



Universidade Federal de Goiás

Instituto de Ciências Biológicas

Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas

**CONTROLE HIDROELETROLÍTICO E RESPOSTAS
CARDIOVASCULARES À INJEÇÃO CENTRAL DE ANGII,
CARBACOL E HIPEROSMOLARIDADE PLASMÁTICA EM RATOS
COM EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA**

THAIS MACHADO DAS MERCÊS

Goiânia,

2019



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, 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 material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Thais Machado das Mercês

Título do trabalho: Controle hidroeletrolítico e respostas cardiovasculares à injeção central de anll, carbacol e hiperosmolaridade plasmática em ratos com epilepsia induzida por pilocarpina.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento **SIM** **NÃO**¹

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

Thais machado das mercês
Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 15/01/2020

¹ 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.

² A assinatura deve ser escaneada.

THAIS MACHADO DAS MERCÊS

**CONTROLE HIDROELETROLÍTICO E RESPOSTAS
CARDIOVASCULARES À INJEÇÃO CENTRAL DE ANGII,
CARBACOL E HIPEROSMOLARIDADE PLASMÁTICA EM RATOS
COM EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Área de Concentração: Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Freiria Oliveira

Goiânia,

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Machado das Mercês, Thais

Controle hidroeletrolítico e respostas cardiovasculares à injeção central de angII, carbacol e hiperosmolaridade plasmática em ratos com epilepsia induzida por pilocarpina. [manuscrito] / Thais Machado das Mercês. - 2019.

21, 58 f.: il.

Orientador: Prof. André Henrique Freiria-Oliveira; co-orientador Diego Basile Colugnati.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Goiânia, 2019.

Bibliografia.

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

1. Epilepsia do lobo temporal. 2. pilocarpina. 3. angiotensina II. 4. carbacol. 5. gavagem. I. Henrique Freiria-Oliveira, André, orient. II. Título.

CDU 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 14 da sessão de Defesa de Dissertação de **Thais Machado das Mercês**, que confere o título de Mestre(a) em Ciências Fisiológicas.

Ao/s vinte e nove dias do mês de novembro de 2019, a partir da(s) 14:00 h, no(a) Anfiteatro do Instituto de Ciências Biológicas IV, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “CONTROLE HIDROELETROLÍTICO E RESPOSTAS CARDIOVASCULARES À INJEÇÃO CENTRAL DE ANGII, CARBACOL E HIPEROSMOLARIDADE PLASMÁTICA EM RATOS COM EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA”. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), Professor(a) Doutor(a) Andre Henrique Freiria de Oliveira (ICB/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor(a) Doutor(a) Roberto Lopes de Almeida (FMABC), membro titular externo; Professor(a) Doutor(a) Elizabeth Pereira Mendes (ICB/UFG), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido(a) o(a) candidato(a) **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo(a) Professor(a) Doutor(a) Andre Henrique Freiria de Oliveira, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao(s) vinte e nove dias do mês de novembro de 2019.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Andre Henrique Freiria De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 29/11/2019, às 16:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elizabeth Pereira Mendes, Professor do Magistério Superior**, em 29/11/2019, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ROBERTO LOPES DE ALMEIDA, Usuário Externo**, em 29/11/2019, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1026641** e o código CRC **9029E770**.

Referência: Processo nº 23070.044392/2019-17

SEI nº 1026641

THAIS MACHADO DAS MERCÊS

**CONTROLE HIDROELETROLÍTICO E RESPOSTAS
CARDIOVASCULARES À INJEÇÃO CENTRAL DE ANGII,
CARBACOL E HIPEROSMOLARIDADE PLASMÁTICA EM RATOS
COM EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Pereira Mendes

Prof. Dr. Roberto Lopes de Almeida

Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira

Aprovada em: ____/____/____

Agradecimentos

A FAPEG e CNPq, pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira, pela oportunidade de trabalhar, como aluna de iniciação científica e posteriormente de mestrado. Por todo aprendizado e paciência.

Aos meus pais por sempre terem feito o possível e o impossível para tornar meus sonhos realidade, pela força, educação, paciência, dedicação e todo o amor que um ser humano possa merecer.

Aos meus irmãos, os quais o simples fato de existirem me faz imensamente feliz.

Aos meus familiares que estão sempre incentivando meu crescimento.

À minha amiga de graduação e de coração Larissa Córdova, que desde o início da faculdade tem se dedicado à nossa amizade e me dado toda força e apoio.

À Karina Gomes pela paciência, dedicação e preocupação em me ensinar o que sabe e pela parceria no presente trabalho.

À Aryanne Batista, minha companheira de equipe, amiga que também com sua paciência e dedicação contribuiu com o andamento deste trabalho.

À professora Graziela Blanch, pelas contribuições e auxílio à equipe, a qual também é uma importante integrante.

Às amigas que construímos uma amizade muito bonita além de também me ajudarem sempre que precisei Kássia, Florência, Láiza e Ariel.

À Stefanne Madalena, a qual está sempre disponível para ajudar, assim como fez por todo esse tempo contribuindo com o andamento dos protocolos de imuno.

Às minhas companheiras de viagens e confidencias do Multicêntrico, Laíla e Melissa, com vocês tudo se tornou mais leve e divertido.

Ao pessoal do CPNFC, Aline Mourão, Elaine Fernanda, Paulo Ricardo, Lara Marques, João, Leticinha, Lucas, Rafael, Karla, Isis e Amanda por todo auxílio, ensinamento tanto como pessoa quanto como profissional, além de tornarem o nosso ambiente de trabalho maravilhoso com nossas brincadeiras e nosso companheirismo.

Aos professores Diego Colugnati, Aline Pansani e Gustavo Pedrino pela parceria e contribuições.

A todos os outros professores do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Goiás.

E ao PMPGCF, sem o qual esse trabalho não seria possível.

**“Não é sobre o quão rápido chegarei lá
Não é sobre o que está me esperando do outro lado
É a escalada”
(The Climb- Miley Cyrus)**

Resumo

O *status epilepticus* (SE), é uma condição resultante da falha dos mecanismos responsáveis pelo término da crise ou pelo início de mecanismos que levam a crises anormalmente prolongadas. Uma crise epiléptica é definida como “a ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas secundários a atividade neuronal cerebral anormal”. A epilepsia é uma síndrome encefálica definida por pelo menos uma das seguintes condições: (1) pelo menos 2 crises epilépticas não provocadas em um intervalo superior a 24 horas; (2) uma convulsão não provocada em indivíduos que possuem fatores associados a uma maior probabilidade de apresentar um limiar epiléptico diminuído; (3) diagnóstico de síndrome da epilepsia. Indivíduos com epilepsia apresentam mais chances de sofrer morte súbita, sendo a morte súbita e inesperada na epilepsia (SUDEP) a categoria mais comum. O modelo de epilepsia induzida por pilocarpina (EIP) têm sido o mais usado para estudar a epilepsia do lobo temporal (ELT). Sabe-se que o sistema renina angiotensina (SRA) está envolvido em algumas doenças neurodegenerativas, bem como na epilepsia. E, já foi demonstrado que áreas do sistema nervoso central (SNC) responsáveis pelo comportamento de sede e apetite ao sódio são afetadas por este modelo de epilepsia. Desta forma, este estudo buscou estudar o controle cardiovascular frente a alterações dos níveis centrais de angiotensina II (Ang II), carbacol e osmolaridade plasmática no modelo EIP. Para isso foram utilizados ratos Wistar (250-280 g), pré tratados com metilescopolamina (1mg/kg intraperitoneal -i.p.) em seguida receberam uma injeção de pilocarpina (350 mg/kg -ip) para indução do SE. Após 3 horas de SE, foi injetado dizepam (10 mg/kg -i.p.) para interromper a crise. Foram feitos o acompanhamento de ingestão diária de água e NaCl 1,8%, em que não foi encontrada diferença entre os grupos, e do peso corporal em que o grupo com epilepsia obteve um ganho de peso menor quando comparado ao grupo controle (358 ± 13 vs. 406 ± 6 g, respectivamente). Animais previamente preparados com cânulas direcionadas ao ventrículo lateral (VL) foram divididos em dois grupos os quais foram submetidos a registro dos parâmetros cardiovasculares: um grupo que recebeu injeção intracerebroventricular (icv) de Ang II e outro de carbacol. Observamos que a resposta pressora foi maior no grupo com epilepsia quando comparado ao controle após a injeção de Ang II (epilepsia: 28,0 ± 3,3 vs. Controle: 13,3 ± 0,7 mmHg, $p < 0,05$), a variação da frequência cardíaca (ΔFC) não foi diferente

entre os grupos. Nos animais que receberam injeção icv de carbacol, a resposta pressora não foi diferente entre os grupos, mas houve diferença dentro dos grupos comparando com o basal ($-0,5 \pm 1,4$ vs. $22,3 \pm 4,6$ mmHg, epilepsia e $1,0 \pm 2,3$ vs. $24,3 \pm 4,0$ mmHg, controle, $p < 0,05$), a Δ FC foi diferente entre os grupos (Epilepsia: $-24,3 \pm 6,1$ vs. Controle: $-56,3 \pm 13,2$ bpm), bem como dentro do grupo controle comparando seu período basal ao período pós-injeção de carbacol ($396,7 \pm 17,0$ vs. $-56,3 \pm 13,2$ bpm, respectivamente). Em outro experimento, os animais foram submetidos ao registro após a sobrecarga intragástrica de NaCl 12%, os quais apresentaram uma queda da pressão nos tempos 30, 40 e 50 min no grupo com epilepsia quando comparamos ao período de 10 minutos após a gavagem (10': $5,6 \pm 2,9$ vs. 30': $-8,0 \pm 5,3$ mmHg; 40': $-11,5 \pm 4,9$ mmHg; 50': $-9,0 \pm 4,5$ mmHg). Esta queda não foi observada nos animais controle. Quanto à Δ FC não houve diferença entre os grupos, porém no grupo com epilepsia houve um aumento após a gavagem quando comparamos os tempos -10, -1, 40, 50 e 60 minutos (10': $49,2 \pm 23,0$ vs. -10': $0,0 \pm 0,0$ bpm; -1': $-5,7 \pm 11,1$ bpm; 40': $3,5 \pm 7,3$ bpm; 50': $-7,0 \pm 9,6$ bpm e 60': $-5,7 \pm 11,3$ bpm). Nossos resultados sugerem que a epilepsia induzida por pilocarpina é capaz de alterar mecanismos centrais dependentes de angiotensina, carbacol e aumento da osmolaridade plasmática que alteram o controle da pressão arterial prejudicando o organismo em situações corriqueiras e contribuindo para a SUDEP.

Palavras-chave: Epilepsia do lobo temporal, pilocarpina, *status epilepticus*, sistema renina angiotensina, angiotensina II, carbacol, gavagem, pressão arterial, frequência cardíaca.

Abstract

Status epilepticus (SE) is a condition caused by failure of the mechanisms responsible for the termination of the seizure or the onset of the mechanism leading to abnormally prolonged seizures. An epileptic seizure is defined as “the transient occurrence of signs and/or secondary symptoms of abnormal brain neuronal activity”. Epilepsy is a brain syndrome defined by at least one of the following conditions: (1) less than 2 unprovoked epileptic seizures within 24 hours; (2) an unprovoked seizure in individuals who have factors associated with a higher likelihood of having a decreased epileptic threshold; (3) diagnosis of epilepsy syndrome. Individuals with epilepsy are more likely to suffer sudden death, with sudden and unexpected death in epilepsy (SUDEP) a more common category. The pilocarpine-induced epilepsy (PIE) model was the most used to study temporal lobe epilepsy (TLE). The renin angiotensin system (RAS) is known to be involved in some neurodegenerative diseases as well as epilepsy. And, it has been shown that the central nervous system (CNS) areas are responsible for thirst behavior and appetite for waste affected by the epilepsy model. Thus, this study aimed to study cardiovascular control in the face of changes in central levels of angiotensin II (Ang II), carbachol and plasma osmolarity in the PIE model. We used Wistar rats (250-280 g), pre-used with methylscopolamine (1mg / kg intraperitoneal -ip), after receiving a pilocarpine injection (350 mg / kg-ip) to induce SE. After 3 hours of SE, dizepam (10 mg / kg -i.p.) was injected to stop a seizure. Daily intake of water and 1,8% NaCl, no difference between groups, and body weight were made in which epilepsy group uses a lower weight gain when using a control group (358 ± 13 vs. 406 ± 6 g, respectively). Animals prepared with cannulae directed to the lateral ventricle (VL) were divided into two groups with which cardiovascular records were recorded: one group that removes intracerebroventricular (icv) injection from Ang II and the other one with carbachol. We observed that the pressor response was higher in the epilepsy group when compared to the control after Ang II injection (Epilepsy: $28,0 \pm 3,3$ vs. Control: $13,3 \pm 0,7$ mmHg, $p < 0,05$). , a variation in heart rate (Δ HR) was not different between groups. In animals receiving icv carbachol injection, the response was not different between groups, but there was a difference between groups compared with baseline ($-0,5 \pm 1,4$ vs. $22,3 \pm 4,6$ mmHg, epilepsy and $1,0 \pm 2,3$ vs. $24,3 \pm 4,0$ mmHg, control, $p < 0,05$), Δ HR was different between groups (Epilepsy: $-24,3 \pm 6,1$ vs. Control: $-56,3$

$\pm 13,2$ bpm), as well as within the control group, comparing their baseline period to the post-carbachol injection period ($396,7 \pm 17,0$ vs. $-56,3 \pm 13,2$ bpm, respectively). In another experiment, the animals were recorded after an intrinsic 12% NaCl overload, which showed a pressure drop at 30, 40 and 50 min in the epilepsy group when compared to 10 minutes after gavage (10 ': $5,6 \pm 2,9$ vs. 30': $-8,0 \pm 5,3$ mmHg; 40 ': $-11,5 \pm 4,9$ mmHg; 50': $-9,0 \pm 4,5$ mmHg). This was not observed in control animals. Regarding HR there was no difference between the groups, but no group with epilepsy increased after gavage when comparing the times -10, -1, 40, 50 and 60 minutes (10 ': $49,2 \pm 23,0$ vs. -10 ': $0,0 \pm 0,0$ bpm; -1': $-5,7 \pm 11,1$ bpm; 40 ': $3,5 \pm 7,3$ bpm; 50': $-7,0 \pm 9,6$ bpm and 60 ': $-5,7 \pm 11,3$ bpm). Our results suggest that pilocarpine-induced epilepsy is capable of altering angiotensin, carbachol-dependent mechanisms and increased plasma osmolarity, which alter or control harmful blood pressure or corrective substance use and contribute to SUDEP.

Keywords: Temporal lobe epilepsy, pilocarpine, epileptic status, renin system angiotensin, angiotensin II, carbachol, gavage, blood pressure, heart rate.

Lista de figuras

- Figura 1.** Protocolo de indução da epilepsia por pilocarpina..... 30
- Figura 2.** Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de Ang II icv..... 32
- Figura 3.** Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de Carbacol icv..... 32
- Figura 4.** Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de NaCl 12% ig..... 33
- Figura 5.** Delineamento Experimental..... 34
- Figura 6.** Fotomicrografia demonstrativa do local de injeção (seta) no VL em um animal representativo do grupo..... 36
- Figura 7.** Ingestão diária de **A.** água **B.** Sódio. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA Two-way para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$ 37
- Figura 8.** Ganho de peso. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por teste *t student* não pareado, considerando $p < 0,05$. *: diferença entre os grupos..... 37
- Figura 9.** Gráfico dos parâmetros cardiovasculares basais dos três portocolos, ANG II, carbacol e gavagem. **A.** PAM basal. **B.** FC basal. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por teste *t student* não pareado, considerando $p < 0,05$. *: diferente do controle..... 38
- Figura 10.** Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com injeção de ANG II icv. Variação da **A.** pressão arterial média (Δ PAM) e **B.** frequência cardíaca (Δ FC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA One Way para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$ 39
- Figura 11.** Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com injeção de CARBACOL icv. Variação da **A.** pressão arterial média (Δ PAM) e **B.** frequência cardíaca (Δ FC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA One Way

para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$ 40

Figura 12. Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com administração de NaCl 12% ig. Variação da **A.** pressão arterial média (Δ PAM) e **B.** frequência cardíaca (Δ FC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA Two Way para múltiplas coparações, considerando $p < 0,05$. |: gavagem com NaCl 12% #: diferença dentro do grupo. *: diferença entre os grupos..... 41

Lista de tabelas

Tabela 1. Mortalidade.....	35
-----------------------------------	-----------

Lista de siglas e abreviaturas

- ADH - Hormônio antidiurético
- ADP - Núcleo pré-óptico anterodorsal
- Ang (1-7) - Angiotensina 1-7
- Ang I - Angiotensina 1
- Ang II - Angiotensina 2
- ANP - Peptídeo natriurético atrial
- ASM - Área septal medial
- AT1 - Receptor de angiotensina 1
- AT2 - Receptor de angiotensina 2
- Ca⁺⁺ ATPases - Enzima Cálcio ATPase
- CAP - Captopril
- CERs - Crises espontâneas e recorrentes
- CEUA - Comitê de ética no uso de animais
- CVOs - Órgãos circumventriculares
- ECA - Enzima conversora de angiotensina
- ELT - Epilepsia do lobo temporal
- EPM - Erro padrão da média
- EPN - Endopeptidase neural
- ET_A- Receptores de endotelina do tipo A
- FC - Frequência cardíaca
- FURO - Furosemida
- GABA – Ácido Gama Amino Butírico
- h – Hora
- H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
- ICB- Instituto de Ciências Biológicas
- icv - Intracerebroventricular

IEP - Indução da epilepsia por pilocarpina

Ig - intragástrico

iNOS – Enzima óxido nítrico sintase indutível

Ip - Intraperitoneal

MPOL - Núcleo lateral pré-óptico medial

mRNA – RNA mensageiro

Na⁺K⁺ ATPase – Enzima Sódio Potássio ATPase

NaCl - Cloreto de sódio

NMDA - N-metil-D-aspartato

NTS - Núcleo do trato solitário

OT - Ocitocina

OVLT - Órgão vasculoso da lamina terminal

PA - Pressão arterial

PAM - Pressão arterial média

PAP - Pressão arterial pulsátil

PMCA - Enzima Cálcio ATPase da membrana plasmática

PVN - Núcleo paraventricular

SARS - Renin Angiotensin System

SE - Status Epilepticus

SERCA – Enzima Cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático

SERCA2b - Enzima Cálcio ATPase 2b do retículo sarcoplasmático

SFO - Órgão subfornical

SNC - Sistema nervoso central

SOD – Superóxido Desmutase

SON - Núcleo supraóptico

SRA - Sistema renina angiotensina

SUDEP - Morte súbita e inesperada na epilepsia

UFG- Universidade Federal de Goiás

VL - Ventrículo lateral

VP – Vasopressina

Δ FC - Delta da frequência cardíaca

Δ PAM - Delta da pressão arterial media

CA1, CA3, CA4 – Cornus Ammonis 1, 3 e 4 (núcleos do hipotálamos)

Sumário

Resumo	xí
Abstract	xiii
Lista de figuras	xv
Lista de tabelas	xvii
Lista de siglas e abreviaturas	xviii
1. Introdução	14
1.1. Epilepsia	14
1.2. Sistema Renina Angiotensina.....	18
1.3. Envolvimento da via colinérgica	22
1.4. Osmolaridade	25
2. Objetivos	28
3. Metodologia	29
3.1. Animais	29
3.2. Indução da epilepsia por pilorcapina.....	29
3.3. Protocolos de ingestão diária de água e sódio.....	30
3.4. Implante de cânula guia e microinjeção no VL.....	30
3.5. Canulação da artéria.....	31
3.5.1. Protocolo de registro com administração de Ang II icv.....	31
3.5.2. Protocolo de registro com administração de carbacol icv	32
3.5.3. Protocolo de registro com gavagem hipertônica	32
3.6. Histologia	33
3.6.1. Técnica de histologia	33
3.7. Delineamento Experimental	34
3.8. Análise estatística	34
3.9. Mortalidade/Erro.....	35
4. Resultados	36
4.1. Histologia	36
4.2. Ingestão diária.....	36
4.3. PAM e FC basais nos três protocolos	38
4.4. Alterações cardiovasculares induzidas por ANG II central	38
4.5. Alterações cardiovasculares induzidas por carbacol central ..	40
4.6. Alterações cardiovasculares induzidas por hiperosmolaridade plasmática	40

5. Discussão	42
6. Conclusão.....	49
7. Referências Bibliográficas	50

1. Introdução

1.1. Epilepsia

Os primeiros relatos de epilepsia foram encontrados em manuscritos originados na Babilônia 2000 a.C, porém foi na Grécia antiga que o termo teve de fato um significado, o de “ser tomado, atacado, possuído”, em menção às crises epiléticas. Desta forma a epilepsia por longos anos, foi associada ao misticismo, o que apenas no século XIX, com os avanços da neurofisiologia a epilepsia passou a ser vista pelos cientistas como uma doença com base cerebral (Moreira, S.R.G., 2004).

