

REGULAÇÃO NEUROENDÓCRINA E COMPORTAMENTAL DA HOMEOSTASE DOS LÍQUIDOS CORPORAIS.

Laboratório de Neuroendocrinologia

Prof. Dr. José Antunes-Rodrigues

Alexandre Giusti-Paiva

Daniel Badauê-Passos Júnior

Dayane Aparecida Gomes

Lisandra Oliveira Margatho

Maria Theresa Cerávolo Laguna

Renato Rizo Ventura

INTRODUÇÃO

A regulação do volume e da osmolalidade dos líquidos corporais é fundamental para sobrevivência dos organismos vivos. O controle do volume e osmolalidade dos líquidos corporais, assim como da homeostase cardiovascular, depende de mecanismos comportamentais e endócrinos e de efetores autonômicos atuando cooperativamente sob comando de uma extensa rede neural distribuída por todo o cérebro. Para a regulação do volume e da osmolalidade dos líquidos corporais, os organismos lançam mão de mecanismos neuro-humorais de controle da excreção e reabsorção renal de água e eletrólitos e também de mecanismos neuro-comportamentais de sede e apetite específico, principalmente pelo sódio.

II - Principais alterações na homeostase dos líquidos corporais

Entre as principais alterações na homeostase dos líquidos corporais estão as variações de volume e pressão, tanto dos meios intra como extracelular, como também as variações da osmolalidade destes meios, que normalmente são mantidos dentro de estreitos limites de funcionamento do organismo. Pequenas alterações de volume ou osmolalidade são responsáveis pelo recrutamento e ativação de mecanismos específicos de controle dos líquidos corporais.

Variações osmóticas – Variações da osmolalidade do líquido extracelular (LEC), bem como, estudos com injeções centrais sugerem que a região AV3V

(que compreende: órgão subfornical (OSF), órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), núcleo mediano preóptico dorsal e ventral (MnPO), núcleo periventricular hipotalâmico anterior) caracterizam-se como estruturas sensíveis à concentração de sódio (variação da osmolalidade) e a angiotensina, promovendo sede, liberação de vasopressina (AVP) e respostas pressoras. Normalmente, variações de osmolalidade plasmática, da ordem de 1-2% induzem aumento da secreção de vasopressina.

Variações de volume e pressão– As variações de volume e de pressão (10-15%) dos líquidos nos leitos vasculares constituem outra importante alteração, sendo estas, aferidas por receptores localizados em regiões de alta e baixa pressão, presentes em algumas vísceras, grande vasos e até mesmo no coração.

III - Receptores

3.1 - Receptores de osmolalidade

Os principais osmorreceptores conhecidos estão localizados em regiões hipotalâmicas desprovidas de barreira hematoencefálica, dos órgãos circunventriculares, principalmente OSF e OVLT.

3.2 - Receptores de volume e pressão

Os mecanorreceptores (receptores de estiramento) detectam as variações de volume e pressão dentro do sistema vascular. Estes receptores estão situados em duas grandes regiões: regiões de baixa ou alta pressão.

3.2.1 - Regiões vasculares de baixa pressão sanguínea (receptores cardiopulmonares): localizam-se principalmente nos átrios cardíacos, nos vasos pulmonares e regiões do sistema circulatório de baixa pressão.

3.2.2 - Regiões vasculares de alta pressão sanguínea (baroreceptores): arco aórtico, região sino-aórtica e arteríolas aferentes renais e regiões do sistema circulatório de alta pressão arterial.

As informações provenientes dos receptores de estiramento periféricos chegam ao SNC principalmente através do núcleo do trato solitário (NTS), onde a partir deste as informações são projetadas para várias áreas centrais responsáveis pela integração e elaboração da resposta efetora.

IV- Integração Central

Áreas encefálicas e circuitos neurais específicos participam da liberação de neuro-hormônios e neurotransmissores envolvidos nas respostas autonômicas e comportamentais de manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico, como representado na Figura 1.

