivamente) em diferentes espécies (homem e rato, respectivamente), não observaram efeito significativo sobre o esvaziamento gástrico de uma refeição mista (sólido mais líquido) e de água, respectivamente. Entretanto, BUÉNO & GUÉ (1988) constataram, em camundongos, que a exposição aguda a ambos estresses, acústico ou térmico (frio a 10°C), resultou em esvaziamento significativamente mais rápido de uma solução aquosa de leite. Por outro lado, trabalhos recentes têm demonstrado também que certos tipos de estresse, em particular a contenção física (LENZ et. al., 1988), estimulação térmica do labirinto (THOMPSON, RICHELSON & MALAGELADA, 1982), e dor (frio) (THOMPSON, RICHELSON & MALAGELADA, 1983), induzem intenso retarde do esvaziamento gástrico de refeições de prova líquidas. Alguns desse autores têm sugerido uma participação fundamental do peptídeo hipotalâmico denominado fator liberador de corticotrofina (CRF) como iniciador e coordenador dessa resposta gastrointestinal durante estímulo estressante (WILLIAMS et. al., 1987; BUÉNO & GUÉ, 1988; LENZ et. al., 1988), indicando, portanto, um possível envolvimento do sistema nervoso central nesse processo.

O núcleo hipotalâmico paraventricular (NPV), através de estudos imunocitoquímicos, tem sido indicado como uma importante área de concentração de neurônios secretores do CRF (SILVERMAN, HOU-YU & CHEN, 1989). Este núcleo, localizado bilateral e dorsalmente ao 3º ventrículo na porção rostral do hipotálamo, foi originalmente descoberto por sua função secretora dos hormônios ocitocina e vasopressina. Todavia, características citológicas e neuroanatômicas têm evidenciado uma nova dimensão funcional do núcleo paraventricular.

O NPV apresenta uma organização celular complexa, dotada de múltiplas interações celulares e secreção de uma infinidade de neurotransmissores. Histologicamente, o núcleo consiste de uma região relativamente delimitada contendo células neurosecre-

toras do tipo magnocelular, inseridas numa matriz parvocelular. Os neurônios magnocelulares secretam essencialmente ocitocina e vasopressina, enquanto que a região parvocelular pode produzir, além do CRF, uma variedade imensa de neuropeptídios como: hormônio liberador de tireotrofina, peptídio vasoativo intestinal, colecistoquinina, substância P, neurotensina, atriopeptina, galanina, encefalina, fator liberador do hormônio de crescimento, angiotensina II, vasopressina, ocitocina, etc (KISS, 1988).

Adicionalmente, vem sendo documentada a existência de intrincadas conexões entre NPV e outras áreas hipotalâmicas e extra-hipotalâmicas. Esse núcleo envia axônios em direção à neurohipófise e adenohipófise (via eminência média) (SWANSON & KUYPERS, 1980), bem como para grupos de neurônios localizados no tronco cerebral e medula espinhal, associados com funções autonômicas parassimpáticas e simpáticas respectivamente (SAPER et. al., 1976; SWANSON & KUYPERS, 1980; ROGERS & NELSON, 1984; LAWRENCE & PITTMAN, 1985; WILLET et. al., 1987). Quanto ao controle aferente, esta estrutura recebe terminais nervosos provenientes de corpos celulares situados numa série de regiões cerebrais, tais como: tronco cerebral, sistema límbico e áreas hipotalâmicas circunvizinhas (SWANSON & SAWCHENKO, 1980).

Em virtude dessa complexidade estrutural e multiplicidade de conexões, o NPV tem sido recentemente apontado como um importante centro integrador das funções endócrinas, autonômicas e comportamentais (SWANSON & SAWCHENKO, 1980). Este núcleo parece estar implicado na gênese de algumas respostas neuroendócrinas frente ao estresse, sendo que o CRF constitui-se provavelmente no neuromediador desse processo (MAYARA et. al., 1981; BRUHN, PLOTSKY & VALE, 1984; MEYERHOFF, MOUGEY & KANT, 1987). MORTON et. al. (1989), recentemente, demonstraram que a lesão eletrolítica bilateral do NPV preveniu o aumento, provocado pelo estresse, na concentração plasmática de renina e corticosterona em ratos. Outros autores, pa-

ralelamente, têm relatado um importante papel desse núcleo na mediação da secreção, induzida pelo estresse, de prolactina (MEYERHOFF, MOUGEY & KANT, 1987; MINAMITANI et. al., 1987), do hormônio adrenocorticotrófico (MAYARA et. al., 1981; BRUHN, PLOTSKY & VALE, 1984; MEYERHOFF, MOUGEY & KANT, 1987), da beta-endorfina, beta-lipotrofina e AMPc da pituitária (MEYERHOFF, MOUGEY & KANT, 1987).

Por outro lado, outras investigações têm apoiado a existência de neurônios localizados no NPV, particularmente envolvidos no controle das funções gastrointestinais (SHIRAISHI, 1987, 1988). As projeções neurais partindo desse núcleo para centros autonômicos medulares, tais como o núcleo do trato solitário (NTS) e o núcleo motor dorsal do vago (MDV), constituiriam as vias neurais eferentes pelas quais o NPV coordenaria essas funções (ROGERS & HERMANN, 1985b; ROGERS & HERMANN, 1987). Estimulação elétrica do NPV resulta em aumento da secreção de ácido pelo estômago que é abolido pela administração prévia de um antagonista de ocitocina no MDV (ROGERS & HERMANN, 1986), enquanto que lesões daquele núcleo previnem a secreção de ácido induzida pela estimulação aferente vagal (ROGERS & HERMANN, 1985a). Por outro lado, estudos envolvendo injeções intrahipotalâmicas no NPV de vários peptídios, como a bombesina (GUNION & TACHÉ, 1987b), neuropeptídeo Y (HUMPHREYS, DAVISON & VEALE, 1988) e CRF (GUNION & TACHÉ, 1987a), têm indicado que esse núcleo teria igualmente uma função inibitória sobre a secreção de ácido pela mucosa gástrica. Além dessas ações sobre a secreção, a estimulação elétrica do NPV também promove hipo (SAKAGUCHI & OHTAKE, 1985; ROGERS & HERMANN, 1987) e hipermotilidade (ROGERS & HERMANN, 1987). Finalmente, FERGUSON et. al. (1988) verificaram que a estimulação elétrica do núcleo paraventricular causa necrose da mucosa gastroduodenal em ratos, a qual é significativamente reduzida após vagoto-

mia bilateral. Segundo os autores, provavelmente ambos os fenômenos de aumento de secreção de ácido e alteração da atividade motora do estômago, mediados pelo NPV, poderiam ser os responsáveis pela lesão necrótica gástrica apresentada pelos animais experimentais.

Pelo que foi exposto até o momento, fica claro que pouco se conhece a respeito dos possíveis mecanismos envolvidos nas alterações do esvaziamento gástrico durante o estresse, pois os poucos trabalhos existentes abordando o assunto objetivaram apenas determinar quais seriam essas alterações. Adicionalmente, apesar de vários autores sugerirem uma participação do sistema nervoso central como mediador das respostas gastrointestinais frente a uma situação de estresse, nenhum estudo até o presente teve como finalidade localizar uma estrutura nervosa particular, diretamente ligada a esse processo.

O presente trabalho, portanto, tem como objetivos: 1) propor inicialmente um modelo experimental adequado para o estudo do efeito do estresse sobre o esvaziamento gástrico em ratos machos; 2) verificar os possíveis componentes (secreção ácida e/ou motilidade gástrica) implicados na alteração do esvaziamento gástrico induzido pelo estresse; e 3) investigar provável envolvimento vagal e do núcleo hipotalâmico paraventricular sobre o processo.

Materiais e Métodos

1. Delineamento Experimental

Em concordância com os objetivos do presente trabalho, os experimentos foram conduzidos segundo as etapas que se seguem (Figura 1).

A Etapa 1 foi realizada com a finalidade de se estabelecer um modelo adequado de estresse em ratos machos para ser adotado nas etapas subseqüentes desse estudo. Os modelos experimentais testados com relação ao esvaziamento gástrico (EG) de uma solução de glicose foram: contenção à temperatura ambiente e contenção a frio. Nessa fase, os animais foram distribuídos em dois grupos: Controle, no qual foi executado apenas o teste do EG, determinando-se a retenção gástrica (RG) da refeição de prova glicose; e Estressado, submetido a estresse agudo durante esse processo. A RG foi avaliada, após administração intragástrica da refeição de prova, aos 30 min no grupo experimental sujeito à contenção e aos 10, 20 e 30 min no grupo submetido a estresse de contenção a frio. Paralelamente, foi feita coleta de sangue por decapitação em um grupo de animais controles ou submetidos a estresse de contenção a frio, para posterior dosagem de corticosterona. A dosagem desse hormônio foi feita com o objetivo de se obter um parâmetro do grau de estresse.

Na Etapa 2, foi investigado se um possível aumento da secreção gástrica de ácido, induzido pelo estresse, poderia constituir-se no fator responsável pela alteração do esvaziamento gástrico sob essa condição. Primeiramente, avaliou-se a RG de uma solução de bicarbonato, para se obter um índice indireto do grau de secreção gástrica de ácido. Essa avaliação foi feita em ambos os grupos: Controle, no qual foi executada apenas a prova de EG; e Estressado, submetido a estresse agudo (contenção a frio) durante esse processo. Numa segunda fase, animais estressados, ou não, foram pré-tratados com cimetidina, droga bloqueadora de secreção ácida, e submetidos ao teste de EG com a solução de glicose ou bicarbonato. Nessa fase, os animais foram distribuídos em três

grupos experimentais: Simulado, cujos animais receberam injeção intraperitoneal (ip) de NaCl 0,9 % previamente à prova de EG; Controle, ao qual administrou-se cimetidina ip antes do procedimento; e Estressado, cujos animais receberam cimetidina sob o mesmo esquema que o grupo Controle e, adicionalmente, foram estressados (contenção a frio) durante a prova de EG. A retenção gástrica da solução de bicarbonato foi avaliada aos 10 min, enquanto que a da solução de glicose, aos 30 min após sua administração intragástrica.

Finalmente, o objetivo da Etapa 3 foi investigar o envolvimento do sistema nervoso periférico e central sobre a alteração do EG induzida pelo estresse. Para isso, grupos separados de animais foram submetidos à vagotomia sub-diafragmática ou lesão do núcleo paraventricular do hipotálamo, previamente ao teste de EG com solução de glicose. Nessa etapa, os animais foram distribuídos em três grupos: Simulado, cujos animais sofreram apenas o procedimento cirúrgico sem a lesão do vago ou núcleo paraventricular; Controle, onde os animais foram vagotomizados ou submetidos à lesão do NPV; e Estressado, cujos animais foram sujeitos aos mesmos procedimentos praticados no grupo Controle e, em adição, a um estresse de contenção a frio durante a prova de EG. Em todos os grupos experimentais, foi avaliada a retenção gástrica da solução de glicose aos 30 min após administração intragástrica.

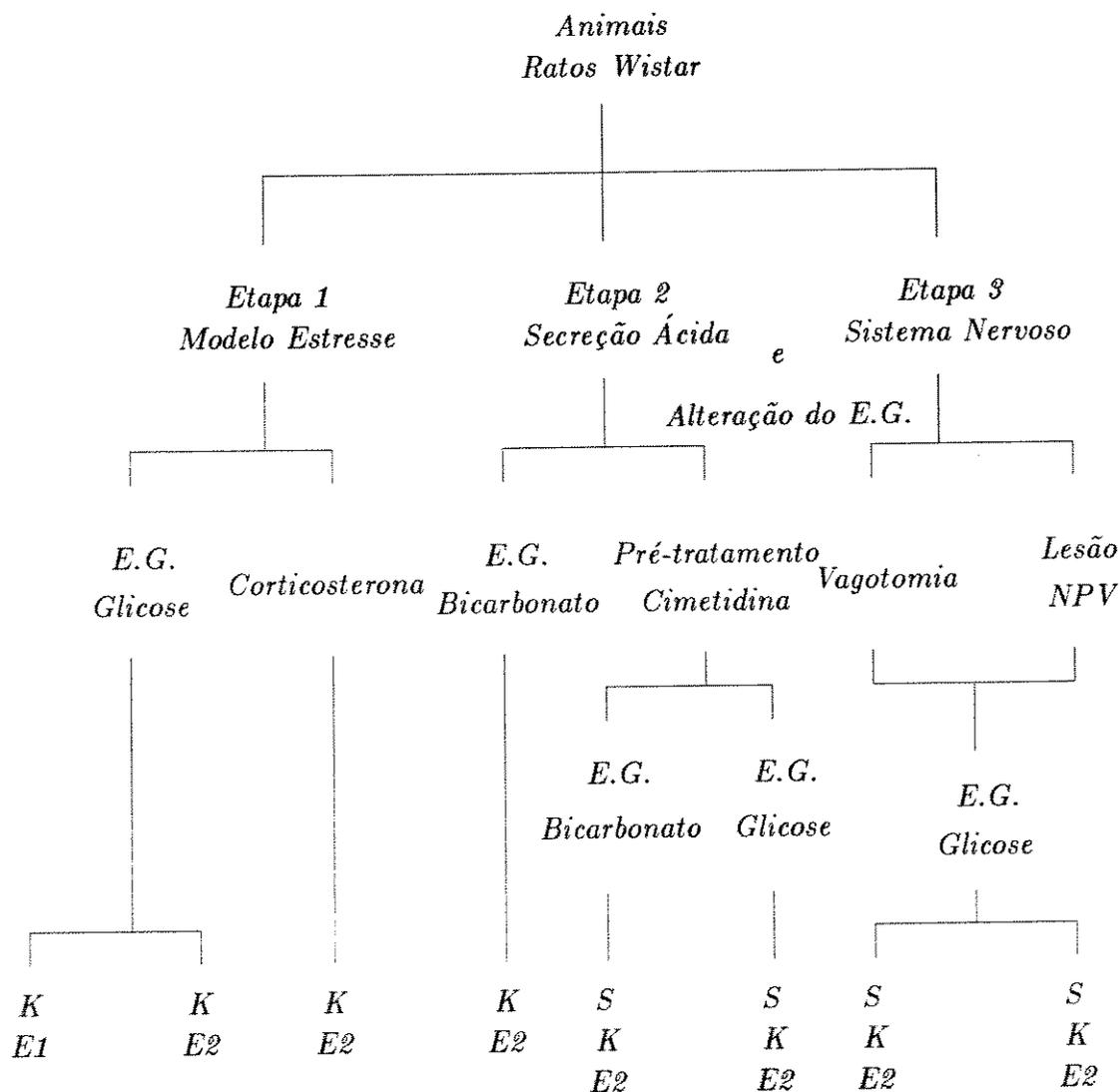


FIGURA 1 - Diagrama explicativo sobre as diferentes etapas executadas no presente estudo. Legendas: *E.G.* = esvaziamento gástrico; *NPV* = núcleo hipotalâmico paraventricular; Grupos Experimentais - *S* = Simulado; *K* = Controle; *E1* = Estressado (contenção) e *E2* = Estressado (contenção a frio).

2. Animais

Foram empregados neste estudo, ratos Wistar machos pesando 200 - 250 g, com 8 a 10 semanas de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP, Campinas, S.P.). Antes de qualquer procedimento, os animais permaneceram no laboratório durante pelo menos 5 dias para a sua adaptação às condições locais. Os animais eram mantidos em gaiolas coletivas (10 animais) com ração (Labina, Purina) e água *ad libitum*, num ambiente com temperatura variando entre 24 e 28 °C e iluminação natural. Os animais eram manipulados por uma mesma pessoa, evitando-se qualquer tipo de estímulo estressante (odor e som) dentro do laboratório, antes e durante a experimentação.

Na totalidade dos experimentos foram utilizados 322 animais, distribuídos entre as diferentes etapas do estudo da seguinte forma:

- *Etapas 1 - Modelo Experimental de Estresse.* Utilizaram-se 108 animais distribuídos entre as 3 sub-etapas que se seguem:
 - *Sub-etapa 1.1 - Avaliação do efeito do estresse de contenção sobre a RG (30 min) da solução de glicose.* Foram empregados 22 animais distribuídos em dois grupos: Controle (K) e Estressado (E1), com 11 animais em cada grupo.
 - *Sub-etapa 1.2 - Avaliação do efeito do estresse de contenção a frio sobre a RG da solução de glicose avaliada aos 10, 20 e 30 min.* Foram empregados 66 animais distribuídos em dois grupos: Controle (K) e Estressado (E2), com 33 animais em cada grupo, sendo 11 o número de animais em cada tempo avaliado.
 - *Sub-etapa 1.3 - Avaliação do efeito do estresse de contenção sobre o nível sérico de corticosterona.* Foram empregados 20 animais distribuídos em dois grupos: Controle (K) e Estressado (E2), com 10 animais em cada grupo.

- *Etapa 2 - Envolvimento da secreção ácida na alteração da RG induzida pelo estresse.* Utilizaram-se 151 animais distribuídos entre as 3 sub-etapas que se seguem:
 - *Sub-etapa 2.1 - Avaliação do efeito do estresse de contenção sobre a RG (10 min) da solução de bicarbonato.* Foram empregados 22 animais distribuídos em dois grupos: Controle (K) e Estressado (E2), com 11 animais em cada grupo.
 - *Sub-etapa 2.2 - Pré-tratamento com cimetidina (10 e 50mg/kg) e efeito do estresse de contenção sobre a RG (10 min) da solução de bicarbonato.* Foram empregados 63 animais distribuídos em três grupos: Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E2), com 21 animais em cada grupo, sendo 10 e 11 os números de animais por grupo para cada dose de cimetidina testada (10 e 50 mg/kg, respectivamente).
 - *Sub-etapa 2.3 - Pré-tratamento com cimetidina (10 e 50mg/kg) e efeito do estresse de contenção sobre a RG (30 min) da solução de glicose.* Foram empregados 66 animais distribuídos em três grupos: Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E2), com 22 animais em cada grupo, sendo 11 o número de animais por grupo para cada dose de cimetidina testada.
- *Etapa 3 - Envolvimento do sistema nervoso na alteração da RG induzida pelo estresse.* Utilizaram-se 63 animais distribuídos entre as 2 sub-etapas que se seguem:
 - *Sub-etapa 3.1 - Vagotomia e efeito do estresse de contenção sobre a RG (30 min) da solução de glicose.* Foram empregados 33 animais distribuídos em três grupos: Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E2), com 11 animais em cada grupo.

- Sub-etapa 3.2 - Lesão do núcleo paraventricular e efeito do estresse de contenção sobre a RG (30 min) da solução de glicose. Foram empregados 30 animais distribuídos em três grupos: Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E2), com 10 animais em cada grupo.

3. Refeições de Prova

A refeição de prova básica testada nesse estudo foi uma solução aquosa de glicose (Merck) 5 % (p/v), de osmolalidade $302,7 \pm 2,9$ mOsm/kg. Na etapa 2, onde avaliou-se o esvaziamento gástrico da solução de bicarbonato, foi utilizada como refeição de prova uma solução de bicarbonato de sódio (Merck) na concentração de 0,25 M e osmolalidade média de $447,7 \pm 4,2$ mOsm/kg.

Às refeições, foi acrescentado como marcador a fenolsulfonftaleína (Merck), na concentração de 6 mg/100ml (BELANGERO, 1989). Ambas as refeições de prova foram administradas por via orogástrica, no volume de 2 ml/100g peso corporal e na temperatura de aproximadamente 22°C.