O *status epilepticus* (SE), é uma condição resultante da falha dos mecanismos responsáveis pelo término da crise ou pelo início de mecanismos que levam a crises anormalmente prolongadas, portanto só se considera que o indivíduo está em SE após 5 minutos de crise, período denominado T₁. Tal condição pode ter consequências em longo prazo, crises com tempo superior a 30 minutos, período denominado T₂, incluindo morte neuronal, lesão neuronal e alteração das redes neuronais, dependendo do tipo e duração das crises (ILAE- Trinka et. al., 2015). Uma crise epilética é definida como “a ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas secundários a atividade neuronal cerebral anormal excessiva ou síncrona” (Fisher, R.S. et.al., 2005).

Em 2014, Fisher, R.S e colaboradores publicaram em documento oficial para a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE- International League Against Epilepsy), sua mais recente definição. Portanto, é uma síndrome encefálica definida por pelo menos uma das seguintes condições: (1) pelo menos 2 crises epilética não provocadas (ou reflexas) em um intervalo superior a 24 horas; (2) uma crise epilética não provocada em indivíduos que possuem fatores associados a uma maior probabilidade de apresentar um limiar epilético diminuído; (3) diagnóstico de síndrome da epilepsia. Essas crises são divididas em três categorias: generalizada, focal (denominada anteriormente como parcial) e espasmos epiléticos (Fisher, R.S. et.al., 2014). As crises epiléticas focais são classificadas comumente em simples e complexa, sendo a primeira de origem em um sítio cortical de um hemisfério do cérebro com preservação da consciência, já a crise focal complexa caracteriza-se pela generalização secundária da atividade epilética para ambos os hemisférios, acompanhada geralmente por alterações de consciência (Penry, K., 1981). As crises

generalizadas, por sua vez, têm seu início em redes neuronais bilateralmente distribuídas. Já a origem dos espasmos epilépticos, outro tipo de crise epiléptica, é incerta, mas são representados pela súbita extensão ou flexão das extremidades, que dura alguns segundos e que, em seguida, repetem-se em conjunto (Berg, A.T et.al., 2010). Essas crises epilépticas ocorrem de forma transitória e podem surgir espontaneamente ou serem desencadeadas frente a situações como: febre, distúrbios eletrolíticos, intoxicação, doenças degenerativas e alterações cardiovasculares (Pedley, T.A. et. al., 2000).

No Brasil, embora os estudos epidemiológicos sejam escassos, estima-se que a epilepsia atinja 2% a 4% da população, correspondendo a aproximadamente três milhões de pessoas em diferentes idades e classes sociais (Marchetti et. al., 2005).

Indivíduos com epilepsia, comparados a indivíduos livres desta condição, apresentam duas ou três vezes mais chances de sofrer morte súbita, sendo a morte súbita e inesperada na epilepsia (SUDEP- Sudden Unexpected Death in Epilepsy) a categoria mais comum (Sander, J.W., 2003). Por definição, SUDEP é uma morte súbita, inesperada, com ou sem testemunhas, não traumática e sem afogamento, em pessoas com epilepsia, com ou sem evidência de convulsão, nas quais o exame necroscópico não revela uma causa toxicológica ou anatômica da morte (Nashef, L., 1997). Porém, os mecanismos causais para que ocorra SUDEP são desconhecidos, mas acredita-se que arritmias cardíacas durante e entre as crises epilépticas com componente motor, distúrbios eletrolíticos, drogas arritmogênicas potencialmente desempenham esse papel (Stollberger, C. et. al., 2004).

A SUDEP possui uma incidência estimada de 1,2 casos a cada 1000 pacientes adultos com epilepsia por ano. Alguns fatores de risco foram identificados, incluindo epilepsia de longa data e crises epilépticas com componente motor tônico-crônicas generalizadas (Harden, C. et. al. 2017). Foi feito o monitoramento por vídeo de pacientes com epilepsia nos quais foram registrados casos de SUDEP e sugeriu-se disfunção respiratória após crises epilépticas com componente motor tônico-crônicas generalizadas às quais levaram à morte, e também foi observado apnéia terminal precedendo uma assistolia (Ryvlin, P. et. al. 2013). Segundo estudos de Lacuey, N. et. al. (2017), a apnéia central induzida por estimulação da amígdala e do hipocampo possui papel importante como um mecanismo patológico na SUDEP. Embora diferentes casos possam envolver diferentes mecanismos, a maioria dos

mecanismos potenciais para SUDEP são autonômicos, isto é, principalmente anormalidades cardíacas durante e entre as convulsões (Stollberger, C. e Finsterer, J., 2004; Schuele, S.U. et. al., 2007; Scorza, F.A. et. al., 2008)

Estudos epidemiológicos sugerem que entre 70 e 80% das pessoas que desenvolvem epilepsia entrarão em remissão, enquanto os pacientes restantes (30%) continuam a ter convulsões e são refratários ao tratamento com as terapias atualmente disponíveis (Kwan, P. e Sander, J.W., 2004; WHO, 2010).

Vários modelos de epilepsia em animais têm sido usados para estudar a epilepsia do lobo temporal (ELT), e o modelo de indução da epilepsia por pilocarpina (IEP) mimetiza a condição humana (Cavalheiro, E. A, 1995, Arida, R. M. et al. 1999), sendo o modelo que mais se destaca nesse tipo de estudo em se tratando de epilepsia do lobo temporal (Scorza, F. A. et al. 2009), e o que melhor representa a epilepsia sintomática (adquirida) com lesão identificável no SNC (Cavalheiro, E.A., 1995). Este é um modelo de epilepsia crônico límbico com administração sistêmica do potente agonista colinérgico muscarínico, pilocarpina (~360 mg/kg) (há autores que utilizam 380mg/kg – Leite, J.P. et al., 1990), em ratos, promovendo sequenciais alterações no comportamento, com manifestações de crises motoras límbicas (Turski, W.A.. et al., 1983; Cavalheiro, E.A., 1995), e eletrográficas que levam à alterações comportamentais as quais são divididas em três períodos distintos: o agudo, em que o *status epilepticus* surge aos 15-30 minutos após injeção da pilocarpina e pode durar até 24 h; o silencioso, que varia de 4 a 44 dias, um período latente livre de crises comportamentais; e o crônico com crises espontâneas e recorrentes (CERs) e que perdura por toda a vida. As principais características das CERs observadas durante o período de longo prazo se assemelham aos de crises parciais complexas dos humanos e ocorre de duas a três vezes por semana por animal.

O hipocampo é um estrutura alongada localizada dentro do lobo temporal medial para onde o córtex entorrinal fornece as suas principais entradas corticais, com projeções para o giro dentado (GD), formando a sinapse 1. O GD projeta-se para a região CA3 através das fibras musgosas, sinapse 2. Projeções de CA3 para a região CA1 se dão através da via colateral de Schaffer, sinapse 3. Por fim, o CA1 projeta de volta para o córtex entorrinal, completando o ciclo (Knierim, J. J., 2015). Com a administração sistêmica da pilocarpina, acredita-se que o dano celular ocorra

primeiro nas células granulares do giro denteado e hilo, seguido por uma degeneração neuronal em CA3 e CA1, entre 24 h e 48 h após o *status epilepticus* (Covolan, L. e Mello, L.E.A.M., 2000). Onde CA, é a inicial de Cornu Ammonis, um nome anterior do hipocampo, e refere-se a regiões desta estrutura. Vários núcleos do tálamo e da amígdala também são danificados logo após a injeção de pilocarpina (Clifford, D.B et al., 1987). A perda neuronal se estende ao subículo, septo, tubérculo olfatório, amígdala, córtex piriforme e entorrinal, neocórtex e tálamo (Cavalheiro, E.A. et al., 1996; De Guzman, P. et al., 2006; Knopp, A. et al., 2005; Turski, W.A. et al., 1983). Portanto, o hipocampo é uma estrutura importante na epilepsia do lobo temporal, e vários autores já relatam alterações neuroquímicas nessa estrutura (Scorza, F.A et al., 2009).

Em relação à neurotransmissão aminoacídica, a fase aguda do modelo da pilocarpina foi caracterizada por um aumento da liberação de glutamato no hipocampo (Cavalheiro, E.A. et al., 1994, Costa, M.S. et al., 2004), sugerindo um importante desequilíbrio entre inibição e excitação (Cavalheiro, E.A. et al., 1994) e diminuição da concentração de GABA na área. Ou seja, ocasiona uma maciça ativação em neurônios do hipocampo, durante o status epilepticus induzido pelo modelo de IEP. De fato, quando o glutamato ativa os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), o Ca^{++} intracelular aumenta a ativação indutora de lipases, proteases e nucleases, destruindo as células por necrose e / ou apoptose (Scorza, F.A et al., 2009), e promovendo reorganização sináptica do circuito hipocampal, o que gera mudanças epileptogênicas permanentes.

A expressão de proteínas relacionadas ao receptor de NMDA-glutamato também é modificada no modelo de epilepsia da pilocarpina. De acordo com Scorza, F.A. et al. (2003) essa proteína, expressa principalmente nas regiões CA1 de animais controle, apresentou seus níveis diminuídos 5 h após o início da SE e aumento dos níveis durante os períodos silencioso e crônico, sugerindo que esta proteína está relacionada à plasticidade durante a epileptogênese. Os achados histológicos no modelo da pilocarpina revelam a presença de lesão neuronal em inúmeras áreas cerebrais, atingindo especialmente a formação hipocampal (regiões de CA1, CA3 e hilo do giro denteado), o córtex entorrinal e piriforme, e a amígdala (Turski, W.A. et al., 1983; Leite, J.P. et al., 1990; Cavalheiro, E.A., 2005). Entre os mecanismos envolvidos nesta regulação, existem as Ca^{++} ATPases constituindo

uma classe de proteínas que se dividem em 2 grupos distintos, denominadas: Ca^{++} ATPases do retículo sarcoplasmático (SERCA) e Ca^{++} ATPases da membrana plasmática (PMCA). A SERCA “sequestra” cálcio para o retículo sarco/endoplasmático e a SERCA2b é encontrada em várias estruturas cerebrais. As PMCAs promovem a expulsão desse íon da célula neural através da membrana plasmática (Scorza, F.A et al., 2009). De acordo com Funke, M.G. et al. (2003) no hipocampo de ratos submetidos ao modelo de EIP, a expressão de SERCA2b, bem como as enzimas PMCA, aumentam após 1 h de status epilepticus, mostrando uma tentativa de controlar a excitabilidade tecidual durante os estágios iniciais do insulto. A PMCA permaneceu aumentada até o período silencioso, retornando aos níveis normais durante a fase crônica.

A atividade da Na^+K^+ ATPase também é modificada no hipocampo de animais tratados com pilocarpina. Segundo Fernandes, M.J. et al. (1996) esta enzima tem sua atividade reduzida durante o período agudo e silencioso e um aumento da atividade durante a fase crônica, mostrando que o hipocampo desses animais também apresenta um desequilíbrio iônico relacionado à sua excitabilidade.

Assim, de acordo com vários autores, a epilepsia do lobo temporal tem sido relacionada à excitabilidade excessiva nas estruturas límbicas, à baixa função das vias inibitórias ou à associação entre os dois eventos (Meldrum, B.S., 1991). Como consequência da alteração da neurotransmissão, o sinal de transdução através da membrana plasmática também é modificado, alterando o metabolismo neuronal e a expressão dos genes.

1.2. Sistema Renina Angiotensina

Existem evidências indicando a participação do sistema renina angiotensina (SRA) em algumas doenças neurodegenerativas, bem como na epilepsia. E segundo estudos de Gouveia, T.L.F. et. al. (2012), foi demonstrado uma regulação positiva dos receptores AT1 e AT2 no córtex e na formação do hipocampo de pacientes com ELT e com esclerose mesial temporal (Arganaraz, G.A. et. al., 2008), apoiando o envolvimento do SRA nesta patologia.

O SRA é originalmente conhecido como um controlador de pressão arterial participando ativamente no controle da atividade fisiológica do sistema

cardiovascular, funções renais e metabolismo de fluido (Mckinley, M.J. e Johnson, A.K., 2004). Sua hiperatividade periférica está associada essencialmente à hipertensão, disfunção metabólica e doença renal (Skrbic, R. e Igic, R., 2009) e seu papel na inflamação tem sido estudado recentemente (Gouveia, T.L.F. et al., 2012). O SRA possui como molécula precursora o angiotensinogênio, o qual é clivado pela enzima renina à angiotensina I (Ang I), esta possui pouca ou nenhuma ação biológica. A Ang I circula no sangue e tecidos sendo clivada pela enzima chave chamada enzima conversora da angiotensina (ECA), transformando Ang I em Ang II, que tem uma ação biológica importante (revisão de De Gasparo, M. et. al., 2000), foi considerada o principal peptídeo ativo do SRA, sendo um neurotransmissor / neuromodulador através da sua ação sobre os receptores de angiotensina 1 e 2 (AT1 e AT2, respectivamente) presentes em várias regiões cerebrais (Wright, J.W. et. al., 2002). O receptor AT2 de Ang II, contrabalança os efeitos causados pelo receptor AT1, e sua ativação desempenha um papel protetor durante lesão cerebral (Siragy, H.M.; 2009). Porém sua expressão no cérebro é bem menor comparado com a expressão de AT1 (Tsutsumi, K. e Saavedra, J.M.; 1991.a). O receptor AT1 parece dominante em muitos núcleos do cérebro envolvidos na regulação da pressão sanguínea, bem como equilíbrio de fluido e eletrólitos. A expressão de AT2 no sistema nervoso central inclui as áreas do tronco cerebral (locus ceruleus e oliva inferior), núcleos talâmicos, septo lateral e amígdala (núcleo amigdalóide central e núcleo amigdalóide medial) (Song et al., 1992; Tsutsumi e Saavedra, 1991).

A Ang II pode ser formada no cérebro através da via clássica, através da ação da renina e ECA ou pode ser produzida diretamente a partir do angiotensinogênio pela ação da catepsina G ou tonina (Lippoldt, A. et. al., 1995). De acordo com Araujo, R.C. et. al. em 2002, a tonina pode ser uma via alternativa para a geração de Ang II no cérebro e poderia participar nos efeitos deste peptídeo. Outra via importante do SRA, possui participação de outro peptídeo denominado Angiotensina (1-7) (Ang (1-7)) que é ativo em vários órgãos incluindo o cérebro (Alenina, N. et al., 2008), e várias endopeptidases como a neprilisina, o thimet e a endopeptidase neutra (EPN) podem metabolizar a Ang II no cérebro gerando Ang (1-7) (Karamyan, V.T. e Speth, R.C., 2007), o qual atua ligando à receptores do tipo MAS, que tem funções antagônicas à ativação do receptor AT1 (Santos, R.A.S. et al., 2003, Kostenis, A. et. al., 2005).

No modelo de epilepsia induzida por pilocarpina, já foi demonstrado alterações do SRA no hipocampo de ratos em diferentes fases do modelo. Aumento dos níveis de Ang II durante a fase crônica, e redução da Ang II, receptores AT1 e ECA nas fases aguda e silenciosa, além de um aumento dos níveis de Ang (1-7) na fase aguda (Gouveia, T.L.F. et al., 2012), trabalho este que foi o pioneiro em mostrar alterações nos componentes do SRA central no modelo de epilepsia induzido por pilocarpina.

Tais descobertas apoiam a ideia de uma regulação positiva do sistema renina-angiotensina na epilepsia do lobo temporal (Arganaraz, G.A. et. al., 2008). Outro estudo sugere que o enalapril (inibidor da ECA) e o losartan (bloqueador dos receptores AT1) foram capazes de diminuir as crises epiléticas com componente motor (Pereira, M.G. et. al., 2010). Tem sido demonstrada também a participação dos componentes do SRA em outras doenças do sistema nervoso, como o acidente vascular encefálico, onde vários estudos tem demonstrado que a Ang (1-7) tem um papel cerebroprotetor (Mecca, A.P. et. al., 2011, Regenhardt, R.W. et. al., 2013, Bennion, D.M. et. al., 2015), e isso pode ser parte via mecanismos anti-inflamatórios da Ang (1-7) (Regenhardt, R.W. et. al., 2013). Portanto, é evidente que a Ang II participa da regulação cardiovascular, não só por seu efeito direto sobre o músculo liso vascular, mas também através da ação no sistema nervoso central (Ferrario, C. M. et.al., 1986). Receptores de Ang II foram identificados em alta densidade em muitos locais do cérebro de rato, como órgão subfornical, núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), núcleo do trato solitário (NTS) e área postrema (AP) (Mendelsohn, F. A. O. et.al., 1984), estas áreas são relacionadas à sede (Fitzsimons, 1998).

Estudos apontam também que injeção de Ang II nos ventrículos cerebrais provoca várias respostas fisiológicas distintas, mediadas via receptores AT1, incluindo aumento da pressão sanguínea, liberação de vasopressina (VP), natriurese, apetite de sal e sede (Phillips. M.I., 1987). Os mecanismos fisiológicos que medeiam a resposta pressora central incluem: (1) a liberação de VP; (2) ativação do sistema nervoso simpático; e (3) uma inibição do barorreflexo (Hogarty,D.C. et.al., 1992), experimentos feitos em ratos adultos da linhagem Sprague-Dawley.

Sabe-se que a estimulação do receptor AT2 de Ang II, o qual contrabalança os efeitos causados pelo receptor AT1, e sua ativação desempenha um papel protetor durante lesão cerebral (Siragy, H.M.; 2009). Porém sua expressão no cérebro é bem menor comparado com a expressão de AT1 (Tsutsumi, K. e Saavedra, J.M.; 1991.a). O receptor AT1 parece dominante em muitos núcleos do cérebro envolvidos na regulação da pressão sanguínea, bem como equilíbrio de fluido e eletrólitos. A expressão de AT2 no sistema nervoso central inclui as áreas do tronco cerebral (locus ceruleus e oliva inferior), núcleos talâmicos, septo lateral e amígdala (núcleo amigdalóide central e núcleo amigdalóide medial) (Song et al., 1992; Tsutsumi e Saavedra, 1991).

Sumarizando, a Ang II é importante para a regulação da pressão arterial, controle e função cardiovascular e neuroendócrina (Wright, J.W. e Harding, J.W., 2013). No entanto, estudos recentes sugerem que a Ang II também pode atuar como neurotransmissores ou neuromoduladores em vias neuronais na lesão cerebral (Wright, J.W. e Harding, J.W., 2013; Bali, A. e Jaggi, A.S., 2016). Por exemplo, expressão do tipo de receptor AT1 aumentou significativamente durante isquemia cerebral, ruptura da barreira hematoencefálica e inflamação e lesão cerebral (Zhang, M. et al., 2010; Biancardi, V.C. et al., 2014; Sun, H. et al., 2015), enquanto o bloqueio do receptor AT1 melhorou microcirculação e inflamação atenuada e estresse oxidativo (Wright, J.W. e Harding, J.W., 2013; Zhang, M. et al., 2010).

Outra área importante do cérebro, já citada, envolvida no controle do sistema cardiovascular e do equilíbrio fluido-eletrólito que recebe sinais de áreas mais rostrais, incluindo informações das áreas sensíveis ao osmorreceptor e à Ang II na lâmina terminal, é o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) (Antunes et al., 2006, Bains e Ferguson, 1995, Camacho e Phillips, 1981, Coote, 1995, Gutman et al., 1988, Li et al., 2008, Shi et al., 2008, Swanson e Kuypers, 1980, Swanson e Sawchenko, 1980, Toney et al., 2003). Estímulos osmóticos ou Ang II central ativam projeções do PVN magnocelular para a neuro-hipófise para liberar vasopressina e também ativam projeções descendentes do PVN parvocelular para a medula oblonga, principalmente na medula ventrolateral rostral (RVLM) e na medula espinhal, aumentando o nervo simpático atividade e pressão arterial (Antunes et al., 2006, Hoffman et al., 1977, Johnson et al., 1978, Shafton et al., 1998, Stocker et al.,

2006, Stocker et al., 2006, Swanson e Kuypers, 1980, Swanson e Sawchenko, 1983).

