

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

ARIEL ALVES DE SOUZA

**VIAS ANGIOTENSINÉRGICAS E COLINÉRGICAS CENTRAIS NO CONTROLE DA  
INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A SESSÕES DE  
ESTEIRA**

GOIÂNIA  
2020

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR  
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE  
GRADUAÇÃO NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio do Repositório Institucional (RI/UFG), regulamentado pela Resolução CEPEC nº 1204/2014, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCCG):**

Nome completo do autor: Ariel Alves de Souza

Título do trabalho: Vias angiotensinérgicas e colinérgicas centrais no controle da ingestão de água e sódio em animais submetidos a sessões de esteira.

**2. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM  NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF do TCCG.

  
\_\_\_\_\_  
(Assinatura do autor)<sup>2</sup>

Ciente e de acordo:

  
\_\_\_\_\_  
(Assinatura do orientador)<sup>2</sup>

Data: 17 / 06 / 2020

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Versão janeiro de 2020

<sup>2</sup> As assinaturas devem ser originais sendo assinadas no próprio documento, imagens coladas não serão aceitas.

ARIEL ALVES DE SOUZA

**VIAS ANGIOTENSINÉRGICAS E COLINÉRGICAS CENTRAIS NO CONTROLE DA  
INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A SESSÕES DE  
ESTEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Goiás como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira.

GOIÂNIA

2020

Souza , Ariel Alves de

Vias angiotensinérgicas e colinérgicas centrais no controle da ingestão de água e sódio em animais submetidos a sessões de esteira [manuscrito] / Ariel Alves de Souza . - 2020.

36 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira .

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Farmácia, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui siglas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Angiotensina II. 2. Apetite ao sódio. 3. Carbacol. 4. Exercício físico. 5. Neuroplasticidade. I. Freiria-Oliveira , André Henrique, orient.  
II. Título.

CDU 612



ARIEL ALVES DE SOUZA

**VIAS ANGIOTENSINÉRGICAS E COLINÉRGICAS CENTRAIS NO CONTROLE DA  
INGESTÃO DE ÁGUA E SÓDIO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A SESSÕES DE  
ESTEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado para a obtenção de grau de  
Bacharel em Farmácia à Faculdade de  
Farmácia da Universidade Federal de Goiás

Data da aprovação: 17/06/2020

Membros da Banca:

Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira  
Universidade Federal de Goiás

MSc. Aryanne Batista Soares de Melo  
Universidade Federal de Goiás

MSc. Kássia Kristina Sousa  
Universidade Federal de Goiás

## DEDICATÓRIA

À minha mãe e minha madrinha Ivany, que incentivaram e fizeram com que fosse possível essa graduação. À minha família e amigos que sempre estiveram ao meu lado me dando todo apoio. Ao meu namorado Daniel pelo companheirismo e carinho.

Ariel Alves de Souza

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter me dado força e coragem para conquistar todos os meus objetivos.

À minha mãe Ana que não poupou esforços para que eu realizasse meus sonhos e minha madrinha Ivany que sempre me incentivou e apoiou minhas escolhas.

Aos meus familiares e amigos que estiveram ao meu lado nessa caminhada, comemorando cada conquista e torcendo sempre pelo meu sucesso. Em especial, ao meu namorado Daniel por todo carinho, auxílio e apoio; minha amiga Isabela, que sempre me ajudou nos momentos difíceis; minhas amigas Andressa, Fernanda, Gisele e Letícia que mesmo de longe sempre se fizeram presentes; e meus amigos da faculdade Bárbara, Eclésia, Fernanda Maria, Guilherme, Jaqueline, Lucas e Pedro que estiveram juntos comigo nesses cinco anos.

Ao meu orientador André pela compreensão, ensinamentos e oportunidade de conhecer e fazer parte da área científica. Aos meus amigos do laboratório Aryanne, Florencia, Kássia, Ludmila, Monatha, Rafael e Thais por terem me acolhido, ensinado e ajudado com essa pesquisa, e também aos demais colegas do CPNFC.

Ao CNPQ, CAPES e FAPEG pelo fomento, que possibilitou que essa pesquisa fosse realizada.

*“Nada do que é feito por amor é pequeno.”*

**Chiara Lubich**

## RESUMO

O exercício físico é capaz de promover adaptações e diminuição da sensibilidade neuronal, devido a neuroplasticidade, em situações de estresse, com quadros de desidratação intracelular e extracelular dependendo da intensidade da atividade. A desidratação intracelular é a perda de água pela célula devido ao aumento da pressão osmótica no compartimento extracelular e parece ter envolvimento de vias colinérgicas centrais. Já a desidratação extracelular é a perda conjunta de água e sódio, diminuindo o volume do compartimento extracelular. A angiotensina II (ANG II), atuando centralmente, ativa mecanismos de controle autonômicos e comportamentais devido à ativação dos receptores AT1 após quadros de desidratação. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da injeção central de ANG II e carbacol (agonista colinérgico) sobre o comportamento de ingestão de água e sódio em ratos submetidos a sessões de esteira. Ratos Wistar (250-280g) foram separados em dois grupos: Sedentários e Treinados. Foram realizadas 8 semanas de treinamento em esteira rolante. Ao final, sob anestesia, foi realizado o implante da cânula guia no ventrículo lateral (VL). Após 5 dias de recuperação, realizou-se, em animais com livre movimentação, a microinjeção central (1  $\mu$ L) de salina e ANG II (50 ng), e foram feitas medidas de ingestão de água e NaCl 1,8% nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos. A urina foi coletada após cada experimento. Após 2 dias, os animais foram submetidos novamente ao experimento de ingestão de água e sódio, sendo realizada a microinjeção central de carbacol (4 nmol em 1  $\mu$ L). Posteriormente, os animais foram eutanasiados e os encéfalos foram retirados para análise histológica. Os resultados demonstraram que a ANG II foi capaz de promover ingestão de água tanto no grupo de ratos Treinados ( $8,2 \pm 11,2$  vs. Controle:  $0,1 \pm 0,1$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ) como em Sedentários ( $6,0 \pm 7,4$  mL vs. Controle:  $0,1 \pm 0,3$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ); em relação ao sódio: Sedentários ( $6,3 \pm 7,3$  vs. Controle:  $0,5 \pm 1,3$  mL mL/120 min,  $p < 0,05$ ) e Treinados ( $6,9 \pm 7,2$  vs. Controle  $1,3 \pm 1,5$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ) sem diferenças entre os grupos Treinado e Sedentário. Já o carbacol induziu a ingestão de água nos Sedentários ( $8,7 \pm 6,1$  vs. Controle:  $0,6 \pm 0,7$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ) e Treinados ( $9,5 \pm 8,3$  vs. Controle:  $1,4 \pm 2,4$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ), e em relação à ingestão de sódio, foi observado nos Treinados ( $3,7 \pm 3,8$  vs. Controle:  $0,8 \pm 1,4$  mL/120 min,  $p < 0,05$ ) e Sedentários ( $0,3 \pm 0,3$  vs. Controle:  $0,5 \pm 0,8$  mL/120 min,  $p > 0,05$ ), havendo diferença significativa entre os grupos. Assim, os resultados mostraram que o treinamento não

alterou o comportamento de ingestão de água induzido por ANG II ou carbacol centralmente assim como a ingestão de sódio após ANG II, no entanto o carbacol induziu ingestão de sódio em animais treinados, sugerindo que as vias angiotensinérgicas e colinérgicas centrais que controlam a dipsia não são afetadas pelo treinamento físico, mas o apetite ao sódio pode ter um envolvimento das vias colinérgicas neste modelo.