4. Avaliação do Esvaziamento Gástrico

Previamente à avaliação do EG, os animais foram separados em gaiolas individuais e colocados sob jejum alimentar (durante aproximadamente 20 h) recebendo água *ad libitum*. A partir do início do procedimento do EG foi suspensa também a ingestão hídrica. Todos os experimentos de determinação do EG foram executados durante o período compreendido entre 13:00 e 16:00 h.

O EG foi avaliado medindo-se a retenção gástrica da refeição de prova. O método descrito por BELANGERO (1989) foi utilizado para obtenção do resíduo gástrico. No caso de qualquer dificuldade no processo de apreensão e intubação para administração

orogástrica da refeição de prova, o animal era descartado, independente do grupo experimental a que pertencia.

Em seguida, tem-se a descrição detalhada da técnica utilizada para determinação da retenção gástrica.

4.1. Técnica de Tubagem

As soluções foram infundidas através de sonda orogástrica. A sonda utilizada consistiu de uma haste de metal provida de luz central e uma oliva perfurada na extremidade distal, acoplada a uma seringa através de um cateter de polietileno (n° 6)(Figura 2). Após a imobilização do animal por um auxiliar, através da fixação da região interauricular, das patas traseiras e da cauda, mantendo-se cabeça e corpo alinhados, a sonda era introduzida até o estômago, cuja localização era indicada pela rápida queda de resistência à passagem da cárdia (Figura 3). O volume da solução era, então, infundido por gravidade, em aproximadamente 10 s, com o animal em posição vertical (Figura 4).

4.2. Prova de Esvaziamento Gástrico

Após a administração da refeição de prova, era retirada a sonda e os animais permaneciam em gaiolas (Grupo Controle) ou sob estresse (Grupo Estressado), até 1 min e 30 s antes de se completar o tempo total para avaliação da retenção gástrica. Neste momento, o animal era colocado numa campânula saturada com éter etílico (Rhodia), durante 1 min. Após este período, era introduzida novamente a sonda metálica, mantendo-se, se necessário, o animal anestesiado com inalação de éter através de um funil. O abdome era aberto no sentido longitudinal e o piloro pinçado 30 s após, com pinça hemostática (Figura 5).

O resíduo gástrico era aspirado e, a seguir, faziam-se quatro lavagens de 1 ml com água destilada, para retirada do marcador eventualmente remanescente. Por visualização direta da víscera, confirmava-se seu total esvaziamento; a sonda era, então, retirada e o animal sacrificado.

Este volume (resíduo mais lavagens) era transferido para uma proveta graduada e os instrumentos de aspiração (sonda e seringa) eram lavados 3 vezes, com aproximadamente 1 ml de água destilada por vez, e o volume também acrescentado à proveta. O volume total obtido era anotado (volume B).

A determinação da retenção gástrica foi efetuada pela técnica descrita por GUPTA & BRANS (1978). Foram tomados 2 ml do volume total recuperado e transferidos, em duplicata, para balões volumétricos de 10 ml, aos quais foram adicionados 5 ml de solução de fosfato trissódico (Merck) na concentração de 27,5 g/l. O volume final de 10 ml foi completado com água destilada. Para leitura padrão foi tomado 1ml de refeição de prova. As leituras foram feitas no fotocolorímetro Klett, utilizando-se filtro verde.

Para o cálculo da retenção gástrica utilizou-se a seguinte fórmula:

$$RG = \frac{B \times b \times 100}{A \times a \times 2}$$

onde,

A = Volume de refeição de prova infundido

B = Volume total recuperado

a = Leitura do padrão (refeição de prova)

b = Leitura do resíduo gástrico

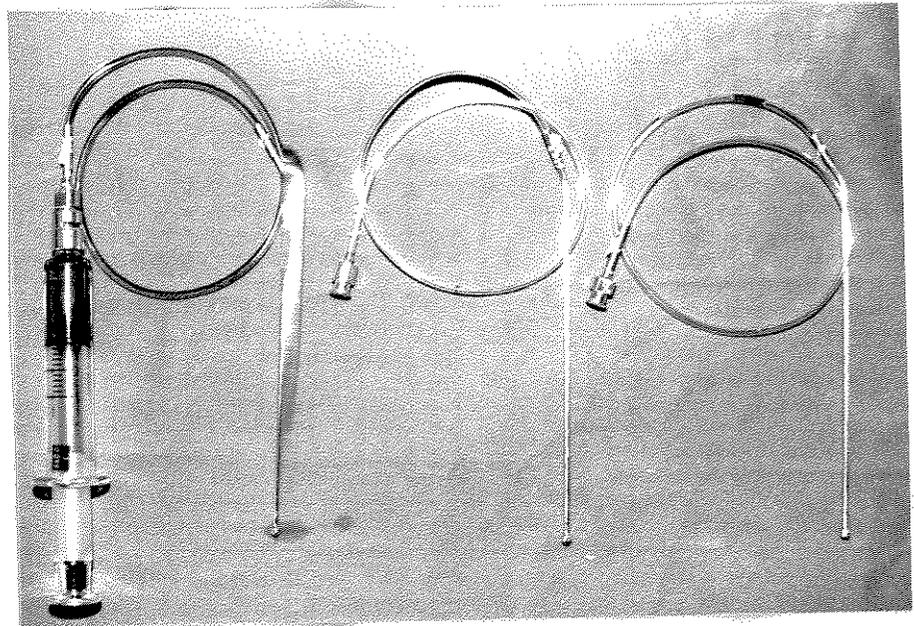


FIGURA 2 - Sondas utilizadas no processo de infusão orogástrica da refeição de prova.

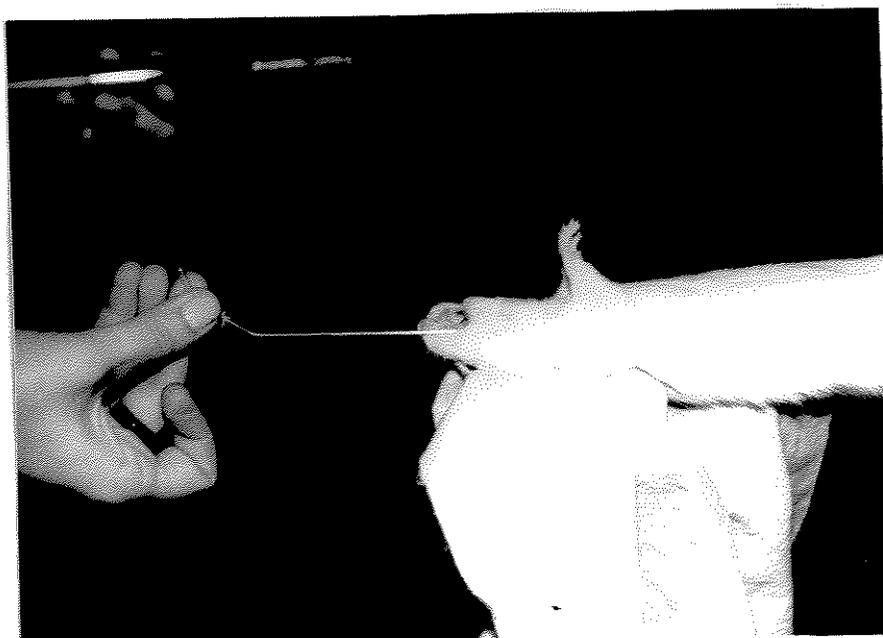


FIGURA 3 - Imobilização do animal para tubagem, segundo BELANGERO (1989).

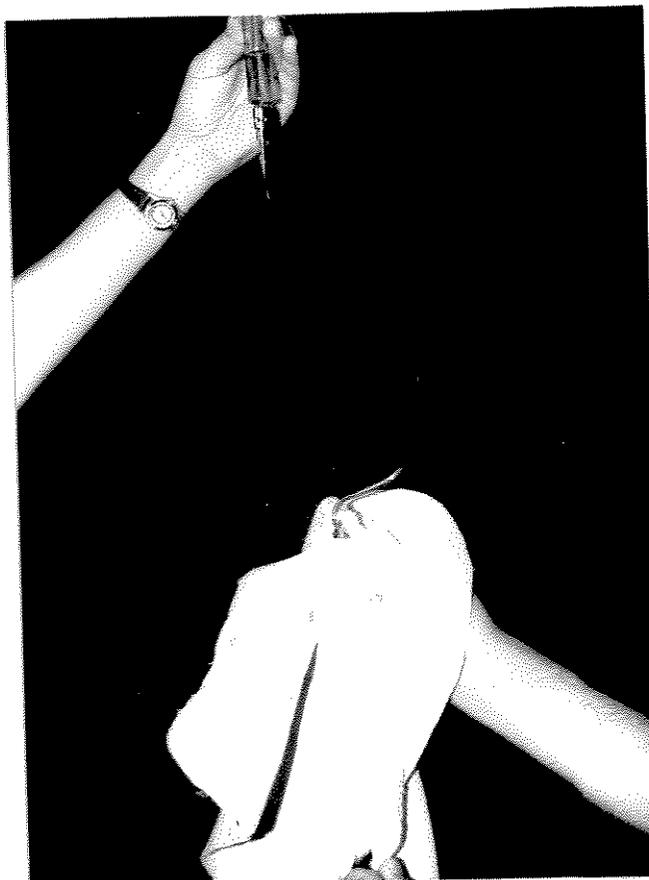


FIGURA 4 - Infusão intragástrica da refeição de prova (animal em posição vertical), segundo BELANGERO (1989).

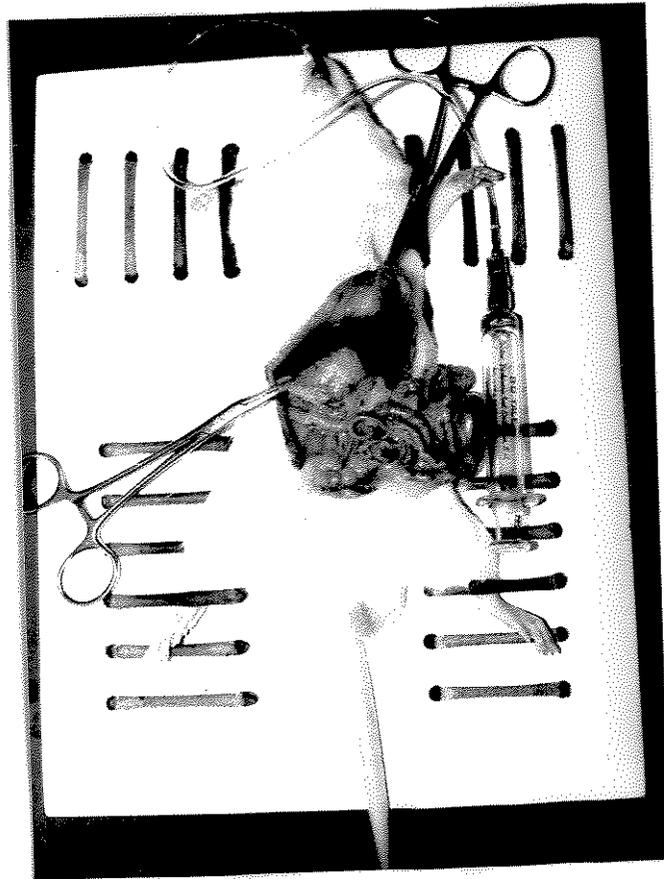


FIGURA 5 - Pinçamento do piloro e aspiração do resíduo gástrico, segundo BELLANGERO (1989).

5. Modelo de Estresse

Como mencionado anteriormente, os animais pertencentes ao grupo Estressado foram submetidos a estresse agudo de contenção ou contenção a frio. O aparelho utilizado para conter o rato consistiu de um tubo de PVC com as seguintes dimensões: 20,5 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro (Figura 6).

No procedimento experimental, o animal primeiramente recebia a refeição de prova via orogástrica e, então, era colocado imediatamente dentro do tubo de contenção (grupo Estressado). No grupo Controle, após o processo de intubação, o animal retornava à sua gaiola individual. Durante a experimentação, o animal sob estresse era transportado para outro local, a fim de se evitar interferência do procedimento sobre os animais controles. Os ratos do grupo Estressado, sujeitos a estresse de contenção, permaneceram num ambiente iluminado e temperatura ambiente. Por outro lado, os animais colocados em estresse de contenção a frio foram levados para um ambiente escuro com temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Transcorrido o tempo previamente definido, anestesiava-se o animal e aspirava-se o resíduo gástrico para determinação da retenção gástrica, como descrito no item 4.

No caso dos animais pertencentes ao grupo Estressado, eles eram retirados do tubo de contenção e imediatamente colocados sob anestesia (1 min e 30 s antes do tempo estabelecido para a avaliação da RG) à semelhança dos animais Controle.

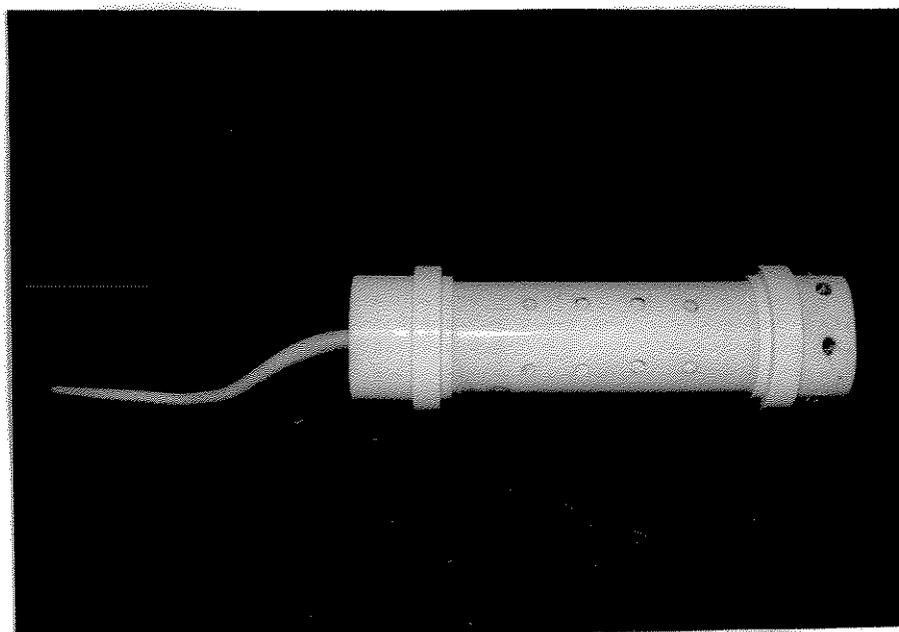


FIGURA 6 - Tubo de contenção utilizado para submeter os animais ao estresse.

6. Dosagem de Corticosterona

Animais controles e os submetidos a estresse de contenção a frio por 28min e 30 s, sob jejum de \pm 20 h e sem intubação prévia para administração de refeição de prova, foram sacrificados por decapitação em guilhotina, num tempo máximo de manuseio de 30 s. As amostras de sangue permaneceram à temperatura de 37°C durante aproximadamente 2 h e, então, foram centrifugadas a 2000 rpm, por 10 min. O soro obtido foi estocado a -20°C até o momento da dosagem. Corticosterona circulante ($\mu\text{g}/\text{dl}$) foi determinada por radioimunoensaio, utilizando-se kit comercial para hormônio de rato e camundongo (RSL - ^{125}I Corticosterone kit - Radiossay System Laboratories, INC - Carson, CA, USA).

O estômago dos animais de ambos os grupos (Controle e Estressado) foi também retirado e colocado em solução de NaCl 0,9 %, para uma observação imediata. Após uma incisão longitudinal na porção da curvatura maior do estômago, foi feita uma análise macroscópica sob lupa (Carl Zeiss) da mucosa gástrica.

7. Pré-tratamento com Cimetidina.

Animais estressados e controles, recebendo refeição de prova de glicose 5 % ou bicarbonato 0,25 M, foram pré-tratados intraperitonealmente com cimetidina (Ulcedine 300, injetável, FARMASA) nas doses de 10 e 50 mg/kg de peso corporal, 1 h antes da administração da refeição de prova. A droga foi injetada num volume de 0,25 ml/100g de peso corporal. Como mencionado anteriormente, o grupo Simulado recebeu previamente apenas injeção do veículo (NaCl 0,9 %), na mesma via e volume dos grupos anteriores.

8. Cirurgias

8.1. Secção do Nervo Vago.

O animal, sob anestesia com éter etílico (Rhodia), foi fixado a uma placa, em decúbito dorsal, após tricotomia e assepsia adequada da região abdominal. Foi feita, então, uma incisão longitudinal (cerca de 4 cm) no abdome, 1 cm abaixo do diafragma e à direita da linha mediana. Com a cavidade abdominal exposta, o estômago e esôfago eram localizados e, posteriormente, afastados dos outros órgãos e tecidos circunvizinhos. Adicionalmente, os vasos sanguíneos calibrosos, adjacentes ao esôfago e estômago, foram cuidadosamente afastados a fim de se evitar ruptura e sangramento durante a manipulação do órgão. Em seguida, os ramos anterior e posterior do nervo vago, a nível de esôfago, eram localizados, devidamente isolados e seccionados. Com a finalidade de impedir possível regeneração do nervo durante o período pós-operatório, foi feita também a retirada de 3 - 5 mm de ambos os ramos do vago, nas proximidades da porção fúndica do estômago.

Finalizado o processo de vagotomia, fez-se separadamente a sutura do tecido muscular e cutâneo e, posteriormente, administrou-se intramuscularmente Pentabiótico Veterinário (Fontoura-Wyeth; dose 0,2 ml/animal) na coxa do animal. Os ratos do grupo Simulado foram submetidos também à intervenção cirúrgica, no entanto, o nervo vago foi mantido intacto. Depois da cirurgia, os animais eram colocados em gaiolas individuais, recebendo tratamento oral com Terramicina (Pfizer) durante 7 dias. Após esse período, os animais, vagotomizados ou não, foram transportados para o laboratório e colocados em gaiolas coletivas (10 animais), permanecendo lá até o momento do teste de EG. O intervalo de tempo entre a intervenção cirúrgica e o teste de EG foi de 13 - 16 dias.

8.2. Lesão eletrolítica do Núcleo Paraventricular.

Sob anestesia com éter etílico (Rhodia), o animal foi fixado ao aparelho estereotáxico (modelo Kopf) e, após tricotomia e assepsia adequada, fez-se uma incisão longitudinal na pele, expondo a calota craniana. O Bregma, cruzamento entre as suturas coronal e sagital, foi tomado como ponto de referência para a demarcação das coordenadas estabelecidas pelo atlas estereotáxico de PAXINOS & WATSON (1986). As coordenadas utilizadas para localização do núcleo paraventricular do hipotálamo foram: Barra Incisória 2,0 mm abaixo do plano interauricular; 1,3 mm posterior ao Bregma; 0,3 mm lateral à linha mediana (bilateralmente) e 8,0 mm abaixo da superfície da dura-máter. A lesão bilateral do NPV foi obtida pela introdução de um eletrodo de aço inoxidável, segundo a orientação citada acima, e a passagem de uma corrente de 2 mA durante 10 s. Os ratos pertencentes ao grupo Simulado tiveram a introdução estereotáxica do eletrodo a 2 mm acima do NPV, sem a passagem da corrente. Após a retirada do eletrodo, a incisão foi suturada e o animal recebeu injeção intramuscular de Pentabiótico Veterinário (dose 0,2 ml/animal). À semelhança daqueles submetidos à vagotomia, os animais foram tratados individualmente com Terramicina via oral durante 7 dias e, a seguir, transportados para o laboratório onde permaneceram em gaiolas coletivas até o momento do experimento. O intervalo de tempo entre a intervenção cirúrgica e o teste do EG foi de 13 - 17 dias.