Estudos mostraram que o controle modulatório do sistema cardiovascular demonstra-se alterado frente crises epilépticas. Vários estudos relatam alterações do ritmo cardíaco durante, antes e após as crises epilépticas (Benowitz, N.L. e Simon, R.P., 1986, Devinsky, O.D. et.al., 1997), evidenciadas pela presença de taquiritmia e bradiritmia, embora as últimas sejam menos frequentes (Benowitz N.L. e Simon R.P., 1986, Zijlmans, M., et.al., 2002). E nós buscamos estudar os parâmetros de FC e PAM, com a injeção icv de ANGII em animais do modelo de EIP para complementar os estudos já existentes.

1.3. Envolvimento da via colinérgica

Semelhante à Ang II central, a ativação colinérgica central produz respostas pressoras dependentes da liberação de vasopressina e excitação simpática (Fitzsimons, J.T., 1998; Hoffman, W.E. et al., 1977; Imai, Y. et al., 1989; Johnson, A.K. 1985; Johnson, A.K. et al., 1978; Mahon, J.M. et al., 1995). A Ang II possui uma atividade nicotínica, e assim como ela o carbacol também possui em menor escala quando comparada a sua atividade muscarínica. Ambos, tanto Ang II quanto carbacol, quando injetados no cérebro possuem efeitos similares. O carbacol é um agonista colinérgico resistente à hidrólise pela acetilcolinesterase (Hoffman, W.E. e Phillips, M.I., 1976). Desta forma, o carbacol promove ingestão de água (Fisher, A. E., 1967; Fitzsimons, J. T., e Setler, P. E., 1971; Grossman, J. P., 1960; Miller, N. E., 1965; Simpson, J. B., e Routtenberg, A., 1972; Swanson, L. W. e Sharpe, L. G., 1973) liberação de ADH (Kuhn, E. R, 1974; Miller, N. E., 1965) e natriurese (Dorn, J. at.al., 1970; Miller, N. E., 1965).

Experimentos com injeções de carbacol icv, além de promover alterações na pressão sanguínea e na frequência cardíaca, também afetaram descargas nervosas simpáticas (Takahashi, H. et.al., 1984). Os efeitos antidiuréticos do carbacol injetado icv assemelham-se muito aos da VP (Mayer, D.K. e Helke, C.J., 1981). Estes efeitos, pressor e antidiurético, resultam da estimulação de receptores muscarínicos, uma vez que, segundo estudos de Hoffman, W.E. (1979), as respostas ao carbacol são bloqueadas pelo pré-tratamento central com atropina, um bloqueador muscarínico,

mas não teve o mesmo efeito pelo hexametônio, um bloqueador nicotínico, o qual atenuou a bradicardia.

Lauar et al (2019) mostraram que a resposta pressora causada pelo carbacol no ventrículo lateral, tem participação de mecanismos que envolvem espécies reativas de oxigênio, pois o pré-tratamento com um inibidor da catalase que reduz os níveis de superóxido diminuem o efeito pressor do carbacol. Outro estudo mostrou que o pré-tratamento da área septal medial (ASM) com doses baixas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) reduziu a ingestão de água, natriurese, caliurese, antidiurese e a resposta pressórica à injeção de carbacol (agonista colinérgico muscarínico) na mesma área, um efeito que pode depender da redução da liberação de VP devido à ativação do canal K_{ATP} (Melo, M.R. et al., 2015).

Estudos feitos por Colombari, D. S. A. et.al. (1994), demonstraram que a lesão da ASM prejudica a resposta pressórica observada após a injeção icv de carbacol em ratos conscientes, sugerindo um papel excitatório nesta área sobre a regulação cardiovascular. A ASM, o subnúcleo da área septal ou septo, é uma área importante do prosencéfalo envolvida na regulação cardiovascular e no controle do equilíbrio hidroeletrólítico (Negro-Vilar, A. et al., 1967; Donevan, S.D. e Ferguson, A.V., 1988; Tanaka, J. et al., 1988; Luiz, A.C. et al., 1991; Colombari, E. et al., 1992; Paulin, R.F. et. al., 2009). Células e receptores colinérgicos estão presentes na ASM (Rouse, S.T. e Levey, A.I., 1996; Jones, S. e Yakel, J.L., 1997) e a sua ativação colinérgica induz ingestão de água, antidiurese, natriurese e respostas pressoras (Saad, W.A. et. al., 1975; Colombari, E. et. al., 1992).

Acreditava-se que a ASM projeta para o PVN e SON que contém neurônios que secretam VP e OT (Oldfield, B.J. et. al., 1985). E que a liberação de vasopressina está possivelmente envolvida com a antidiurese produzida pelo carbacol injetado no ASM, enquanto que a ocitocina, um hormônio que induz natriurese (Huang, W. et. al., 1995) e liberação de peptídeo natriurético atrial (ANP) (Antunes-Rodrigues, J. et. al., 2004), podem estar envolvidos com a natriurese induzida também por injeções centrais de carbacol. Hoje já se sabe que células neurosecretoras SON e PVN sintetizam e secretam VP e OT de suas terminações axonais na hipófise posterior, e que, além disso, neurônios colinérgicos participam da regulação da atividade dessas células.

Recentemente, um estudo de Melo, M.R. et.al. (2015), provaram pela primeira vez que essa ativação colinérgica da ASM de fato aumenta a expressão de c-Fos

nas células vasopressinérgicas do PVN e nas células ocitocinérgicas do PVN e SON, respostas as quais foram reduzidas pelo tratamento com H_2O_2 na ASM. Portanto, o aumento da atividade das células vasopressinérgicas e ocitocinérgicas no PVN e / ou SON e a liberação dos respectivos hormônios é o mecanismo ativado pelo carbacol injetado na ASM para produzir antidiurese e natriurese. A estimulação colinérgica central promove um aumento dos níveis plasmáticos de vasopressina, responsável por parte da antidiurese, enquanto que a ocitocina com seus efeitos renais diretos e também com sua ação estimulando a secreção de ANP pelos miócitos (Hoffman, W.E. et al., 1977; Tanaka et al., 1988; Imai, Y. et al., 1989; Huang, W. et al., 1995; Antunes-Rodrigues, J. et al., 2004), seja a responsável pela natriurese.

Semelhante a estudos de Colombari, E. et al., 1992 e Barbosa, S.P. et al., 1995, Melo, M.R. et al. (2015) observaram que as injeções de carbacol na ASM aumentaram a pressão arterial média (PAM), sugerindo que esta resposta pressora à ativação colinérgica central depende da liberação de VP e simpatoexcitação (Hoffman, W.E. et al., 1977; Imai, Y. et al., 1989), pois o PVN também está envolvido no controle da atividade simpática. O PVN parvocelular (pPVN) se projeta para a medula rostroventrolateral (RVLM), que é o principal núcleo pré-motor que controla a atividade simpático, e também para a coluna intermediolateral (IML) (Shafton, A.D. et al., 1998; Antunes, V.R. et al., 2006; Guyenet, P.G., 2006). Estudos de Luiz, A.C. et al. (1991) mostrou que a lesão eletrolítica aguda da área septal medial prejudica tanto o efeito dipsogênico como o efeito pressor em resposta ao carbacol no ventrículo lateral e sugeriu a existência de vias excitatórias na área septal medial importantes no mecanismo de ativação colinérgica central em ratos. E Colombari, D. S. A. et al. (1994) mostraram um prejuízo da resposta pressora induzida por carbacol no órgão subfornical de ratos, e uma diminuição das respostas pressora e dipsogênica induzidas por Ang II no ventrículo lateral.

Trabalhos vêm trazendo que a participação de vias colinérgicas não se dá apenas na ASM, mas a ASL também está envolvida. E para confirmar a efetiva participação de vias colinérgicas da ASL em ajustes cardiovasculares, trabalhos de (Kanaya, T. et al., 2003; Kubo, T. et al., 2003) mostraram que antagonistas de receptores colinérgicos muscarínicos bloqueiam tanto a ativação farmacológica produzida por carbacol, na ASL ou no VL, como também bloqueia o efeito pressor produzido pelo estresse.

1.4. Osmolaridade

Nas últimas décadas, vários estudos foram realizados para identificar os mecanismos e áreas cerebrais específicas envolvidas na regulação do volume e da osmolaridade do líquido extracelular (LEC) e intracelular (LIC), além da ingestão e excreção de água e eletrólitos. O LEC e o LIC são formados tanto por líquido quanto por eletrólitos. O principal cátion do LEC é o sódio (Na^+) e os ânions que contrabalançam são o cloro (Cl^-) e o bicarbonato. Os principais cátions do LIC são o potássio (K^+) e o magnésio (Mg^{2+}) e os ânions são as proteínas e fosfatos orgânicos. A manutenção destes eletrólitos em ambos os compartimentos é denominado homeostasia que significa o equilíbrio do meio interno (Cannon, B., 1931). E a concentração dessas partículas (cátions e ânions), osmoticamente ativas em uma solução é denominada osmolaridade. Em se tratando do LEC, essa solução é o plasma, e a osmolaridade é a plasmática. A osmolalidade plasmática normalmente varia de 280 a 295 mOsm / kg em mamíferos complexos e, quando um aumento desse parâmetro é detectado, vários mecanismos homeostáticos, como sede, liberação de VP e reabsorção renal de água, são estimulados (Antune-Rodrigues, J. et.al., 2013).

Desde meados da década de 70, já se sabe que a osmolalidade plasmática é fortemente controlada por processos homeostáticos que envolvem uma resposta integrativa dos sistemas cardiovascular, renal e neuroendócrino (Share & Claybaugh, 1972). O sistema nervoso central tem papel fundamental na regulação e integração dos mecanismos dipsogênicos (Stricker, E.M. e Sved, A.F., 2000), como por exemplo, a sede intracelular e a sede extracelular. O núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) é um importante núcleo que controla a composição e o volume do líquido extracelular, bem como as alterações da pressão arterial. Áreas do cérebro, especificamente do hipotálamo lateral, promovem a sede ou dipsia quando estimuladas experimentalmente por desidratação celular ou por estimulação elétrica (Gilman, A., 1937). E segundo Simpson, J.B. e Routtenberg, A. (1973), a área pré-optica lateral é essencial para ingestão de água induzida por desidratação intracelular e o órgão subfornical (SFO) é o tecido alvo do efeito dipsogênico da angiotensina, que simula a sede extracelular.

Vários estudos têm demonstrado que existe ativação de osmorreceptores centrais por sobrecarga intragástrica (ig) de salina hipertônica (Pereira, D.T. et al.,

2002; Carlson, S.H. e Osborn, J.W., 1998b; Kraly, F.S. et al., 1995b; Kraly, F.S. et al., 1995a; Stricker, E.M. et al., 2002), onde a sobrecarga ig com NaCl 12 % aumenta a osmolaridade plasmática em 4% sem alterar o volume plasmático (Pereira, D.T. et al., 2002). A ingestão de água após essa sobrecarga de NaCl 12 % ig é consequência da ativação de osmorreceptores centrais, localizados em áreas prosencefálicas, como SFO e o órgão vascular da lâmina terminal (OVLT), que são parte da lâmina terminal (Bourque, C.W., 2008; McKinley, M.J. et al., 2004). Portanto, o aumento da osmolaridade plasmática, independente do protocolo utilizado, promove resposta dipsogênica e natriurese (Andersson, B. et al., 1982; Bourque, C.W. et al., 1994; Fitzsimons, J.T., 1963; Gilman, A. 1937; Pereira et al., 2002; Stricker; Sved, 2000).

Desta forma, a resposta à osmolaridade é mediada, em parte, pela ativação do PVN acionado por áreas específicas do cérebro anterior (rostrais) nas quais os osmorreceptores centrais estão contidos (Antunes-Rodrigues et al. 2004). Além dessas áreas da lâmina terminal, OVLT, SFO, a área pré-óptica mediana (MnPO) e a estimulação pela hiperosmolalidade plasmática fornecem uma fonte importante de entrada aferente excitatória para o PVN (Camacho & Phillips, 1981; Saper & Levisohn, 1983; Sawchenko & Swanson, 1983; McKinley et al. 1992; Johnson et al. 1996).

Há também vários estudos que já provaram que existe a participação de osmorreceptores hepáticos (periféricos), cujos aferentes cursam por meio do nervo vago (Hosomi, H. et al., 1996; Haberich, F.J., 1968), e parecem também contribuir para a ingestão de água induzida por sobrecarga intragástrica de sódio hipertônico (Stricker, E.M. et al., 2002; Kraly, F.S. et al., 1975; Kraly, F.S. et al., 1995a). A sede intracelular, decorrente de efeitos hiperosmóticos produzidos por injeções de salina hipertônica ou sacarose, por exemplo, foi descrita por Blass, E.M. e Epstein, A.N. (1971) como relacionada a uma pequena região da área pré-óptica lateral (APL).

Acreditamos que as vias do SNC responsáveis pelo comportamento de sede e apetite ao sódio possam ser afetadas pela IEP, vias estas que envolvem estruturas como, os órgãos circumventriculares (CVOs), principalmente órgão subfornical (SFO) e o órgão vascular da lâmina terminal (OVLT), os quais possuem valiosa participação na regulação central nos comportamentos de dipsia e apetite ao sódio (McKinley, M.J.; Johnson, A.K., 2004) e podem encontrar-se alteradas, de forma que

a função de ativação do comportamento de apetite ao sódio não esteja ocorrendo. Mecanismos colinérgicos no prosencéfalo que estão envolvidos com consumo induzido por desidratação (Block, M.L. e Fisher, A.E, 1970) e liberação hormonal durante expansão de volume ou hiperosmolalidade (Antunes-Rodrigues, J. et al., 2004), também podem estar alterados trazendo prejuízo na homeostase do organismo desses animais.

Ainda não se sabe de uma maneira funcional, como se dá o controle cardiovascular frente à alterações dos níveis centrais de Ang II, carbacol e osmolaridade plasmática no modelo de epilepsia induzida por pilocarpina. Estando estas vias centrais adrenérgicas mais ativadas, ou as vias centrais colinérgicas menos ativadas, o quanto podem contribuir para uma piora no quadro de hiperexcitabilidade central que resulta em desregulação autonômica aumentando o risco de SUDEP.

2. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar se a indução da epilepsia por pilocarpina (IEP) provoca alterações centrais, que prejudicam a regulação cardiovascular e o equilíbrio hidroeletrólítico nestes animais.

Mais especificamente, avaliamos, em animais submetidos à epilepsia induzida por pilocarpina:

- a) Ingestão diária de água e sódio em animais com epilepsia induzida por pilocarpina;
- b) Alterações cardiovasculares induzidas por desidratação intracelular aguda, por meio do protocolo de gavagem com solução hipertônica de sódio (NaCl 12%), nos animais com epilepsia induzida por pilocarpina;
- c) A participação do principal componente do sistema renina-angiotensina, a ANG II, microinjetada no ventrículo lateral, sobre os parâmetros cardiovasculares - frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PAM), destes animais.
- d) A participação do sistema colinérgico, com a microinjeção de Carbacol no ventrículo lateral, sobre os parâmetros cardiovasculares - frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PAM), destes animais.

3. Metodologia

3.1. Animais

Todos os protocolos experimentais utilizando animais empregados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade federal de Goiás (UFG) (CEUA 055/2019). Desta forma foram utilizados ratos Wistar (peso 250 a 280g) fornecidos pelo biotério central da UFG. Os animais, ao chegar ao biotério setorial, em nosso laboratório, foram mantidos com água, solução hipertônica de sódio (NaCl 1,8%) e ração *ad libitum*. Foram mantidos em gaiolas individuais, ciclo claro/escuro (12 horas), temperatura de 23° C ± 2° C e umidade controlada.

3.2. Indução da epilepsia por pilorcapina

Os animais receberam, primeiramente, uma dose de metilescopolamina (1mg/kg -i.p.), um antagonista muscarínico, para atenuar os efeitos periféricos da pilocarpina. Após 30 minutos administramos injeção única de pilocarpina (350 mg/kg -i.p.), que no sistema nervoso central (SNC) tem ações parassimpatomiméticas, excitando as estruturas inervadas por fibras colinérgicas pré-ganglionares. Todos os animais que apresentaram o *status epilepticus (SE)* receberam uma injeção de diazepam (10 mg/kg -i.p.), um benzodiazepínico anticonvulsivante que atua aumentando a liberação de GABA, um neurotransmissor inibitório, e desta forma promove o bloqueio do *SE*, após 3 horas. Trinta dias após a primeira crise espontânea, os animais foram utilizados para os experimentos. Os animais que não apresentaram o *SE* após a injeção de pilocarpina foram utilizados como grupo controle. Processo representado na **figura 1**.

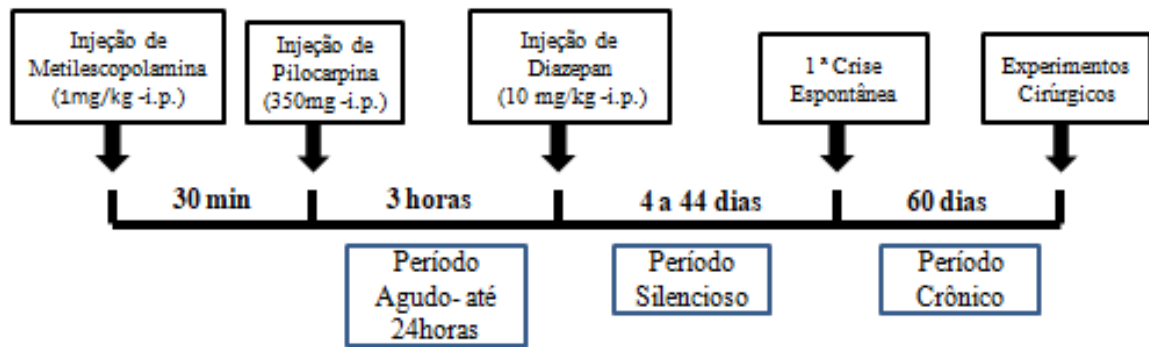


Figura 1. Protocolo de indução da epilepsia por pilocarpina.

3.3. Protocolos de ingestão diária de água e sódio

Trinta dias após a primeira crise espontânea, os animais com epilepsia (n=15) e controles (n=12) acondicionados em gaiolas individuais tiveram diariamente, a água e a solução hipertônica de NaCl 1,8% medidos por meio de provetas graduadas, em que se media um dia e no dia seguinte fazíamos a diferença do que foi consumido, bem como o peso corporal, em que foram pesados todos os dias e para análise foi utilizada a variação dos pesos. O acompanhamento diário foi feito por 30 dias.

3.4. Implante de cânula guia e microinjeção no VL

Ao final do período de acompanhamento das ingestões diárias, os animais foram submetidos ao implante de cânula guia, a fim de proporcionar o acesso ao ventrículo lateral direito para posterior administração de fármacos. Para o implante, os ratos foram anestesiados com um coquetel de cetamina (80 mg/kg de peso corporal - p.c.) e xilazina (7 mg/kg, p.c.) administrado intraperitonealmente. Em seguida, foram fixados em um aparelho estereotáxico para pequenos animais (Bonther Ltda, Ribeirão Preto, SP). O crânio foi nivelado utilizando o bregma e lâmbda como referências. Uma cânula de aço inoxidável (10 mm comprimento x 0,7 mm diâmetro interno) foi implantada no ventrículo lateral direito, usando as coordenadas 0,3 mm caudal ao bregma, 1,6 mm lateral a linha média e 3,6 mm abaixo da superfície do crânio. A cânula foi fixada no crânio utilizando parafusos e resina acrílica. Uma dose profilática de pentabiótico veterinário (benzilpenicilina 80000IU + streptomina 33 mg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, SP) e de anti-inflamatório cetoprofeno (ketoprofen 1%, 1 mg/kg de peso corporal, Mundo

Animal, São Paulo, SP) foi administrada intramuscularmente em todos os animais. Depois de um período de cinco dias de recuperação da cirurgia, foi realizada a canulação da artéria femoral.