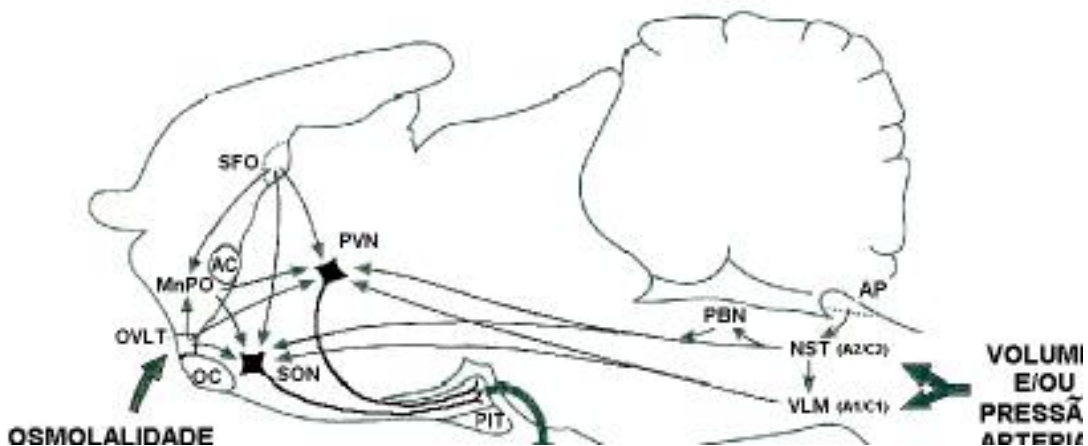


Figura 1. Diagrama sumarizando conexões neurais entre o núcleo do trato solitário (NTS) e a região anterior do terceiro ventrículo (AV3V), com os núcleos paraventricular (PVN) e supraóptico (SON) envolvidos na mediação de respostas à hipertonicidade sistêmica e alterações de volume e pressão arterial. Modificado de *Stricker e Verbalis, 1991*.

V- Principais respostas efetoras

5.1 - Resposta Neuroendócrina e Comportamental

5.1.1. Sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)

O sistema renina-angiotensina (SRA) é um sistema hormonal que participa da regulação do equilíbrio hidroeletrolítico, diretamente ou pela modulação da liberação de aldosterona. A ativação deste sistema se faz, em parte, independente do controle central.

A liberação de renina é o fator desencadeante da ativação deste sistema. Assim, os principais estímulos que induzem a liberação de renina são:

- Diminuição da pressão arterial, diminuindo a ativação dos receptores renais;
- Aumento da atividade simpática renal (ativação dos receptores β -adrenérgicos) das células justaglomerulares;
- Diminuição da quantidade de sódio que alcança as células da mácula densa (normalmente associada à queda na taxa de filtração glomerular e aumento na reabsorção de sódio nos túbulos proximais).

A renina é uma aspartil protease que atua sobre o seu substrato, o angiotensinogênio, clivando-o e convertendo-o em angiotensina I (ANG-I), um decapeptídeo inativo que após sofrer ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), transforma-se no octapeptídeo angiotensina II (ANG II), potente indutor da sede, vasopressor e secretagogo da aldosterona.

A maior parte da ANG II é formada logo na primeira passagem pelo pulmão, local de grande concentração da ECA. A ANG II é um peptídeo que tem um importante papel no controle da ingestão de água, excreção de sódio e regulação da pressão arterial.

A aldosterona é o principal mineralocorticoide secretado pela zona glomerulosa das glândulas adrenais. Age tanto nos rins quanto no cólon aumentando a reabsorção de sódio e a excreção/secreção de potássio e íons hidrogênio. A concentração plasmática de aldosterona varia inversamente com a quantidade de sódio da dieta e com a osmolalidade plasmática, o que está de acordo com a sua função fisiológica. Atuando nas células principais dos ductos coletores, a aldosterona aumenta a síntese e a incorporação dos canais de sódio da

membrana luminal e aumenta a atividade $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ da membrana basolateral determinando um aumento da reabsorção de sódio.

5.1.2. Vasopressina (AVP) ou Hormônio antidiurético (ADH)

O aumento da secreção da vasopressina é estimulado principalmente quando ocorre redução de 10-15% no volume do LEC ou aumento de 1 ou 2% da osmolalidade plasmática. A vasopressina atua nos túbulos renais, principalmente no túbulo contornado distal e ducto coletor, determinando a migração dos canais de água (aquaporina) do citoplasma para a membrana celular, o que leva ao aumento da reabsorção de água, visando restaurar o volume do LEC e a osmolalidade.

Além da vasopressina, que regula a reabsorção tubular de água, existem outros hormônios envolvidos na regulação da excreção renal de sódio.

5.1.3. Peptídios natriuréticos

Até recentemente, a participação efetiva do sistema endócrino na regulação do equilíbrio hidroeletrólítico se restringia, principalmente, ao sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA-A) e a vasopressina (AVP). Porém uma série de evidências, que culminou com a descoberta do peptídio natriurético atrial (ANP), revolucionou este conceito, fazendo surgir novo sistema hormonal de controle do balanço hidroeletrólítico.