9. Análise Histológica.

Ao final dos experimentos com lesão do NPV, os cérebros dos animais simulados, controles e estressados foram cuidadosamente retirados e colocados em solução de formalina (Merck) tamponada e sacarose (Merck) 10 % (p/v). Após pelo menos 7 dias, com auxílio de um criostato (Leitz - Histokryotom), eram realizados os cortes histológicos,

com 50 μ de espessura, posteriormente corados em Hematoxilina-Eosina. O local e extensão da lesão foram meticulosamente determinados pelo exame das lâminas ao microscópio óptico (Carl Zeiss).

10. Análise Estatística.

Os pares de dados foram analisados estatisticamente através da prova de "U" de Mann-Whitney (SIEGEL, 1979). Na comparação, entretanto, dos diferentes grupos experimentais (Simulado, Controle e Estressado) após pré-tratamento ou intervenção cirúrgica foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1979). Constatada diferença significativa, esta análise foi complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas (LEACH, 1979). O nível de significância foi fixado em 5 %, numa prova bilateral.

Resultados

1. Etapa 1 - Modelo Experimental de Estresse.

A Figura 7 e Tabela II (em apêndice) mostram o efeito do estresse de contenção (A) e de contenção a frio (B) sobre a retenção gástrica de uma solução de glicose 5 % em ratos, avaliada aos 30 min. O estresse de contenção não induziu nenhuma alteração significativa da retenção gástrica dessa refeição de prova; as medianas obtidas da RG do grupo Controle e Estressado foram respectivamente 23,7 % e 22,7 %. Por outro lado, os animais submetidos a estresse de contenção a frio (4°C) apresentaram um aumento estatisticamente significativo da RG em relação ao seu grupo Controle ($p < 0,05$).

Quanto ao efeito do estresse sobre o nível de corticosterona, o estresse de contenção a frio, durante o mesmo período de tempo estabelecido para os animais acima citados, provocou um aumento de aproximadamente 370 % no nível sérico desse hormônio ($p < 0,05$)(Tabela I). O grupo Controle apresentou um nível médio de corticosterona de 24,9 $\mu\text{g}/\text{dl}$, enquanto que no grupo Estressado, a média dos valores foi de 117,1 $\mu\text{g}/\text{dl}$. A análise macroscópica da mucosa gástrica em ambos os grupos não revelou qualquer formação ulcerativa nos animais submetidos a esse tipo de estresse.

Na Figura 8 e Tabelas II e III (em apêndice), são apresentados os valores individuais de RG da solução de glicose 5 % avaliada aos 10, 20 e 30 min, em ambos os grupos Controle e Estressado (contenção a frio). À semelhança do que ocorreu aos 30 min de experimentação, os animais estressados mostraram um aumento significativo da RG avaliada aos 20 min em relação ao seu grupo Controle ($p < 0,05$). Entretanto, apesar de próximo ao limite de significância ($0,05 < p < 0,10$, prova bilateral), o grupo Estressado não diferiu significativamente do grupo Controle quanto ao esvaziamento da refeição de prova de glicose no tempo de 10 min.

A partir, então, dos resultados obtidos nessa fase do estudo, foi estabelecido o estresse de contenção a frio (4°C) como modelo experimental a ser adotado nas etapas posteriores.

TABELA I - Valores individuais dos níveis séricos de corticosterona de ambos os grupos Controle e Estressado. Os animais do grupo Estressado foram submetidos ao estresse de contenção a frio (4°C) durante 28 min e 30s. Legenda: \bar{X} = média; DP = desvio padrão; Med = mediana. * $p < 0,05$ Controle x Estressado

| Grupos | | | |
|-----------|-----------------------------|------------|-----------------------------|
| Controle | | Estressado | |
| Animal | Corticosterona | Animal | Corticosterona |
| (n°) | ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | (n°) | ($\mu\text{g}/\text{dl}$) |
| 1 | 7,5 | 11 | 118,1 |
| 2 | 12,4 | 12 | 128,1 |
| 3 | 49,4 | 13 | 97,6 |
| 4 | 33,8 | 14 | 93,8 |
| 5 | 40,0 | 15 | 113,1 |
| 6 | 23,9 | 16 | 90,0 |
| 7 | 6,8 | 17 | 152,1 |
| 8 | 12,4 | 18 | 121,9 |
| 9 | 39,5 | 19 | 115,5 |
| 10 | 23,9 | 20 | 140,7 |
| \bar{X} | 24,9 | | 117,1 |
| DP | 15,1 | | 20,0 |
| Med | 23,9 | | 116,8 |

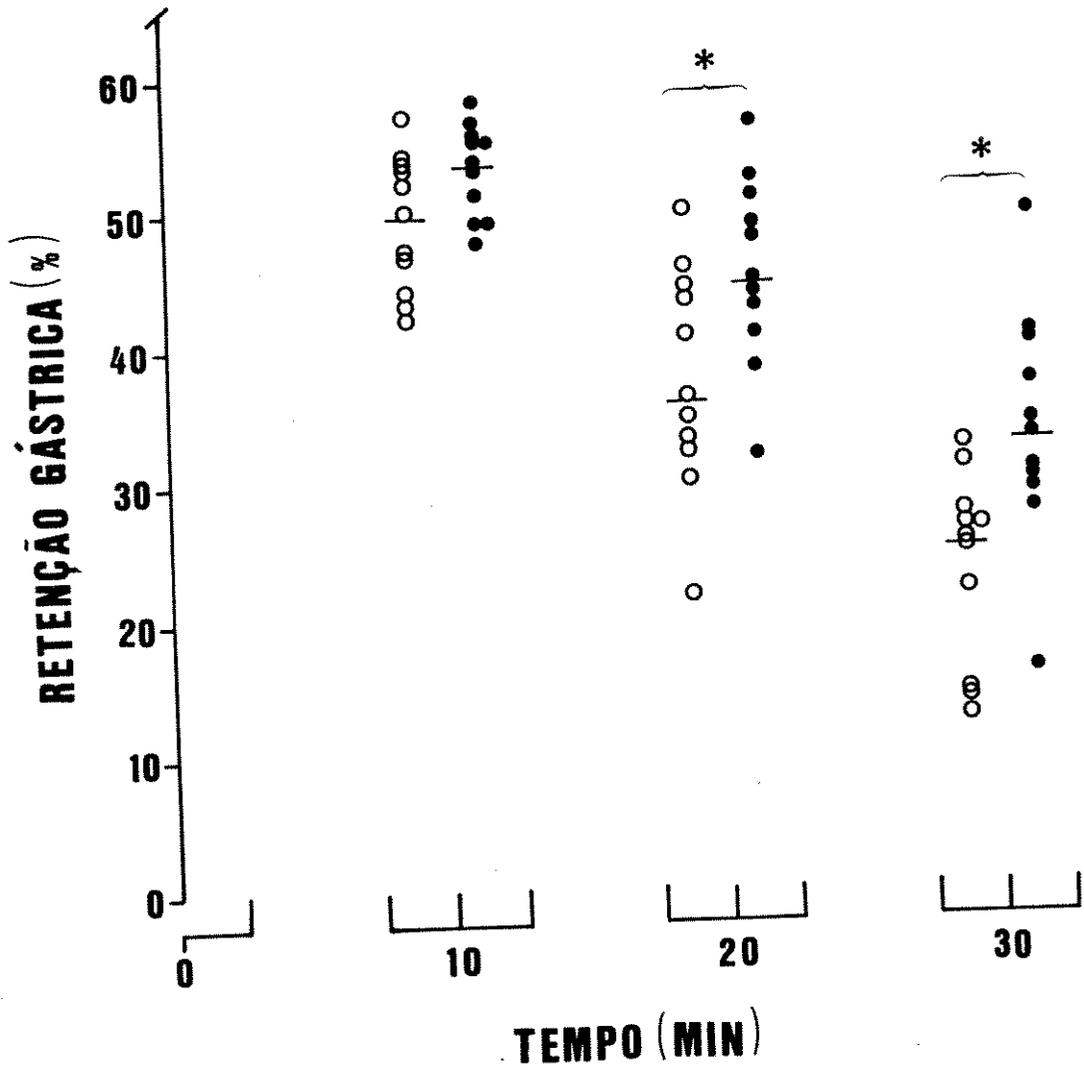


FIGURA 8 - Retenção gástrica aos 10, 20 e 30 min após administração intragástrica da solução de *Glicose* 5 %, sob estresse de contenção a frio (Grupo Estressado ●) ou não (Grupo Controle ○). Os pontos correspondem aos valores individuais; as barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

2. Etapa 2 - Envolvimento da secreção ácida na alteração da RG induzida pelo estresse.

Nessa etapa foram testados dois tipos diferentes de refeição de prova: solução de glicose 5 % e bicarbonato de sódio 0,25 M, com ou sem administração prévia de cimetidina.

Quanto ao efeito do estresse de contenção a frio sobre a retenção gástrica de uma solução de bicarbonato 0,25 M, a Figura 9 e Tabela IV (em apêndice) mostram que os animais estressados exibiram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) da RG, avaliada aos 10 min, em relação aos animais pertencentes ao grupo Controle.

Esse esvaziamento gástrico mais rápido da solução de bicarbonato, observado nos animais estressados, foi parcialmente inibido pelo pré-tratamento com cimetidina na dose de 10 mg/kg (Figura 10 e Tabela V, colocada em apêndice). Embora exista uma tendência de o grupo Estressado (Mediana 19,7 %) apresentar uma RG menor que a do grupo Controle (Mediana 33,7 %), esta não se mostrou significativa após aplicação do teste estatístico. Adicionalmente, o grupo Simulado, que recebeu injeção ip de soro fisiológico sob mesmo esquema que a cimetidina, não diferiu estatisticamente quanto à RG da refeição de prova, aos 10 min, em relação ao grupo Controle pré-tratado (Figura 10) e àquele não sujeito a qualquer pré-tratamento (Figura 9).

Por outro lado, cimetidina na dose de 50 mg/kg bloqueou eficientemente a alteração do esvaziamento de bicarbonato induzida pelo estresse (Figura 11 e Tabela VI, colocada em apêndice). Os animais sujeitos a estresse de contenção a frio apresentaram RG dessa refeição de prova praticamente idêntica a dos animais não estressados. Contudo, ambos os grupos Controle e Estressado diferiram estatisticamente do grupo Simulado ($p < 0,05$) apresentando um aumento da RG em relação ao último grupo.

Em adição, não houve diferença significativa quanto à retenção gástrica da solução de bicarbonato entre o grupo Simulado (Figura 11) e o grupo Controle sem pré-tratamento (Figura 9).

O pré-tratamento com cimetidina na dose de 10 mg/kg ip, 1 h antes da administração intragástrica da solução de glicose 5 %, não bloqueou o retardo do esvaziamento gástrico provocado pelo estresse de contenção a frio, no tempo de 30 min (Figura 12 e Tabela VII, colocada em apêndice). O grupo Controle e Estressado, ambos recebendo cimetidina, mostraram-se estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), sendo que os animais estressados continuaram a apresentar um aumento da RG em relação aos animais controles. Semelhantemente aos dados anteriores, o grupo Simulado não diferiu estatisticamente quanto à avaliação da RG da refeição de prova, aos 30 min, em relação ao grupo Controle pré-tratado (Figura 12) e àquele não sujeito a qualquer pré-tratamento (Figura 8).

Por outro lado, não foi constatada diferença estatística entre o grupo Controle e Estressado no que se refere à RG, aos 30 min, da solução de glicose após pré-tratamento com cimetidina na dose de 50 mg/kg (Figura 13 e Tabela VIII, colocada em apêndice). Entretanto, ambos os grupos experimentais apresentaram um aumento significativo da retenção gástrica ($p < 0,05$) em relação aos animais do grupo Simulado, nos quais injetou-se soro fisiológico ao invés da droga. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo Simulado (Figura 13) e o grupo Controle, cujos animais não receberam injeção ip de qualquer solução (Figura 8).

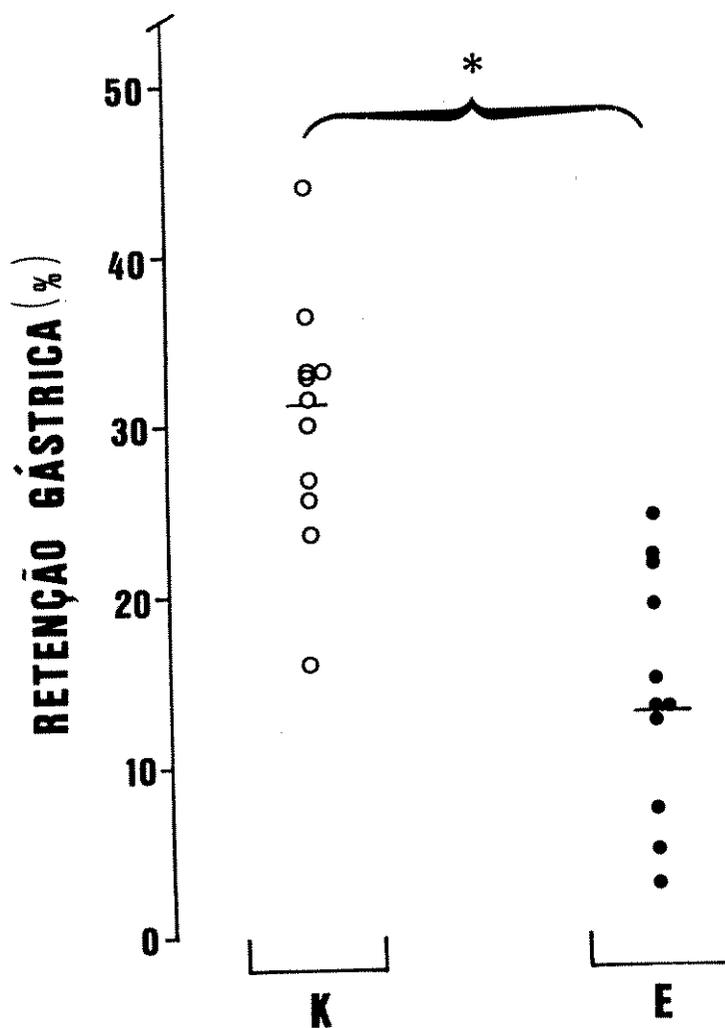


FIGURA 9 - Efeito do estresse de contenção a frio sobre a retenção gástrica, aos 10 min, da solução de *Bicarbonato 0,25 M*. Os pontos correspondem aos valores individuais de ambos os grupos Controle (K) e Estressado (E). As barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

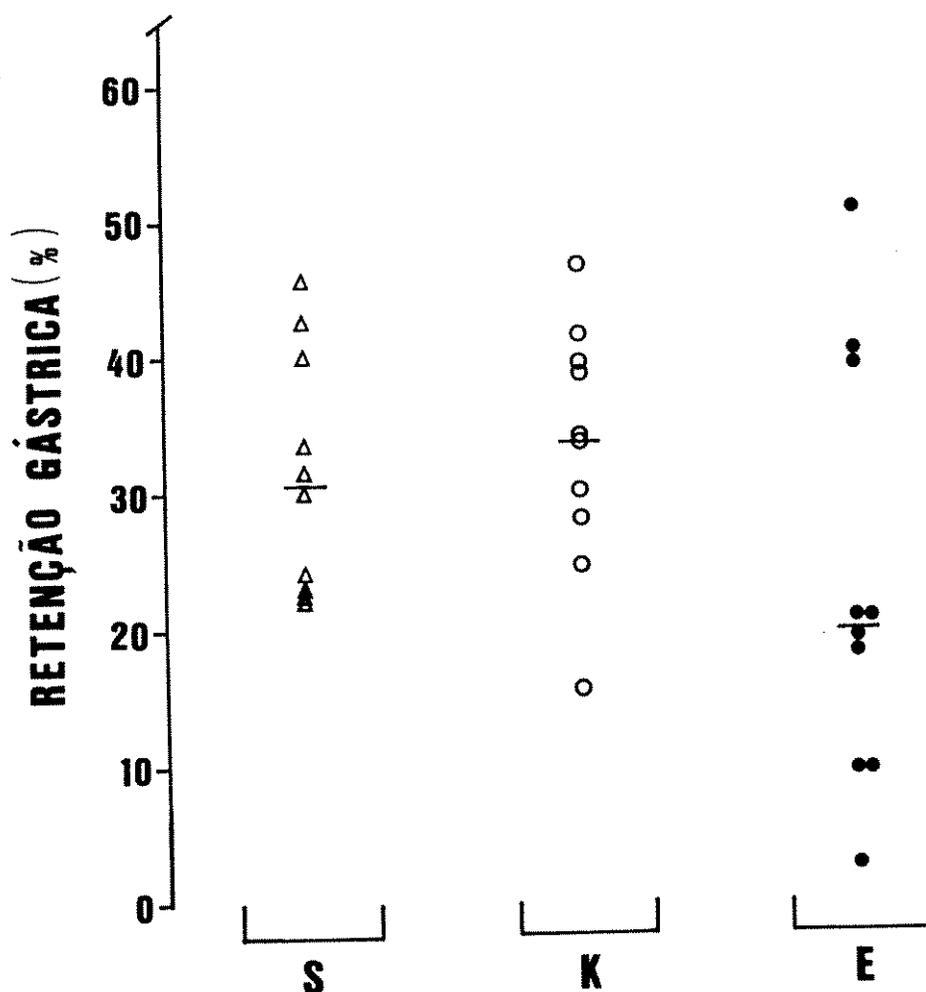


FIGURA 10 - Efeito do pré-tratamento com *Cimetidina* (10 mg/kg) sobre a ação do estresse (contenção a frio) na retenção gástrica da solução de *Bicarbonato* 0,25 M, avaliada aos 10 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupos Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E). As barras horizontais indicam as medianas.