3.5. Canulação da artéria

Para o registro direto da pressão arterial (PA) foram utilizados cateteres de tubos de polietileno PE-10 soldados a tubos de polietileno PE-50. Após 5 dias de recuperação do implante de cânula guia, os ratos foram anestesiados com um coquetel de cetamina (80 mg/kg, p.c.) e xilazina (7 mg/kg, p.c.) administrado intraperitonealmente, e o catéter foi inserido na aorta abdominal, através da artéria femoral. Após 24 horas de recuperação deste procedimento cirúrgico, os animais foram acondicionados não anestesiados em caixas pequenas e individuais, em que conectamos o catéter a um transdutor de pressão (MLT0699, ADInstruments, Bella Vista, Austrália) acoplado a um amplificador (Bridge Amp, FE221, ADInstruments, Bella Vista, Austrália) e a um sistema de aquisição e análise de dados onde foram digitalizados utilizando um conversor analógico digital (PowerLab 4/25, ML845, ADInstruments, Bella Vista, Austrália).

A PAM foi calculada a partir da integral do sinal da PAP (LabChart 7 v7.3.7; ADInstruments, Bella Vista, Austrália). A FC calculada como uma frequência instantânea a partir do sinal PAP (PowerLab 4/25, ML845, ADInstruments, Bella Vista, Australia).

3.5.1. Protocolo de registro com administração de Ang II icv

A fim de avaliar os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC) frente à administração de Ang II, com os animais não anestesiados, grupo com epilepsia (n=7) e grupo controle (n=5), o registro (**figura 2.**) consistiu: no período basal com duração de 20 minutos em que não é feito nenhum manuseio do animal, após esse período é feita uma injeção no ventrículo lateral (VL) de salina estéril, registrando por mais 20 minutos; em seguida é administrada angiotensina II (50 ng/ 0,1 µl) no VL, em que o registro de PAM e FC permanece por 60 minutos.

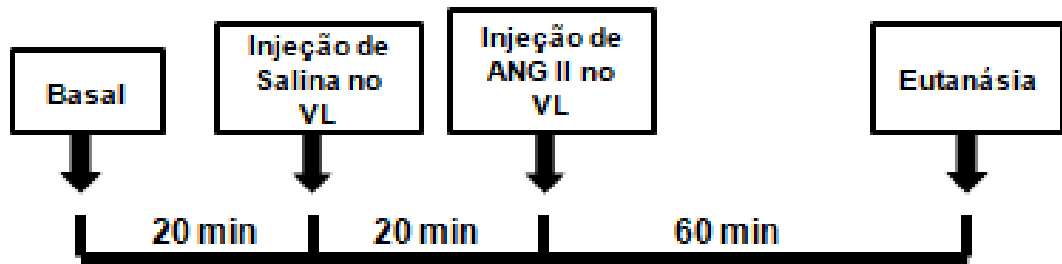


Figura 2. Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de Ang II icv.

3.5.2. Protocolo de registro com administração de carbacol icv

A fim de avaliar os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC) frente à administração de carbacol, com os animais não anestesiados, grupo com epilepsia (n=4) e grupo controle (n=5), o registro (**figura 3.**) consistiu: no período basal com duração de 20 minutos em que não é feito nenhum manuseio do animal, após esse período é feita uma injeção no ventrículo lateral (VL) de salina estéril, registrando por mais 20 minutos; em seguida é administrado o carbacol (4 ng/ 0,1 μ l) no VL, em que o registro de PAM e FC permanece por 60 minutos.

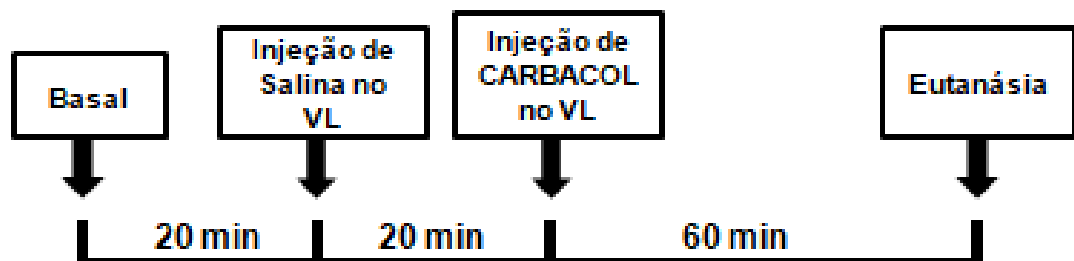


Figura 3. Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de carbacol icv.

3.5.3. Protocolo de registro com gavagem hipertônica

A fim de avaliar os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC) frente à uma grande carga de sódio, com os animais não anestesiados, grupo com epilepsia (n=4) e grupo controle (n=4), foi feito o registro mediante a desidratação intracelular, por gavagem com solução hipertônica de NaCl 12%, (**figura 4.**) em que os animais foram mobilizados de forma que facilite o posicionamento da sonda intragástrica e

ocorra a administração de NaCl 12%, protocolo de desidratação agudo o qual promove um aumento da osmolaridade sem alterações de volume. Desta forma, o protocolo consiste: no período basal, em que não é feito nenhum manuseio do animal por 20 minutos; após esse período é administrado 2 mL de salina estéril isotônica intragástrica, com registro de mais 20 minutos; em seguida é administrada a solução hipertônica 12% intragástrica, em que o registro de PAM e FC permanece por 60 minutos.

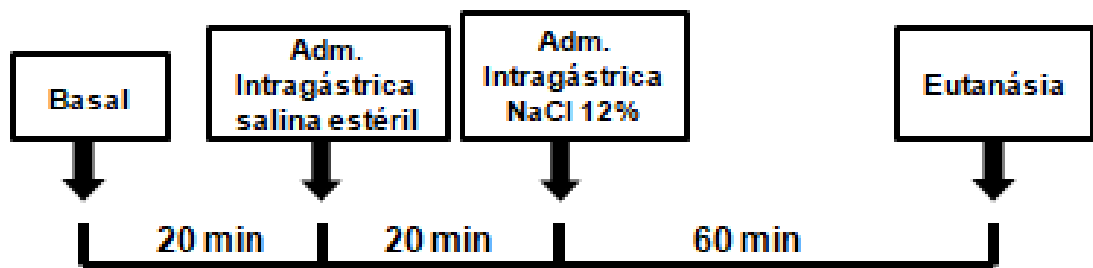


Figura 4. Protocolo de registro de parâmetros cardiovasculares com administração de NaCl 12% intragástrica.

3.6. Histologia

3.6.1. Técnica de histologia

Ao final dos experimentos, a fim de verificar a correta localização das microinjeções no VL, os animais foram eutanasiados e o cérebro coletado. Para a eutanásia os animais foram anestesiados com tiopental sódico (70 mg/kg de peso corporal). Em seguida, receberam injeções de corante (azul de Evans 1% 0,1µl) no VL e foram submetidos a uma perfusão transcardíaca por meio de injeção no coração (ventrículo esquerdo) de solução de formaldeído 10% (20 ml). A seguir os cérebros foram retirados e armazenados em formaldeído 10% por alguns dias. Eles foram seccionados em cortes coronais de 40 micrometros (µm) de espessura com o auxílio de um micrótomo de congelamento (Leica; Wetzlar, Alemanha), montados em lâminas e corados com corante vermelho neutro. Para a localização das injeções no VL, os cortes foram analisados utilizando um microscópio óptico (Leica DM500, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) acoplado a um sistema digital de aquisição de imagens (Leica Application Suite, V.3.10, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha).

3.7. Delineamento Experimental

Como demonstrado na **figura 5** estes animais foram submetidos à indução da epilepsia por pilocarpina (IEP), onde os animais que entraram em *status epilepticus* (SE) constituíram o grupo dos animais com epilepsia e os animais que não entraram em SE constituíram o grupo controle. Após a 1ª crise espontânea, que sucede o período silencioso, aguardamos um período de 30 dias para estabelecimento da epilepsia. Ao final deste período, por mais 30 dias mensuramos a ingestão de água e NaCl 1,8%, bem como o peso corporal destes animais. Após 60 dias da 1ª crise espontânea iniciaram os procedimentos cirúrgicos com os animais anestesiados, que consistiram no implante de cânula guia no ventrículo lateral (VL), com cinco dias de recuperação, e canulação da artéria femoral, com um dia de recuperação. Portanto do dia seguinte à canulação foram feitos os experimentos de registro, com os animais não anestesiados, de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). Após os registros os animais foram eutanasiados e tiveram seus cérebros conservados para posterior análise histológica. Os animais que adquiriram a epilepsia, bem como os animais controle tiveram uma distribuição randômica para cada tratamento, de gavagem com NaCl 12%, intracerebroventricular com Ang II e Carbacol.

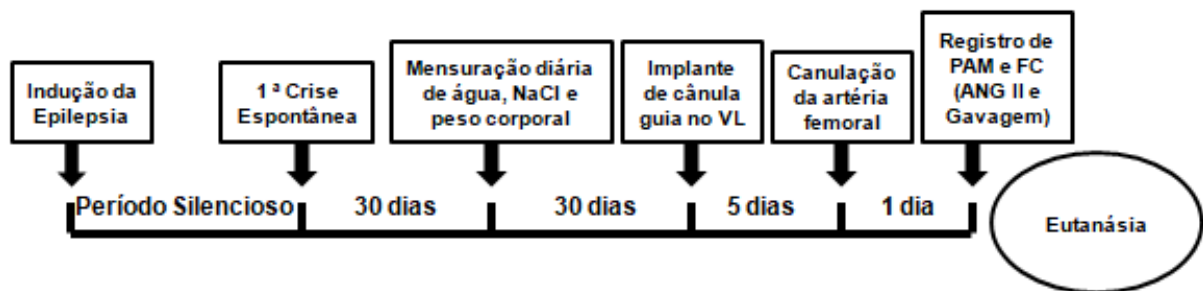


Figura 5. Delineamento Experimental.

3.8. Análise estatística

Para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad Prism (v 6.01; GraphPad Software, Inc. San Diego, Califórnia, USA). Os valores obtidos foram expressos como média \pm EPM (erro padrão da média). Os dados de ingestão diária foram analisados utilizando a análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) para múltiplas comparações e pós-teste de bonferroni para ingestão de água e pós-teste de sidak para ingestão de sódio. Os dados de peso corporal foram analisados

através do teste *t student* não pareado. As variações de PAM e FC no protocolo de administração de Ang II e de Carbacol no VL foram analisadas utilizando a análise de variância de uma via (ANOVA One-way) para múltiplas comparações. As variações de PAM e FC no protocolo de gavagem com NaCl 12% foram analisadas utilizando a análise de variância de duas vias (ANOVA Two-way) para múltiplas comparações. A significância foi assumida quando $p < 0,05$.

3.9. Mortalidade/Erro

No presente estudo, foram feitas as taxas de mortalidade devido à indução da epilepsia do lobo temporal através do modelo da pilocarpina, ao período agudo/silencioso e aos protocolos cirúrgicos, bem como o erro do implante de cânula guia no ventrículo lateral (VL), como representados na **tabela 1** a seguir.

Protocolo	N Inicial	ÓBITO**/ERRO*			
		Epilepsia (N)	Controle (N)	TOTAL	% Aprox.
Indução da Epilepsia por Pilocarpina	350	-	-	140**	40%**
Período Agudo/Silencioso	210	120**	10**	130**	62%**
Cirurgias	80	15**	15**	30**	37%**
VL *	50	10*	11*	21*	42%*

*Avaliação do erro do implante de cânula guia no ventrículo lateral (VL), representado por uma porcentagem. Estes animais foram excluídos do experimento.

**Animais que morreram após ou durante o protocolo

Tabela 1. Mortalidade

4. Resultados

4.1. Histologia

A **Figura 6** apresenta uma fotomicrografia transversal representativa de um corte histológico indicando o ponto de injeção típico (seta) no VL. Para este estudo, somente os animais positivos foram analisados.

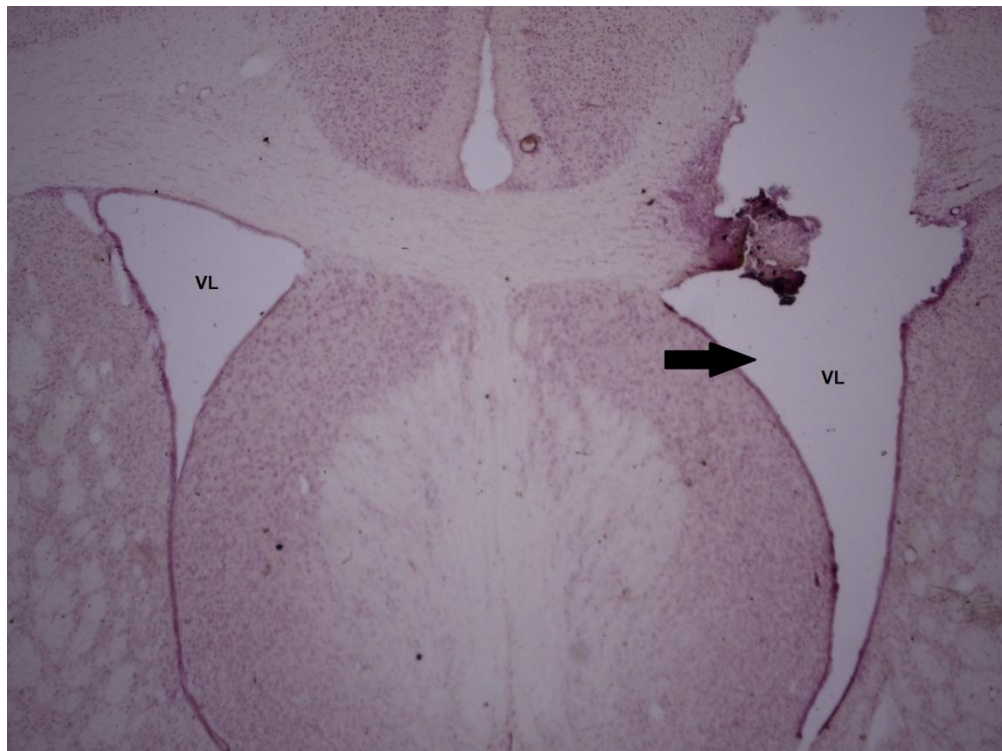


Figura 6. Fotomicrografia demonstrativa do local de injeção (seta) no VL em um animal representativo do grupo.

4.2. Ingestão diária

Como resultado do protocolo de mensuração da ingestão diária por 30 dias, dado em mililitros (ml), a qual foi feita por meio de provetas graduadas em que se media um dia e no dia seguinte fazíamos a diferença do que foi consumido, observamos que a ingestão de água no grupo dos animais com epilepsia (n=15) quando comparado ao grupo controle (n=12) não foi diferente, considerando $p < 0,05$, representado na **figura 7. A**. Também quanto à ingestão de NaCl 1,8% não

houve diferença entre os grupos, considerando $p < 0,05$, representado pelo gráfico da **figura 7. B.**

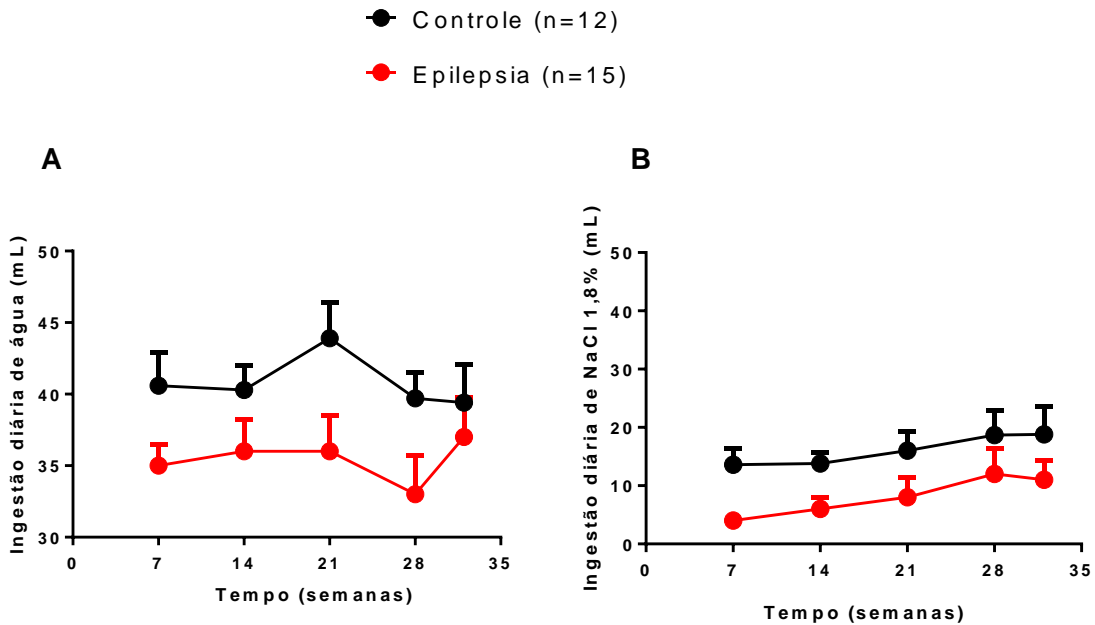


Figura 7. Ingestão diária de **A.** água, os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA de duas vias para múltiplas comparações e pós-teste de bonferroni **B.** NaCl 1,8%. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA de duas vias para múltiplas comparações e pós-teste de sidak, considerando $p < 0,05$.

Quanto ao peso corporal, dado em gramas (g), o grupo dos animais com epilepsia (n=26) obteve um peso final menor quando comparado ao grupo controle (n=30), como representado na **figura 8.** (377 ± 14 g vs. $425 \pm 6,3$ g, respectivamente).

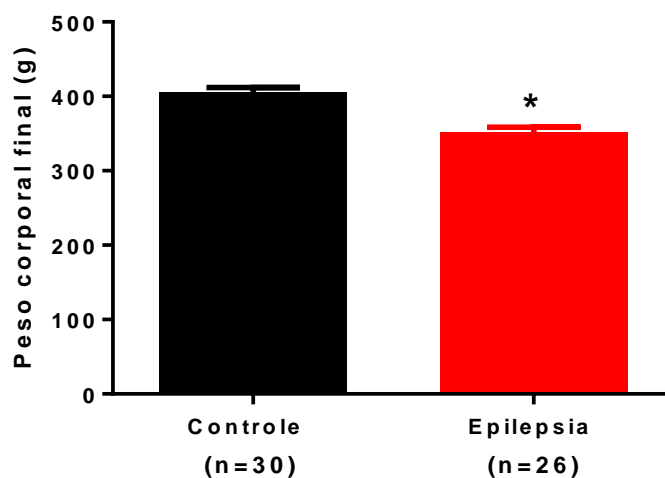


Figura 8. Peso Corporal final. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por teste *t student* não pareado, considerando $p < 0,05$. *: diferente do controle.

4.3. PAM e FC basais nos três protocolos

É clássico neste modelo que ocorra alterações da FC, portanto, em adição aos nossos resultados comparamos os valores basais dos parâmetros cardiovasculares de todos os animais nos três protocolos, ANG II, carbacol e gavagem, em um só gráfico. Desta forma, foi possível observar que quanto à PAM, representado na **figura 9. A.**, não houve diferença significativa entre os grupos, porém quanto à FC, representado na **figura 9. B.** houve diferença do grupo dos animais com epilepsia ($n=15$), 395 ± 9 bpm, comparada ao controle ($n=14$), 334 ± 13 bpm, considerando $p < 0,05$.

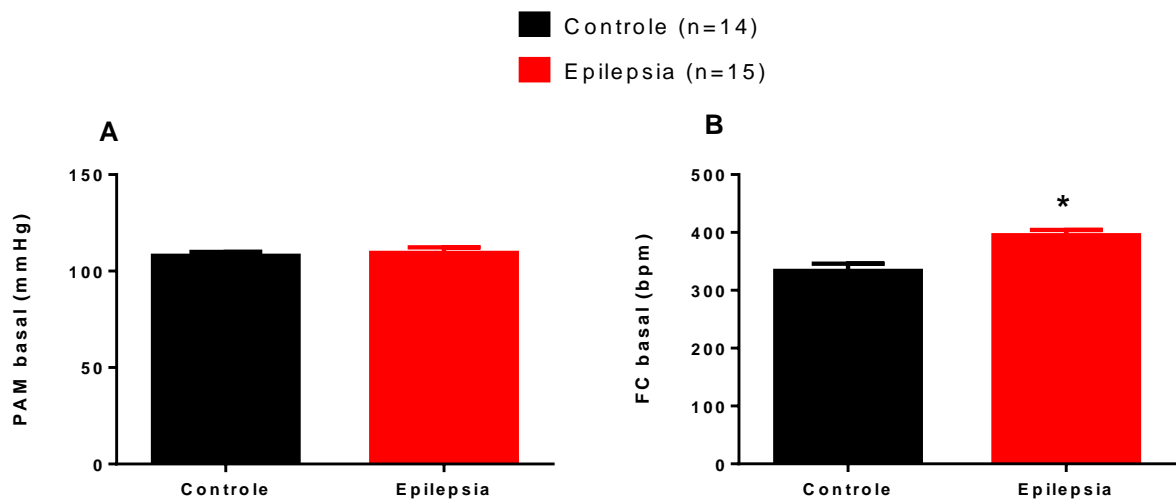


Figura 9. Gráfico dos parâmetros cardiovasculares basais dos três protocolos, ANG II, carbacol e gavagem com NaCl 1,8%. **A.** PAM basal. **B.** FC basal. Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por teste *t student* não pareado, considerando $p < 0,05$. *: diferente do controle.