**Palavras chave:** angiotensina II, apetite ao sódio, carbacol, exercício físico, ingestão de água, neuroplasticidade.

## ABSTRACT

Physical exercise can promote adaptations and decrease neuronal sensitivity in stressful situations, due to neuroplasticity, with cases of intracellular and extracellular dehydration depending on the intensity of the activity. Intracellular dehydration is the loss of water by the cell due to increased osmotic pressure in the extracellular compartment and appears to be involved in central cholinergic pathways. Extracellular dehydration, however, is the joint loss of water and sodium, decreasing extracellular compartment volume. Angiotensin II (ANG II), acting centrally, activates autonomic and behavioral control mechanisms due to the activation of AT1 receptors after dehydration. The aim of the present study was to evaluate the effects of ANG II and carbachol (cholinergic agonist) central injection on the behavior of water and sodium intake in rats submitted to treadmill sessions. Wistar rats (250-280g) were separated into two groups: Sedentary and Trained. 8 weeks of treadmill training were carried out. At the end, under anesthesia, a guide cannula was implanted in the lateral ventricle (VL). After 5 recovery days, central microinjection (1  $\mu$ L) of saline and ANG II (50 ng) was performed on animals with free movement, water and 1.8% NaCL intakes were measured at times 15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes. Urine was collected after each experiment. After 2 days, the animals were subjected again to the water and sodium intake experiment, with a central micro injection of carbachol (4 nmol in 1  $\mu$ L). Subsequently, the animals were euthanized, and the brains removed for histological analysis. The results showed that ANG II was able to promote water intake in both groups, Trained rats ( $8.2 \pm 11.2$  vs. Control:  $0.1 \pm 0.1$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ) and Sedentary ( $6.0 \pm 7.4$  mL vs. Control:  $0.1 \pm 0.3$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ); in relation to sodium: Sedentary ( $6.3 \pm 7.3$  vs Control:  $0.5 \pm 1.3$  mL mL / 120 min,  $p < 0.05$ ) and Trained ( $6.9 \pm 7.2$  vs. Control 1 ,  $3 \pm 1.5$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ) without differences between Trained and Sedentary groups. Carbachol, in contrast, induced water intake in Sedentary ( $8.7 \pm 6.1$  vs. Control:  $0.6 \pm 0.7$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ) and Trained ( $9.5 \pm 8.3$  vs. Control:  $1.4 \pm 2.4$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ), and in relation to sodium intake, it was observed that in the Trained ( $3.7 \pm 3.8$  vs. Control:  $0.8 \pm 1.4$  mL / 120 min,  $p < 0.05$ ) and Sedentary ( $0.3 \pm 0.3$  vs. Control:  $0.5 \pm 0.8$  mL / 120 min,  $p > 0.05$ ), with significant difference between groups. Thus, the results showed that the training did not alter the water behavior induced by centrally ANG II or carbachol, and also sodium intake caused by ANG II, however induced sodium intake by carbachol suggesting that the central

angiotensinergic and cholinergic pathways that control dipsogenic response are not affected by physical training, but cholinergic pathway could be involved in sodium appetite.

**Keywords:** angiotensin II, sodium appetite, carbachol, physical exercise, water intake, neural plasticity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Protocolo de treinamento em esteira rolante.....	22
<b>Figura 2.</b> Protocolo de microinjeção central de ANG II.....	23
<b>Figura 3.</b> Protocolo de microinjeção central de carbacol.....	24
<b>Figura 4.</b> Fotomicrografia demonstrativa da microinjeção no VL (seta) em um animal representativo do grupo. ....	25
<b>Figura 5.</b> Ingestão cumulativa de água (esquerda) e NaCl 1,8% (direita) após a microinjeção de ANG II e NaCl 0,9% (Controle). *: Diferente do grupo Controle (p<0,05).....	26
<b>Figura 6.</b> Ingestão cumulativa de água (esquerda) e NaCl 1,8% (direita) após a microinjeção de carbacol e NaCl 0,9% (Controle). *: Diferente do grupo Controle (p<0,05). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol (p<0,05). ....	27
<b>Figura 7.</b> Volume urinário após os experimentos de ingestão de água e NaCl 1,8%. *: Diferente do grupo Treinados + NaCl 0,9% (p<0,05). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol (p<0,05). ....	28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Volume urinário após os experimentos de ingestão de água e NaCl 1,8%. *: Diferente do grupo Treinados + NaCl 0,9% ( $p < 0,05$ ). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol ( $p < 0,05$ ). .....	27
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANG II	Angiotensina II
AT1	Receptores de angiotensina do tipo 1
AT2	Receptores de angiotensina do tipo 2
AT3	Receptores de angiotensina do tipo 3
AT4	Receptores de angiotensina do tipo 4
CVOs	Órgãos circunventriculares
Icv	Intracerebroventricular
LV	Lateral ventricle
Na <sup>+</sup>	Sódio
SNC	Sistema Nervoso Central
UFG	Universidade Federal de Goiás
VAM	Velocidade aeróbia máxima
VL	Ventrículo Lateral

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. OBJETIVOS .....	19
2.1. OBJETIVO GERAL .....	19
2.2. JUSTIFICATIVA.....	19
3. MÉTODOS .....	20
3.1. MODELO EXPERIMENTAL.....	20
3.2. ACLIMATAÇÃO AO TREINAMENTO EM ESTEIRA ROLANTE .....	20
3.3. TESTES PARA AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO FÍSICA .....	20
3.4. TEMPO DE DURAÇÃO DE CADA ESTÁGIO .....	21
3.5. TREINAMENTO EM ESTEIRA ROLANTE .....	21
3.6. CIRURGIA PARA IMPLANTE DE CÂNULA GUIA NO VENTRÍCULO LATERAL (VL).....	22
3.7. MICROINJEÇÃO DE ANG II NO VENTRÍCULO LATERAL (VL).....	23
3.8. MICROINJEÇÃO DE CARBACOL NO VENTRÍCULO LATERAL (VL).....	23
3.9. ANÁLISE HISTOLÓGICA .....	24
3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4. RESULTADOS .....	25
4.1 MICROINJEÇÃO DE ANG II.....	25
4.2 MICROINJEÇÃO DE CARBACOL.....	26
4.3 VOLUME URINÁRIO .....	27
5. DISCUSSÃO .....	29
6. CONCLUSÃO.....	32
7. REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

A manutenção da osmolaridade plasmática e a regulação de volume dos vários compartimentos do organismo são fundamentais para manter as condições fisiológicas, e a constância da composição do meio interno é mantida basicamente pelo controle da ingestão e excreção renal de sal e água (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005).

A desidratação celular acarreta a sede que é induzida pelo desequilíbrio osmótico devido à perda de água e/ou aumento de soluto, principalmente o sódio no compartimento extracelular. As formas de perda de água se dão pela privação hídrica e também pela excreção, transpiração e evaporação (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005).