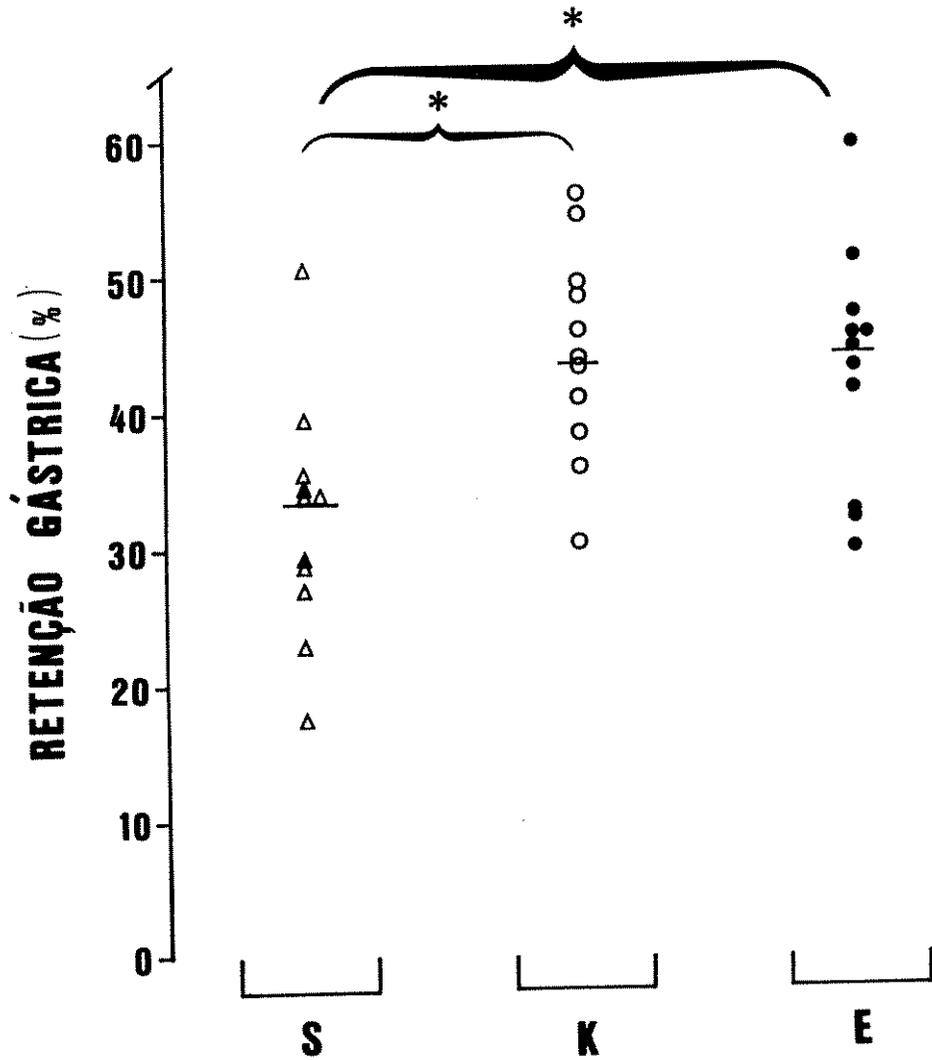


FIGURA 11 - Efeito do pré-tratamento com *Cimetidina* (50 mg/kg) sobre a ação do estresse (contenção a frio) na RG da solução de *Bicarbonato* 0,25 M, avaliada aos 10 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupos Simulado (S), Controle (K) e Estressado (E). As barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

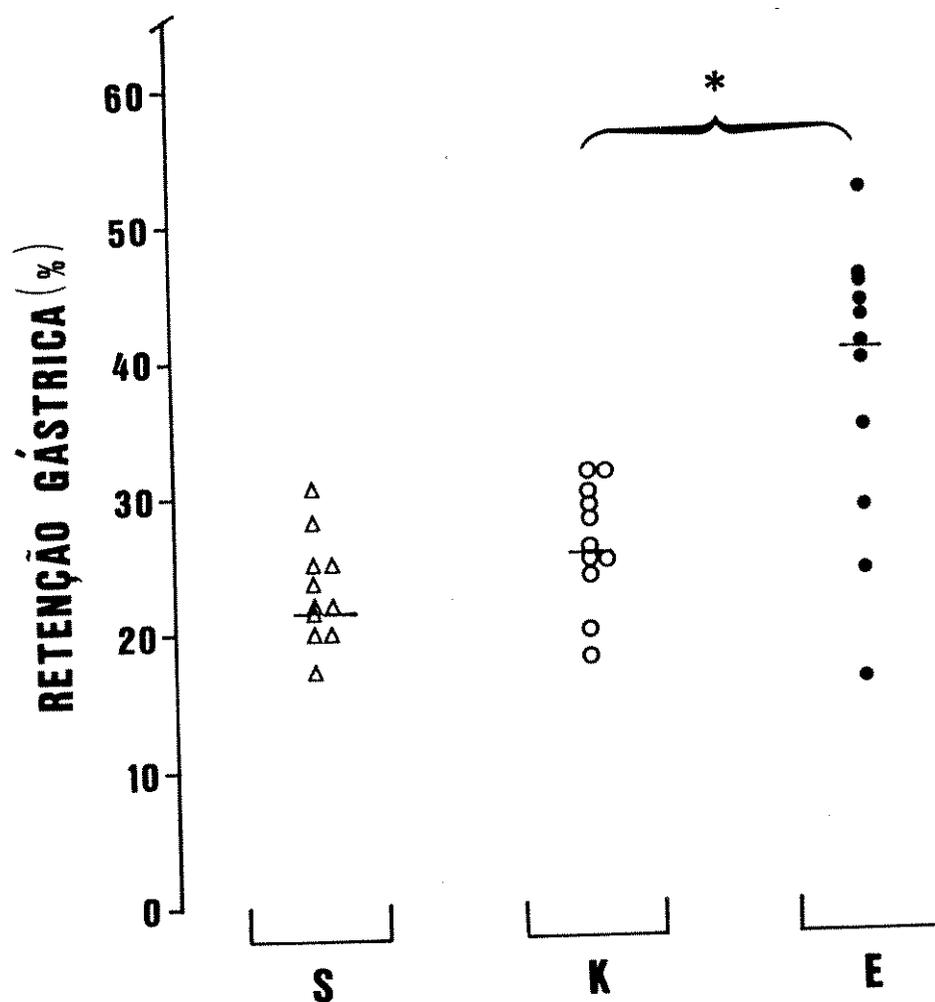


FIGURA 12 - Efeito do pré-tratamento com *Cimetidina* (10 mg/kg) sobre a ação do estresse (contenção a frio) na retenção gástrica da solução de *Glicose* 5 %, avaliada aos 30 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupo Simulado (S) Controle (K) e Estressado (E). As barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

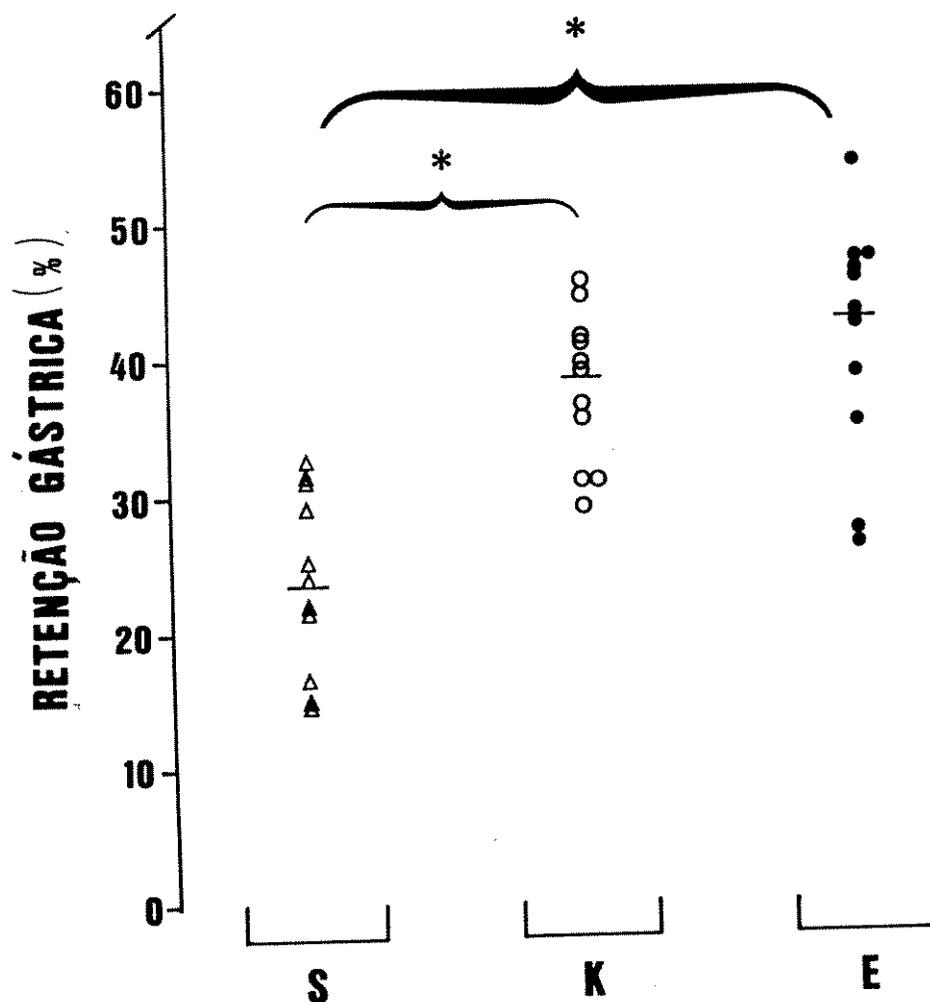


FIGURA 13 - Efeito do pré-tratamento com *Cimetidina* (50 mg/kg) sobre a ação do estresse (contenção a frio) na retenção gástrica da solução de *Glicose* 5 %, avaliada aos 30 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupos Simulado (S) Controle (K) e Estressado (E). As barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

3. Etapa 3 - Envolvimento do Sistema Nervoso na alteração da RC induzida pelo estresse.

3.1. Vagotomia

Em virtude de complicações surgidas após cirurgia de secção do nervo vago, aproximadamente metade dos animais foram excluídos do experimento. Dos 52 animais inicialmente vagotomizados, 28 animais apresentaram perda de peso no período pós-operatório e, ao ser feita necrópsia, foi constatado intenso comprometimento do trânsito gastrointestinal, com conseqüente acúmulo de alimento sólido no interior do estômago (gastroparesia), mesmo após jejum de 20 h. Esses animais foram desprezados, pela impossibilidade de ser feita a prova de esvaziamento gástrico.

A Figura 14 e Tabela IX (em apêndice) mostram o efeito da secção do nervo vago sobre o esvaziamento gástrico da solução de glicose 5 %. A vagotomia bloqueou totalmente a ação do estresse de contenção a frio (4°C) sobre a RG, avaliada aos 30 min, dessa refeição de prova; não foi constatada nenhuma diferença significativa entre os animais vagotomizados pertencentes ao grupo Controle e grupo Estressado. Quanto ao grupo Simulado, cujos animais sofreram a intervenção cirúrgica sem a secção do nervo, este não se mostrou estatisticamente diferente dos dois últimos grupos experimentais citados.

Por outro lado, apesar de os valores de RG desses três grupos apresentarem-se ligeiramente abaixo dos obtidos no grupo Controle não submetido à cirurgia (Figura 8), essa diferença não foi estatisticamente significante.

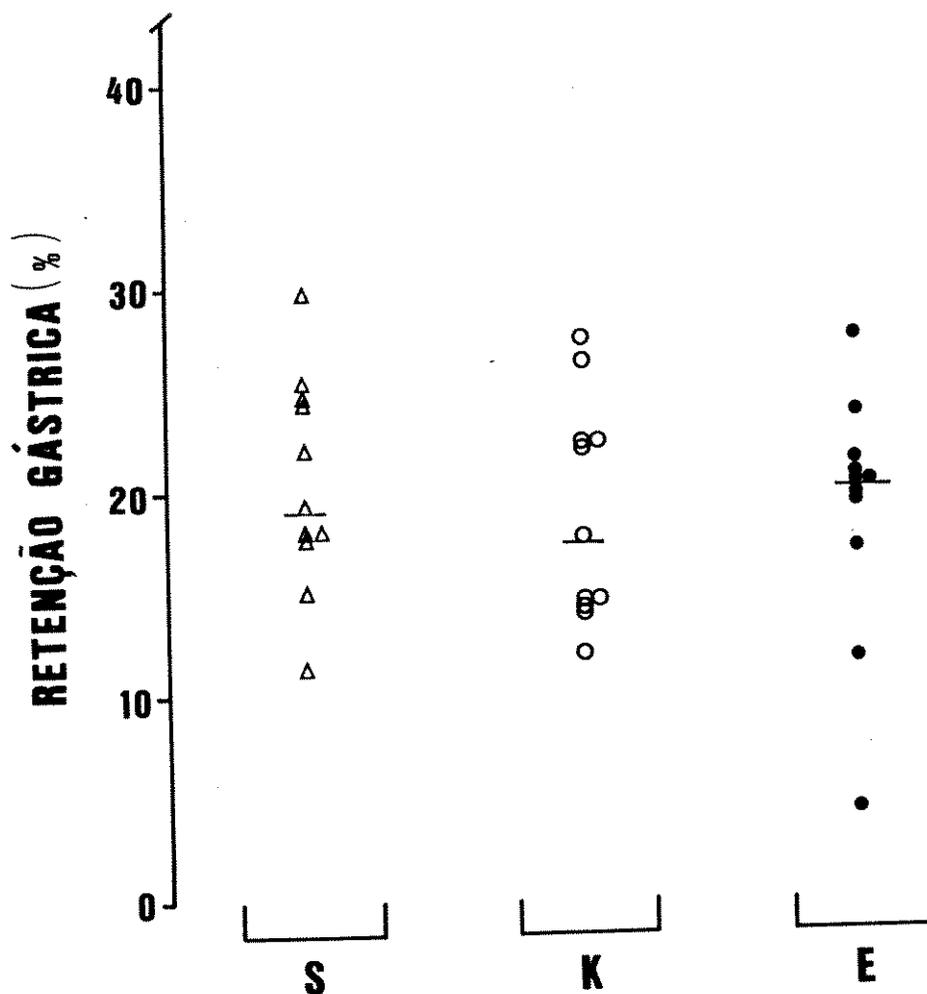


FIGURA 14 - Efeito da secção do nervo vago sobre a ação do estresse (contenção a frio) na retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %*, avaliada aos 30 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupos Simulado (S), Controle (vagotomizado) (K) e Estressado (vagotomizado) (E). As barras horizontais indicam as medianas.

3.2. Lesão do Núcleo Paraventricular

3.2.1. Avaliação Histológica das Lesões

A Figura 16 apresenta uma fotomicrografia da lesão padrão do NPV adotada no presente trabalho, onde houve destruição total de ambas as regiões magno e parvocelular do núcleo (Figura 15). As lesões que atingiram 100 % da região parvocelular mas parcialmente a magnocelular do núcleo também foram consideradas.

Em alguns casos houve também comprometimento parcial de regiões circunvizinhas ao NPV, como o núcleo reuniens do tálamo, área do hipotálamo anterior e núcleo periventricular (principalmente na região do núcleo paraventricular). Em três animais do grupo Controle e três do grupo Estressado houve destruição unilateral do fórnix.

3.2.2. Efeito da Lesão

Como mostram a Figura 17 e Tabela X (em apêndice), a lesão do núcleo paraventricular não somente inibiu o retardamento do esvaziamento gástrico induzido pelo estresse, mas observou-se também um comportamento inverso dos animais lesados estressados em relação aos do grupo Controle, também submetidos à lesão do núcleo. O grupo Estressado apresentou uma retenção gástrica da solução de glicose (Mediana 24,4 %) relativamente menor que seu grupo Controle (Mediana 29,2 %), porém não estatisticamente significativa ($0,05 < p < 0,10$, prova bilateral). Por outro lado, os animais Controle mostraram um aumento significativo da RG ($p < 0,05$) em relação aos animais que sofreram cirurgia simulada, enquanto que não foi observada diferença entre o grupo Estressado e o grupo Simulado. Adicionalmente, os animais pertencentes a esse grupo Simulado (Figura 17) não diferiram estatisticamente, quanto à RG aos 30 min da solução de glicose, em relação ao grupo Controle que não sofreu intervenção cirúrgica (Figura 8).

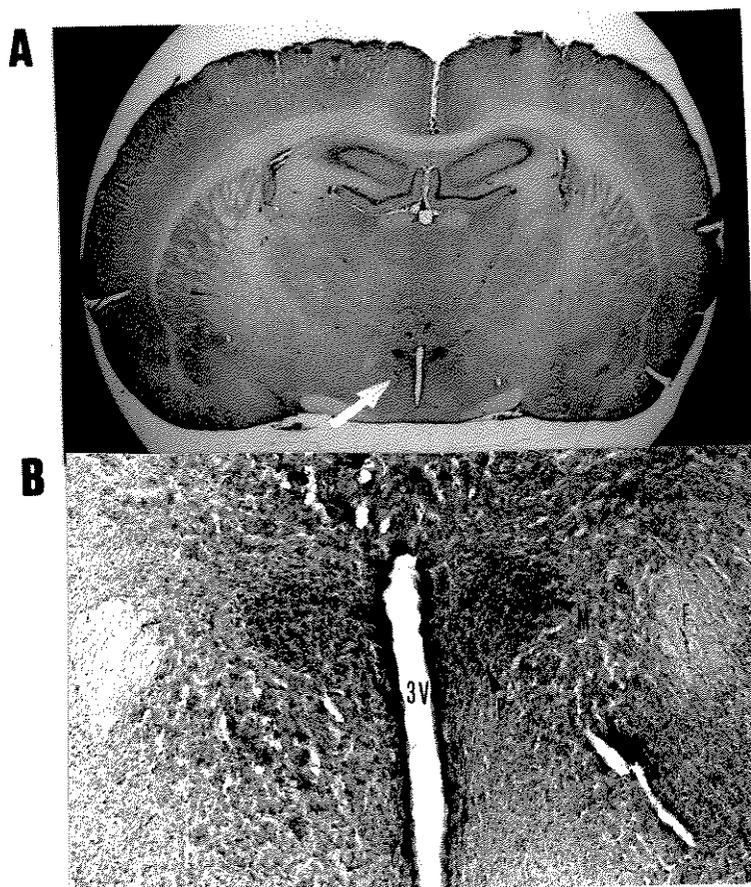


FIGURA 15 - Fotomicrografia do núcleo hipotalâmico paraventricular nos aumentos 6x (A) e 41x (B). Coloração H.E.. Legendas : M = região magnocelular; P = região parvocelular; F = fórnix; 3V = 3º ventrículo.

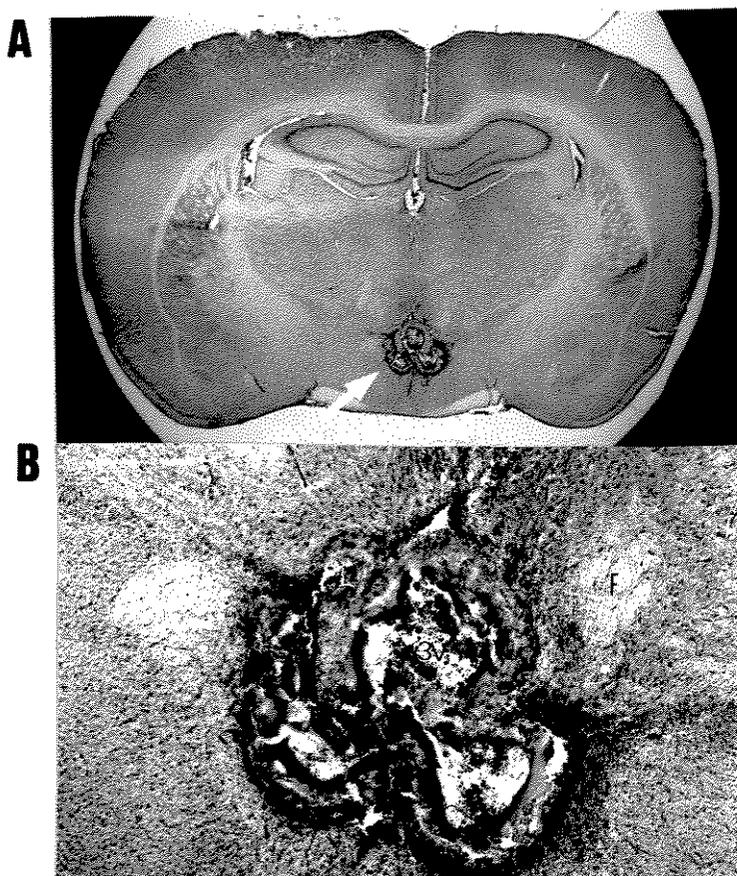


FIGURA 16 - Fotomicrografia de uma lesão padrão do núcleo hipotalâmico paraventricular nos aumentos 6x (A) e 41x (B). Coloração H.E.. Legendas : F = fórnix; 3V = 3º ventrículo.