4.4. Alterações cardiovasculares induzidas por ANG II central

No experimento de registro acordado, com injeção icv de Ang II, obtivemos como resultados da variação da pressão arterial média (Δ PAM), representada no gráfico da **figura 10. A.**, um aumento da resposta pressora no grupo dos animais com epilepsia ($n=7$) quando comparado ao grupo dos animais controle ($n=5$) após a injeção de Ang II icv ($22,0 \pm 2,1$ mmHg vs. $15,33 \pm 1,8$ mmHg, respectivamente, $p < 0,05$), bem como ao período basal dentro dos grupos ($2,67 \pm 1,6$ mmHg, epilepsia e $-4,3 \pm 3,0$ mmHg, controle, $p < 0,05$). Quanto à variação da frequência cardíaca (Δ

FC), representado no gráfico da **figura 10. B.**, a injeção de Ang II promoveu diferença significativa entre os grupos (Epilepsia: $-0,1 \pm 4,6$ bpm vs. Controle: $-23,7 \pm 19,5$ bpm).

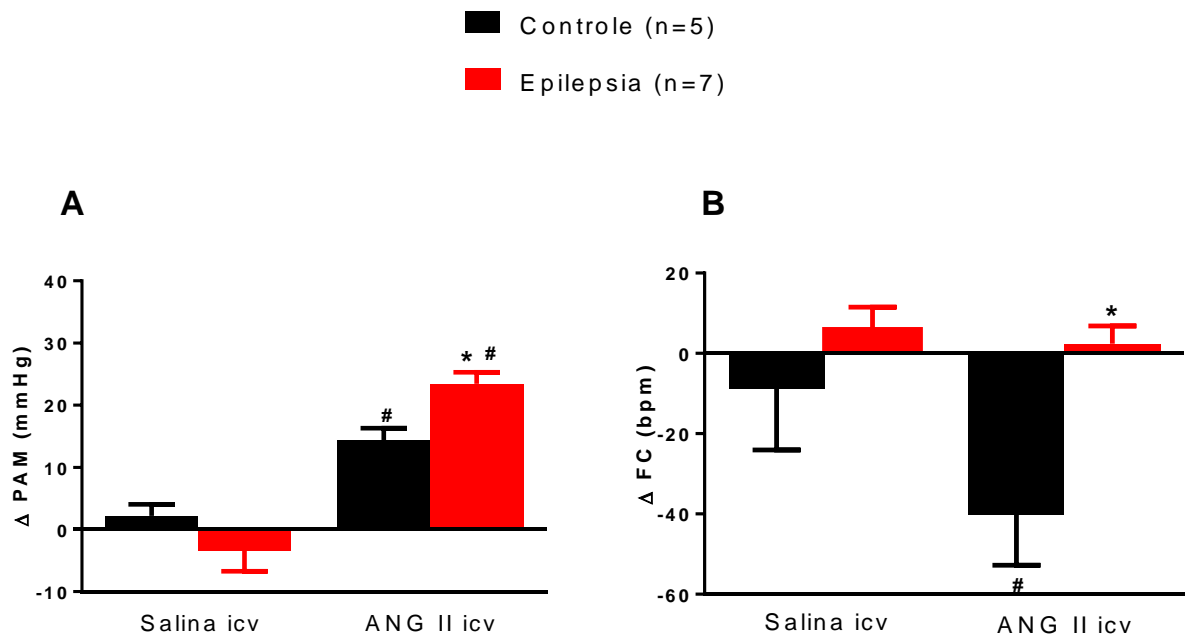


Figura 10. Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com injeção de Ang II icv. Variação da **A.** pressão arterial média (ΔPAM) e **B.** frequência cardíaca (ΔFC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA de uma via para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$. #: diferente de salina icv. *: diferente do controle + ANG II icv.

4.5. Alterações cardiovasculares induzidas por carbacol central

No experimento de registro acordado, com injeção icv de carbacol, verificamos que a variação da pressão arterial média (Δ PAM), representada no gráfico da **figura 11. A.**, dos animais com epilepsia (n=4) não foi diferente quando comparado ao grupo dos animais controle (n=5), porém houve diferença no período basal comparado ao período após injeção de carbacol icv dentro dos grupos ($-0,5 \pm 1,4$ vs. $22,3 \pm 4,6$ mmHg, epilepsia e $1,00 \pm 2,3$ vs. $24,33 \pm 4,0$ mmHg, controle, $p < 0,05$). Quanto à variação da frequência cardíaca (Δ FC), representado no gráfico da **figura 11. B.**, a injeção de carbacol promoveu uma menor bradicardia no grupo com epilepsia (Epilepsia: $-24,3 \pm 6,1$ bpm vs. Controle: $-56,3 \pm 13,2$ bpm, $p < 0,05$).

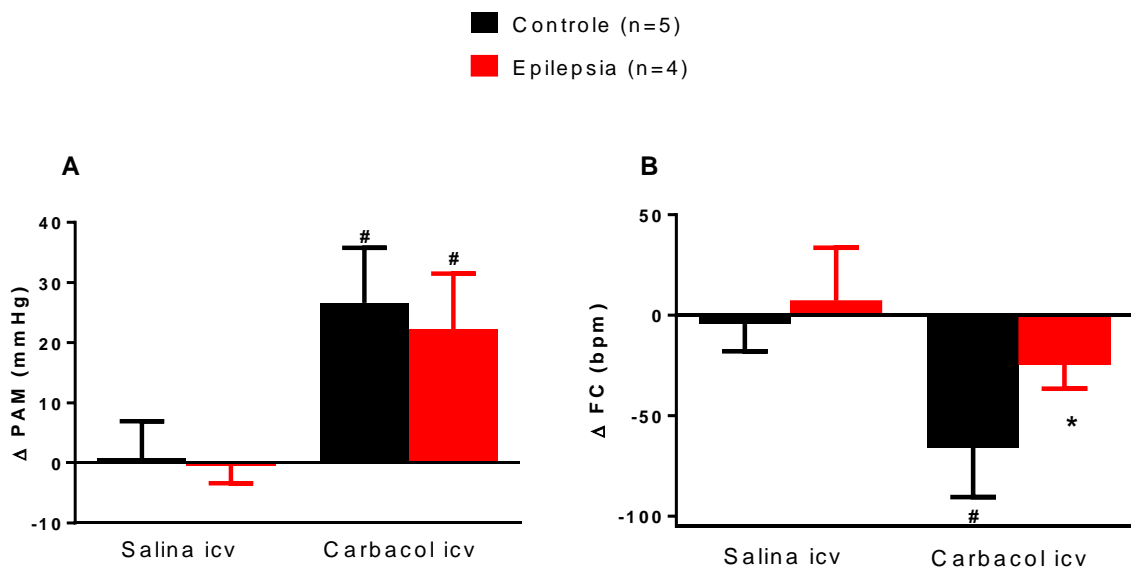


Figura 11. Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com injeção de Carbacol icv. Variação da **A.** pressão arterial média (Δ PAM) e **B.** frequência cardíaca (Δ FC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA de uma via para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$. #: diferente de salina icv. *: diferente do controle + carbacol icv.

4.6. Alterações cardiovasculares induzidas por hiperosmolaridade plasmática

No protocolo de registro acordado de gavagem com NaCl 12 %, obtivemos como resultados da Δ PAM, representado no gráfico da **figura 12. A.**, valores menores da pressão nos tempos 30, 40 e 50 minutos no grupo com epilepsia quando comparamos ao período de 10 minutos após a gavagem (**10'**: $5,6 \pm 2,9$ vs.

30': $-8,0 \pm 5,3$ mmHg; **40'**: $-11,5 \pm 4,9$ mmHg; **50'**: $-9,0 \pm 4,5$ mmHg). Também foi observado menores valores de pressão arterial quando comparamos o grupo com epilepsia ao grupo controle nos tempos 30, 40 e 50 minutos, respectivamente, **30'**: $-8,0 \pm 5,3$ vs. $6,2 \pm 1,7$ $-8,0 \pm 5,3$ mmHg); **40'**: $-11,5 \pm 4,9$ vs. $4,1 \pm 4,1$ mmHg; **50'**: $-9,0 \pm 4,5$ vs. $6,0 \pm 3,5$ mmHg). Como resultados da Δ FC, representado no gráfico da **figura 12. B.**, observamos que não houve diferença significativa entre os grupos, porém no grupo com epilepsia houve um aumento após a gavagem quando comparamos os tempos -10, -1, 40, 50 e 60 minutos (**10'**: $49,2 \pm 23,0$ vs. **-10'**: $0,0 \pm 0,0$ bpm; **-1'**: $-5,7 \pm 11,1$ bpm; **40'**: $3,5 \pm 7,3$ bpm; **50'**: $-7,0 \pm 9,6$ bpm e **60'**: $-5,7 \pm 11,3$ bpm).

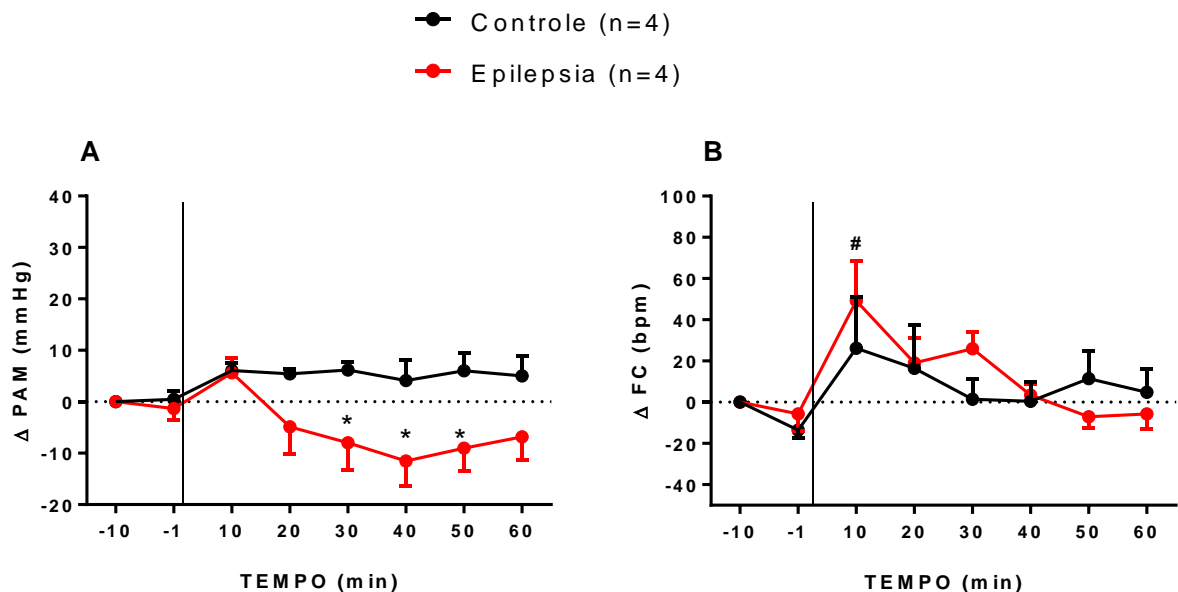


Figura 12. Gráficos dos parâmetros cardiovasculares com administração de NaCl 12% ig. Variação da **A.** pressão arterial média (Δ PAM) e **B.** frequência cardíaca (Δ FC). Os dados foram expressos em média \pm EPM e analisados por ANOVA de duas vias para múltiplas comparações, considerando $p < 0,05$. |: gavagem com NaCl 12% #: diferente do basal. *: diferente do controle.

5. Discussão

Os principais resultados de nossos estudos demonstraram que o modelo da epilepsia induzida pela pilocarpina provoca alterações na frequência cardíaca basal, sem alterações na pressão arterial basal, potencializa a resposta pressora à ativação central com Ang II, não altera a resposta pressora do carbachol e apresenta uma redução da pressão arterial após hiperosmolaridade plasmática.

Ao compararmos os parâmetros cardiovasculares basais dos animais nos três protocolos, observamos um aumento da FC no grupo dos animais com epilepsia comparados ao grupo controle. Já esta bem descrito que o modelo de indução da epilepsia pela injeção periférica de pilocarpina promove uma taquicardia de repouso (Drake, M.E. et al., 1993), como demonstrado no presente estudo, além de um menor peso corporal no final dos experimentos o que não foi visto na literatura. Em estudos mais recentes de Colugnati, D.B. et al. (2005) demonstrou-se aumento da FC de repouso em animais submetidos ao modelo de EIP, quando comparados ao grupo dos animais que não foram tratados com a pilocarpina. Porém, não foi observado diferença na FC entre os grupos estudados quando os corações dos animais foram isolados e mantidos sob perfusão com solução fisiológica de forma retrógrada pela aorta (preparação de Langendorf). Este trabalho sugere que o coração desses animais não apresenta autoritmicidade e função contrátil alteradas intrinsecamente, e que essas alterações observadas na FC se deram provavelmente devido alterações da modulação autonômica cardíaca dos animais. Curiosamente, as regiões cerebrais que representam os focos mais comuns de epilepsia focal são também as regiões que possuem os principais componentes do controle cortical central das funções autonômicas, como a ínsula, giro do cíngulo anterior e córtex pré-frontal ventromedial, que formam a região pré-motora autônoma, enquanto que a amígdala liga esses centros corticais e subcorticais. Relação a qual explica a observação frequente de alterações autonômicas agudas durante as crises epiléticas (Surges, R. et al, 2009). Estas alterações da modulação autonômica cardíaca em animais submetidos ao modelo de IEP sugerida pelo estudo de Colugnati, D.B. et al. (2005) corroboram com nossos resultados, nos mostrando que o componente parassimpático encontra-se reduzido e promovendo uma taquicardia.

Quanto ao protocolo com administração de Ang II icv, observamos uma resposta pressora elevada e maior quando comparamos ao grupo controle, bem como aumento da FC. O sistema renina-angiotensina (SRA) é bem conhecido como um sistema endócrino que regula a função cardiovascular e o equilíbrio hidroeletrólítico. Esse sistema consiste em uma cascata de reações. E são os receptores AT1 ativados por Ang II que medeiam funções como: vasoconstrição, aumento da liberação de aldosterona, aumento da reabsorção tubular renal, aumento de VP, aumento da sede, aumento da atividade simpática, aumento da frequência cardíaca/contratilidade, aumento do crescimento e proliferação celular.

A sede extracelular, estimulada pela injeção de Ang II nos ventrículos cerebrais (Thunhorst, R.L. e Johnson, A.K., 1993; Camargo, L.A.A. et al., 1984; Saad, W.A. et al., 2000; Saad, W.A. et al., 2002) e alguns outros locais como o órgão subfornical e área septal medial (Covian, M.R. et al., 1972; Antunes, V.R. et al., 1998; Camargo, L.A.A. e Saad, W.A., 2001; Saad, W.A. et al., 2002; Camargo, L.A.A. et al., 2002; Saad, W.A. e Camargo, L.A.A., 2003) promove a restauração do volume do líquido extracelular, ativando mecanismos de ingestão, como apetite ao sódio e sede (Phillips. M.I., 1987), juntamente com mecanismos renais, liberação de VP, natriurese, que promovem a diminuição da excreção de líquidos, e cardiovasculares, incluindo aumento da pressão sanguínea. Portanto, aumento de Ang II, leva ao aumento de volume circulante o que está associado a um maior estímulo simpático proporcionando a elevação do débito cardíaco que, acrescido da ação vasoconstritora provocada pela Ang II eleva a PA (Silverthorn, 2003). Segundo Chiu, A.T. *et. al.* (1989), os receptores AT1 também estão localizados nas regiões cerebrais envolvidas com mecanismos de controle cardiovascular, especialmente em áreas do cérebro onde Ang II produz suas ações pressora e dipsogênica (órgão subfornical - SFO, núcleo paraventricular - PVN, núcleos do hipotálamo, núcleo do trato solitário - NTS, área postrema - AP e órgão vasculoso da lâmina terminal - OVLT) (Mendelsohn, F. A. O. *et.al.*, 1984; Chiu, A.T. *et. al.*, 1989), os quais também são encontrados nas adrenais, pulmões, fígado, rins, coração, aorta e em outros vasos. Em complemento aos estudos de Chiu, A.T. *et. al.*, a resposta da VP a Ang II icv é alta no primeiro minuto após a injeção e diminui 3 minutos após a administração. Portanto, a injeção central de Ang II causa a liberação de VP (Keil, L.C. *et.al.*, 1975) e como consequência a antidiurese com maior eficácia do que a

injeção periférica (Hoffman, W.E. *et.al.*, 1977). Desta forma, acreditamos que os animais submetidos ao modelos da EIP estejam com o barorreflexo alterado, com uma menor atividade, e por consequência o componente parassimpático também esteja diminuído. Outra especulação seria se os receptores AT1 estão mais expressos ou mais sensíveis à ligação da Ang II e essa excessiva ativação esteja promovendo maior resposta pressora.

No protocolo com administração de Carbacol, animais do grupo com epilepsia obtiveram uma resposta pressora aumentada comparando com seu período basal, mas não foi diferente quando comparamos aos animais do grupo controle. Porém, a FC aumentou comparando os dois os grupos. Além das injeções de Ang II, o carbacol icv também induz uma série de respostas, como expressão de c-fos na lâmina terminal, PVN, supra-óptico, e aumenta a PAM, atividade do nervo simpático, secreção de vasopressina e ingestão de água (Hatzinikolaou *et al.*, 1981; Hoffman *et al.*, 1977; Kato *et al.*, 2004; Miyajima e Bunag, 1984; Rowland *et al.*, 1994; Xu *et al.*, 2001). Outro estudo feito por Saad, W.A e seus colaboradores (1997) demonstrou que a injeção ventricular lateral de carbacol produz um aumento imediato e acentuado na PAM. Semelhante a Ang II central, a ativação colinérgica central produz respostas pressoras dependentes da liberação de vasopressina e excitação simpática (Fitzsimons, J.T., 1998; Hoffman, W.E. *et al.*, 1977; Imai, Y. *et al.*, 1989; Johnson, A.K. 1985; Johnson, A.K. *et al.*, 1978; Mahon, J.M. *et al.*, 1995). As injeções centrais de Ang II ou carbacol são ferramentas eficazes que ativam mecanismos angiotensinérgicos e colinérgicos centrais envolvidos na ativação simpática, hipertensão, secreção de vasopressina e sede (Hoffman, W.E. *et al.*, 1977; Johnson, A.K. e Thunhorst, R.L, 1997; McKinley, M.J. *et al.*, 1999; McKinley, M.J e Johnson, A.K, 2004). Diante dos resultados e dos estudos presentes na literatura, presumimos que esses animais com epilepsia estejam com a atividade dos barorreceptores intacta ou mais expressas que o normal, promovendo uma atividade eficaz. Outra especulação poderia ser alterações de componentes da própria via, como por exemplo a acetilcolina, um importante neurotransmissor do componente parassimpático do sistema nervoso autônomo.

No protocolo com administração intragástrica de NaCl 12%, solução hiperosmótica com o intuito de promover uma desidratação intracelular sem que ocorra alteração de volume, promoveu queda da PAM nos animais com epilepsia

diferentemente dos animais controle. Sugerindo, desta forma, possível alteração nos mecanismos dependentes da ativação de osmorreceptores. Os osmorreceptores quando detectam alguma variação na osmolaridade transmitem essas informações para diversas regiões do sistema nervoso central (SNC), modulando, as respostas comportamentais e vegetativas (McKinley, M.J. *et.al.*, 1996). Já foi demonstrado (Blanch, G.T. *et.al.*, 2013; Freiria-Oliveira, A.H. *et.al.*, 2014) que a hiperosmolaridade promove aumento de liberação de AVP e conseqüente aumento da PAM.