A privação hídrica, além da falta de água, também produz uma perda renal de sódio em animais e seres humanos que, juntamente com a secreção de vasopressina, contribui para atenuar a elevação da osmolaridade extracelular (WEISINGER et al., 1985; SCHOORLEMMER & EVERED, 1993). Conseqüentemente ocorre uma depleção de sódio que somente será corrigida pela ingestão de sódio. O sódio ingerido é necessário para evitar hipotonicidade e para correção final da volemia após a ingestão de água (STRICKER et al., 1992; VERBALIS, 1990).

Podem-se distinguir dois tipos principais de sede: a intracelular, com participação de osmorreceptores e a extracelular, com um importante componente dependente da angiotensina II (ANG II). A sede extracelular surge como consequência de uma redução exclusiva do volume do líquido extracelular e ocorre em situações como hemorragia, diarreia, vômitos, depleção de sódio etc. A redução de volume do compartimento extracelular, em especial do volume plasmático, causa uma grande ativação de mecanismos que aumentam as concentrações plasmáticas de ANG II (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005). O exercício físico é uma situação que causa perda de água e sódio pelo organismo, ou seja, a desidratação extracelular, que é evidenciada pela sudorese que acompanha o exercício em humanos (WALD & LESHEM, 2003; STACHENFELD, 2008).

A desidratação intracelular é a perda de água pela célula devido ao aumento da pressão osmótica no compartimento extracelular, isso faz com que osmorreceptores centrais e periféricos sejam ativados, conseqüentemente, esse

mecanismo ocasiona a necessidade de ingestão de água (sede). Já a desidratação extracelular, é a perda conjunta de água e sódio do compartimento extracelular, e também gera uma resposta central através de hormônios, que leva a uma busca por água e sódio (OLIVEIRA, 2017).

A ingestão de água e sódio induzidos pela desidratação extracelular é fortemente influenciada pela ação da ANG II nos receptores do tipo AT1 localizados em áreas centrais importantes para o controle do equilíbrio hidroeletrolítico (JOHNSON & EDWARDS, 1990). Os sinais químicos que direcionam a resposta do organismo são enviados ao hipotálamo e também aos órgãos circunventriculares (CVOs), região em torno dos ventrículos. Os órgãos circunventriculares são compostos pelo órgão vascular da lâmina lateral, órgão subfornical, eminência mediana, neuro-hipófise, glândula pineal, órgão sub-comissural e área postrema. Essas estruturas são importantes por ser uma região onde a barreira hematoencefálica é permeável e estão em contato com outras áreas do cérebro permitindo o controle de fluidos corporais. Além disso, possuem neurônios sensíveis à ANG II, onde são encontrados os seus receptores (FITZSIMONS, 1998; SILVA, 2010).

A angiotensina é um peptídeo que atua como hormônio, sendo produzido pelo sangue e atuando na circulação. Além disso, é formada em muitos tecidos, como cérebro, rins, coração e vasos sanguíneos. Sendo assim, a ANG II possui funcionalidade como hormônio parácrino (tem ação em células vizinhas de onde foi produzido) e autócrino (age na célula em que foi produzido), que age induzindo o crescimento e proliferação celular e controlando a formação da matriz extracelular (DE GASPARO et al., 2000).

A ANG II possui quatro receptores conhecidos, sendo nomeados de AT1, AT2, AT3 e AT4. O AT1 medeia uma grande quantidade de ações fisiológicas conhecidas da angiotensina II (ANG II) em células-alvo cardiovasculares, renais, neuronais, endócrinas, hepáticas e outras. Essas ações incluem a regulação da pressão arterial, balanço eletrolítico e hídrico, sede, secreção hormonal e função renal. O receptor AT2 possui funções contrabalanceadoras aos efeitos do AT1, induzindo apoptose, efeitos sobre o tônus vascular, diferenciação celular neural e regeneração nervosa (DE GASPARO et al., 2000). Já os dois últimos receptores são pouco descritos e suas funções são pouco conhecidas. Estudos demonstraram, em ratos, que após injeção

intracraniana de ANG II a resposta do animal para ingestão de água é imediata e se mantém em grandes quantidades por 10-15min após a injeção (FITZSIMONS, 1998).

Os estímulos gerados nos osmorreceptores devido à desidratação intracelular ativam as vias colinérgicas induzindo a ingestão de água. O carbacol é um agonista colinérgico e possui efeitos dipsogênicos (induz ingestão de água) e natriurético (excreção de sódio) (MELO, 2011). Estudos demonstraram que ratos que receberam injeção intracerebroventricular (icv) de carbacol tiveram aumento da ingestão de água e excreção de Na<sup>+</sup> (MENANI et al., 1990).

Desordens no ambiente externo ou no meio interno durante o desenvolvimento, mas também no cérebro adulto podem ocasionar uma série de alterações funcionais ou estruturais na reorganização dos neurônios, que é definida como plasticidade neural. Muitos estudos têm demonstrado que a atividade física e o treinamento físico podem induzir uma plasticidade funcional e neuroanatômica no cérebro maduro, incluindo neurogênese, angiogênese, plasticidade sináptica e remodelamento morfológico dendrítico (MICHELINI & STERN, 2009).

Um estudo demonstrou que o exercício físico em modelos animais com insuficiência cardíaca melhorou a função barorreflexa e também promoveu a normalidade da atividade do nervo renal basal e os níveis plasmáticos de norepinefrina e ANG II (PATEL & ZHENG, 2012).

Os mecanismos pelo qual o exercício físico promove a neuroplasticidade não são muito conhecidos. Existe uma teoria, chamada de “Cross-Stressor Adaptation Hypothesis” que sugere o treinamento físico como um agente de estresse no corpo, capaz de alterar a capacidade de resposta a outros tipos de agentes de estresse. Essa teoria pode ser embasada no que se relaciona especificamente às respostas mediadas pelo Sistema Nervoso Central (SNC), por exemplo, em humanos e animais treinados as respostas pressoras a diferentes formas de estresse são atenuadas (MUELLER, 2007).

Até o presente momento, não foram avaliadas, se em animais treinados, a sinalização central mediada pela ANG II e pelo carbacol para ingestão de água e sódio está alterada. Estes podem ser possíveis mecanismos que sejam alterados após o treinamento para que a desidratação interfira menos no rendimento de praticantes de atividade física.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Investigar os efeitos da injeção central de ANG II e carbacol sobre o equilíbrio hidroeletrólítico em ratos submetidos a sessões de esteira.

#### **2.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar efeitos da injeção central de ANG II na ingestão de água e sódio e excreção urinária em animais submetidos a sessões de esteira por 8 semanas;
- Avaliar efeitos da injeção central de carbacol na ingestão de água e sódio e excreção urinária em animais submetidos a sessões de esteira por 8 semanas;

### **2.2. JUSTIFICATIVA**

Muitos estudos demonstram os efeitos do exercício sobre a perda de água e de sódio, porém existem poucos que objetivam averiguar o consequente comportamento de sede e apetite ao sódio e a correlação com o exercício e a desidratação. Os mecanismos que poderiam contribuir para estas alterações também são pouco estudados. Assim o presente estudo busca investigar a influência das vias angiotensinérgicas e colinérgicas centrais na ingestão de água e sódio em ratos submetidos a sessões de esteira.