O peptídio natriurético atrial (ANP) é sintetizado principalmente nos átrios cardíacos e liberado na circulação em resposta ao aumento do volume de líquido extracelular (estiramento dos cardiomiócitos atriais). O ANP exerce seus efeitos principalmente sobre os vasos (vasodilatação), adrenais (inibindo a síntese de aldosterona), vasos renais (diminuindo a síntese e liberação de renina, dilatando as arteríolas aferentes, aumentando a taxa de filtração glomerular, o fluxo renal plasmático, diminuindo a reabsorção de sódio e de água). Desempenha ainda efeitos inibitórios sobre a secreção de aldosterona e da vasopressina, bem como sobre a síntese de catecolaminas e ANG II. Além dos efeitos sobre os vasos sanguíneos e túbulos renais, o ANP atua no SNC diminuindo a sede induzida pela ANG II, restrição hídrica e estimulação colinérgica.

Além do ANP, estudos recentes têm mostrado a participação de outro peptídeo no controle do equilíbrio hidroeletrólítico. Os resultados de trabalhos realizados com ocitocina (OT), indicam que esta tem efeito natriurético, diurético

ou antidiurético, dependendo da dose, da presença ou não de AVP. A OT exerce também um efeito inibitório sobre o apetite ao sódio.

5.2- Regulação Neural Autonômica

Após a integração central das informações que chegam ao SNC, ao menos parte das respostas efetoras se dá através da inervação simpática renal direta. Através desta, o SNC exerce um controle mais rápido de ajuste de algumas funções renais, com o objetivo de corrigir os erros aferidos.

5.2.1. Inervação simpática renal

Os nervos simpáticos renais são estimulados quando ocorre diminuição da pressão arterial (pressão de perfusão renal), sempre associada à diminuição do volume do LEC. A atividade simpática renal é tônica e modulada pelas variações do volume sanguíneo. Nas situações de aumento do volume do LEC observa-se diminuição da atividade simpática renal e aumento da excreção de sódio e de água.

Os nervos renais simpáticos participam dos mecanismos de conservação de água atuando:

- diretamente na reabsorção de cloreto de sódio nas células dos túbulos proximais e da alça de Henle (ramo ascendente);
- nas arteríolas aferentes (vasoconstrição) determinando diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG);
- aumentando a liberação de renina pelas células granulares das arteríolas aferentes.

VI - Discussão Geral

O sódio é um dos mais importantes eletrólitos constituintes do compartimento extracelular, e é o maior determinante da osmolalidade plasmática bem como do volume do LEC. Os vertebrados podem manter a osmolalidade plasmática e o volume do LEC regulando a ingestão de água, eletrólitos e sua excreção urinária. A correção da hipovolemia ocasionada por desidratação extracelular requer não apenas ingestão de água (mecanismo da sede), mas também de solutos, tal como o sódio, que não atravessa facilmente a membrana plasmática e permanece no

espaço extracelular. Ambos, sede e apetite ao sódio são comportamentos que promovem expansão do volume do LEC.

A depleção de sódio, por sua vez, ativa mecanismos que promovem conservação de sódio pelo rim, reduzindo a perda renal de sódio, além de ativar mecanismos específicos de ingestão de sódio. Os mecanismos renais relacionados à conservação de sódio empregam ANG II e aldosterona. O ANP atua principalmente em casos em que ocorre aumento do volume do LEC.

Os rins por meio da formação de urina têm grande poder de controlar a quantidade de água e eletrólitos corporais e são muito eficientes em condições normais para eliminar o excesso de água e eletrólitos. Na situação em que água e eletrólitos estão em falta, a ação renal reduzindo a perda destes elementos, atenua as dificuldades, mas muitas vezes não é suficiente para normalizar o quadro. A recuperação total e rápida da normalidade só pode ser conseguida com a reposição de água e eletrólitos pela ingestão deles que é regulada por mecanismos ativados em situações de hipovolemia ou alterações de osmolalidade.

A elevação na osmolalidade plasmática é o mais potente estímulo que induz a sede. Em mamíferos, um aumento mínimo na osmolalidade de 1 ou 2% é capaz de induzir a sede. Por outro lado, um decréscimo no volume do LEC, embora menos efetivo, também é capaz de gerar a sede. Uma redução de 10% no volume sanguíneo ou na pressão arterial é capaz de produzir a ingestão de água. A ingestão de sódio ocorre depois, mas o animal inicialmente procura água. Assim, a restrição de água em mamíferos e a administração de solução hipertônica de sódio por diferentes vias, podem estimular a sede induzida por desidratação celular .

AULA PRÁTICA

Efeito da microinjeção de ANG II ou solução hipertônica na região no 3º ventrículo sobre a ingestão de água e sódio em ratos.

Objetivos

Esta aula objetiva a demonstração da ativação de mecanismos centrais de ingestão de água (sede) e sódio, em resposta à microinjeção no 3º ventrículo de ANG II e solução salina hipertônica. Serão estudados ainda os mecanismos de ingestão de água e sódio para os protocolos de restrição hídrica e depleção de sódio.