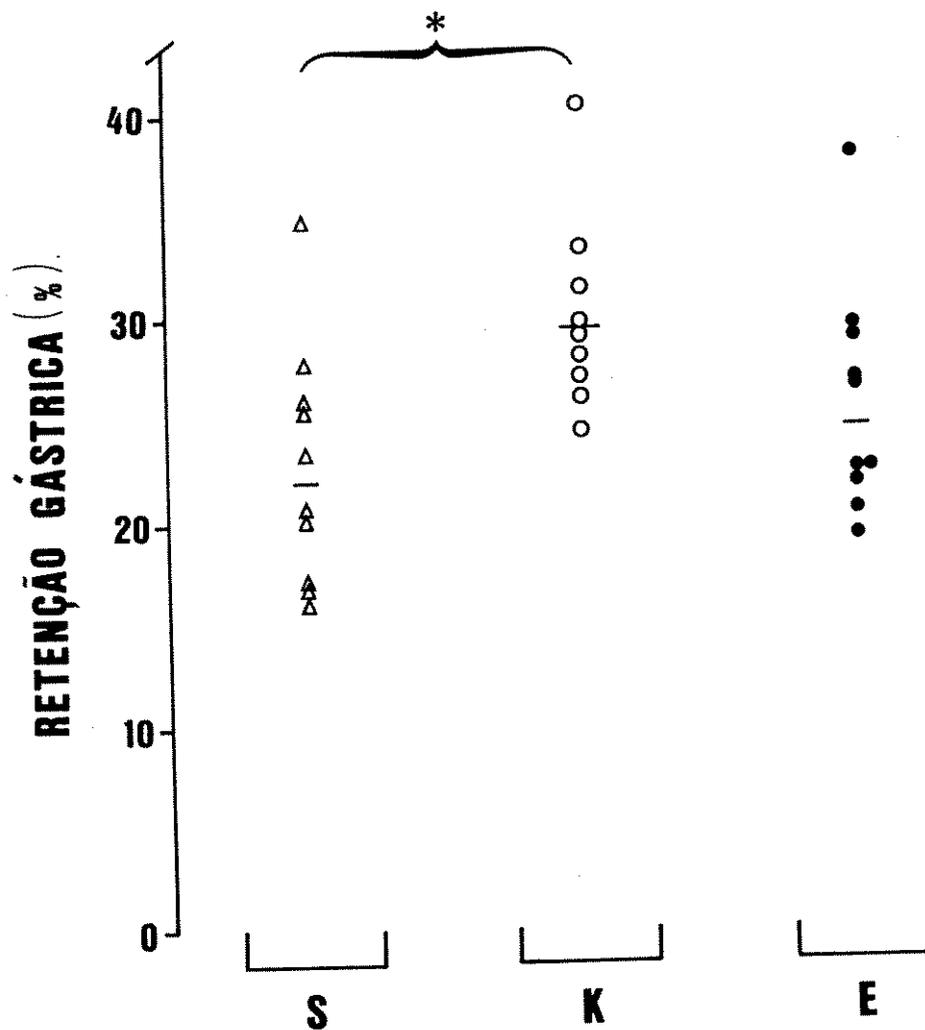


FIGURA 17 - Efeito da lesão do núcleo hipotalâmico paraventricular sobre a ação do estresse (contenção a frio) na retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %*, avaliada aos 30 min. Os pontos correspondem aos valores individuais dos grupos Simulado (S), Controle (lesado) (K) e Estressado (lesado) (E). As barras horizontais indicam as medianas.

* $p < 0,05$

Discussão

No presente estudo, o estresse de contenção a frio induziu um retarde significativo do EG de uma solução de glicose 5 % em ratos machos, sem causar, contudo, ulceração da mucosa gástrica. Por outro lado, os valores de RG dos animais sujeitos somente à contenção física foram praticamente idênticos aos obtidos no grupo Controle (Figura 7).

Segundo esses dados, o estresse de contenção, por si só, parece não se constituir num fator importante para a indução das alterações do EG. Tal constatação, entretanto, diverge consideravelmente das observações feitas por LENZ et. al. em 1988. Esses autores mostraram que a contenção parcial (mobilização do tronco) produziu, em ratos machos, significativo decréscimo do EG de uma solução de NaCl 0,15 M, além de reduzir ambos, a secreção de ácido pelo estômago e o trânsito do intestino delgado e, concomitantemente, provocar estimulação da motilidade do intestino grosso.

Embora possa ser alegado que os resultados do presente estudo e os observados por LENZ et. al. (1988) não são passíveis de comparação em virtude das diferenças no tipo de estresse de contenção testado e na qualidade e volume da refeição de prova empregada, algumas considerações podem ser feitas com o intuito de se explicar a ausência de resposta observada em nossos animais frente à contenção. É amplamente conhecido que a simples manipulação (WAKABAYASHI, ARIMURA & SCHALLY, 1971), ou mesmo a transferência ou transporte do animal de um lugar a outro, dentro do próprio laboratório, (KRULICH et. al., 1974) pode constituir-se *per se* em situações estressantes e resultar em respostas hormonais típicas do estresse. Particularmente no trabalho de LENZ et. al. (1988), em contraposição ao presente estudo, a manipulação dos animais foi mínima durante o teste de esvaziamento desde que a refeição de prova foi infundida através de um cateter intragástrico, exteriorizado no dorso do animal e implantado previamente (7-11 dias antes do experimento). Portanto, é possível sugerir que o próprio manejo dos nossos animais, em especial durante o processo de intubação, foi suficien-

temente estressante ao ponto de ter mascarado o efeito do estresse experimental de contenção sobre o EG.

Quanto à contenção a frio, este estresse, em adição a seu efeito sobre o EG, mostrou-se eficiente em promover aumento considerável do nível plasmático de corticosterona, hormônio classicamente descrito como importante mediador das respostas fisiológicas a uma variedade de condições estressantes (AXELROD & REISINE, 1984) (Tabela I). Contenção a frio (4°C) tem sido freqüentemente utilizada como modelo experimental nas investigações sobre a fisiopatogenia da úlcera gástrica (SENAY & LEVINE, 1967; ROBERT & KAUFFMAN, 1983; MURAKAMI et. al., 1985), sendo, no entanto, raros os trabalhos empregando semelhante modelo para o estudo de outras disfunções gastrointestinais induzidas pelo estresse.

KOO, OGLE & CHO (1985), recentemente, verificaram que ratos fêmeas, submetidos à contenção a frio, mostravam alterações trifásicas no EG de uma suspensão de resina. As fases inicial e final do esvaziamento foram significativamente diferentes em relação aos animais controles, sendo rápida nos primeiros 30 min e mais lenta no período de 2 a 3 h, respectivamente, enquanto que nenhuma alteração significativa foi observada no período intermediário. Entretanto, outros autores, empregando diversos modelos de estresse, têm constatado distintas modificações do esvaziamento, que incluem aumento (THOMPSON, RICHELSON & MALAGELADA, 1982 ; THOMPSON, RICHELSON & MALAGELADA, 1983; LENZ et. al., 1988), diminuição (BUÉNO & GUÉ, 1988) ou até mesmo nenhuma alteração da retenção gástrica (CANN et. al., 1983; WILLIAMS et. al., 1987), em inúmeras espécies de animais. A utilização de tipos diferentes de estresse, o que possivelmente resulta em diferentes respostas fisiológicas por parte do sistema gastrointestinal, envolvendo vias hormonais e/ou nervosas distintas, pode explicar as discrepâncias observadas entre os resultados descritos em alguns dos trabalhos

acima citados e os do presente estudo. Além do mais, diferenças quanto ao sexo, espécies de animais, bem como a qualidade e volume das refeições de prova utilizadas e formas de avaliação do EG devem também ser consideradas na interpretação desses resultados divergentes.

Estabelecido um modelo adequado para a realização deste estudo, a etapa subsequente objetivou determinar quais seriam os fatores responsáveis pela alteração observada.

Um retarde do processo de EG retrata um comprometimento da atividade normal contráctil gastroduodenal (READ & HOUGHTON, 1989), que pode ter origem no próprio estômago ou a partir do conhecido controle intestinal existente sobre a motilidade gástrica. HUNT & KNOX, em 1969 e 1972, relataram a propriedade de diferentes ácidos em reduzir significativamente o esvaziamento, quando adicionados à refeição de prova. Segundo esses autores, este efeito seria mediado por receptores duodenais, sensíveis à concentração de ácido, os quais desencadeariam uma resposta inibitória bloqueando a atividade peristáltica do estômago e aumentando a resistência do duodeno ao fluxo proveniente do estômago. Alguns trabalhos têm sugerido que eventos estressantes, quer sejam experimentais ou não, resultam em hipersecreção gástrica de ácido clorídrico (BRODIE, MARSHALL & MORENO, 1962; KITAGAWA, FUJIWARA & OSUMI, 1979; PETERS & RICHARDSON, 1983; MURAKAMI et. al. 1985), embora a idéia seja refutada por vários autores (MENGUY, 1960; GARRICK, BUACK & BASS, 1986; HAYASE & TAKEUCHI, 1986). Seguindo essa linha de raciocínio, na Etapa 2 do presente trabalho, procuramos verificar se o aumento da RG, induzido pelo estresse, era resultado de uma alteração motora secundária a uma elevação significativa da secreção de HCl pelo estômago. Para tal, esta etapa foi subdividida em duas fases: primeiramente foi realizado um teste de esvaziamento com uma solução de bicarbonato

0,25 M e, a seguir, pré-tratamento dos animais com cimetidina e posterior avaliação da retenção gástrica de ambas refeições, bicarbonato e glicose. O teste de esvaziamento do bicarbonato 0,25 M foi avaliado somente aos 10 min, pois aos 30 min o processo de esvaziamento desta solução está praticamente finalizado (BELANGERO, 1989).

BELANGERO (1989) demonstrou que o EG de uma solução de bicarbonato de sódio, na mesma concentração que a utilizada neste estudo, é mais rápida em situações onde ocorre aumento da secreção gástrica de ácido, como na acidose metabólica. Este mesmo autor sugeriu que tal alteração do ritmo de esvaziamento deve-se, principalmente, à reação do sal com o ácido clorídrico presente na luz do estômago, produzindo cloreto de sódio, água e dióxido de carbono. A produção deste gás (CO_2), por sua vez, levaria a um aumento da distensão gástrica e, desta forma, aceleraria o EG (BELANGERO, 1989). Portanto, a análise da RG de bicarbonato pode constituir-se num índice indireto da quantidade de HCl secretada pela mucosa gástrica. Os nossos dados a respeito do efeito do estresse de contenção a frio sobre a RG da solução de bicarbonato 0,25 M demonstram, indiretamente, que existe uma secreção de ácido aumentada nos animais submetidos ao estresse, pois estes apresentaram menor retenção desta refeição de prova no estômago em comparação ao seu grupo Controle (Figura 9).

Estabelecida, embora de forma indireta, a existência de uma hipersecreção ácida nos animais estressados, o passo seguinte foi verificar, nesse estudo, se o pré-tratamento com cimetidina era capaz de amenizar, total ou parcialmente, o efeito do estresse sobre o EG.

A cimetidina, uma potente droga bloqueadora específica de receptores histamínicos H_2 (DOUGLAS, 1985), foi administrada nas doses de 10 e 50 mg/kg de peso do animal, que reconhecidamente inibem a secreção gástrica de HCl, estimulada ou não, e protegem a mucosa do estômago contra a ulceração (GUTH, AURES & PAULSEN, 1979;

HAYASE & TAKEUCHI, 1986; GARRICK et. al., 1987). Como foi demonstrado, a administração dessa droga, em ambas as doses, preveniu significativamente o aceleração do EG de bicarbonato 0.25 M provocado pelo estresse de contenção a frio, confirmando sua eficácia no bloqueio da secreção ácida pelo estômago (Figuras 10 e 11). Porém, a dose menor (10 mg/kg) apresentou-se menos efetiva quanto a esta ação inibidora.

Analisando-se os resultados da RG da solução de bicarbonato do grupo Estressado, após a injeção de cimetidina 10 mg/kg, verifica-se uma ampla dispersão dos dados, os quais parecem estar agrupados em dois subgrupos distintos: um englobando valores de RG bem inferiores, e outro (3 animais) contendo dados superiores à mediana detectada no grupo Controle (Figura 10). Uma explicação plausível para tal observação seria que nos três animais, cuja secreção ácida não foi suficientemente estimulada pelo estresse, a cimetidina foi capaz de bloquear esse aumento de HCl dentro do estômago. Nestes casos, pela ausência de um excesso de ácido e, conseqüentemente, não transformação intragástrica dessa refeição de prova, a RG de bicarbonato dos animais estressados aproximou-se da do grupo Controle. Por outro lado, em ocasiões de hipersecreção ácida, o pré-tratamento com o bloqueador de receptor H_2 foi ineficaz, pelo menos parcialmente, resultando em aceleração do esvaziamento da solução de bicarbonato, provocado pela distensão gástrica induzida pela produção de CO_2 .

Por outro lado, quando investigamos o EG da solução de glicose 5 %, em condições idênticas de pré-tratamento, observamos um comportamento ligeiramente diferente ao observado com a solução de bicarbonato 0,25 M. A administração prévia de cimetidina na dose de 10 mg/kg foi totalmente ineficaz em prevenir o aumento, induzido pelo estresse, da RG de glicose (Figura 12). No entanto, à semelhança do ocorrido com a refeição de prova de bicarbonato, não foi constatada diferença entre os grupos Controle

e Estressado quanto à RG dessa solução, após pré-tratamento com a droga na maior dose testada (50 mg/kg) (Figura 13).

Ainda, um outro dado interessante constatado nesses experimentos de pré-tratamento foi a propriedade da cimetidina, na dose de 50 mg/kg, de induzir *per se* significativo aumento da RG, tanto de bicarbonato 0,25 M como de glicose 5 %, nos animais não expostos à contenção a frio (Figuras 11 e 13). Esta constatação está em concordância com trabalhos da literatura, onde tem sido descrito que vários bloqueadores H_2 provocam, em altas dosagens, diminuição do EG em roedores (BERTACCINI & SCARPIGNATO, 1982) e primatas (DUBOIS & CASTELL, 1986). O mecanismo de ação da cimetidina permanece presentemente desconhecido; entretanto, seu efeito anti-colinérgico (BERTACCINI & SCARPIGNATO, 1982) e anti-histamínico H_2 (DUBOIS & CASTELL, 1986; DUBOIS, NOMPLEGGI & CASTELL, 1988) têm sido apontados como possíveis responsáveis pela sua ação sobre o esvaziamento.

Conquanto os dados pareçam ser pouco conclusivos a respeito do envolvimento, ou não, da secreção ácida sobre o retarde do esvaziamento de glicose 5 % causado pela contenção a frio, algumas especulações sobre o assunto podem ser feitas. Caso uma hipersecreção ácida constituísse a causa primária do fenômeno observado, a dose de 10 mg/kg de cimetidina, a qual demonstrou ser suficiente para bloquear o aceleração do EG de bicarbonato (tomado como índice de secreção gástrica de ácido) (Figura 10), deveria também ter inibido a alteração do esvaziamento da solução de glicose induzido pelo estresse, embora deva-se ressaltar que os tempos avaliados para a RG de bicarbonato 0,25 M e EG de glicose 5 % foram diferentes. Por outro lado, a dose de 50 mg/kg de cimetidina parece ter, aparentemente, bloqueado o efeito do estresse sobre a RG de glicose (Figura 13), indicando um possível envolvimento da secreção ácida no processo. No entanto, a análise desses dados é problemática principalmente em função de essa

droga, por si só, ter induzido nessa dosagem diminuição do esvaziamento de ambas as refeições de prova testadas, nos animais controles. Em resumo, torna-se difícil, em virtude dos resultados obtidos, apontar de modo afirmativo a real importância da secreção ácida na alteração do EG constatada nesse estudo. No entanto, levando-se em consideração os dados de pré-tratamento com 10 mg/kg de cimetidina, pode-se sugerir que esse componente secretor provavelmente não desempenha um papel muito importante como determinante do retarde do esvaziamento de glicose observado no estresse. Todavia, estudos específicos (como a dosagem direta do conteúdo de ácido no estômago) e novos experimentos serão necessários para investigar o grau de envolvimento da secreção ácida nessa inibição do EG.

Os mecanismos de controle da secreção (JOHNSON, 1981) e da atividade motora (WEISBRODT, 1984) do estômago são complexos e envolvem o sistema nervoso autônomo (SNA), o sistema nervoso mioentérico e o controle hormonal parácrino e endócrino. Dentre estes componentes, o SNA, representado no trato gastrointestinal pelos nervos vago (controle parassimpático) e esplâncnico (controle simpático), pode ser considerado como mais relevante, desde que os demais tipos de controle estão totalmente sujeitos à mediação dessa inervação extrínseca.

Tem sido sugerido que uma hiperatividade vagal está implicada na etiologia da úlcera gástrica induzida pelo estresse, pois o pré-tratamento com drogas anti-colinérgicas e a vagotomia parecem proteger os animais contra semelhante patologia (GOLDMAN & ROSOFF, 1968). CHO, OGLE & DAI (1976) também demonstraram que a estimulação elétrica direta do nervo vago cervical, no rato, produz aumento (em 100 %) da incidência de úlceras hemorrágicas na mucosa gástrica e que a administração prévia de atropina assim como a vagotomia sub-diafragmática previnem este efeito. Adicionalmente, YANO, AKAHANE & HARADA (1977) observaram em ratos, submetidos a

estresse de contenção e imersão em água, hipermotilidade do estômago e sugeriram que esse efeito resultou de uma ativação vagal e concomitante declínio da função simpático-adrenal. Assim sendo, numa outra etapa do presente estudo, procuramos verificar uma possível participação do nervo vago na alteração do EG da glicose 5 % provocada pelo estresse de contenção a frio.

No período pós-operatório, constatamos que aproximadamente 54 % dos animais submetidos à vagotomia troncular apresentaram intensa gastroparesia seguida de progressiva perda de peso, inviabilizando a utilização desses animais no corrente experimento. Vários autores têm descrito um significativo atraso no esvaziamento de sólidos e estase gástrica após vagotomia troncular ou seletiva, especialmente quando não seguida de operações de drenagem, tanto no homem (DRAGSTEDT et. al., 1947) como em animais (SHIINA & GRIFFITH, 1969; WILBUR & KELLY, 1973). Acredita-se que essa disfunção gástrica pós-operatória deva-se principalmente à desnervação vagal do antro, cuja motilidade parece ser fundamental para um adequado EG de sólidos (MROZ & KELLY, 1977).

Por outro lado, no presente estudo, o restante dos animais vagotomizados mostrou franca recuperação das funções gastrointestinais durante o período pós-operatório estipulado, comportando-se semelhantemente aos animais pertencentes ao grupo Simulado quanto à ingestão de alimentos e defecação. Esse reajustamento a longo prazo da motilidade gastrointestinal, após retirada da inervação parassimpática, tem sido observado também por outros autores (DRAGSTEDT et. al., 1947; SHIINA & GRIFFITH, 1969; DONOVAN et. al., 1974) e deve-se provavelmente às mudanças adaptativas do sistema nervoso mioentérico.

Nos experimentos de avaliação do EG, a secção de ambos ramos anterior e posterior do nervo vago bloqueou significativamente o aumento da RG da solução de glicose

verificado em nossos animais durante estresse (Figura 14). LENZ (1989), entretanto, constatou que esse mesmo procedimento cirúrgico foi ineficaz em inibir as alterações do EG de ratos submetidos à contenção física parcial. Equivocadamente, neste último trabalho, o teste de esvaziamento foi executado apenas 3-4 dias após vagotomia (estando o animal possivelmente sob estresse cirúrgico) e, ainda, não foram realizados experimentos controles em animais não estressados vagotomizados, alegando para tal que esta cirurgia, por si só, não modifica o trânsito gastrointestinal. Além disso, o modelo de estresse e refeição de prova empregados diferem do utilizado no presente estudo, dificultando, ainda mais, qualquer tentativa de comparação entre os dois trabalhos.