### **3. MÉTODOS**

#### **3.1. MODELO EXPERIMENTAL**

Foram utilizados machos (250-280g) da linhagem Wistar fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG). Distribuiu-se os animais em 2 grupos: Sedentários e Treinados. Os animais foram mantidos em caixas com 5 animais, acondicionadas em salas climatizadas (temperatura 22-24°C), com ciclo claro/escuro de 12/12h e acesso *ad libitum* à água e ração. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas do Comitê de Ética aprovados (065/17).

#### **3.2. ACLIMATAÇÃO AO TREINAMENTO EM ESTEIRA ROLANTE**

Todos os animais passaram por um período de aclimação antes do início do treinamento ou inatividade física. O período de aclimação também foi utilizado para selecionar apenas ratos ativos e distribuí-los entre os grupos treinados. Nesse período os animais foram submetidos à atividade em esteira rolante de curta duração e baixa intensidade (10 minutos – cargas de 5 a 10 m/minuto), durante duas semanas, cinco dias por semana (MASSON et al., 2014; CERONI et al., 2009).

Após os primeiros cinco dias de aclimação, os animais que não tiveram aptidão para o treinamento em esteira rolante foram remanejados para formarem o grupo de animais Sedentários.

#### **3.3. TESTES PARA AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO FÍSICA**

Foram realizados testes de incremento de carga em esteira rolante para avaliação física dos ratos através de sua resistência física em função do tempo, em três momentos: antes do início do treinamento, quatro semanas após o início do treinamento e oito semanas após o início do treinamento, a fim de proporcionar aos animais sobrecarga de treino adequada e um treinamento de caráter aeróbio. O teste incremental de carga em função do tempo realizado é adaptado para esteira motorizada EP 131 (Insight, Brasil). O teste consistiu em estágios de 3 minutos de duração com uma carga inicial de 5 m/minuto. Após o término do terceiro minuto de

cada estágio acrescentou-se uma carga de 5 m/minuto à velocidade da esteira, até a exaustão do animal (CERONI et al., 2009).

A exaustão foi tomada na observância das seguintes situações: quando o animal desistiu de correr por mais de 10 segundos, quando encostou três vezes no fundo da baía em um mesmo estágio e após não conseguir ultrapassar a metade anterior da baía em um mesmo estágio. Após os testes, foram obtidas as velocidades aeróbicas máximas (VAM) de cada animal, através da seguinte equação:

$$\text{VAM} = \text{Tempo de duração total dos testes (s)} \times \text{Carga incrementada (m/min)}$$

### **3.4. TEMPO DE DURAÇÃO DE CADA ESTÁGIO**

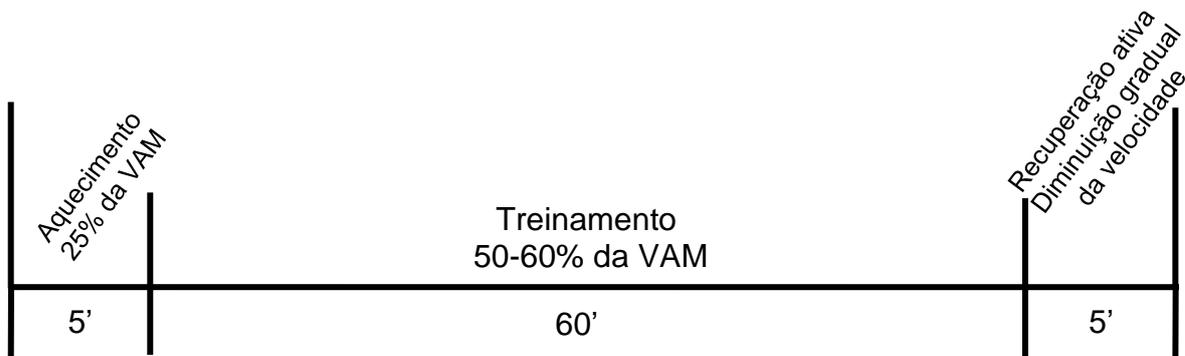
A VAM foi baseada na média do desempenho do grupo para calcular a velocidade de treinamento, correspondente a 50% e 60% da VAM atingida pelos animais, a fim de não sobrecarregar os animais com velocidades muito acima das suportáveis. Apenas animais de desempenho compreendido em um mesmo estágio do teste treinaram ao mesmo tempo.

### **3.5. TREINAMENTO EM ESTEIRA ROLANTE**

O treinamento foi adaptado segundo Masson et al. (2014). Iniciou-se com fase de aquecimento, de duração de 5 minutos e velocidade de 25% da VAM com incrementos de carga de minuto a minuto até atingir a velocidade de treinamento. O tempo de treinamento foi ajustado gradualmente durante a primeira semana de treinamento, variando entre 30 e 60 minutos. A velocidade de treino iniciou-se em 50% do máximo (durante duas semanas) e posteriormente foi aumentada para 60% (durante as duas semanas seguintes). Após a quarta semana de treinamento, foi realizado outro teste incremental de carga para medir a nova VAM, e a nova velocidade de treinamento foi definida como 50% da nova VAM estabelecida.

As seções de treinamento sempre terminaram com 5 min de recuperação ativa com a redução da carga de minuto a minuto até a parada total da esteira. Os animais treinados foram submetidos a oito semanas de treinamento aeróbico em esteira motorizada, cinco vezes por semana, com duração de 60 minutos e intensidade de 50-60% da VAM correspondente a seu teste incremental (MASSON et al., 2014), com

todas as seções de treinamento realizadas no ciclo claro dos animais. O outro grupo permaneceu sem atividade física (sedentarismo) e os animais foram mantidos na sala da esteira rolante durante os horários de treinamento do grupo treinado, sob influência das vibrações e dos ruídos provocados pelo motor da esteira, visando neutralizar os possíveis efeitos do estresse do treinamento em esteira sobre os resultados obtidos.



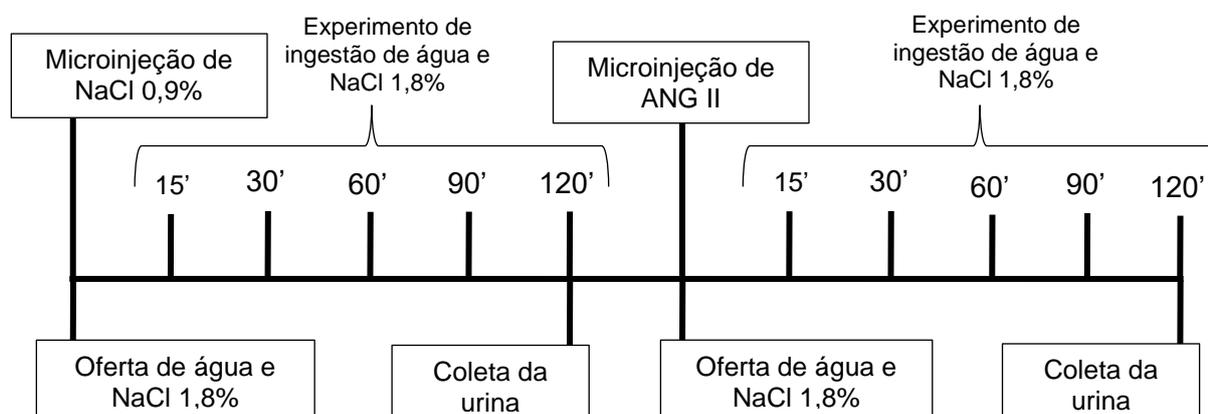
**Figura 1.** Protocolo de treinamento em esteira rolante.