Planejamento Experimental - Experimento I

Serão utilizados 12 ratos Wistar, pesando de 230 a 270 g. Estes serão divididos em 3 grupos. Em todos os animais serão implantadas cânulas no 3º ventrículo, através da utilização da técnica de estereotaxia.

Os grupos de animais apresentarão os seguintes tratamentos:

Os animais do **GRUPO A** (grupo controle, n=4), receberão solução salina isotônica (NaCl 0,9%/ 1 µl) no 3º ventrículo.

Os animais do **GRUPO B** (n = 4) receberão a microinjeção de solução salina hipertônica (NaCl 1,8%/ 1 µl) no 3º ventrículo.

Os animais do **GRUPO C** (n = 4) receberão microinjeção de Ang II (50 ng/1 µl) no 3º ventrículo.

Imediatamente após os diferentes tratamentos dos grupos **A**, **B** e **C**, os animais serão colocados em gaiolas metabólicas onde serão oferecidos bebedouros volumétricos contendo água destilada. A ingestão de água será medida a cada 5 minutos durante 30 minutos, iniciando-se imediatamente após as injeções no 3º V. As drogas dissolvidas em solução salina fisiológica serão injetadas nos cérebros dos ratos num volume de 1 µl (3º V) utilizando-se uma seringa Hamilton (10 µl), conectada com um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora que será introduzida no cérebro pela cânula guia previamente fixada no cérebro. A cânula injetora (0,3 mm diâmetro) será 2 mm mais longa do que a cânula guia.

Treinamento

Após a cirurgia, que será realizada aproximadamente uma semana antes do procedimento experimental, os animais serão colocados nas gaiolas metabólicas a serem utilizadas no experimento, para que se habituem tanto às gaiolas como aos

bebedouros com água destilada, com o objetivo de minimizar a interferência do grau de novidade durante o experimento.

Planejamento Experimental - Experimento II

Serão utilizados 12 ratos Wistar, pesando de 230 a 270 g. Estes serão divididos em 3 grupos.

Os grupos de animais apresentarão os seguintes tratamentos:

Os animais do **GRUPO CONTROLE** (n=4), serão mantidos em gaiolas metabólicas individuais com ração e água a vontade.

Os animais do **GRUPO DE PRIVAÇÃO HÍDRICA** (n = 4), os animais serão mantidos em gaiolas metabólicas individuais com ração e privados de água 24 h antes do início do experimento.

Os animais do **GRUPO DE DEPLEÇÃO DE SÓDIO DE 24 h** (n = 4), os ratos serão submetidos à depleção de sódio pelo tratamento com o diurético furosemida (20 mg/kg de peso corporal) por via subcutânea seguido pela manutenção por 24 h com dieta deficiente de sódio (fubá) e água.

No tempo zero será oferecido água e solução hipertônica (NaCl 1,8%) e será medida a ingestão de água e de sódio a cada 5 min durante 30 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HAANWINCKEL, M.; ELIAS, L.K.; FAVARETTO, A.L.V.; GUTKOWSKA, J.; McCANN, S.M. and ANTUNES-RODRIGUES, J. Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, .v. 92, p. 7902-7906, 1995.
- McCANN, S.M.; FRANCI, C.; GUTKOWSKA, J.; FAVARETTO, A.L.V. and ANTUNES-RODRIGUES, J. Neural control of atrial natriuretic peptide actions on fluid intake and excretion. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** v. 213, n. 2, p. 117-127, 1996.
- VERBALIS, J.G.; MANGIONE, M.P. and STRICKER, E.M. Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. **Endocrinology**. v. 128, p. 1317-1322, 1991.
- SOARES, T.J.; COIMBRA, T.M.; MARTINS, R.A.; PEREIRA, A.C.F.; CÁRNIO, E.C.; BRANCO, L.G.S.; ALBUQUERQUE-ARAÚJO, W.I.C.; De NUCCI, G.; FAVARETTO, A.L.V.; GUTKOWSKA, J.; McCANN, S.M. and ANTUNES-RODRIGUES, J. (1999). Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of GMPc. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 96, p. 278-283.

Experimento I

Grupos	TEMPO				
	Injeção 3°V	Ingestão de água			
		5 min	10 min	15 min	30 min
A	NaCl 0,9%				
	NaCl 0,9%				
	NaCl 0,9%				
	NaCl 0,9%				
B	NaCl 1,8%				
	NaCl 1,8%				
	NaCl 1,8%				
	NaCl 1,8%				
C	Ang II				
	Ang II				
	Ang II				
	Ang II				

Experimento II

Tempo	5 min		10 min		15min		30 min	
Grupos	Ingestão							
	H ₂ O	NaCl	H ₂ O	NaCl	H ₂ O	NaCl	H ₂ O	NaCl
Controle								
Privação de água								
Depleção de sódio								