Na vagotomia troncular, denominada também sub-diafragmática, o nervo vago é seccionado nas imediações de sua entrada na cavidade abdominal; portanto, o estômago, bem como todas as outras vísceras abdominais que recebem também inervação vagal, são totalmente desnervados (KELLY, 1984). Isto, por sua vez, pode resultar em uma série de conseqüências metabólicas e endócrinas para o organismo, tornando difícil a interpretação dos resultados obtidos com a vagotomia. Assim, a inibição de um mecanismo pela retirada do vago, neste caso, não significa necessariamente que o fenômeno em questão é mediado por este nervo. Embora isto deva ser considerado, parece-nos que os nossos dados indicam fortemente que a inervação vagal medeia o retarde do EG da solução de glicose, constatado nos animais estressados.

Em geral, a motilidade gástrica está principalmente sob influência excitatória das fibras colinérgicas que compõem o nervo vago. No entanto, é conhecida a existência de neurônios vagais inibitórios, não colinérgicos nem adrenérgicos, cuja ativação induz hiperpolarização do potencial de membrana das células musculares localizadas no fundo e corpo do estômago, levando a um relaxamento muscular dessa região (BEANI, BIANCHI & CREMA, 1971; ABRAHAMSSON, 1973). Essa via vagal inibitória, cujo

neurotransmissor permanece desconhecido, está envolvida em alguns reflexos gástricos como: no relaxamento receptivo, iniciado pela deglutição e distensão gástrica, que prepara o estômago para receber grandes volumes, sem aumento drástico da pressão intragástrica, e no relaxamento proximal gástrico que ocorre durante o processo do vômito (ABRAHAMSSON, 1973). Sabendo-se que o tônus do estômago proximal (regiões do fundo e corpo) constitui-se no principal determinante do EG de líquidos (DOOLEY, REZNICK & VALENZUELA, 1984), uma ativação específica dessas fibras vagais relaxadoras, durante o estresse, pode explicar o retarde do EG da glicose 5 % observado no presente estudo.

Entretanto, deve-se ressaltar que o nervo vago desempenha importante papel na função secretora do estômago. Tem sido relatado que, após secção vagal, ocorre significativa redução tanto da secreção ácida basal como da estimulada por histamina e pentagastrina (BANK, MARKS & LOUW, 1967; JEPSON et. al., 1973); portanto, esta ação da vagotomia sobre a secreção pode ter também contribuído para o total bloqueio do retarde do EG de glicose, induzido pelo estresse, constatado após essa intervenção cirúrgica.

Ainda, um outro dado interessante a ser comentado foi a pequena alteração do EG constatado nos grupos Simulado, Controle e Estressado, após a vagotomia; estes três grupos experimentais apresentaram uma diminuição, contudo não significativa, da RG da solução de glicose em relação aos animais não submetidos à cirurgia (Figuras 8 e 14). De acordo com a literatura, após uma vagotomia troncular, em função do distúrbio provocado no processo de relaxamento receptivo e da motilidade antral, o esvaziamento inicial de uma refeição líquida é intensamente acelerado (WILBUR & KELLY, 1973), enquanto que o tempo total para o EG é prolongado (DONOVAN et. al., 1974). Assim sendo, é provável que, devido ao fato de o tempo considerado para avaliação da RG em

nosso estudo (30 min) encontrar-se numa etapa intermediária do EG, essas modificações gastrointestinais, conseqüentes da vagotomia, não puderam ser verificadas. Por outro lado, é improvável que o pequeno aceleração do esvaziamento da solução de glicose, observado em ambos os grupos Controle e Estressado, tenha sido resultante do processo de secção do vago, já que o grupo Simulado, onde o nervo foi mantido intacto, respondeu de forma semelhante. Por conseguinte, é provável que essa modificação da RG da solução de glicose, constatada nesses animais, seja resultante do procedimento cirúrgico em si e não da vagotomia.

O envolvimento vagal presentemente verificado pode indicar que o sistema nervoso central (SNC) está provavelmente implicado neste efeito do estresse sobre o esvaziamento. Vários trabalhos, utilizando diferentes tipos de estresse experimental, têm também sugerido uma importante participação do SNC no controle das funções gastrointestinais (THOMPSON, RICHELSON & MALAGELADA, 1982; WILLIAMS et al., 1987; BUÉNO & GUÉ, 1988; LENZ et al., 1988). Com o intuito, então, de se identificar uma estrutura central particularmente envolvida no retarde, induzido pelo estresse, do EG da glicose 5 %, partimos, numa última etapa do estudo, para a lesão eletrolítica do núcleo paraventricular do hipotálamo.

No período pós-operatório, os animais com lesão do NPV não mostraram qualquer modificação comportamental aparente em relação aos pertencentes ao grupo Simulado. A lesão total desse núcleo tem sido associada com hiperfagia e desenvolvimento de obesidade em ratos (COX & SIMS, 1988). Entretanto, o ganho de peso após lesão não foi sistematicamente monitorizado no presente estudo. Porém, a fim de se evitar que diferenças no peso corporal interferissem na interpretação dos dados, procuramos utilizar ratos de peso inicial menor no grupo lesado. Assim, ao final do experimento,

a média de peso dos animais submetidos à lesão foi similar à observada nos grupos Controle e Estressado não lesados (Tabelas II e X em apêndice).

A lesão do núcleo hipotalâmico *per se* induziu aumento significativo da RG nos animais controles em relação ao grupo Simulado (Figura 17). É sabido que aumento da pressão intracranial, danificação da calota craniana e/ou injúria cerebral podem resultar em atraso do EG (*apud* Rose, 1979). Entretanto, é improvável que o trauma cirúrgico, decorrente da perfuração do crânio e introdução do eletrodo, tenha sido responsável pelo fenômeno observado, já que os animais submetidos à cirurgia simulada de lesão não demonstraram qualquer alteração da RG.

No entanto, algumas suposições podem ser aventadas para explicar semelhante resultado.

Dados de literatura sobre lesão do NPV e efeitos gastrointestinais são raros (ROGERS & HERMANN, 1985a). Contudo, numa revisão sobre o assunto, GRIJALVA, LINDHOLM & NOVIN (1980) descreveram o envolvimento de outras áreas hipotalâmicas em algumas alterações funcionais do trato gastrointestinal. De modo geral, a lesão (ou estimulação elétrica) das regiões anterior, posterior, lateral e ventromedial do hipotálamo podem modificar a motilidade e secreção do estômago, induzir patologias gástricas como úlceras ou hemorragias, assim como, anormalidades morfológicas da mucosa gástrica.

Tendo em vista isto e o fato da existência de conexões entre o NPV e outras estruturas hipotalâmicas e cerebrais (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; SHIRAIISHI, 1988), poder-se-ia supor que, devido à lesão desse núcleo, teria ocorrido liberação de uma ou mais áreas hipotalâmicas ou extra-hipotalâmicas envolvidas na modulação central da função gástrica e intestinal, cuja ação resultou na redução do esvaziamento da solução de glicose, observada nos animais controles.

Uma segunda hipótese plausível seria que esse retarde do EG da glicose 5 %, verificado com a lesão, constituir-se-ia num evento secundário a um quadro de hipotireoidismo induzido pela destruição maciça do NPV. MARTIN, BOSHANS & REICHLIN (1970), posteriormente confirmado por MINAMITANI et. al. (1987), observaram que após lesão desse núcleo ocorre uma queda persistente no nível plasmático de tiroxina livre (T_4) e significante redução da concentração de hormônio estimulador da tireóide no plasma e na pituitária, indicando diminuição da função tireoidiana. O hipotireoidismo, por sua vez, é conhecido por estar associado com comprometimento do processo de digestão gástrica e constipação (BROWN, 1936). Além disto, tireoidectomia induz, em cães, decréscimo na freqüência da atividade elétrica basal e dos potenciais de ação de células musculares do estômago, bem como, diminuição significativa da resposta mecânica gástrica frente a alguns estimulantes como pentagastrina, betanecol e alimento (KOWALEWSKI & KOLODEJ, 1977).

Quanto à resposta ao estresse, a lesão do NPV promoveu bloqueio total do aumento da RG da glicose induzido pela contenção a frio dos animais (Figura 17). Foi observado também uma RG menor (porém não significativa) nos animais estressados em relação ao grupo Controle, também sujeito à lesão. Esse EG mais rápido pode sugerir que outras regiões cerebrais (hipotalâmicas ou não) que atuam também no trato gastrointestinal, mas de modo distinto ao NPV, são ativadas durante situações estressantes. Na presença do NPV intacto, porém, a ação dessas outras áreas cerebrais é mascarada pelo efeito inibitório sobre o esvaziamento provocado por este núcleo durante o estresse.

Por outro lado, embora possa ser alegado para explicar o bloqueio do efeito do estresse o fato de a própria lesão do NPV ter resultado em significante retardamento do EG, esta hipótese nos parece improvável. Inúmeros trabalhos têm reportado a implicação do NPV nas respostas orgânicas ao estresse (MAYARA et. al., 1981; BRUHN,

PLOTSKY & VALE, 1984; SWANSON, SAWCHENKO & LIND, 1986; MEYERHOFF, MOUGEY & KANT, 1987) e em várias funções gastrointestinais (SAKAGUCHI & OHTAKE, 1985; ROGERS & HERMANN, 1986, 1987; SHIRAISHI, 1987). Adicionalmente, INENAGA, OSAKE & YAMASHITA (1987) demonstraram a existência de neurônios termossensíveis (tanto ao calor como ao frio) no interior do NPV. Portanto, esses dados da literatura reforçam a idéia de que este núcleo esteja diretamente envolvido na resposta gastrointestinal observada em nossos animais, quando submetidos à contenção a frio.

Contudo, qualquer consideração a respeito dos circuitos neurais envolvidos, as vias eferentes e os neurotransmissores e/ou hormônios implicados parece-nos ainda prematura. De forma concreta, baseando-se nos dados por nós obtidos, é possível apenas sugerir que o NPV medeia a redução do EG promovida pelo estresse, provavelmente através de vias vagais eferentes. Vários estudos neuroanatômicos e eletrofisiológicos reforçam tal suposição, os quais têm identificado conexões recíprocas entre a região parvocelular do NPV e o complexo motor do vago (CMV), localizado no tronco cerebral e constituído pelos núcleos motor dorsal do vago (MDV) e do trato solitário (NTS) (SAPER et. al., 1976; ROGERS & NELSON, 1984; LAWRENCE & PITTMAN, 1985; WILLET et. al., 1987). A partir dessa via eferente do sistema nervoso parassimpático, o núcleo paraventricular influencia as atividades motora e secretora, sendo a ocitocina um dos supostos neurotransmissores.

Várias evidências experimentais têm sustentado o envolvimento do neurotransmissor ocitocina (OT) neste circuito neural. A conexão NPV-CMV é constituída primariamente de neurônios ocitocinérgicos (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; KISS, 1988) e ambos, a estimulação do NPV (ROGERS & NELSON, 1984; LAWRENCE & PITTMAN, 1985; ROGERS & HERMANN, 1985b) e injeções de OT (MCCANN &

ROGERS, 1990), elevam a atividade elétrica espontânea do NTS e MDV. Adicionalmente, injeções de OT reproduzem um conjunto de respostas gástricas causadas pela estimulação do NPV. Especificamente, quantidades em picomolar de OT, administradas dentro do MDV, aumentam a secreção ácida (via vagal colinérgica) (ROGERS & HERMANN, 1985c) e inibem a motilidade e tônus do estômago (via vagal não colinérgica não adrenérgica) (ROGERS & HERMANN, 1987). Também, antagonistas farmacológicos de OT administradas no MDV bloqueiam a elevação da secreção de HCl e a redução da motilidade gástrica que são observadas quando o núcleo paraventricular é eletricamente estimulado (ROGERS & HERMANN, 1986, 1987). Em todos os casos a integridade da via vagal eferente foi necessária para que a estimulação do NPV e injeções de OT induzissem as respostas gástricas.

Considerando-se as similaridades entre os dados do presente estudo, obtidos com o estresse, e os efeitos gástricos evocados pela ocitocina (como aumento da secreção ácida e diminuição da motilidade), é plausível sugerir que a OT pode se constituir num possível neurotransmissor diretamente envolvido na alteração do esvaziamento induzida pelo estresse de contenção a frio. E ainda, o fato de neurônios ocitocinérgicos centrais serem ativados durante o estresse, resultando em aumento da secreção neuroendócrina de OT (CARTER & LIGHTMAN, 1987), reforça também tal hipótese.

O CRF poderia ser apontado como um outro potencial candidato ao lado do neurotransmissor OT. Essa suposição está baseada em algumas constatações experimentais recentes como: 1) a existência de neurônios contendo CRF na porção dorsomedial parvocelular do NPV (SILVERMAN, HOU-YU & CHEN, 1989); 2) a ativação específica desses neurônios durante uma situação de estresse (SWANSON, SAWCHENKO & LIND, 1986); 3) o envolvimento do CRF na modificação do EG, bem como em outras respostas gastrointestinais provocadas pelo estresse (WILLIAMS et. al., 1987; BUÉNO

& GUÉ, 1988; LENZ et. al., 1988) e, por fim, 4) a propriedade deste neuropeptídeo, quando administrado no ventrículo lateral do cérebro, ativar direta ou indiretamente neurônios ocitocinérgicos e aumentar, conseqüentemente, a secreção neurohipofisária de OT (BRUHN et. al., 1986).

Embora tenhamos enfatizado particularmente estes dois neurotransmissores, não deve ser esquecida a possibilidade de outros neuropeptídios estarem também implicados na mediação nervosa das respostas gastrointestinais ao estresse. Isto porque, o NPV dispõe de uma grande complexidade de tipos neuronais secretores de uma infinidade de neuromediadores (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; KISS, 1988).

O NPV faz conexões com o lobo anterior da pituitária e com neurônios pré-ganglionares simpáticos situados na coluna intermediolateral da medula espinhal (SWANSON & SAWCHENKO, 1980; KISS, 1988). Assim, é provável também que este núcleo participe como mediador dos distúrbios gástricos e intestinais provocados por estresse, que envolvam, não ativação parassimpática, mas mecanismos hormonais (STANGHELLINI et. al., 1983) e nervoso simpático (LENZ, 1989).

Finalmente, os nossos dados, apesar de preliminares, originalmente sugerem a mediação de uma estrutura nervosa central específica nos efeitos viscerais do estresse. O presente trabalho, portanto, certamente abre novas frentes de investigação que poderão objetivar, por exemplo, a identificação dos circuitos neurais e os neurotransmissores envolvidos, bem como a localização de outras estruturas nervosas centrais também implicadas no processo. Tais investigações, por sua vez, poderão contribuir para o esclarecimento de algumas importantes questões a respeito da complexa relação SNC-sistema digestivo, ainda tão pouco conhecida e explorada.

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que:

- O estresse de contenção a frio (4°C) induz aumento significativo da RG de uma solução de glicose 5 % em ratos machos, constituindo-se num modelo adequado para este tipo de estudo.
- Este estresse parece também provocar aumento da secreção de ácido pelo estômago; entretanto, os resultados ainda não foram suficientes para se apontar conclusivamente a real importância da secreção ácida na determinação do retardo do EG da glicose observado nos animais submetidos à contenção a frio.
- O NPV, através de vias eferentes vagais medeia, possivelmente, o efeito do estresse de contenção a frio sobre a RG da solução de glicose 5 %.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivos: 1) propor um modelo experimental adequado para o estudo do efeito do estresse sobre o esvaziamento gástrico (EG); 2) verificar os possíveis componentes (secreção ácida e/ou motilidade gástrica) implicados na alteração do EG induzida pelo estresse e 3) investigar o provável envolvimento vagal e do núcleo hipotâmico paraventricular sobre o processo.

Para tal, este estudo foi conduzido em 3 etapas, utilizando-se um total de 322 ratos Wistar machos. Na Etapa 1, os animais foram submetidos ao estresse de contenção ou contenção a frio (4°C) durante o teste de EG de um solução de glicose 5 %. Foi feita também a dosagem por radioimunoensaio de corticosterona sérica em um grupo paralelo de animais sujeitos ou não à contenção a frio. Na Etapa 2, executou-se em ambos grupos, Controle e Estressado (contenção a frio), o teste de EG com uma solução de bicarbonato 0,25 M (aos 10 min) ou pré-tratamento com cimetidina (10 e 50 mg/kg/1h, *ip*) e posterior avaliação do esvaziamento de glicose (aos 30 min) ou bicarbonato (10 min). Por fim, na Etapa 3, os ratos controles e estressados (contenção a frio) foram submetidos à cirurgia de vagotomia sub-diafragmática ou lesão eletrolítica bilateral do NPV, 15 dias antes do teste do EG com glicose 5 % (aos 30 min).

O EG foi avaliado medindo-se a retenção gástrica (RG) da refeição de prova. Para tal, os animais receberam por via orogástrica, através de uma sonda metálica, a solução teste (2 ml/100g de peso do animal), na qual foi adicionado o marcador fenolsulfonftaleína (6 mg/100ml de solução). A RG foi determinada calculando-se a quantidade do marcador retido no resíduo gástrico, após determinado tempo. Em todas as etapas executadas, os animais pertencentes ao grupo Estressado foram sujeitos ao estresse durante esse processo.

O estresse de contenção não induziu alteração da RG de glicose avaliada aos 30 min, enquanto que os animais sob contenção a frio apresentaram um retarde do EG dessa

solução, não significante aos 10 min, mas estatisticamente significativo aos 20 e 30 min da avaliação. O estresse de contenção a frio, durante 30 min, mostrou-se igualmente efetivo em induzir aumento do nível de corticosterona no soro.

Adicionalmente, sob contenção a frio, os animais mostraram EG mais rápido de bicarbonato, que foi bloqueado por ambas as doses (10 e 50 mg/kg) de cimetidina. Entretanto, o aumento da RG de glicose foi somente inibido pela maior dose testada dessa droga (50 mg/kg). Ainda, na dose de 50 mg/kg, a cimetidina induziu *per se* retarde do EG de ambas as refeições de prova nos animais controles.

O EG de bicarbonato constitui-se num índice indireto da secreção de HCl pelo estômago, pois encontra-se acelerado em situações de hipersecreção ácida. Sendo assim, nossos dados indicam um aumento de secreção gástrica de ácido pelos animais estressados. Entretanto, os resultados obtidos ainda não foram suficientes para se apontar conclusivamente a real importância da secreção ácida na determinação do retarde do EG de glicose, provocada pelo estresse.

Finalmente, tanto a secção do nervo vago como a lesão do NPV bloquearam totalmente o aumento da RG de glicose observado nos animais estressados não submetidos a essas intervenções cirúrgicas. Portanto, possivelmente, este núcleo hipotalâmico, através de vias eferentes vagais, medeia essa alteração gastrointestinal resultante do estresse.

Summary

The objects of the present study were: 1) to examine the effect of restraint and cold-restraint stress on gastric emptying of a liquid test meal; 2) to establish the role of gastric acid secretion in the genesis of the stress-induced alteration of gastric emptying and 3) to verify the involvement of the vagal nerve and hypothalamic paraventricular nucleus upon this alteration.