### **3.6. CIRURGIA PARA IMPLANTE DE CÂNULA GUIA NO VENTRÍCULO LATERAL (VL)**

Após o período de treinamento em sessões de esteira os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg de peso corporal) e xilazina (7 mg/kg de peso corporal) administrado intraperitonealmente, e posteriormente fixados em um aparelho estereotáxico para pequenos animais (Bonther Ltda, Ribeirão Preto, SP). O crânio foi nivelado utilizando o bregma e lâmbida como referências. Uma cânula de aço inoxidável (10 mm comprimento x 0,7 mm diâmetro interno) foi implantada no VL, após a trepanação do crânio com uma broca circular, usando as coordenadas 0,3 mm caudal ao bregma, 1,2 lateral a linha média e 3,6 mm abaixo da superfície do crânio. A cânula foi fixada no crânio com a utilização de parafusos e resina acrílica. Após a secagem completa da resina, o animal foi retirado do estereotáxico e um mandril foi introduzido dentro da cânula. Os animais foram mantidos em recuperação por um período de no mínimo cinco dias.

### 3.7. MICROINJEÇÃO DE ANG II NO VENTRÍCULO LATERAL (VL)

Os animais, mantidos em gaiolas metabólicas sem acesso a ração, receberam a microinjeção (1  $\mu$ L) central de NaCl 0,9% no VL, tiveram ofertadas buretas graduadas de vidro (divisões de 0,1 mL) contendo água e NaCl 1,8% durante 120 minutos e a mensuração da ingestão foi avaliada nos tempos 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos. Ao final do experimento foi coletada a urina. Em seguida, os animais receberam a microinjeção (1  $\mu$ L) central de ANG II (50 ng) no VL, tiveram ofertadas buretas graduadas de vidro (divisões de 0,1 mL) contendo água e NaCl 1,8% durante 120 minutos e a mensuração da ingestão foi avaliada nos tempos 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos. Ao final do experimento foi coletada a urina.



**Figura 2.** Protocolo de microinjeção central de ANG II.

### 3.8. MICROINJEÇÃO DE CARBACOL NO VENTRÍCULO LATERAL (VL)

Após 2 dias de recuperação, os animais foram submetidos novamente ao experimento de ingestão de água e sódio. Primeiramente receberam a microinjeção (1  $\mu$ L) central de NaCl 0,9% no VL, tiveram ofertadas buretas graduadas de vidro (divisões de 0,1 mL) contendo água e NaCl 1,8% durante 120 minutos e a mensuração da ingestão foi avaliada nos tempos 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos. Ao final do experimento foi coletada a urina. Em seguida, os animais receberam a microinjeção (1  $\mu$ L) central de carbacol (4 nmol) no VL, tiveram ofertadas buretas graduadas de vidro (divisões de 0,1 mL) contendo água e NaCl 1,8% durante 120 minutos e a

mensuração da ingestão foi avaliada nos tempos 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos. Ao final do experimento foi coletada a urina.

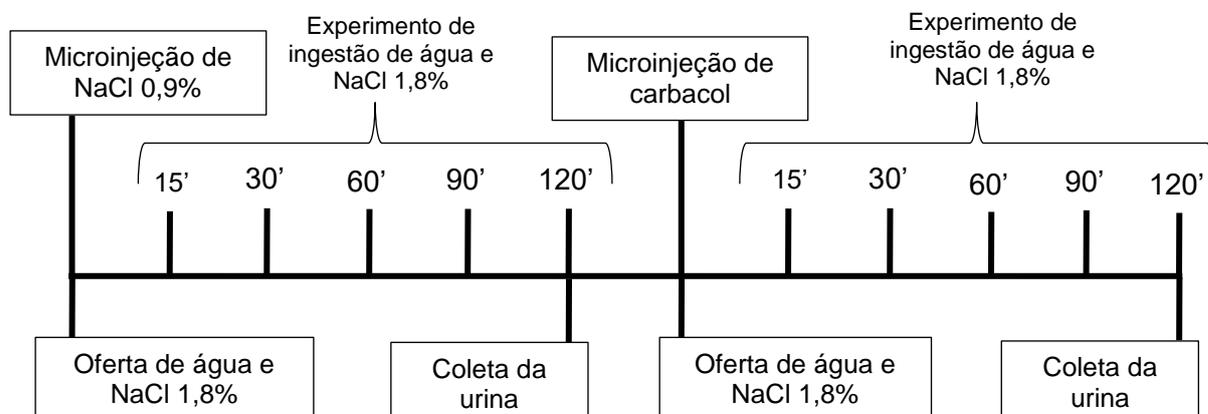


Figura 3. Protocolo de microinjeção central de carbacol.

### 3.9. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Ao final dos experimentos, os animais foram anestesiados profundamente com tiopental sódico (70 mg/kg de peso corporal). Em seguida, receberam microinjeções de corante (azul de Evans 1%, 0,1  $\mu$ L) no VL e foram submetidos a uma perfusão cerebral por meio de injeção no coração (ventrículo esquerdo) de solução de formaldeído 10% (20 mL). Em seguida, os encéfalos foram retirados e armazenados em solução de formaldeído 10% por alguns dias. Cortes transversais (40  $\mu$ m de espessura) foram feitos utilizando-se um criostato (Leica). Os cortes histológicos foram montados em lâminas e corados com corante vermelho neutro 1%. Posteriormente, foram analisados em microscópio óptico para localização das injeções no VL.

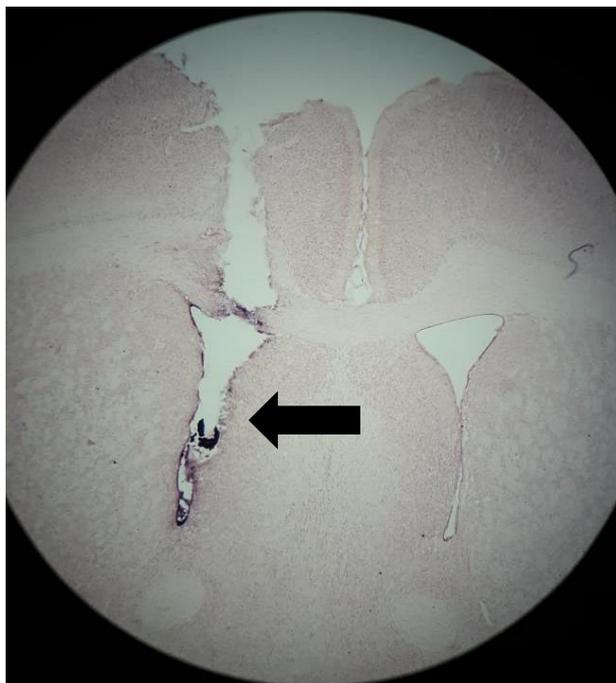
### 3.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados experimentais obtidos foram expressos como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média). Para análise das respostas comportamentais de ingestão de água e sódio foi utilizada ANOVA de duas vias considerando o tempo e o treinamento como variáveis, seguida pelo pós-test Bonferroni e por fim, teste de Turkey para o teste de comparações múltiplas. A significância foi assumida quando  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

No total foram utilizados 27 ratos, dentre eles: 7 Sedentários e 5 Treinados estavam positivos para a microinjeção de ANG II; 7 Sedentários e 3 Treinados estavam positivos para a microinjeção de carbacol. Os grupos experimentais foram seus próprios controles. A significância ( $p < 0,05$ ) dos resultados obtidos foi determinada pelo teste de Turkey.