Sabe-se que a VP é um potente constritor nas células musculares lisas dos vasos (Verney, E.B, 1947) e que sua liberação na circulação sanguínea é também estimulada pela ativação dos osmorreceptores (De Bold, A.J. *et.al.*, 1981). Modificações no volume e na osmolaridade plasmática provocam alterações nos níveis plasmáticos de VP, OT e ANP. Quando ocorre a perda de água pelas células, desidratação intracelular, imediatamente são ativados osmorreceptores centrais e/ou periféricos, resultando na busca pela água (sede). A sede é definida como uma percepção da necessidade de ingerir água. É uma resposta fisiológica à percepção da carência de líquidos corporais. Já o apetite ao sódio (ingestão de cloreto de sódio - NaCl) é o mecanismo que o organismo tem para repor a quantidade de sódio, quando se têm a carência deste íon (Fitzsimons, J.T.,1998). O ANP é sintetizado especialmente nos átrios cardíacos e liberado na circulação em resposta ao aumento do volume do líquido extracelular, participa da manutenção do volume por produzir diurese, natriurese e vasodilatação (Baxter, J.D. *et.al.*, 1988), ele atua também como um antagonista frente à ação vasoconstritora da Ang II, VP e noradrenalina (Antunes-Rodrigues, J. *et.al.*, 1986). A OT tem efeitos similares aos do ANP, é secretada na circulação sanguínea durante expansão de volume, especialmente durante a expansão hipertônica, tem ação natriurética e é um importante mecanismo para contrabalancear ou atenuar essa expansão (Blackburn, R.E. *et.al.*, 1995). Além de sua ação renal, a OT também inibe a sede e o apetite ao sódio. Em resposta a uma carga osmótica, a OT plasmática aumenta, este aumento retrocede em resposta à diluição do líquido extracelular durante a ingestão de água, que antecede o apetite ao sódio em animais hipovolêmicos (Verbalis, J.G. *et.al.*, 1995; Sato, M.A. *et.al.*, 1997).

A osmolalidade plasmática em mamíferos é mantida em um limite muito restrito por processos homeostáticos que integram respostas renais, neuroendócrinas e

comportamentais (Antunes-Rodrigues, J. *et.al.*, 2004; McKinley, M.J. *et.al.*, 2004; Ramsay, D.M., 1991; Toney, G.M. *et.al.*, 2003). O aumento na concentração plasmática de sódio ativa osmoreceptores localizados no SFO e região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V), sinalizando a sede, liberação hormonal (vasopressina e ocitocina), renal (antidiurese e natriurese) e respostas cardiovasculares (hipertensão e aumento da atividade nervosa simpática) (Blanch, G.T. *et.al.*, 2013; Bourque, C.W. *et.al.*, 1994; McCann, S.M. *et.al.*, 2002; McKinley, M.J., 1991; Pedrino, G.R. *et.al.*, 2005; Toney, G.M. *et.al.*, 2003) para restaurar a osmolaridade a níveis normais. Hiperosmolaridade induzida por NaCl 12% ig em ratos aumenta a concentração plasmática de sódio, a osmolaridade em 4% e reduz a atividade da renina plasmática, sem alterar o hematócrito e o plasma total por pelo menos 60 minutos após a carga de NaCl (Pereira, D.T. *et.al.*, 2002). Além disso, NaCl 12% ig induz sede, natriurese, aumenta a VP e OT plasmática (Andrade, C.A. *et.al.*, 2012; Blanch, G.T. *et.al.*, 2013; Pereira, D.T. *et.al.*, 2002). A sobrecarga ig de NaCl 12% em ratos intactos geralmente produz alterações não significativas no volume de líquido extracelular e PAM (Blanch, G.T. *et.al.*, 2013), mas osmorreceptores e provavelmente barorreceptores são ativados. Diante de estudos provando as atuações do SNC, bem como o sistema nervoso periférico na hiperosmolaridade, e visto que animais com epilepsia mostraram um comportamento diferente, com uma queda acentuada da resposta pressora, pressupomos que a acetilcolina pode estar envolvida. E por esse motivo, decidimos adicionar aos estudos o protocolo com administração de carbacol icv, aprofundando uma pouco mais essa via.

O que nos levou a colocar o presente estudo em prática foram resultados obtidos recentemente, em nosso laboratório utilizando ratos Wistar submetidos ao modelo de EIP, em que observamos alterações nos comportamentos de sede e apetite ao sódio frente a protocolos de desidratação intra e extracelular.

No protocolo de desidratação intracelular, que gera sede intracelular, induzido por sobrecarga ig (gavagem), com salina hipertônica (NaCl 12%), o grupo dos animais com epilepsia ingeriram significativamente menos água, comparados com o grupo controle. Mostrando-nos que esses animais submetidos ao modelo de EIP tiveram um prejuízo de importantes áreas centrais relacionadas com o controle da osmolaridade, e, a falta destes mecanismos centrais não estaria sendo compensados por mecanismos periféricos, por exemplo.

No protocolo do modelo de desidratação extracelular aguda, que gera sede extracelular, com injeção subcutânea de furosemida e captopril (FURO+CAP), os animais com epilepsia ingeriram água, porém, não ingeriram salina. Este protocolo está bem descrito por uma grande perda de volume extracelular que ativa o sistema renina angiotensina, no entanto a dose utilizada de captopril impede a conversão de Ang I em Ang II apenas na periferia, mas possibilita um grande aporte de substrato para conversão de Ang II central, o que acarreta nos comportamentos de sede e apetite ao sódio (Starbuck, E.M. e Fitts, D.A., 1998, Johnson, A.K. et al., 1978), mas devido ao modelo de EIP acreditamos que essa via angiotensinérgica central não esteja funcionando adequadamente de acordo com os padrões fisiológicos, o que explica o comportamento destes animais. Essa sede extracelular também pode ser estimulada por uma diminuição do volume do líquido extracelular (hipovolemia) e também pela diminuição da pressão arterial, que ativa extensões neurais a partir de sinais provenientes de barorreceptores cardiopulmonares e sistêmicos (Fitzsimons, J.T., 1972; Fitzsimons, J.T., 1985). Os sinais gerados são enviados ao SNC e, dentre os mecanismos compensatórios ocorre a ingestão de água, e na maioria das vezes, de sódio também, que ocorrem para auxiliar no reestabelecimento do volume do líquido extracelular. Mecanismo compensatório o qual está ineficiente em nosso grupo com epilepsia.

Outro protocolo que utilizamos promove também uma sede extracelular, com uma potente redução do volume plasmático, é a depleção de sódio por 24 horas, onde os animais são submetidos a uma injeção com um potente diurético e natriurético, a furosemida, e mantidos por 24 horas com uma alimentação deficiente em sódio, fubá, e sem acesso a solução salina. Isto causa um intenso apetite ao sódio dependente de Ang II central, que em nossos experimentos prévios estava reduzido em animais com epilepsia. Vimos que o trabalho de Saad, W.A. e Camargo, L.A.A. (1980) corrobora a hipótese que a área pré-óptica lateral e o órgão subfornical têm importante papel na sede mediada por hipovolemia, aumento da osmolaridade plasmática e por Ang II. Esses autores mostraram que a lesão combinada das duas áreas diminuiu a sede provocada pela privação hídrica e, em outro grupo experimental, a sede induzida por hipotensão foi completamente bloqueada. Lesão esta que causa efeitos semelhantes aos animais submetidos ao

modelo de IEP, levando-nos ao pressuposto que o modelo pode ter prejudicado tais áreas.

Por último, foi realizada a desidratação mista, com o protocolo de privação hídrica por 24 horas, em que os animais com epilepsia não ingeriram salina no teste do apetite ao sódio. Estes resultados demonstram comportamento diferente dos animais controle quanto à correção da osmolaridade e volume plasmático para reestabelecer a homeostasia. Já foi demonstrado que a privação hídrica causa aumento da osmolaridade plasmática e ativa neurônios do PVN e SON (Gottlieb, H.B. et al., 2006; Morien, A. et al., 1999; Pereira-Derderian, D.T. et al., 2010) e do NTS (Ji, L.L. et al., 2007), e causa aumentos da atividade simpática (Stocker, S.D. et al., 2006; Stocker, S.D. et al., 2005; Brooks, V.L. et al., 2005). Além dos mecanismos relacionados ao apetite ao sódio, dependentes de Ang II (Pereira-Derderian, D. T. et al., 2010). Em adição, Stocker et al. (2004b) demonstraram que os neurônios PVN parvocelulares que se projetam para o RVLM e medula espinhal eram ativados (imunorreatividade ao c-Fos) por privação de água, contribuindo para a excitação induzida pela hiperosmolalidade (Stocker et al. 2006). Provando também que o modelo de IEP promove prejuízos em áreas centrais relacionadas com o equilíbrio hidroeletrólítico.

Portanto, o modelo de IEP de fato causa prejuízos em áreas importantes do SNC, devido a morte ou reorganização neuronal, responsáveis por mecanismos de regulação das vias relacionadas com o equilíbrio hidroeletrólítico, bem como a parâmetros cardiovasculares, os quais podem trazer consequências graves ao indivíduo com epilepsia e que ainda precisam ser investigados melhor,

6. Conclusão

Sumarizando, nossos resultados mostraram que animais com epilepsia induzida por pilocarpina tem uma resposta pressora à ativação central com Ang II elevada, uma resposta pressora à ativação central com carbacol atenuada e uma possível alteração nos mecanismos que controlam a pressão arterial frente à hiperosmolaridade plasmática. Estes resultados sugerem que a epilepsia induzida por pilocarpina é capaz de alterar mecanismos centrais de controle da pressão arterial que podem ser prejudiciais a situações corriqueiras e contribuir para a SUDEP.

Assim, como perspectiva, temos que investigar quais vias seriam mais envolvidas nesta resposta pontencializada, como a via simpática e/ou a via vasopressinérgica, presente nas três situações expostas no presente trabalho (Ang II, carbacol e hiperosmolaridade plasmática).

7. Referências Bibliográficas

- Alenina, N.; Xu, P.; Rentzsch, B.; Patkin, E.L. e Bader, M. Genetically altered animal models for Mas and angiotensin-(1–7). **Exp. Physiol.**, v. 93 (5),p. 528–537. 2008.
- Andersson, B.; Leksell, L.G. e Rundgren, M. Regulation of water intake. **Annu.Rev.Nutr.**, v. 2, p. 73-89, 1982.
- Andrade, C.A.; Margatho, L.O.; Andrade-Franze, G.M.; De Luca Jr., L.A.; Antunes-Rodrigues, J. e Menani, J.V. Moxonidine into the lateral parabrachial nucleus 547 reduces renal and hormonal responses to cell dehydration. **Neuroscience.**, v. 208, p. 69-78, 2012.
- Andrade-Franze, G.M.; Andrade, C.A.; De Luca Jr., L.A.; De Paula, P.M. e Menani, J. V. Lateral parabrachial nucleus and central amygdala in the control of sodium intake. **Neuroscience.**, v. 165, p. 633-641, 2010 a.
- Andrade-Franze, G.M.; Andrade, C.A.; De Luca Jr., L.A.; De Paula, P.M.; Colombari, D.S.A. e Menani, J.V. Lesions in the central amygdala impair sodium intake induced by the blockade of the lateral parabrachial nucleus. **Brain Research.**, v. 1332, p. 57-64, 2010 b.
- Antunes, V. R.; Camargo, G. M. P. A.; Saad, R.; Saad, W. A.; Luiz, A. C.;Camargo, L. A. A. Role of angiotensin II and vasopressin receptors within the supraoptic nucleus in water and sodium intake induced by the injection of angiotensin II into the medial septal area. **Brazilian Journal Medical Biology Research.**, v. 31, p. 1597-1600, 1998.
- Antunes, V.R.; Yao, S.T.; Pickering, A.E.; Murphy, D.; Paton, J.F. A spinal vasopressinergic mechanism mediates hyperosmolality-induced sympathoexcitation. **J Physiol.**, v. 576, p. 569–583, 2006.
- Antunes-Rodrigues, J.; Castro, M.; Elias, L.L.K.; Valença, M.M. e McCann, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev.**, v. 84, p. 169- 208, 2004.

Antunes-Rodrigues, J.; de Castro, M.; Elias, L.L.; Valenca, M.M.; McCann, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev.** v. 84, p. 169–208, 2004.

Antunes-Rodrigues, J.; de Castro, M.; Elias, L.L.; Valenca, M.M.; McCann, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev.**, v. 84, p. 169–208, 2004.

Antunes-Rodrigues, J.; McCann, S.M. e Samson, W.K. Central administration of atrial natriuretic factor inhibits saline preference in the rat. **Endocrin.**, v. 118, p. 1726-1728, 1986.

Antunes-Rodrigues, J.; Ruginsk, S.G.; Mecawi, A.S.; Margatho, L.O.; Cruz, J.C.; Vilhena-Franco, T.; Reis, W.L.; Ventura, R.R.; Reis, L.C.; Vivas, L.M.; Elias, .LL. Mapping and signaling of neural pathways involved in the regulation of hydromineral homeostasis. **Braz J Med Biol Res.**, v. 46 p. 327-38, 2013.

Araujo, R.C.; Lima, M.P.; Lomez, E.S.; Bader, M.; Pesquero, J.B.; Sumitani, M. e Pesquero, J.L. Tonin expression in the rat brain and tonin-mediated central production of angiotensin II. **Physiol. Behav.**, v. 76, p. 327–333, 2002.

Arganaraz, G.A.; Konno, A.C.; Perosa, S.R.; Santiago, J.F.; Boim, M.A.; Vidotti, D.B.; Varella, P.P.; Costa, L.G.; Canzian, M.; Porcionatto, M.A.; Yacubian, E.M.; Sakamoto, A.C.; Carrete Jr., H.; Centeno, R.S.; Amado, D.; Cavalheiro, E.A.; Junior, J.A. e Naffah-Mazzacoratti, M.G. The renin–angiotensin system is upregulated in the cortex and hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy related to mesial temporal sclerosis. **Epilepsia.**, v. 49, p. 1348–1357, 2008.

Arida, R.M.; Scorza, F.A.; Peres, C.A. e Cavalheiro, E.A. The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy. **Epilepsy Res.**, v. 34, p. 99–107, 1999.

Bali, A. e Jaggi, A.S. Angiotensin II-triggered kinase signaling cascade in the central nervous system. **Rev. Neurosci.**, v. 27, p. 301–315, 2016.

Barbosa, S.P.; de Gobbi, J.I.; Zilioli, L.; Camargo, L.A.; Saad, W.A.; Renzi, A.; De Luca Junior, L.A.; Menani, J.V. Role of cholinergic and adrenergic pathways of the medial septal area in the water intake and pressor response to central angiotensin II and carbachol in rats. **Brain Res Bull.**, v. 37, p. 463–466, 1995.

Baxter, J.D.; Lewicki, J.A. e Gardner, D.G. Atrial natriuretic peptide. **Nature Biotec.**, v. 6, p. 529-546, 1988.

Bealer, S.L. Central control of cardiac baroreflex responses during peripheral hyperosmolality. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 278, p. R1157-1163, 2000.

Bennion, D.M.; Haltigan, E.A.; Irwin, A.J.; Donnangelo, L.L.; Regenhardt, R.W.; Pioquinto, D.J.; Purich, D.L. e Sumners, C. Activation of the Neuroprotective Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Rat Ischemic Stroke. **Hypertension.**, v. 66, p.141-8, 2015.

Benowitz, N.L. e Simon, R.P. Status epilepticus: divergence of sympathetic activity and cardiovascular response. **Ann Neurol.**, v. 19, p. 197-199, 1986.

Berg, A.T.; Berkovic, S.F.; Brodie, M.J.; Buchhalter, J.; Cross, J.H.; Boas, W.E. et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. **Epilepsia.**, v. 51, p.676–85, 2010.

Biancardi, V.C.; Son, S.J.; Ahmadi, S.; Filosa, J.A. e Stern, J.E. Circulating angiotensin II gains access to the hypothalamus and brain stem during hypertension via breakdown of the blood-brain barrier. **Hypertension.**, v. 63, p. 572–579, 2014.

Blackburn, R.E.; Samsom, W.K.; Fulton, R.J.; Stricker, E.M. e Verbalis, J.G. Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **Am J Physiol.**, v. 269, p. 245-251, 1995.

Blanch, G.T.; Freiria-Oliveira, A.H.; Murphy, D.; Paulin, R.F.; Antunes- Rodrigues, J.; Colombari, E.; Menani, J.V. e Colombari, D.S. Inhibitory mechanism of the nucleus of the solitary tract involved in the control of cardiovascular, dipsogenic, hormonal, and renal responses to hyperosmolality. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 304, p. R531-R542, 2013.

Blanch, G.T.; Freiria-Oliveira, A.H.; Speretta, G.F.F.; Carrera, E.J.; Li, H.; Speth, R.C.; Colombari, E.; Sumners, C. e Colombari, D.S.A. Increased Expression of Angiotensin II Type 2 Receptors in the Solitary Vagal Complex Blunts Renovascular Hypertension. **Hypertension.**, v. 64, p. 777-783, 2014.

Blass, E. M. and Epstein, A. N. The lateral preoptic osmosensitive zone for thirst in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 76, p. 378-394, 1971.

Block, M.L. e Fisher, A.E. Anticholinergic central blockade of saltaroused and deprivation-induced drinking. **Physiol Behav.**, v. 5, p. 525–527, 1970.

Borges, J.C.; Silva Jr., J.A.; Gomes, M.A.; Lomez, E.S.; Leite, K.M.; Araujo, R.C.; Bader, M.; Pesquero, J.B. e Pesquero, J.L. Tonin in rat heart with experimental hypertrophy. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 284, p. H2263–H2268, 2003.

Bourque, C.W.; Oliet, S.H. e Richard, D. Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. **Front Neuroendocrinol.**, v. 15, p. 231-274, 1994.

Buggy, J. e Johnson, A.K. Anteroventral third ventricular periventricular ablation: temporary adipsia and persisting thirst deficits. **Neurosci.Lett.**, v. 5, p. 177-182, 1977.

Camacho, A. and Phillips, M.I. Horseradish peroxidase study in rat of the neural connections of the organum vasculosum of the lamina terminalis. **Neurosci Lett.**, v. 25, p. 201–204, 1981.

Camargo, L. A. A. and Saad, W. A. Role of the alpha1 and alpha2 adrenoceptors of the paraventricular nucleus on the water and salt intake, renal excretion, and arterial pressure induced by angiotensin II injection into the medial septal area. **Brain Research Bulletin.**, v. 54, p. 595-602, 2001.

Camargo, L. A. A.; Menani, J. V.; Saad, W. A.; Saad, W. A. Interaction between areas of the Central Nervous System in the Control of Water Intake and Arterial Pressure in Rats. **Journal Physiology.**, v. 350, p. 1-8, 1984.

Camargo, L. A. A.; Saad, W. A.; Simões, S.; Santos, T. A. F. B.; Saad, W. A. Interaction between paraventricular nucleus and septal area in the control of physiological responses induced by angiotensin II. **Brazilian Journal Medical Biology Research.**, v. 35, p. 1017-1023, 2002.

Cannon B. The effects of progressive sympathectomy on blood pressure. **Am J Physiol.**, v. 97 p. 592–6, 1931.

Carlson, S.H. e Osborn, J.W. Splanchnic and vagal denervation attenuate central Fos but not AVP responses to intragastric salt in rats. **Am J Physiol.**, v. 274, p. R1243-R1252, 1998b.

Cavalheiro, E.A. The pilocarpine model of epilepsy. **Ital J Neurol Sci.**, v. 16, p. 33–37, 1995.

Cavalheiro, E.A.; Fernandes, M.J.S.; Turski, L. and Naffah-Mazzacoratti, M.G. Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acids and monoamines determination in the hippocampus. **Epilepsia.**, v. 35, p. 1-11, 1994.

Cavalheiro, E.A.; Santos, N.F.; Priel, M.R. The pilocarpine model of epilepsy in mice. **Epilepsia.**, v. 37 p. 1015–9, 1996.