The gastric emptying was evaluated by measuring the gastric retention of a test meal. Male Wistar rats received an orogastric infusion, through a stainless steel tube, of the test meal (2 ml/100 g body weight) containing phenol red (6 ml/100 ml) as a marker. Gastric retention was determined by measuring the concentration of the marker in the residual test meal recovered from the stomach after killing the animal.

In a first series of experiments, the animals were submitted to restraint or cold-restraint (4°C) stress soon after the injection of a test meal which consisted of a solution of 5 % glucose. The control group was replaced in the individual cages at room temperature after administration of the test meal. The serum levels of corticosterone were also determined in blood samples obtained by decapitation of other control and stressed (cold-restraint) rats.

In a second series of experiments, gastric retention of a solution of sodium bicarbonate 0,25 M was evaluated in both control and stressed (cold-restraint) groups. Additionally, stressed and nonstressed animals were pretreated with cimetidine (10 and 50 mg/kg body weight); subsequently, gastric retention of 5 % glucose or 0,25 M bicarbonate was determined.

Finally, in a third series of experiments, truncal vagotomy or bilateral electrolytic lesion of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) were performed previously (15 days before), after which gastric retention of 5 % glucose was studied in control and stressed (cold-restraint) groups.

Restraint stress did not induce changes in gastric retention of glucose at 30 min; however, cold-restraint stress significantly delayed gastric emptying of this solution at 20 and 30 min. The animals subjected to cold-restraint for 30 min also showed a rise in serum corticosterone compared to the control animals.

In addition, under cold-restraint stress, the gastric emptying of bicarbonate was faster than in control conditions. This gastric alteration was significantly blocked by pretreatment with two doses (10 and 50 mg/kg) of cimetidine, a well-known antisecretory agent. Meanwhile, the increase in the gastric retention of glucose after cold-restraint exposure was only inhibited by 50 mg/kg dose of this drug. Cimetidine, in this dose (50 mg/kg), also induced *per se* delay of the gastric emptying of both test meals in the control rats.

As described in the literature, the gastric emptying of a bicarbonate solution is accelerated when there is a rise in the acid secretion by the gastric mucosa. Thus, our findings indicate that in stressed animals a gastric acid hypersecretion is found. On the other hand, the results of pretreatment with cimetidine are insufficient to determine the importance of gastric acid as a factor in the stress-induced change on gastric emptying of glucose.

Finally, both truncal vagotomy and PVN lesion completely blocked the cold-restraint-induced delay of gastric emptying of the glucose solution. These data, therefore, suggest an important role for PVN efferents, probably influencing medullary vagal preganglionic neurons, in the development of this gastric alteration during stress condition.

Referências Bibliográficas

- ABRAHAMSSON, H. - Studies on the inhibitory nervous control of gastric motility. *Acta Physiologica Scandinavica* suppl. **390**: 5-38, 1973.
- AXELROD, J. & REISINE, T.D. - Stress hormones: their interaction and regulation. *Science* **224**: 452-459, 1984.
- BANK, S.; MARKS, I.N. & LOUW, J.H. - Histamine- and insulin- stimulated gastric acid secretion after selective and truncal vagotomy. *Gut* **8**: 36-41, 1967.
- BEANI, L.; BIANCHI, C. & CREMA, A. - Vagal non-adrenergic inhibition of guinea-pig stomach. *Journal of Physiology* **217**: 259-279, 1971.
- BELANGERO, V.M.S. - *Esvaziamento gástrico de uma solução de bicarbonato de sódio em ratos com acidose metabólica induzida por cloreto de amônio*. Campinas, 1989. p.115. (Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas).
- BERTACCINI, G. & SCARPIGNATO, C. - Histamine H_2 -antagonists modify gastric emptying in the rat. *British Journal of Pharmacology* **77**: 443-448, 1982.
- BRODIE, D.A.; MARSHALL, R.W. & MORENO, O.M. - Effect of restraint on gastric acidity in the rat. *American Journal of Physiology* **202**: 812-814, 1962.
- BROWN, T.R. - The effect of hypothyroidism on gastric and intestinal function. *Journal of the American Medical Association* **97**: 511-513, 1936.
- BRUHN, T.O.; PLOTSKY, P.M. & VALE, W.W. - Effect of paraventricular lesions on corticotropin-releasing factor (CRF) - like immunoreactivity in the stalk-median eminence: studies on the adrenocorticotropin response to ether stress and exogenous CRF. *Endocrinology* **114**: 57-62, 1984.

- BRUHN, T.O.; SUTTON, S.W.; PLOTSKY, P.M. & VALE, W.W. - Central administration of corticotropin-releasing factor modulates oxytocin secretion in the rat. *Endocrinology* **119**: 1558-1563, 1986.
- BUÉNO, L. & GUÉ, M. - Evidence for the involvement of corticotropin-releasing factor in the gastrointestinal disturbances induced by acoustic and cold stress in mice. *Brain Research* **441**: 1-4, 1988.
- BURKS, T.F.; GALLIGAN, J.J.; PORRECA, F. & BARBER, W.D. - Regulation of gastric emptying. *Federation Proceedings* **44**: 2897-2901, 1985.
- CANN, P.A.; READ, N.W.; CAMMACK, J.; CHILDS, H.; HOLDEN, S.; KASHMAN, R.; LONGMORE, J.; NIX, S.; SIMMS, N.; SWALLOW, K. & WELLER, J. - Psychological stress and the passage of a standard meal through the stomach and small intestine in man. *Gut* **24**: 236-240, 1983.
- CARTER, D.A. & LIGHTMAN, S.L. - Oxytocin responses to stress in lactating and hyperprolactinaemic rats. *Neuroendocrinology* **46**: 532-537, 1987.
- CHO, C.H.; OGLE, C.W. & DAI, S. - Acute gastric ulcer formation in response to electrical vagal stimulation in rats. *European Journal of Pharmacology* **35**: 215-219, 1976.
- COX, J.E. & SIMS, J.S. - Ventromedial hypothalamic and paraventricular nucleus lesions damage a common system to produce hyperphagia. *Behavioural Brain Research* **28**: 297-308, 1988.
- DOOLEY, C.P.; REZNICK, J.B. & VALENZUELA, J.E. - Variations in gastric and duodenal motility during gastric emptying of liquid meals in humans. *Gastroenterology* **87**: 1114-1119, 1984.

- DONOVAN, I.A.; CLARKE, R.J.; GUNN, I.F. & ALEXANDER-WILLIAMS, J. - A comparison of gastric emptying at 3 and 12 months after proximal gastric or selective vagotomy without pyloroplasty. *British Journal of Surgery* **61**: 889-892, 1974.
- DOUGLAS, W.W. - Histamine and 5-hydroxytryptamine (serotonin) and their antagonists. In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W. & MURAD, F., ed. - *The pharmacological basis of therapeutics*. 7^{ed.}, New York, Macmillan Publishing Company, 1985. p. 605-638.
- DRAGSTEDT, L.R.; HARPER, P.V., Jr.; TOVEE, E.B. & WOODWARD, E.R. - Section of the vagus nerves to the stomach in the treatment of peptic ulcer. *Annals of Surgery* **126**: 687-708, 1947.
- DUBOIS, A. & CASTELL, D.O. - Histamine H_2 - receptor involvement in the regulation of gastric emptying. *American Journal of Physiology* **250**: G244-G247, 1986.
- DUBOIS, A.; NOMPLEGGI, D. & CASTELL, D.O. - Histamine H_2 receptor stimulation increases gastric emptying in monkeys. *American Journal of Physiology* **255**: G767-G771, 1988.
- EHRLEIN, H.J. & AKKERMANS, L.M.A. - Gastric emptying. In: AKKERMANS, L.M.A.; JOHNSON, A.G. & READ, N.W., ed. - *Gastric and gastroduodenal motility*. Eastbourne, Praeger Publishers, 1984. Surgical Sciences Series, vol.IV, p.74-84
- FERGUNSON, A.V; MARCUS, P.; SPENCER, J. & WALLACE, J.L. - Paraventricular nucleus stimulation causes gastroduodenal mucosal necrosis in the rat. *American Journal of Physiology* **255**: R861-R865, 1988.

- GARRICK, T.; BUACK, S. & BASS, P. - Gastric motility is a major factor in cold restraint - induced lesion formation in rats. *American Journal of Physiology* **250**: G191-G199, 1986.
- GARRICK, T.; GOTO, Y.; BUACK, S. & GUTH, P. - Cimetidine and ranitidine protect against cold restraint-induced ulceration in rat by suppressing gastric acid secretion. *Digestive Diseases & Sciences* **32**: 1261-1267, 1987.
- GARRICK, T.; LEUNG, F.W.; BUACK, S.; HIRABAYASHI, K. & GUTH, P.H. - Gastric motility is stimulated but overall blood flow is unaffected during cold restraint in the rat. *Gastroenterology* **91**: 141-148, 1986.
- GOLDMAN, H. & ROSOFF, C.B. - Pathogenesis of acute gastric stress ulcers. *American Journal of Pathology* **52**: 227-243, 1968.
- GRIJALVA, C.V.; LINDHOLM, E. & NOVIN, D. - Physiological and morphological changes in the gastrointestinal tract induced by hypothalamic intervention: an overview. *Brain Research Bulletin* **5** (suppl 1): 19-31, 1980.
- GUNION, M.W. & TACHÉ, Y. - Intrahypothalamic microinfusion of corticotropin- releasing factor inhibits gastric acid but increases secretion volume in rats. *Brain Research* **411**: 156-161, 1987a.
- GUNION, M.W. & TACHÉ, Y. - Bombesin microinfusion into the paraventricular nucleus suppresses gastric acid secretion in the rat. *Brain Research* **422**: 118-128, 1987b.
- GUPTA, M. & BRANS, Y.W. - Gastric retention in neonates. *Pediatrics* **62**: 26-29, 1978.
- GUTH, P.H.; AURES, D. & PAULSEN, G. - Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rats. *Gastroenterology* **76**: 88-93, 1979.

- HAYASE, M. & TAKEUCHI, K. - Gastric acid secretion and lesion formation in rats under water-immersion stress. *Digestive Diseases & Sciences* **31**: 166-171, 1986.
- HUMPHREYS, G.A.; DAVISON, J.S. & VEALE, W.L. - Injection of neuropeptide Y into the paraventricular nucleus of hypothalamus inhibits gastric acid secretion in the rats. *Brain Research* **456**: 241-248, 1988.
- HUNT, J.N. - Mechanisms and disorders of gastric emptying. *Annual Review of Medicine* **34**: 219-229, 1983.
- HUNT, J.N. - Regulation of gastric emptying by neurohumoral factors and by gastric and duodenal receptors. In: DUBOIS, A. & CASTELL, D.O., ed. - *Esophageal and gastric emptying*. Florida, C.R.C. Press, 1985. p. 65-71.
- HUNT, J.N. & KNOX, M.T. - Regulation of gastric emptying. In: CODE, C.F., ed. - *Handbook of Physiology. Alimentary canal*. Washington, D.C., American Physiological Society, 1968. vol. IV, p. 1917-1935.
- HUNT, J.N. & KNOX, M.T. - The slowing of gastric emptying by nine acids. *Journal of Physiology* **201**: 161-179, 1969.
- HUNT, J.N. & KNOX, M.T. - The slowing of gastric emptying by four strong acids and three weak acids. *Journal of Physiology* **222**: 187-208, 1972.
- HUNT, J.N. & MACDONALD, I. - The influence of volume on gastric emptying. *Journal of Physiology* **126**: 459-474, 1954.
- INENAGA, K.; OSAKA, T. & YAMASHITA, H. - Thermosensitivity of neurons in the paraventricular nucleus of the rat slice preparation. *Brain Research* **424**: 126-132, 1987.

- JEPSON, K.; LARI, J.; HUMPHREY, C.S.; SMITH, R.B.; WILKINSON, A.R. & JOHNSTON, D. - A comparison of the effects of truncal, selective and highly selective vagotomy on maximal acid output in response to pentagastrin. *Annals of Surgery* **178**: 769-772, 1973.
- JOHNSON, L.R. - Gastric secretion. In: JOHNSON, L.R., ed. *Gastrointestinal physiology*. 2^oed., St. Louis, The C. V. Mosby Company, 1981. p.55-72.
- KELLY, K.A. - Effect of gastric surgery on gastric motility and emptying. In: AKKERMANS, L.M.A.; JOHNSON, A.G. & READ, N.W., ed. - *Gastric and gastroduodenal motility*. Eastbourne, Praeger Publishers, 1984. Surgical Sciences Series, vol.IV, p.241-262.
- KISS, J.Z. - Dynamism of chemoarchitecture in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Research Bulletin* **20**: 699-708, 1988.
- KITAGAWA, H.; FUJIWARA, M. & OSUMI, Y. - Effects of water-immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology* **77**: 298-302, 1979.
- KOO, M.W.L.; OGLE, C.W. & CHO, C.H. - The effect of cold-restraint stress on gastric emptying in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* **23**: 969-972, 1985.
- KOWALEWSKI, K. & KOLODEJ, A. - Myoelectrical and mechanical activity of stomach and intestine in hypothyroid dogs. *Digestive Diseases* **22**: 235-240, 1977.
- KRULICH, L.; HEFCO, E.; ILLNER, P. & READ, C.B. - The effects of acute stress on the secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. *Neuroendocrinology* **16**: 293-311, 1974.

- LAWRENCE, D. & PITTMAN, Q.J. - Interaction between descending paraventricular neurons and vagal motor neurons. *Brain Research* **332**: 158-160, 1985.
- LEACH, C. - Tests for several independent samples - categorical explanatory variable. In: ———. *Introduction to statistics. A nonparametric approach for the social sciences*. New York, John Wiley & Sons, 1979. p. 148-166.
- LENZ, H.J. - Neurohumoral pathways mediating stress-induced changes in rat gastrointestinal transit. *Gastroenterology* **97**: 216-218, 1989.
- LENZ, H.J.; RAEDLER, A.R.; GRETEN, H.; VALE, W.W. & RIVIER, J.E. - Stress-induced gastrointestinal secretory and motor responses in rats are mediated by endogenous corticotropin-releasing factor. *Gastroenterology* **95**: 1510-1517, 1988.
- MCCANN, M.J. & ROGERS, R.C. - Oxytocin excites gastric related neurons in rat dorsal vagal complex. *Journal of Physiology* **428**: 95-108, 1990.
- MARTIN, J.B.; BOSHANS, R. & REICHLIN, S. - Feedback regulation of TSH secretion in rats with hypothalamic lesions. *Endocrinology* **87**: 1032-1040, 1970.
- MAYARA, G.B.; STARK, E.; KÁRTESZI, M.; PALKOVITS, M. & RAPPAY, G. - Effects of paraventricular lesions on stimulated ACTH release and CRF in stalk-median eminence of the rat. *American Journal of Physiology* **240**: E441-E446, 1981.
- MENGUY, R. - Effects of restraint stress on gastric secretion in the rat. *American Journal of Digestive Diseases* **5**: 911-916, 1960.

- MEYERHOFF, J.L.; MOUGEY, E.H. & KANT, G.J. - Paraventricular lesions abolish the stress-induced rise in pituitary cyclic adenosine monophosphate and attenuate the increases in plasma levels of proopiomelanocortin-derived peptides and prolactin. *Neuroendocrinology* **46**: 222-230, 1987.
- MINAMI, H. & MCCALLUM, R.W. - The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans. *Gastroenterology* **86**: 1592-1610, 1984.
- MINAMITANI, N.; MINAMITANI, T.; LECHAN, R.M.; BOLLINGER-GRUBER, J. & REICHLIN, S. - Paraventricular nucleus mediates prolactin secretory responses to restraint stress, ether stress, and 5-hydroxy-L-tryptophan injection in rat. *Endocrinology* **120**: 860-867, 1987.
- MORTON, K.D.R.; VAN DER KAR, L.D.; BROWNFIELD, M.S. & BETHEA, C.L. - Neuronal cell bodies in the hypothalamic paraventricular nucleus mediate stress-induced renin and corticosterone secretion. *Neuroendocrinology* **50**: 73-80, 1989.
- MROZ, C.T. & KELLY, K.A. - The role of the extrinsic antral nerves in the regulation of gastric emptying. *Surgery Gynecology & Obstetrics* **145**: 369-377, 1977.
- MURAKAMI, M.; LAM, S.K.; INADA, M. & MIYAKE, T. - Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology* **88**: 660-665, 1985.
- PAXINOS, G. & WATSON, C. - *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 2^oed., Australia, Academic Press, 1986.
- PETERS, M.N. & RICHARDSON, C.T. - Stressful life events, acid hypersecretion, and ulcer disease. *Gastroenterology* **84**: 114-119, 1983.

- READ, N.W. & HOUGHTON, L.A. - Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis. *Gastroenterology Clinics of North America* **18**: 359-373, 1989.
- ROBERT, A. & KAUFFMAN, G.L., Jr. - Stress ulcers. In: SLEISENGER, M.H. & FORDTRAN, J.S., ed. - *Gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management*. 3^o ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1983. p. 612-625.
- ROGERS, R.C. & HERMANN, G.E. - Vagal afferent stimulation-evoked gastric secretion suppressed by paraventricular nucleus lesion. *Journal of the Autonomic Nervous System* **13**: 191-199, 1985a.
- ROGERS, R.C. & HERMANN, G.E. - Gastric-vagal solitary neurons excited by paraventricular nucleus microstimulation. *Journal of the Autonomic Nervous System* **14**: 351-362, 1985b.
- ROGERS, R.C. & HERMANN, G.E. - Dorsal medullary oxytocin, vasopressin, oxytocin antagonist and TRH effects on gastric acid secretion and heart rate. *Peptides* **6**: 1143-1148, 1985c.
- ROGERS, R.C. & HERMANN, G.E. - Hypothalamic paraventricular nucleus stimulation-induced gastric acid secretion and bradycardia suppressed by oxytocin antagonist. *Peptides* **7**: 695-700, 1986.
- ROGERS, R.C. & HERMANN, G.E. - Oxytocin, oxytocin antagonist, TRH, and hypothalamic paraventricular nucleus stimulation effects on gastric motility. *Peptides* **8**: 505-513, 1987.
- ROGERS, R.C. & NELSON, D.O. - Neurons of the vagal division of the solitary nucleus activated by the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Journal of the Autonomic Nervous System* **10**: 193-197, 1984.

- ROSE, E.F. - Factors influencing gastric emptying. *Journal of Forensic Sciences* **24**: 200-206, 1979.
- SAKAGUCHI, T. & OHTAKE, M. - Inhibition of gastric motility induced by activation of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Research* **335**: 365-367, 1985.
- SAPER, C.B.; LOEWY, A.D.; SWANSON, L.W. & COWAN, W.M. - Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Research* **117**: 305-312, 1976.
- SENAY, E.C. & LEVINE, R.J. - Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcers in rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **124**: 1221-1223, 1967.
- SHIINA, E. & GRIFFITH, C.A. - Selective and total vagotomy without drainage: a comparative study of gastric secretion and motility in dogs. *Annals of Surgery* **169**: 326-333, 1969.
- SHIRAISHI, T. - Gastric related properties of rat paraventricular neurons. *Brain Research Bulletin* **18**: 315-323, 1987.
- SHIRAISHI, T. - Hypothalamic control of gastric acid secretion. *Brain Research Bulletin* **20**: 791-797, 1988.
- SIEGEL, S. - A prova "U" de Mann-Whitney. In: _____. *Estatística não-paramétrica*. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1979. p.131-144.
- SILVERMAN, A.-J.; HOU-YU, A. & CHEN, W.-P. - Corticotropin-releasing factor synapses within the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroendocrinology* **49**: 291-299, 1989.