Considerou-se animais positivos aqueles que possuíam a cânula guia no ventrículo lateral direito. Pode-se identificar a positividade através da análise microscópica das lâminas com os cortes histológicos. A Figura 1 apresenta fotomicrografia transversal de um corte histológico de um animal positivo:

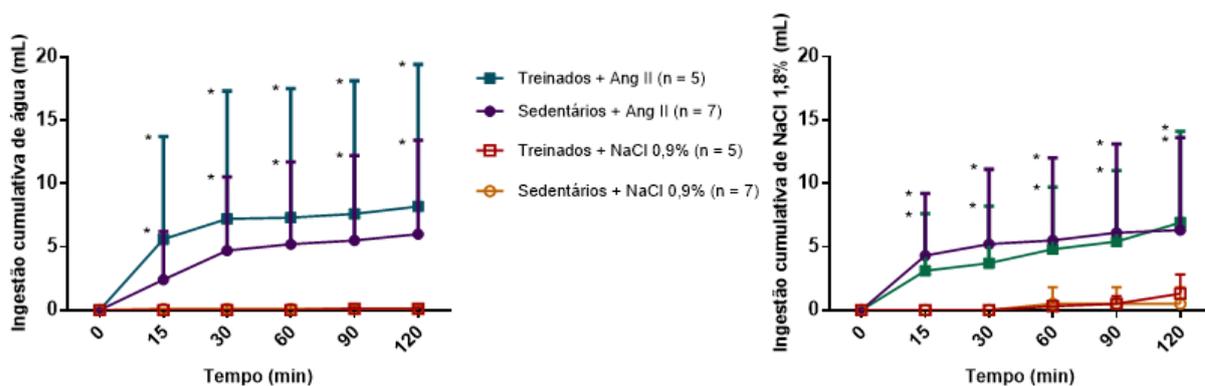


**Figura 4.** Fotomicrografia demonstrativa da microinjeção no VL (seta) em um animal representativo do grupo.

### 4.1 MICROINJEÇÃO DE ANG II

Os resultados encontrados após o experimento de ingestão de água e NaCl 1,8% estão demonstrados na Figura 5. Em relação a ingestão cumulativa de água, pode-se notar que não houve diferença significativa entre os grupos Sedentários ( $6,0 \pm 7,4$  mL/120 min) e Treinados ( $8,2 \pm 11,2$  mL/120 min). Porém, quando comparados,

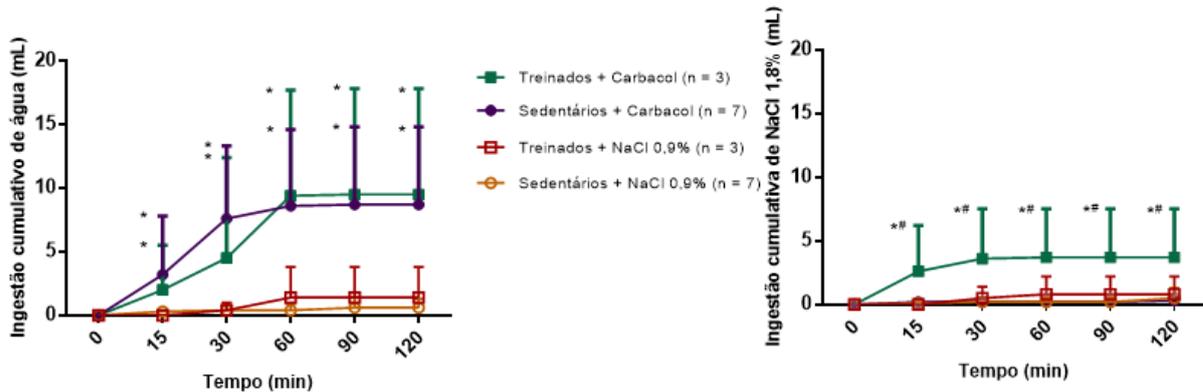
respectivamente aos Sedentários + NaCl 0,9% ( $0,1 \pm 0,3$  mL/120 min) e Treinados + NaCl 0,9% ( $0,1 \pm 0,1$  mL/120 min), a diferença foi significativa. No que se refere a ingestão cumulativa de NaCl 1,8%, o comportamento foi semelhante, não havendo diferença significativa entre os grupos Sedentários ( $6,3 \pm 7,3$  mL/120 min) e Treinados ( $6,9 \pm 7,2$  mL/120 min); e quando comparados, respectivamente, aos grupos Sedentários + NaCl 0,9% ( $0,5 \pm 1,3$  mL/120 min) e Treinados + NaCl 0,9% ( $1,3 \pm 1,5$  mL/120 min), houve diferença significativa.



**Figura 5.** Ingestão cumulativa de água (esquerda) e NaCl 1,8% (direita) após a microinjeção de ANG II e NaCl 0,9% (Controle). \*: Diferente do grupo Controle ( $p < 0,05$ ).

## 4.2 MICROINJEÇÃO DE CARBACOL

A ingestão de água e NaCl 1,8% após a microinjeção de carbacol está representada na Figura 6. Quanto a ingestão cumulativa de água, a resposta foi semelhante a da ANG II, os grupos Sedentários ( $8,7 \pm 6,1$  mL/120 min) e Treinados ( $9,5 \pm 8,3$  mL/120 min) não demonstraram diferença significativa, já quando comparado aos seus respectivos controles, Sedentários + NaCl 0,9% ( $0,6 \pm 0,7$  mL/120 min) e Treinados + NaCl 0,9% ( $1,4 \pm 2,4$  mL/120 min), houve significância. Divergindo dos resultados anteriores, a ingestão cumulativa de NaCl 1,8% mostrou diferença significativa entre os grupos Sedentários ( $0,3 \pm 0,3$  mL/120 min) e Treinados ( $3,7 \pm 3,8$  mL/120 min). Porém quando comparados com seus respectivos controles, tal fato não ocorreu com os Sedentários + NaCl 0,9% ( $0,5 \pm 0,8$  mL/120 min), somente com os Treinados + NaCl 0,9% ( $0,8 \pm 1,4$  mL/120 min).