Chiu, A.T.; Herblin, W.F.; McCall, D.E.; Ardecky, R.J.; Carini, D.J.; Duncia, J.V.; Pease, L.J.; Wong, P.C.; Wexler, R.R.; Johnson, A.L. e Timmermans, P.B.M.W.M. Identification of angiotensin II receptor subtypes, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 165, p. 196-203, 1989.

Clifford, D.B.; Olney, J.W.; Maniotis, A.; Collins, R.C.; Zorumski, C.F. The functional anatomy and pathology of lithium–pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. **Neuroscience.**, v. 23 p. 953–68, 1987.

Colombari, D. S. A.; Haibara, A. S.; Camargo, L. A. A.; Saad, W. A.; Renzi, A.; De Luca, L. A., Jr.; Menani, J. V. Role of the medial septal area on the cardiovascular, fluid and electrolytic responses to angiotensin II and cholinergic activation into the subfornical organ in rats. **Brain Res. Bull.**, v. 33, p. 249-254; 1994.

Colombari, D. S. A.; Haibara, A. S.; Camargo, L. A. A.; Saad, W. A.; Renzi, A.; De Luca Jr, L. A. Role of the Medial Septal Area on the Cardiovascular, Fluid and Electrolytic Responses to Angiotensin II and Cholinergic Activation into the Subfornical Organ in Rats. **Brain Research Bulletin.**, v. 33, p. 249-254, 1994.

Colombari, E.; Saad, W.A.; Camargo, L.A.; Renzi, A.; De Luca Junior, L.A.; Menani, J.V. AV3V lesion suppresses the pressor, dipsogenic and natriuretic responses to cholinergic activation of the septal area in rats. **Brain Res.**, v. 572, p. 172–175, 1992.

Colugnati, D.B.; Alberto, P.; Gomes, P.; Arida, R.M. Avaliação de parâmetros cardíacos em animais com epilepsia. Possível causa de morte súbita? **Arq Neuropsiquiatr.** v. 63, p. 1035–41, 2005.

Costa, M.S.; Rocha, J.B.T.; Perosa, S.R.; Cavalheiro, E.A. and Naffah-Mazzacoratti, M.G. Pilocarpine-induced status epilepticus increases glutamate release in rat hippocampal synaptosomes. **Neurosci Lett.**, v. 356, p. 41-44, 2004.

Covian, M. R.; Gentil, C. G.; Antunes-Rodrigues, J. Water and sodium chloride intake following microinjection of angiotensin II into the septal area of the rat brain. **Physiology and Behavior.**, v. 9, p. 373-377, 1972.

Covolan, L. e Mello, L.E.A.M. Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus. **Epilepsy Res.**, v. 39 p.133–52, 2000.

De Bold, A.J.; Borenstein, H.B.; Veress, A.T. e Sonnenberg, H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Sci.**, v. 28, p. 89-94, 1981.

De Gasparo, M.; Catt, K.J.; Inagami, T.; Wright, J.W. e Unger, T.; International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Rev.**, v. 52, p. 415-72, 2000.

De Guzman, P.; Inaba, Y.; Biagini, G.; Baldelli, E.; Mollinari, C.; Merlo, D. et al. Subiculum network excitability is increased in a rodent model of temporal lobe epilepsy. **Hippocampus** v. 16 p. 843–60, 2006.

Devinsky, O.D.; Pacia, S. e Tatambhotla, G. Bradycardia and asystole induced by partial seizures: A case report and literature review. **Neurology.**, v. 48, p. 1712-1714, 1997.

Diz, D.I.; Barnes, K.L. e Ferrario, C.M. Hypotensive action of angiotensin II microinjected into the dorsal motor nucleus of the vagus. **J. Hypertens.**, v. 3, p. 53–56, 1984.

Donevan, S.D. e Ferguson, A.V. Subfornical organ and cardiovascular influences on identified septal neurons. **Am J Physiol.**, v. 254, p. R544–R551, 1988.

Dorn, J.; Antunes-Rodrigues, J.; e Mccann, S. M. Natiuresis in the rat following intraventricular carbachol, **Amer. J. Physiol.**, v. 219, p. 1292-1298, 1970.

Drake, M.E.; Reider, C.R.; Kay, A. Electrocardiography in epilepsy patients without cardiac symptoms. **Seizure.**, v. 2, p. 63–5, 1993.

Falcon, J.E.; Phillips, M.I.; Hoffman, W.E. e Brody, M.J. Effects of intraventricular angiotensin II mediated by the sympathetic nervous system, **Am. J Physiol.**, v. 235, p. H392, 1978.

Fernandes, M.J. da S. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas **Estud. av.** v. 27 no.77, 2013.

Fernandes, M.J.S.; Naffah-Mazzacoratti, M.G. and Cavalheiro, E.A. Na⁺K⁺ATPase in the rat hippocampus: A study in the pilocarpine model of epilepsy. **Neurochem Int.**, v. 28, p. 497-500, 1996.

Ferrario, C.M.; Ueno, Y.; Diz, D.I. e Barnes, K.L. The renin-angiotensin system: physiological actions on the central nervous system. **In: Handbook of Hypertension, edited by A. Zanchetti and R. C. Tarazi. Amsterdam: Elsevier.**, v. 8, p. 431–454. 1986.

Fisher, A. E., Chemical stimulation of the brain. In J. L. McGAUGH, N. M. WEINBERGER AND R. E. WHATLAN (Eds.), **Psychobiology: The Biological Basis of Behavior.**, p. 67-74, 1967.

Fisher, R.S.; Acevedo, C.; Arzimanoglou, A.; Bogacz, A.; Cross, J.H.; Elger, C.E.; Jr, J.E.; Forsgren, L.; French, J.A.; Glynn, M.; Hesdorffer, D.C.; Lee, B.I.; Mathern, G.W.; Moshé, S.L.; Perucca, E.; Scheffer, I.E.; Tomson, T.; Watanabe, M.; Wiebe, S. Relato oficial da ILAE: Uma definição clínica prática de epilepsia, **Epilepsia.**, v. 55, p. 475-482, 2014.

Fisher, R.S.; Boas, W.V.; Blume, W. et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia.**, v.46, p. 470–472, 2005.

Fitzmons, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Rev.**, v. 78, p. 583-686, 1998.

Fitzsimons, J. T. Physiology and Pathology of Thirst and Sodium Appetite. In: D.W.SELDIN ; G. GIEBISCH (Eds.). The Kidney: Physiology and Pathophysiology. New York: **Raven Press.**, Cap. 37, p. 885-901, 1985.

Fitzsimons, J. T. Thirst. **Physiological Reviews.**, v. 52, p. 469-561, 1972.

Fitzsimons, J. T., e Setler, P. E., Catecholaminergic mechanisms in angiotensin-induced drinking, **J. Physiol.**, v. 218, p. 43P-44P, 1971.

Fitzsimons, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol. Rev.**, v. 78, p. 583–686, 1998.

Fitzsimons, J.T. The effects of slow infusions of hypertonic solutions on drinking and drinking thresholds in rats. **J Physiol.**, v. 167, p. 344-354, 1963.

Fow, J.E.; Averill, D.B. e Barnes, K.L. Mechanisms of angiotensin induced hypotension and bradycardia in the medial solitary tract nucleus. **Am. J. Physiol.**, v. 267, p. H259–H266, 1994.

Freiria-Oliveira, A.H.; Blanch, G.T.; Pedrino, G.R.; Cravo, S.L.; Murphy, D.; Menani, J.V. e Colombari, D.S.A. Catecholaminergic neurons in the commissural region of the nucleus of the solitary tract 2 modulate hyperosmolality-induced responses. Articles in PresS. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 309, p. R1082 - 91, 2014.

Fritzsmons, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol. Rev.**, v. 78, p. 583-686, 1998.

Funke, M.G.; Costa, M.S.; Amado, D.; Cavalheiro, E.A. and Naffah-Mazzacoratti, M.G. Calcium homeostasis and temporal lobe epilepsy. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 61, p. 8-14, 2003.

Garzon, E. Estado de Mal Epiléptico. **J Epilepsy Clin Neurophysiol.**, v. 14, p. 7-11, 2008.

Gilman, A. The relation between blood osmotic pressure, fluid distribution and voluntary water intake. **AJP – Legacy.**, v.120, n.2, p. 323-328, 1937.

Gilman, A. The relation between blood osmotic pressure, fluid distribution and voluntary water intake. **American Journal of Physiology.**, v. 120, p. 323-328, 1937.

Gottlieb, H.B.; Ji, L.L.; Jones, H.; Penny, M.L.; Fleming, T. e Cunningham, J.T. Differential effects of water and saline intake on water deprivation-induced c-Fos staining in the rat. **Am J Physiol Regul.Integr.Comp Physiol.**, v. 290, n. 5, p. R1251-R1261, 2006.

Gouveia, T.L.F.; Frangiotti, M.I.B.; De Brito, J.M.V.; Neto, E.F.C.; Sakata, M.M.; Febba, A.C.; Casarini, D.E.; Amado, D.; Cavalheiro, E.A.; Almeida, S.S.; Manchini, M.T.; Araújo, R.C.; Jr, J.A.S. e Naffah-Mazzacoratti, M.G. The levels of renin–angiotensin related components are modified in the hippocampus of rats submitted to pilocarpine model of epilepsy. **In: Neurochemistry International.**, v. 61, p. 54 – 62, 2012.

Grossman, J. P., Eating or drinking elicited by direct adrenergic or cholinergic stimulation of the hypothalamus, **Science.**, v. 132, p. 301-302, 1960.

Guyenet, P.G. The sympathetic control of blood pressure. **Nat Rev Neurosci.**, v. 7, p. 335–346, 2006.

Haberich, F.J. Osmoreceptors in the portal circulation. **Federation Proc.**, v.27, p. 1137-1141, 1968.

Harden, C.; Tomson, T. e Gloss, D. Practice guideline summary: sudden unexpected death in epilepsy incidence rates and risk factors: report of the guideline development, dissemination, and implementation subcommittee of the American Academy of Neurology and the American. **Epilepsy Society Neurology.**, v. 88, p. 1674–80, 2017.

Hatzinikolaou, P.; Gavras, H.; Brunner, H.R.; Gavras, I. Role of vasopressin, catecholamines and plasma volume in hypertonic saline-induced hypertension. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 240, p. H827–H831, 1981.

Hoffman, W.E; Philips, M.I.; Schmid, P.G.; Falcon, J.; Weet, J.F. Antidiuretic hormone release and the pressor response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology.**, v. 16, p. 463–472, 1977.

Hoffman, W.E. Central cholinergic receptors in cardiovascular and antidiuretic effects in rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, v. 6, p. 373-9, 1979.

Hoffman, W.E. e Phillips, M.I.. A pressor response to intraventricular injection of carbachol, **Brain Res.**, v. 105, p. 157-162, 1976.

Hoffman, W.E., Phillips, M.I., Schmidt, P.G., Falcon, J. e Weet, J.R. ADH release and the pressure response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology.**, v. 16, p. 463-472, 1977.

Hoffman, W.E.; Phillips, M.I.; Schmid, P.G.; Falcon, J.; Weet, J.F. Antidiuretic hormone release and the pressor response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology.**, v. 16, p. 463–472, 1977.

Hoffman, W.E.; Phillips, M.I.; Schmid, P.G.; Falcon, J.; Weet, J.F. Antidiuretic hormone release and the pressor response to central angiotensin II and cholinergic stimulation. **Neuropharmacology.**, v. 16, p. 463–472, 1977.

Hogarty, D.C; Speakman, E.A.; Puig, V. e Phillips, M.I. The role of angiotensin, AT 1 and AT 2 receptors in the pressor, drinking and vasopressin responses to central angiotensin. **Brain Research.**, v. 586, p. 289-294. 1992.

Hosomi, H. e Morita, H. Hepatorenal and hepatointestinal reflexes in sodium homeostasis. **News Physiol.Sci.**, v. 11, p. 103-107, 1996.

Huang, W.; Lee, S.L.; Sjoquist, M. Natriuretic role of endogenous oxytocin in male rats infused with hypertonic NaCl. **Am J Physiol.**, v. 268, p. R634–R640, 1995.

Imai, Y.; Abe, K.; Sasaki, S.; Minami, N.; Munakata, M.; Yumita, S.; Nobunaga, T.; Sekino, H.; Yoshinaga, K. Role of vasopressin in cardiovascular response to central cholinergic stimulation in rats. **Hypertension.**, v. 13, p. 549–557, 1989.

Imai, Y.; Abe, K.; Sasaki, S.; Minami, N.; Munakata, M.; Yumita, S.; Nobunaga, T.; Sekino, H.; Yoshinaga, K. Role of vasopressin in cardiovascular response to central cholinergic stimulation in rats. **Hypertens.**, v. 13, p. 549–557, 1989.

Ismail, H.; Mitchell. R.; McFarlane, S.I. e Makaryus, A.N. Pleiotropic effects of inhibitors of the RAAS in the diabetic population: above and beyond blood pressure lowering. **Curr Diabetes.**, v. 10, p. 32–36. 2010.

Ji, L.L.; Gottlieb, H.B.; Penny, M.L.; Fleming, T.; Toney, G.M. e Cunningham, J.T. Differential effects of water deprivation and rehydration on Fos and FosB/DeltaFosB staining in the rat brainstem. **Exp Neurol.**, v.203, n.2, p.445-456, 2007.

Johnson, A.K. The periventricular anteroventral third ventricle (AV3V): its relationship with the subfornical organ and neural systems involved in maintaining body fluid homeostasis. **Brain Res. Bull.**, v. 15, p. 595–601, 1985.

Johnson, A.K.; Cunningham, J.T.; Thunhorst, R.L. Integrative role of the lamina terminalis in the regulation of cardiovascular and body fluid homeostasis. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, v. 23, p. 183–191, 1996.

Johnson, A.K.; Hoffman, W.E.; Buggy, J. Attenuated pressor responses to intracranially injected stimuli and altered antidiuretic activity following preoptic-hypothalamic periventricular ablation. **Brain Res.**, v. 157, p. 161–166, 1978.

Johnson, A.K.e Thunhorst, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration **Front. Neuroendocrinol.**, v.18, p. 292-353, 1997.

Jones, S. e Yakel, J.L. Functional nicotinic ACh receptors on interneurons in the rat hippocampus. **J Physiol.**, v. 504, p. 603–610, 1997.

Kanaya, T.; Okatani, H.; Hagiwara, Y.; Fukumori, R.; Goshima, Y.;Kubo, T. Projections from the caudal part to the rostral part of lateral septal area mediate blood pressure increase. **Brain Research Bulletin.**, v. 61, p. 505-510, 2003.

Karamyan, V.T. e Speth, R.C. Identification of a novel non-AT1, non-AT2 angiotensin binding site in the rat brain. **Brain Res.**, v. 1143, p. 83–91, 2007.

Kato, K.; Chu, C.P.; Kannan, H.; Ishida, Y.; Nishimori, T.; Nose, H. Regional differences in the expression of Fos-like immunoreactivity after central salt loading in conscious rats: modulation by endogenous vasopressin and role of the area postrema. **Brain Res.**, v. 1022, p. 182–194, 2004.

Keil, L.C.; Summy-Long, J. e Severs, W.B. Release of vasopressin by angiotensin II, **Endocrinology.**, v. 96, p. 1063-1065, 1975.

Knierim , J. J. The hippocampus. **Current Biology.**, v. 25 p.R1107–R1125, 2015.

Knopp, A.; Kivi, A.; Wozny, C.; Heinemann, U.; Behr, J. Cellular and network properties of the subiculum in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **J Comp Neurol.**, v. 483 p. 476–88, 2005.

Kostenis, E.; Milligan, G.; Christopoulos, A.; Sanchez-Ferrer, C.F.; Heringer-Walther, S.; Sexton, P.M.; Gembardt, F.; Kellett, E.; Martini, L.; Vanderheyden, P.; Schultheiss, H.P. e Walther, T. G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. **Circulation.**, v. 111, p. 1806–1813, 2005.

Kraly, F.S.; Gibbs, J. e Smith, G.P. Disordered drinking after abdominal vagotomy in rats. **Nature.**, v. 258, p. 226-228, 1975.

Kraly, F.S.; Kim, Y.M. e Tribuzio, R.A. Renal nerve transection inhibits drinking elicited by eating and by intragastric osmotic loads in rats. **Physiol Behav.**, v.58, n. 6, p. 1129-1136, 1995b.

Kraly, F.S.; Kim, Y.M.; Dunham, L.M. e Tribuzio, R.A. Drinking after intragastric NaCl without increase in systemic plasma osmolality in rats. **Am J Physiol.**, v. 269, n. 5 Pt 2, p. R1085-R1092, 1995a.

Kubo, T.; Okatani, H.; Kanaya, T.; Hagiwara,, Y.; Fukumori, R.; Goshima, Y. Cholinergic mechanism in the lateral septal area is involved in the stress-induced blood pressure increase in rats. **Brain Research Bulletin.**, v. 59, n. 5, p. 359-364, 2003.

Kuhn, E. R. Cholinergic and adrenergic release mechanism for vasopressin in the male rat: a study with injections of neurotransmitters and blocking agents into the third ventricle. **Neuroendocrinology.**, v. 16, p. 255-264, 1974.

Kwan, P. e Sander, J.W. The natural history of epilepsy: an epidemiological view. **J Neurol Neurosurg Psychiatry.** V. 75, p. 1376–1381, 2004.

Lacuey, N.; Zonjy, B.; Londono, L. e Lhatoo, S.D. Amygdala and hippocampus are symptomatogenic zones for central apneic seizures. **Neurology.**, v. 88, p. 701–5, 2017.

Lauar, M.R.; Colombari, D.S.A.; Colombari, E.; De Paula, P.M.; De Luca, L.A. Jr.; Menani, J.V. Catalase blockade reduces the pressor response to central cholinergic activation. **Brain Research Bulletin.**, v. 153, p. 266–272, 2019.

Leite, J.P.; Bortolotto, Z.A e Cavalheiro, E.A. Spontaneous recurrent seizures in rats: an experimental model of partial epilepsy. **Neurosci. Biobehav.**, rev. v.14, n.4, p.511-7, 1990.

Lenkei, Z.; Palkovits, M.; Corvol, P. e Llorens-Cortes, C. Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. **Front Neuroendocrinol.**, v. 18, p. 383–439, 1997.

Lippoldt, A.; Paul, M.; Fuxe, K. e Ganten, D. The brain renin–angiotensin system: molecular mechanisms of cell to cell interactions. **Clin. Exp. Hypertens.**, v. 477, p. 251–266, 1995.

Luiz, A. C.; Saad, W. A.; Camargo, L. A. A.; Renzil, A.; De Luca Jr, L. A.; Menani, J. V. Pressor, dipsogenic, natriuretic and kaliuretic responses to central carbachol in rats with lesion of the medial septal area. **Neuroscience Letters.**, v. 132, p. 195-198, 1991.

Luiz, A.C.; Saad, W.A.; Camargo, L.A.; Renzi, A.; De Luca Junior, L.A.; Menani, J.V. Pressor, dipsogenic, natriuretic and kaliuretic response to central carbachol in rats with lesion of the medial septal area. **Neurosci Lett.**, v. 132, p. 195–198, 1991.

Mahon, J.M.; Allen, M.; Herbert, J.; Fitzsimons, J.T. The association of thirst, sodium appetite and vasopressin release with c-fos expression in the forebrain of the rat after intracerebroventricular injection of angiotensin II, angiotensin-(1-7) or carbachol. **Neuroscience.**, v. 69, p. 199–208, 1995.

Mayer, D.K. e Helke, C.J. Effect of chronic saline treatment on cholinergic neurons in supraoptic and paraventricular nucleus. **Neuropeptides** ., v. 1, p. 343-7, 1981.

McCann, S.M.; Antunes-Rodrigues, J.; Jankowski, M. e Gutkowska, J. Oxytocin, vasopressin and atrial natriuretic peptide control body fluid homeostasis by action on their receptors in brain, cardiovascular system and kidney. **Prog Brain Res.**, v. 139, p. 309-328, 2002.

McKinley, M.J. e Johnson, A.K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **News Physiol Sci.**, v. 19, p. 1-6, 2004.

McKinley, M.J. e Johnson, A.K. The Physiological Regulation of Thirst and Fluid Intake. **News Physiol Sci.**, v. 19, p. 1-6, 2004.

McKinley, M.J. Osmoreceptors for thirst. In: Thirst: physiology and psychological aspects, edited by Ramsay DM and Booth DA. **London: Springer-Verlag.**, cap. 5, p. 77-92, 1991.