- STANGHELLINI, V.; MALAGELADA, J.-R.; ZINSMEISTER, A.R.; GO, V.L.W. & KAO, P.C. - Stress-induced gastroduodenal motor disturbances in humans: possible humoral mechanisms. *Gastroenterology* **85**: 83-91, 1983.
- SWANSON, L.W. & KUYPERS, H.G.L.M. - The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double labeling methods. *Journal of Comparative Neurology* **194**: 555-570, 1980.
- SWANSON, L.W. & SAWCHENKO, P.E. - Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinology* **31**: 410-417, 1980.
- SWANSON, L.W.; SAWCHENKO, P.E. & LIND, R.W. - Regulation of multiple peptides in CRF parvocellular neurosecretory neurons: implications for the stress response. *Progress in Brain Research* **68**: 169-189, 1986.
- THOMPSON, D.G.; RICHELSON, E. & MALAGELADA, J.-R. - Perturbation of gastric emptying and duodenal motility through the central nervous system. *Gastroenterology* **83**: 1200-1206, 1982.
- THOMPSON, D.G.; RICHELSON, E. & MALAGELADA, J.-R. - Perturbation of upper gastrointestinal function by cold stress. *Gut* **24**: 277-283, 1983.
- WAKABAYASHI, I.; ARIMURA, A. & SCHALLY, A.V. - Effect of pentobarbital and ether stress on serum prolactin levels in rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **137**: 1181-1193, 1971.

- WEISBRODT, N.W. - Basic control mechanisms. *In*: AKKERMANS, L.M.A.; JOHNSON, A.G. & READ, N.W., ed. - *Gastric and gastroduodenal motility*. Eastbourne, Praeger Publishers, 1984. Surgical Science Series, vol.IV, p. 3-20.
- WILBUR, B.G. & KELLY, K.A. - Effect of proximal gastric, complete gastric and truncal vagotomy on canine gastric electric activity, motility, and emptying. *Annals of Surgery* **178**: 295-302, 1973.
- WILLET, C.J.; RUTHERFORD, J.G.; GWYN, D.G. & LESLIE, R.A. - Projections between the hypothalamus and the dorsal vagal complex in the cat: an HRP and autoradiographic study. *Brain Research Bulletin* **18**: 63-71, 1987.
- WILLIAMS, C.L.; PETERSON, J.M.; VILLAR, R.G. & BURKS, T.F. - Corticotropin-releasing factor directly mediates colonic responses to stress. *American Journal of Physiology* **253**: G582-G586, 1987.
- WOLF, S. - The psyche and the stomach; a historical vignette. *Gastroenterology* **80**: 605-614, 1981.
- YANO, S.; AKAHANE, M. & HARADA, M. - Contribution of sympatho-adrenal system to the gastric movement of rats subjected to restraint and water immersion stress. *Japanese Journal of Pharmacology* **27**: 635-643, 1977.
- YANO, S.; AKAHANE, M. & HARADA, M. - Role of gastric motility in the development of stress-induced gastric lesions of rats. *Japanese Journal of Pharmacology* **28**: 607-615, 1978.

Apêndice

TABELA II - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %* dos grupos Controle e Estressado (A - contenção; B - contenção a frio), 30 min após administração intragástrica.

| A) Grupo Controle (30 min) | | | Grupo Estressado (30 min) | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 235 | 30,4 | 1 | 232 | 23,1 |
| 2 | 228 | 18,7 | 2 | 221 | 23,4 |
| 3 | 222 | 29,7 | 3 | 221 | 19,8 |
| 4 | 210 | 26,5 | 4 | 207 | 21,9 |
| 5 | 231 | 29,5 | 5 | 218 | 20,4 |
| 6 | 220 | 23,7 | 6 | 218 | 28,6 |
| 7 | 200 | 28,6 | 7 | 210 | 27,6 |
| 8 | 206 | 22,6 | 8 | 208 | 22,7 |
| 9 | 218 | 17,5 | 9 | 212 | 23,2 |
| 10 | 208 | 17,4 | 10 | 214 | 19,9 |
| 11 | 223 | 15,9 | 11 | 224 | 22,6 |
| \bar{X} | 218,3 | 23,7 | \bar{X} | 216,8 | 23,0 |
| DP | 11,1 | 5,6 | DP | 7,6 | 2,8 |
| Med | 220 | 23,7 | Med | 218 | 22,7 |

| B) Grupo Controle (30 min) | | | Grupo Estressado (30 min) | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 221 | 26,2 | 1 | 216 | 36,4 |
| 2 | 224 | 31,8 | 2 | 227 | 28,7 |
| 3 | 234 | 30,6 | 3 | 230 | 39,3 |
| 4 | 224 | 24,3 | 4 | 226 | 33,3 |
| 5 | 230 | 24,8 | 5 | 236 | 49,2 |
| 6 | 238 | 21,5 | 6 | 238 | 39,9 |
| 7 | 211 | 12,1 | 7 | 212 | 32,5 |
| 8 | 208 | 25,9 | 8 | 204 | 15,7 |
| 9 | 223 | 14,2 | 9 | 230 | 29,7 |
| 10 | 218 | 13,6 | 10 | 218 | 30,0 |
| 11 | 226 | 27,2 | 11 | 230 | 26,9 |
| \bar{X} | 223,4 | 22,9 | \bar{X} | 224,3 | 32,9 |
| DP | 8,9 | 6,8 | DP | 10,5 | 8,6 |
| Med | 224 | 24,8 | Med | 227 | 32,5 |

TABELA III - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %* dos grupos Controle e Estressado (contenção a frio), 10 e 20 min após administração intragástrica.

| Grupo Controle (10 min) | | | Grupo Estressado (10 min) | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 206 | 43,0 | 1 | 200 | 51,2 |
| 2 | 210 | 44,4 | 2 | 210 | 47,6 |
| 3 | 210 | 51,9 | 3 | 209 | 55,7 |
| 4 | 221 | 42,1 | 4 | 220 | 48,9 |
| 5 | 238 | 46,6 | 5 | 232 | 56,4 |
| 6 | 212 | 50,0 | 6 | 211 | 53,0 |
| 7 | 231 | 53,1 | 7 | 228 | 48,9 |
| 8 | 202 | 53,4 | 8 | 200 | 55,2 |
| 9 | 206 | 53,8 | 9 | 200 | 53,4 |
| 10 | 208 | 47,2 | 10 | 208 | 55,1 |
| 11 | 214 | 56,9 | 11 | 214 | 58,1 |
| \bar{X} | 214,4 | 49,3 | \bar{X} | 212,0 | 53,0 |
| DP | 11,2 | 4,9 | DP | 10,9 | 3,5 |
| Med | 212 | 50,0 | Med | 210 | 53,4 |

| Grupo Controle (20 min) | | | Grupo Estressado (20 min) | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 206 | 43,9 | 1 | 206 | 56,2 |
| 2 | 201 | 35,9 | 2 | 204 | 38,2 |
| 3 | 240 | 32,0 | 3 | 241 | 40,5 |
| 4 | 236 | 29,9 | 4 | 235 | 50,7 |
| 5 | 206 | 49,4 | 5 | 207 | 42,5 |
| 6 | 209 | 45,6 | 6 | 212 | 43,6 |
| 7 | 238 | 34,3 | 7 | 240 | 31,7 |
| 8 | 234 | 40,4 | 8 | 233 | 44,4 |
| 9 | 206 | 42,8 | 9 | 212 | 51,8 |
| 10 | 228 | 21,7 | 10 | 228 | 48,6 |
| 11 | 221 | 33,1 | 11 | 216 | 47,6 |
| \bar{X} | 220,4 | 37,2 | \bar{X} | 221,3 | 45,1 |
| DP | 15,2 | 8,1 | DP | 14,3 | 6,9 |
| Med | 221 | 35,9 | Med | 216 | 44,4 |

TABELA IV - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Bicarbonato 0,25 M* do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), 10 min após administração intragástrica.

| Grupo Controle | | | Grupo Estressado | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 207 | 31,8 | 1 | 206 | 15,1 |
| 2 | 207 | 33,2 | 2 | 208 | 12,4 |
| 3 | 222 | 36,4 | 3 | 234 | 4,8 |
| 4 | 210 | 44,2 | 4 | 214 | 13,4 |
| 5 | 209 | 26,7 | 5 | 214 | 7,3 |
| 6 | 220 | 33,2 | 6 | 218 | 13,3 |
| 7 | 212 | 15,9 | 7 | 212 | 21,8 |
| 8 | 224 | 23,9 | 8 | 222 | 2,7 |
| 9 | 223 | 29,9 | 9 | 216 | 19,2 |
| 10 | 230 | 32,8 | 10 | 224 | 24,5 |
| 11 | 210 | 25,5 | 11 | 211 | 22,0 |
| \bar{X} | 215,8 | 30,3 | \bar{X} | 216,3 | 14,2 |
| DP | 8,1 | 7,3 | DP | 8,0 | 7,2 |
| Med | 212 | 31,8 | Med | 214 | 13,4 |

TABELA V - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Bicarbonato 0,25 M*, aos 10 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos pré-tratados com *Cimetidina 10 mg/kg*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|----------------|-------------|--------------------------|----------------|-------------|--------------------------|
| Animal n° | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal n° | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 218 | 45,4 | 1 | 234 | 46,5 |
| 2 | 213 | 33,5 | 2 | 212 | 39,4 |
| 3 | 221 | 39,9 | 3 | 214 | 33,8 |
| 4 | 212 | 31,3 | 4 | 224 | 33,6 |
| 5 | 213 | 21,8 | 5 | 217 | 28,0 |
| 6 | 240 | 29,7 | 6 | 222 | 41,5 |
| 7 | 232 | 22,6 | 7 | 210 | 30,1 |
| 8 | 237 | 24,1 | 8 | 245 | 15,3 |
| 9 | 217 | 22,8 | 9 | 235 | 38,7 |
| 10 | 217 | 42,5 | 10 | 220 | 24,7 |
| \bar{X} | 222,0 | 31,4 | \bar{X} | 223,3 | 33,2 |
| DP | 10,4 | 8,8 | DP | 11,4 | 9,1 |
| Med | 217,5 | 30,5 | Med | 221 | 33,7 |

| Grupo Estressado | | |
|------------------|-------------|--------------------------|
| Animal n° | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 235 | 4,5 |
| 2 | 213 | 39,2 |
| 3 | 208 | 50,6 |
| 4 | 229 | 20,3 |
| 5 | 240 | 19,2 |
| 6 | 217 | 4,5 |
| 7 | 216 | 2,7 |
| 8 | 213 | 17,8 |
| 9 | 221 | 40,2 |
| 10 | 237 | 20,7 |
| \bar{X} | 222,9 | 21,9 |
| DP | 11,4 | 16,5 |
| Med | 219 | 19,7 |

TABELA VI - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Bicarbonato 0,25 M*, aos 10 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos pré-tratados com *Cimetidina 50 mg/kg*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 228 | 29,3 | 1 | 220 | 30,4 |
| 2 | 213 | 35,4 | 2 | 210 | 41,1 |
| 3 | 206 | 33,8 | 3 | 213 | 49,6 |
| 4 | 225 | 23,2 | 4 | 216 | 45,9 |
| 5 | 211 | 17,6 | 5 | 226 | 36,1 |
| 6 | 227 | 33,9 | 6 | 220 | 48,3 |
| 7 | 220 | 26,9 | 7 | 207 | 56,2 |
| 8 | 203 | 34,8 | 8 | 219 | 54,4 |
| 9 | 217 | 39,7 | 9 | 204 | 38,3 |
| 10 | 214 | 29,2 | 10 | 228 | 43,9 |
| 11 | 215 | 50,5 | 11 | 221 | 43,7 |
| \bar{X} | 216,3 | 32,2 | \bar{X} | 216,7 | 44,3 |
| DP | 8,2 | 8,7 | DP | 7,6 | 7,7 |
| Med | 215 | 33,8 | Med | 219 | 43,9 |

| Grupo Estressado | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 210 | 50,9 |
| 2 | 216 | 59,3 |
| 3 | 219 | 43,0 |
| 4 | 210 | 46,8 |
| 5 | 227 | 44,3 |
| 6 | 211 | 41,4 |
| 7 | 210 | 29,9 |
| 8 | 217 | 45,4 |
| 9 | 210 | 32,5 |
| 10 | 230 | 45,5 |
| 11 | 222 | 32,0 |
| \bar{X} | 216,5 | 42,8 |
| DP | 7,3 | 8,7 |
| Med | 216 | 44,3 |

TABELA VII - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %*, aos 30 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos pré-tratados com *Cimetidina 10 mg/kg*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 216 | 25,1 | 1 | 233 | 24,0 |
| 2 | 194 | 25,2 | 2 | 215 | 29,8 |
| 3 | 229 | 28,2 | 3 | 194 | 19,8 |
| 4 | 208 | 21,6 | 4 | 226 | 24,8 |
| 5 | 235 | 17,0 | 5 | 209 | 31,3 |
| 6 | 235 | 30,7 | 6 | 232 | 25,1 |
| 7 | 196 | 19,8 | 7 | 205 | 29,0 |
| 8 | 224 | 23,3 | 8 | 211 | 27,9 |
| 9 | 224 | 22,1 | 9 | 222 | 25,9 |
| 10 | 200 | 22,0 | 10 | 205 | 31,1 |
| 11 | 223 | 19,9 | 11 | 228 | 17,9 |
| \bar{X} | 216,7 | 23,2 | \bar{X} | 216,4 | 26,0 |
| DP | 15,0 | 3,9 | DP | 12,7 | 4,4 |
| Med | 223 | 22,1 | Med | 215 | 25,9 |

| Grupo Estressado | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 234 | 43,7 |
| 2 | 214 | 40,7 |
| 3 | 200 | 34,4 |
| 4 | 209 | 45,0 |
| 5 | 210 | 28,6 |
| 6 | 229 | 15,9 |
| 7 | 207 | 52,0 |
| 8 | 227 | 24,2 |
| 9 | 210 | 45,7 |
| 10 | 209 | 42,4 |
| 11 | 232 | 39,7 |
| \bar{X} | 216,4 | 37,5 |
| DP | 11,7 | 10,7 |
| Med | 210 | 40,7 |

TABELA VIII - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %*, aos 30 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos pré-tratados com *Cimetidina 50 mg/kg*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 210 | 24,1 | 1 | 221 | 36,4 |
| 2 | 217 | 16,3 | 2 | 216 | 28,8 |
| 3 | 235 | 24,9 | 3 | 202 | 41,5 |
| 4 | 225 | 22,1 | 4 | 216 | 39,4 |
| 5 | 203 | 21,4 | 5 | 220 | 44,8 |
| 6 | 205 | 15,1 | 6 | 222 | 41,2 |
| 7 | 214 | 31,7 | 7 | 208 | 30,9 |
| 8 | 226 | 32,7 | 8 | 211 | 30,8 |
| 9 | 216 | 14,7 | 9 | 236 | 45,5 |
| 10 | 226 | 28,8 | 10 | 232 | 38,8 |
| 11 | 216 | 31,2 | 11 | 216 | 35,7 |
| \bar{X} | 217,5 | 23,9 | \bar{X} | 218,2 | 37,6 |
| DP | 9,7 | 6,7 | DP | 9,8 | 5,7 |
| Med | 216 | 24,1 | Med | 216 | 38,8 |

| Grupo Estressado | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 211 | 26,9 |
| 2 | 223 | 38,7 |
| 3 | 209 | 35,0 |
| 4 | 214 | 45,7 |
| 5 | 216 | 43,0 |
| 6 | 225 | 47,0 |
| 7 | 211 | 25,8 |
| 8 | 236 | 42,1 |
| 9 | 217 | 47,2 |
| 10 | 235 | 45,9 |
| 11 | 209 | 54,2 |
| \bar{X} | 218,7 | 41,0 |
| DP | 9,8 | 8,8 |
| Med | 216 | 43,0 |

TABELA IX - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5%*, aos 30 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos submetidos à *vagotomia*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 231 | 24,7 | 1 | 231 | 27,3 |
| 2 | 243 | 25,4 | 2 | 236 | 26,2 |
| 3 | 221 | 17,7 | 3 | 222 | 14,7 |
| 4 | 206 | 17,9 | 4 | 191 | 22,0 |
| 5 | 186 | 15,1 | 5 | 202 | 14,8 |
| 6 | 202 | 11,2 | 6 | 228 | 22,3 |
| 7 | 230 | 18,1 | 7 | 202 | 14,1 |
| 8 | 229 | 19,4 | 8 | 220 | 14,5 |
| 9 | 208 | 24,2 | 9 | 203 | 12,1 |
| 10 | 198 | 29,6 | 10 | 242 | 22,5 |
| 11 | 228 | 22,1 | 11 | 193 | 17,6 |
| \bar{X} | 216,5 | 20,5 | \bar{X} | 215,4 | 18,9 |
| DP | 17,5 | 5,3 | DP | 17,9 | 5,3 |
| Med | 221 | 19,4 | Med | 220 | 17,6 |

| Grupo Estressado | | |
|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal <i>n</i> ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 236 | 21,4 |
| 2 | 209 | 4,5 |
| 3 | 216 | 27,5 |
| 4 | 183 | 20,8 |
| 5 | 232 | 19,6 |
| 6 | 228 | 20,2 |
| 7 | 201 | 11,8 |
| 8 | 226 | 19,2 |
| 9 | 213 | 20,5 |
| 10 | 211 | 23,6 |
| 11 | 207 | 17,1 |
| \bar{X} | 214,7 | 18,7 |
| DP | 15,4 | 6,1 |
| Med | 213 | 20,2 |

TABELA X - Valores individuais, Média (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Mediana (Med) do peso (após jejum) e da retenção gástrica da solução de *Glicose 5 %*, aos 30 min, do grupo Simulado e do grupo Controle e Estressado (contenção a frio), ambos submetidos à *lesão do núcleo paraventricular*.

| Grupo Simulado | | | Grupo Controle | | |
|--------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal n ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) | Animal n ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 223 | 17,0 | 1 | 201 | 29,1 |
| 2 | 216 | 23,4 | 2 | 188 | 33,3 |
| 3 | 196 | 34,6 | 3 | 238 | 29,4 |
| 4 | 181 | 25,3 | 4 | 180 | 31,3 |
| 5 | 212 | 19,9 | 5 | 206 | 26,9 |
| 6 | 206 | 20,6 | 6 | 215 | 29,8 |
| 7 | 193 | 26,0 | 7 | 195 | 24,5 |
| 8 | 226 | 16,1 | 8 | 223 | 40,5 |
| 9 | 228 | 16,7 | 9 | 237 | 28,0 |
| 10 | 252 | 27,8 | 10 | 259 | 26,1 |
| \bar{X} | 213,3 | 22,7 | \bar{X} | 214,2 | 29,2 |
| DP | 20,5 | 5,9 | DP | 25,0 | 4,5 |
| Med | 214 | 22,0 | Med | 210,5 | 29,2 |

| Grupo Estressado | | |
|--------------------------|-------------|--------------------------|
| Animal n ^o | Peso (g) | Retenção Gástrica (%) |
| 1 | 209 | 29,4 |
| 2 | 180 | 37,8 |
| 3 | 185 | 28,6 |
| 4 | 211 | 26,3 |
| 5 | 191 | 22,5 |
| 6 | 234 | 22,5 |
| 7 | 191 | 20,5 |
| 8 | 226 | 26,8 |
| 9 | 223 | 21,8 |
| 10 | 250 | 19,1 |
| \bar{X} | 210,0 | 25,5 |
| DP | 23,2 | 5,5 |
| Med | 210,0 | 24,4 |