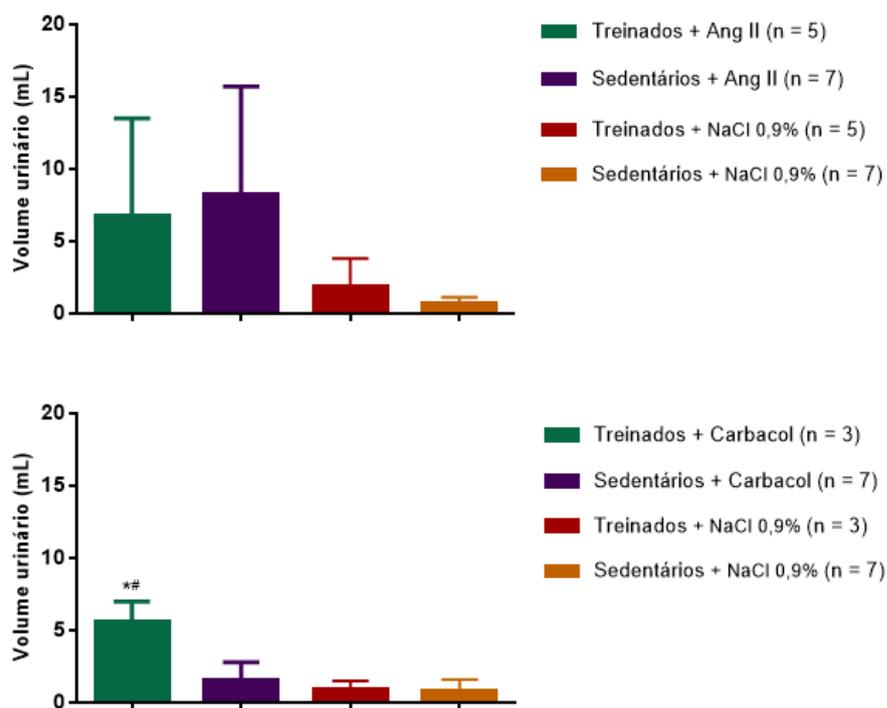
**Figura 6.** Ingestão cumulativa de água (esquerda) e NaCl 1,8% (direita) após a microinjeção de carbacol e NaCl 0,9% (Controle). \*: Diferente do grupo Controle ( $p < 0,05$ ). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol ( $p < 0,05$ ).

### 4.3 VOLUME URINÁRIO

A urina foi coletada após a finalização de cada experimento e os resultados estão dispostos na Tabela 1 e Figura 7. Após a análise estatística dos dados, os únicos valores que demonstraram diferença significativa foram o volume urinário excretado pelo grupo Treinados ( $5,6 \pm 1,4$  mL/120 min), após a microinjeção de carbacol, quando comparado com os grupos Sedentários ( $1,5 \pm 1,3$  mL/120 min) e Treinados + NaCl 0,9% ( $0,9 \pm 0,6$  mL/120 min).

	Sedentários	Treinados	Sedentários + NaCl 0,9%	Treinados + NaCl 0,9%
<b>ANGII</b>	$8,2 \pm 7,5$ mL/120 min	$6,7 \pm 6,8$ mL/120 min	$0,7 \pm 0,4$ mL/120 min	$1,8 \pm 2,0$ mL/120 min
<b>Carbacol</b>	$1,5 \pm 1,3$ mL/120 min	$5,6 \pm 1,4$ mL/120 min <sup>#</sup>	$0,8 \pm 8,8$ mL/120 min	$0,9 \pm 0,6$ mL/120 min

**Tabela 1.** Volume urinário após os experimentos de ingestão de água e NaCl 1,8%. \*: Diferente do grupo Treinados + NaCl 0,9% ( $p < 0,05$ ). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol ( $p < 0,05$ ).



**Figura 7.** Volume urinário após os experimentos de ingestão de água e NaCl 1,8%. \*: Diferente do grupo Treinados + NaCl 0,9% ( $p < 0,05$ ). #: Diferente do grupo Sedentários + Carbacol ( $p < 0,05$ ).

## 5. DISCUSSÃO

No presente trabalho, demonstramos que a ANG II foi capaz de induzir ingestão de água e sódio sem alterações no volume urinário tanto em animais Sedentários como Treinados. Já a administração de carbacol também foi efetiva em produzir ingestão de água em ambos os grupos, no entanto produziu uma resposta de apetite ao sódio em animais Treinados e aumento do volume urinário.

Já está bem descrito que após a injeção de ANG II, devido a ativação dos receptores AT1, animais ingerem água e solução hipertônica de sódio, normalmente aversiva ao paladar de roedores (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005; FITZSIMONS, 1998; JOHNSON & EDWARDS, 1990). Fitzsimons (1998) comparou a resposta após a injeção de diferentes dosagens de ANG II, demonstrando que na sua maior concentração (10-12 mol) todos os animais ingeriram mais de 3 mL de água. Além disso, após a injeção de ANG II ivc houve um aumento da ingestão de sódio, porém quando comparado com a ingestão de água, esse efeito é menor. A procura do animal pela água se dá em aproximadamente 1 minuto após a injeção central, sendo que a maior ingestão ocorre em até 15 minutos (devido ao baixo tempo de meia vida da ANG II). Essa divergência de ingestão não foi demonstrada nos experimentos apesar dos animais ingerirem tanto água quanto solução salina.

A neuroplasticidade em decorrência do exercício físico sugerida anteriormente por Patel e Zheng (2012) não é evidenciada no presente estudo em relação aos estímulos com ANG II. Tal modulação estaria presente caso a ingestão de ambos os líquidos pelos animais Treinados fosse menor, o que não foi demonstrado pelas análises estatísticas, que não apresentaram significância ( $p < 0,05$ ). Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa demonstraram que animais submetidos a exercícios físicos ingeriram menos NaCl 1,8% ( $2,1 \pm 0,8$  mL/90 min) que os Sedentários ( $6,1 \pm 0,8$  mL/90 min) após protocolo privação hídrica seguida de reidratação (GALBIM, 2019), que pode ter envolvimento de estruturas diferentes das áreas prosencefálicas estimuladas pela injeção direta da ANG II no ventrículo lateral, como no presente estudo.

A estimulação colinérgica, pela injeção de carbacol, também foi capaz de estimular a sede, como estudos prévios já demonstraram (WEISINGER et al., 1985; MENANI et al., 1990; SCHOORLEMMER & EVERED, 1993). A ativação das vias

colinérgicas pelo carbacol, resultando em maior ingestão de água foi demonstrada por Menani et al. (1990), onde ratos com lesão do terceiro ventrículo obtiveram menor estímulo após a injeção do agonista, comparado aos sem lesão. Esse efeito também foi demonstrado por Melo et al. (2015) onde o peróxido de hidrogênio inibiu a ação dipsogênica do carbacol.

Sabe-se que a ingestão de NaCl frente a desidratação intracelular não é esperada uma vez que a correção da hiperosmolaridade plasmática não seria corrigida com um aporte adicional de solução salina (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005), o que acontece no presente estudo, onde animais treinados ingerem uma quantidade maior de solução salina quando comparado ao animais Sedentários. A ingestão de NaCl 1,8% foi maior nos animais Treinados, porém devido ao baixo *n* e ao desvio padrão aumentado, mais experimentos são necessários para melhor interpretação dos dados. Um trabalho de De Luca Jr et al. (2003) mostrou pela primeira vez que mecanismos centrais participariam do mecanismo de ingestão de sódio mesmo em situações de hiperosmolaridade plasmática. O bloqueio de receptores serotoninérgicos de uma área envolvida com o controle da ingestão de fluidos conhecida como núcleo parabraquial lateral (NPBL), foi capaz de produzir ingestão de grandes quantidades de solução salina hipertônica em animais normohidratados. Desta forma, apesar de ser um número pequeno de animais, sugere-se que em animais treinados ocorra alguma alteração em áreas centrais envolvidas com o controle da ingestão de sódio induzida pela estimulação colinérgica central.