McKinley, M.J.; Bicknel, R.J.; Hards, D.; McAllen, R.M.; Vivas, L.; Weisinger, R.S.; Oldfield, B.J. Efferent neural pathways of the lamina terminalis subserving osmoregulation. **Prog Brain Res.**, v. 91, p. 395–402, 1992.

McKinley, M.J.; Pennington, G.L. e Oldfield, B.J. Anteroventral wall of the third ventricle and dorsal lamina terminalis: headquarters for control of body fluid homeostasis? **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, v. 23, p. 271–81. 1996.

McKinley, M.J.; Gerstberger, R.; Mathai, M.L.; Oldfield, B.J.; Schimid, H. The lamina terminalis and its role in fluid and electrolyte homeostasis **J. Clin. Neurosci.**, v.6 , p. 289-301, 1999.

Mecca, A.P.; Regenhardt, R.W.; O'Connor, T.E.; Joseph, J.P.; Raizada, M.K.; Katovich, M.J. e Sumners, C. Cerebroprotection by angiotensin-(1-7) in endothelin-1-induced ischaemic stroke. **Exp Physiol.**, v. 96, p. 1084-96, 2011.

Meldrum, B.S. Neurochemical substrates of ictal behavior. **Adv Neurol.**, v. 55, p. 35-45, 1991.

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.

Mendelsohn, F.A.O.; Quirion, R.; Saavedra, J.M.; Aguilera, G. e Catt, K.J. Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 81, p. 1575–1579, 1984.

Miller, N. E., Chemical coding of behavior in the brain, **Science.**, v. 148, p. 328-338, 1965.

- Miyajima, E. e Bunag, R.D. Sympathetic hyperactivity elevates blood pressure during acute cerebroventricular infusions of hypertonic salt in rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v.6, p. 844–851, 1984.
- Moreau, P.; D'uscio, L.V.; Shaw, S. et al. Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy – reversal by ETa – receptor antagonist. **Circulation.**, v.96, p.1593- 1597, 1997.
- Moreira, S.R.G. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnostico e tratamento. **Mental.**, v. 32, p. 107–22, 2004.
- Morien, A.; Garrard, L. e Rowland, N.E. Expression of Fos immunoreactivity in rat brain during dehydration: effect of duration and timing of water deprivation. **Brain Res.**, v. 816, n. 1, p. 1-7, 1999.
- Nashef, L. Sudden unexpected death in epilepsy: terminology and definitions. **Epilepsia.**, v. 38, p. S6-8, 1997
- Negro-Vilar, A.; Gentil, C.G.; Covian, M. Alterations in sodium chloride and water intake after septal lesions in rats. **Physiol Behav.**, v. 2, p. 167–170, 1967.
- Oldfield, B.J.; Hou-Yu, A.; Silverman, A.J. A combined electron microscopic HRP and immunocytochemical study of the limbic projections to rat hypothalamic nuclei containing vasopressin and oxytocin neurons. **J Comp Neurol.**, v. 231, p. 221–231, 1985,
- Paulin, R.F.; Menani, J.V.; Colombari, E.; De Paula, P.M.; Colombari, D.S. Role of the medial septal area on pilocarpine-induced salivary secretion and water intake. **Brain Res.**, v. 1298, p. 145–152, 2009.
- Pedley, T.A.; Bazil, C.W. e Morrell, M.J. Epilepsy. In **Rowland LP (Ed).Merritt´s neurology. Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins.**, p. 663-641, 2000.
- Pedrinho, G.R.; Nakagawa, C.T.; Cravo, S.L. e Colombari, D.S.A. Anteroventral third ventricle lesions impair cardiovascular responses to intravenous hypertonic saline infusion. **Autonomic Neuroscience.**, v. 117, p. 9-16, 655, 2005.
- Penry, K. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures: From the commission on classification and terminology of the international league against epilepsy. **Epilepsia.**, v. 22, p. 489-501, 1981.

Pereira, D.T.; Vendramini, R.C.; David, R.B.; Nozaki, P.N.; Menani, J.V. e De Luca Junior, L.A. Isotonic NaCl intake by cell-dehydrated rats. **Physiol Behav.**, v. 76, n. 4-5, p. 501-505, 2002.

Pereira, M.G.; Becari, C.; Oliveira, J.A.; Salgado, M.C.; Garcia-Cairasco, N. e Costa-Neto, C.M. Inhibition of the renin–angiotensin system prevents seizures in a rat model of epilepsy. **Clin. Sci. (Lond.)** ., v. 119, p. 477–482, 2010.

Pereira-Derderian, D. T.; Vendramini, R. C.; Menani, J. V. e De Luca Junior, L.A. Water deprivation-induced sodium appetite and differential expression of encephalic c-Fos immunoreactivity in the spontaneously hypertensive rat. **Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol.**, v. 298, p. R1298-309, 2010.

Pérez, E.B. Epilepsia e condições psiquiátricas relacionadas. In: **Rey JM (ed). Tratado de Saúde Mental da Infância e Adolescência da IACAPAP**. Genebra: International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, p. 1-14, 2015.

Phillips, M.I. Functions of brain angiotensin, **Annu. Rev. of Physiol.**, v. 49, p. 413-435, 1987.

Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. Epilepsia. Portaria SAS/MS nº 1.319, de 25 de novembro de 2013.

Ramsay, D.M. Water: distribution between compartments and its relation to thirst. In: Thirst: physiological and psychological aspects, edited by Ramsay, D.M. and Booth, D.A. **London: Springer-Verlag.**, Cap. 2, p. 24, 1991.

Regenhardt, R.W.; Desland, F.; Mecca, A.P.; Pioquinto, D.J.; Afzal, A.; Mocco, J. e Sumners, C. Anti-inflammatory effects of angiotensin-(1-7) in ischemic stroke. **Neuropharmacology.**, v. 71, p. 154-63, 2013.

Rettig, R.; Healy, D.P. e Printz, M.P. Cardiovascular effects of microinjections of angiotensin II into the nucleus tractus solitarii. **Brain Res.**, v. 364, p. 233–240, 1986.

Rouse, S.T. e Levey, A.I. Expression of m1–m4 muscarinic acetylcholine receptor immunoreactivity in septohippocampal neurons and other identified hippocampal afferents. **J Comp Neurol.**, v. 375, p. 406–416, 1996.

Rowe, B.P.; Saylor, D.L. e Speth, R.C. Analysis of angiotensin II receptor subtypes in individual rat brain nuclei. **Neuroendocrinology.**, v. 55, p. 563–73. 1992.

Rowland, N.; Li, B.-H.; Rozelle, A.K.; Smith, G.C. Comparison of Fos-like immunoreactivity induced in rat brain by central injection of angiotensin II and carbachol. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 267, p. R792–R798, 1994.

Ryvlin, P.; Nashef, L.; Lhatoo, S.D.; Bateman, L.M.; Bird, J.; Bleasel, A.; Boon, P.; Crespel, A.; Dworetzky, B.A.; Høgenhaven, H.; Lerche, H.; Maillard, L., Malter, M.P.; Marchal, C.; Murthy, J.M.; Nitsche, M.; Patarraia, E.; Rabben, T.; Rheims, S.; Sadzot, B.; Schulze-Bonhage, A.; Seyal, M.; So, E.L.; Spitz, M.; Szucs, A.; Tan, M.; Tao, J.X. e Tomson, T. Incidence and mechanisms of cardiorespiratory arrests in epilepsy monitoring units (MORTEMUS): a retrospective study. **Lancet Neurol.**, v. 12, p. 966–977, 2013.

Saad, W. A. & Camargo, L. A. A. Interaction between the Lateral Preoptic Area and the Subfornical Organ in the Control of Water Ingestion Caused by Cellular Dehydration, Hypotension, Hypovolemia, and Deprivation. **Behavioral and Neural Biology.**, v. 28, p. 138-149, 1980.

Saad, W. A. and Camargo, L. A. A. Influence of Angiotensin II Receptor Subtypes of the Paraventricular Nucleus of the Physiological Responses Induced by Angiotensin II Injection into the Medial Septal Area. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia.**, v. 80, n. 4, p. 401-403, 2003.

Saad, W. A.; Guarda, I. F. M. S.; Camargo, L. A. A.; Santos, T. A. F. B.; Simões, S.; Saad, W. A. Adrenoceptors of the medial septal area modulate water intake and renal excretory function induced by central administration of angiotensin II. **Brazilian Journal Medical Biology Research.**, v. 35, p. 951-959, 2002.

Saad, W. A.; Guarda, I. F. M. S.; Ferreira, A. C.; Camargo, L. A. A.; Saad-Neto, A. F.; Santos, T. A. F. B. et al. Participation of alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors of the lateral hypothalamic area in the water intake, and renal sodium, potassium and urinary volume excretion induced by central administration of angiotensin II. **Brain Research Bulletin.**, v. 52, n. 6, p. 491-497, 2000.

Saad, W.A.; Camargo, L.A.; Netto, C.R.; Gentil, C.G.; Antunes-Rodrigues, J.; Covian, M.R. Natriuresis, kaliuresis and diuresis in the rat following microinjections of carbachol into the septal area. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 3, p. 985–992, 1975.

Saad, W.A.; Luiz, A.C.; Camargo, L.A.; Silveira, J.E.; Fógliã, S.; Menani, J.V.; Saad, W.A. Functional evidence that the central renin-angiotensin system plays a role in the pressor response induced by central injection of carbachol. **Braz J Med Biol Res.**, v. 4, p. 493-6, 1997.

Sander, J.W. The epidemiology of epilepsy revisited. **Curr Opin Neurol.**, v. 16, p. 165-70, 2003.

Santos, R.A.S.; Simoes e Silva, A.C.; Maric, C.; Silva, D.M.R.; Machado, R.P.; De Buhr, I.; Heringer-Walther, S.; Pinheiro, S.V.B.; Lopes, M.T.; Bader, M.; Mendes, E.P.; Lemos, V.S.; Campagnole-Santos, M.J.; Schultheiss, H.-P.; Speth, R. e Walther, T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 100, p. 8258–8263, 2003.

Saper, C.B. e Levisohn, D. Afferent connections of the median preoptic nucleus in the rat: anatomical evidence for a cardiovascular integrative mechanism in the anteroventral third ventricular (AV3V) region. **Brain Res.**, v. 288, p. 21–31, 1983.

Sato, M.A.; Sugawara, A.M.; Menani, J.V. e De Luca Jr, L.A. Idazoxan and the effect of intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. **Regul Pept.**, v. 69, p. 137-142, 1997.

Sawchenko, P.E. and Swanson, L.W. The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **J Comp Neurol.**, v. 218, p. 121–144, 1983.

Schuele, S.U.; Widdess-Walsh, P.; Bermeo, A.; Lüders, H.O. Sudden unexplained death in epilepsy: the role of the heart. **Cleve Clin J Med.**, v, 74, p. S121–7, 2007.

Scorza, C.A.; Garrido, Y.D.S.; Arida, R.M.; Amado, D., Cavalheiro, E.A. and Naffah-Mazzacoratti, M.G. Levels of synaptic protein X11 alpha/mint 1 are increased in the hippocampus of rats with epilepsy. **Epilepsy Res.**, v. 57, p. 49-57, 2003.

Scorza, F.A.; Arida, R.M.; Naffah-Mazzacoratti, M.G.; Scerni, D.A.; Calderazzo, L. e Cavalheiro, E.A. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? **An.Acad.Bras.Cienc.**, v. 81, no. 3, p. 345-365, 2009.

Scorza, F.A.; Colugnati, D.B.; Pansani, A.P.; Sonoda, E.Y.; Arida, R.M.; Cavalheiro, E.A. Preventing tomorrow's sudden cardiac death in epilepsy today: what should physicians know about this? **Clinics.**, v. 63, p. 389–94, 2008.

Shafton, A.D.; Ryan, A.; Badoer, E. Neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus send collaterals to the spinal cord and to the rostral ventrolateral medulla in the rat. **Brain Res.**, v. 801, p. 239–243, 1998.

Share, L.; Claybaugh, J.R. Regulation of body fluids. **Annu Rev Physiol.**, v. 34, p. 235–260, 1972.

Silverthorn, D.U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada.**, 2. ed. São Paulo: Manole. Cap.19, p.581-583, 2003.

Simpson, J. B. and Routtenberg, A. Subfornical organ: site of drinking elicitation by angiotensin. **Science.**, v. 181, p. 1172-1175, 1973.

Simpson, J. B., e Routtenberg, A., The subfornical organ and carbachol induced drinking, **Brain Research.**, v. 45, p. 135-152, 1972.

Siragy, H.M. The potential role of the angiotensin subtype 2 receptor in cardiovascular protection. **Curr Hypertens.**, v. 1, p. 260–262, 2009.

Skrbic, R. e Igic, R. Seven decades of angiotensin. **Peptides.**, v. 30, p. 1945–1950, 2009.

Song, K.; Allen, A.M.; Paxinos, G. e Mendelsohn, F.A.O. Mapping of angiotensin II receptor subtype heterogeneity in rat brain. **J. Comp. Neurol.**, v. 316, p. 467–484, 1992.

Stafstrom, C.E. e Carmant, L. Seizures and Epilepsy: An Overview for Neuroscientists. **Cold Spring Harb Perspect Med.**, v. 5, 2015.

Starbuck, E.M. e Fitts, D.A. Effects of SFO lesion or captopril on drinking induced by intragastric hypertonic saline. **Brain Res.**, v. 795, n. 1-2, p. 37-43, 1998.

Stocker, S.D.; Cunningham, J.T.; Toney, G.M. Water deprivation increases Fos immunoreactivity in PVN autonomic neurons with projections to the spinal cord and rostral ventrolateral medulla. **Am J Physiol.**, v. 287, p. R1172–R1183, 2004b.

Stocker, S.D.; Hunwick, K.J. e Toney, G.M. Hypothalamic paraventricular nucleus differentially supports lumbar and renal sympathetic outflow in water-deprived rats. **J Physiol.**, v. 563, n. Pt 1, p. 249-263, 2005.

Stocker, S.D.; Simmons, J.R.; Stornetta, R.L.; Toney, G.M. e Guyenet, P.G. Water deprivation activates a glutamatergic projection from the hypothalamic paraventricular nucleus to the rostral ventrolateral medulla. **J Comp Neurol.**, v. 494, n. 4, p. 673-685, 2006.

Stocker, S.D.; Simmons, J.R.; Stornetta, R.L.; Toney, G.M.; Guyenet, P.G. Water deprivation activates a glutamatergic projection from the hypothalamic paraventricular nucleus to the rostral ventrolateral medulla. **J Comp Neurol.**, v. 494, p. 673–685, 2006.

Stollberger, C. e Finsterer, J. Cardiorespiratory findings in sudden unexplained/unexpected death in epilepsy (SUDEP). **Epilepsy Res.**, v. 59, p. 51–60, 2004.

Stollberger, C. e Finsterer, J. Cardiorespiratory findings in sudden unexplained/unexpected death in epilepsy (SUDEP). **Epilepsy Res.**, v. 59, p. 51–60, 2004.

Stricker, E. M. and Sved, A. F. Thirst. **Nutrition.**, v. 16, p. 821-826, 2000.

Stricker, E.M.; Callahan, J.B.; Huang, W. e Sved, A.F. Early osmoregulatory stimulation of neurohypophyseal hormone secretion and thirst after gastric NaCl loads. **Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol.**, v. 282, n. 6, p. R1710-R1717, 2002.

Suleymanova, E.M.; Gulyaev, M.V. e Abbasova, K.R. Structural alterations in the rat brain and behavioral impairment after status epilepticus: and MRI study. **Neuroscience.**, v. 315, p. 79-90, 2016.

Sun, H.; Wu, H.; Yu, X.; Zhang, G.; Zhang, R.; Zhan, S.; Wang, H.; Bu, N.; Ma, X. e Li, Y. Angiotensin II and its receptor in activated microglia enhanced neuronal loss a cognitive impairment following pilocarpine-induced status epilepticus. **Mol. Cell. Neurosci.**, v. 65, p. 58–67, 2015.

Surges, R.; Thijs, R.D.; Tan, H.L.; Sander, J.W. Sudden unexpected death in epilepsy: risk factors and potential pathomechanisms. **Nat Rev Neurol.** v. 5, p. 492–504, 2009.

Swanson, L. W., e Sharpe, L. G., Centrally induced drinking: comparison of angiotensin II and carbachol-sensitive sites in rats, *Amer. J. Physiol.*, v. 225, p. 566–572, 1973.

Takahashi, H.; Inoue, A.; Takeda, K.; Okajima, H.; Sasaki, S.; Iyoda, I.; Yoshimura, M.; Nakagawa, M.; Ijichi, H. Centrally-induced vasopressor responses to carbachol are augmented in DOCA-salt hypertensive rats. **Cardiovasc Res.**, v. 18, p. 126–32, 1984.

Tanaka, J.; Saito, H.; Seto, K. Involvement of the septum in the regulation of paraventricular vasopressin neurons by the subfornical organ in the rat. **Neurosci Lett.**, v. 92, p.187–191, 1988.

Thunhorst, R. L. and Johnson, A. K. Effects of arterial pressure on drinking and urinary responses to intracerebroventricular angiotensin II. **American Journal of Physiology.**, v. 264, n. **Regulatory Integrative Comparative Physiology.**, v. 33, p. R211–R217, 1993.

Toney, G.M., Chen, Q.H.; Cato, M.J. e Stocker, S.D. Central osmotic regulation of sympathetic nerve activity. **Acta Physiol Scand.**, v. 177, p. 43–55, 2003.

Tsutsumi, K. e Saavedra, J.M. Angiotensin-II receptor subtypes in median eminence and basal forebrain areas involved in regulation of pituitary function. **Endocrinology.**, v. 129, p. 3001–8, 1991b.

Tsutsumi, K. e Saavedra, J.M. Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT1 and AT2) in rat brain. **Am J Physiol.**, v. 261, p. R209–R216, 1991a.

Tsutsumi, K. e Saavedra, J.M. Quantitative autoradiography reveals different angiotensin II receptor subtypes in selected rat brain nuclei. **J. Neurochem.**, v. 56, p. 348–351, 1991.

Turski, W.A. *et al.* Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behav Brain res.**, v.9, n.3, p.315-35, 1983.

Turski, W.A.; Cavaleiro, E.A.; Schwarz, M.; Czuczwar, S.J.; Kleinrok, Z.; Turski, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural electroencephalographic and neuropathological study. **Behav Brain Res.**, v. 9 p. 315–35, 1983.

Verbalis, J.G.; Blackburn, R.E.; Hoffman, G.E. e Stricker, E.M. Establishing behavioral and physiological functions of central oxytocin: insights from studies of oxytocin and ingestive behaviors. **Adv Exp Med Biol.**, v. 395, p. 209-225, 1995.

Verney, E.B. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. **Proc R Soc Lond B Biol Sci.**, v. 135, p. 25-106, 1947.

Wright, J.W. e Harding, J.W. The brain renin–angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases. **Pflugers Arch.**, v. 465, p. 133–151, 2013.

Wright, J.W.; Reichert, J.R.; Davis, C.J. e Harding, J.W. Neural plasticity and the brain renin–angiotensin system. **Neurosci. Biobehav.**, v. 26 , p. 529–552, 2002.

Xu, Z.; Ross, M.G.; Johnson, A.K. Intracerebroventricular carbachol induces FOS immunoreactivity in lamina terminalis neurons projecting to the supraoptic nucleus. **Brain Res.**, v. 895, p. 104–110, 2001.

Zanchetti, A. e Elmfeldt, D. Findings and implications of the Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): a review. **Blood Pressure.**, v. 15, p. 71–79, 2006.

Zhang, D.M.; Epstein, A.N. e Schulkin, J. Medial region of the amygdala: involvement in adrenal-steroid- induced salt appetite. **Brain Res.**, v. 600, p. 20–6, 1993.

Zhang, M.; Mao, Y.; Ramirez, S.H.; Tuma, R.F. e Chabrashvili, T. Angiotensin II induced cerebral microvascular inflammation and increased blood-brain barrier permeability via oxidative stress. **Neuroscience.**, v. 171, p. 852–858, 2010.

Zijlmans, M.; Flanagan, D. e Gotman, J. Heart rate changes and ECG abnormalities during epileptic seizures: prevalence and definition of an objective clinical sign. **Epilepsia.**, v. 43, p. 847-854, 2002.