O volume urinário se mostrou semelhante em ambos grupos, após a estimulação com ANG II. Tal comportamento pode ser explicado pela mesma hipótese levantada em relação à diferença não encontrada na ingestão de NaCl 1,8%. No outro estudo do nosso grupo de pesquisa, foi evidenciado menor volume urinário nos Treinados que nos Sedentários após a privação hídrica por 24h, demonstrando que o primeiro grupo teve uma menor desidratação (GALBIM, 2019).

Já em relação a excreção urinária induzida pelo carbacol, observamos que o grupo treinado apresentou um maior volume urinário do que o grupo sedentário, que é importante, pois a estimulação colinérgica central tem um conhecido efeito antidiurético (MELO et al., 2015; MENANI et al, 1990). Juntamente com os achados relacionados com o aumento da ingestão de NaCl 1,8% nestes animais, podemos

indicar uma interessante linha de investigação para explicar estes efeitos, embora o número de animais deste grupo ter sido ainda baixo.

Os resultados obtidos são diferentes do que se esperava, pois divergem de hipóteses e estudos anteriores que demonstraram correlação entre o exercício físico e a neuroplasticidade. Além da dificuldade pelo longo tempo de protocolo em relação à duração da pesquisa, impossibilitando a realização de mais grupos para que o número de animais comparados fosse maior. Outro fator complicador foi que a esteira rolante utilizada para o treinamento dos animais estragou, atrasando o protocolo e impossibilitando a finalização do último grupo que já estava em andamento. Por isso, a continuidade dessa pesquisa é importante para aumentar o  $n$ , diminuir o desvio padrão e obter dados mais precisos, podendo se tornar uma nova vertente nessa linha de pesquisa.

## 6. CONCLUSÃO

O estímulo da ingestão de água e apetite ao sódio em animais Treinados e Sedentários após a microinjeção central de ANG II e carbacol ocorreu e foi significativa quando comparada aos grupos controles, que receberam microinjeção central de NaCl 0,9%. O exercício físico não demonstrou influência na neuroplasticidade relacionada à alteração da sensibilidade aos efeitos da ANG II evidenciando que as vias angiotensinérgicas centrais que controlam a dipsia e apetite ao sódio não são afetadas pelo treinamento físico, assim como visto em relação ao carbacol e a dipsia. No entanto, os efeitos do carbacol em relação a ingestão de sódio são promissores, pois indicam que o exercício físico pode alterar as vias colinérgicas relacionadas com o apetite ao sódio.

## 7. REFERÊNCIAS

ANTUNES-RODRIGUES, J.; MOREIRA, A. C.; ELIAS, L. L. K.; CASTRO, M. **Neuroendocrinologia básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan AS, 2005.

CERONI, A.; CHAAR, L. J.; BOMBEIN, R. L.; MICHELINI, L. C. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Exp Physiol**, v. 94, n. 6, p. 630-640, jun., 2009.

DE GASPARO, M.; K. CATT, J.; INAGAMI, T.; WRIGHT, J. W.; UNGER, T. H. The Angiotensin II Receptors. **Pharmacol Ver.**, v. 52, n. 3, p. 415–472, 2000.

DE LUCA JR, L. A.; BARBOSA, S. P.; MENANI, J. V. Brain Serotonin Blockade and Paradoxical Salt Intake in Rats. **Neuroscience**, v. 121, n. 4, p. 1055-1061, 2003.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, Thirst, and Sodium Appetite. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 3, p. 583-686, jul., 1998.

GALBIM, R. L. S. **Efeitos do exercício sobre a sede e apetite ao sódio induzidos por protocolos de desidratação intra e extracelular em ratos**. 2019. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2019.

JOHNSON, A. K.; EDWARDS, G. L. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. **Current topics in neuroendocrinology**, v. 10, p. 149-90, 1990.

MASSON, G. S.; COSTA, T. S.; YSHII, L.; FERNANDES, D. C.; SOARES, P. P.; LAURINDO, F. R.; SCAVONE, C.; MICHELINI, L. C. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: role for brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **PLOS ONE**, v. 9, n. 5, p. 1-10, mai., 2014.

MELO, M. D. R. **Efeitos da ação central do peróxido de hidrogênio na ingestão de água, na excreção renal de água e eletrólitos e na expressão de FOS induzidos pela estimulação colinérgica da área septal medial**. 2011. 47 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia-Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, SP, 2011.

MELO, M. R.; MENANI, J. V.; COLOMBARI, E.; COLOMBARI, D. S. A. Hydrogen peroxide attenuates the dipsogenic, renal and pressor responses induced by cholinergic activation of the medial septal area. **Neuroscience**, v. 284, p. 611–621, 2015.

MENANI, J.; SAAD, W. A.; DE ARRUDA CAMARGO, L. A.; RENZI, A.; DE LUCA, L. A.; COLOMBARI, E. The anteroventral third ventricle (AV3V) region is essential for pressor, dipsogenic and natriuretic responses to central carbachol. **Neuroscience Letters**, v. 113, n. 3, p. 339–344, 1990.

MICHELINI, L. C.; STERN, J. E. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. **Experimental Physiology**, v. 94., n. 9, p. 947-960, 2009.

MUELLER, P. J. Exercise training and Sympathetic Nervous System Activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, p. 377–384, 2007.

OLIVEIRA, L. C. G. **Participação dos receptores de Angiotensina II AT1 E AT2 no núcleo central da amígdala sobre a ingestão de água e sódio**. 2017. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2017.

PATEL, K. P.; ZHENG, H. Central neural control of sympathetic nerve activity in heart failure following exercise training. **American Physiological Society**, v. 302, p. 527-537, 2012.

SCHOORLEMMER, G. H. M.; EVERED, M. D. Water and solute balance in rats during 10 h water deprivation and rehydration. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 71, p. 379-386, 1993.

SILVA, A. V. **Estudo das projeções hipotalâmicas para a região urocortinérgica do complexo oculomotor**. 2010. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2010.

STACHENFELD, N. S. Acute Effects of Sodium Ingestion on Thirst and Cardiovascular Function. **Current Sports Medicine Reports**, v. 7, n. 4, p. 7-13, jul-ago, 2008.

STRICKER, E. M.; GANNON, K. S.; SMITH, J. C. Thirst and salt appetite induced by hypovolemia in rats: analysis of drinking behavior. **Physiol. Behav**, v. 51, p. 27-37, 1992.

VERBALIS, J. G. Clinical aspects of body-fluid homeostasis in human. In: **Neurobiology of food and fluid intake**. 1. ed. New York: Plenum Press, p. 421-462, 1990.

WALD, N.; LESHEM, M. Salt conditions a flavor preference or aversion after exercise depending on NaCl dose and sweat loss. **Appetite**, v. 40, n. 3, p. 277-284, jun., 2003.

WEISINGER, R. S.; DENTON, D. A., MCKINLEY, M. J., NELSON, J. F. Dehydration-induced sodium appetite in rats. **Physiology and Behavior**, v. 34, p. 45-50, 1985.