



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALEXANDRO MÁRCIO DA SILVA MATTOS

**ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
COMPORTAMENTAIS DERIVADAS DA OBESIDADE
INDUZIDA POR GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM RATOS**

ALEXANDRO MÁRCIO DA SILVA MATTOS

**ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
COMPORTAMENTAIS DERIVADAS DA OBESIDADE
INDUZIDA POR GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia/ Instituição Associada, Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marli Cardoso Martins Pinge.

Co-Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes

Londrina
2011

ALEXANDRO MÁRCIO DA SILVA MATTOS

**ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
COMPORTAMENTAIS DERIVADAS DA OBESIDADE INDUZIDA POR
GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Fisiológicas pelo Programa Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a.Dr^a. Marli Cardoso Martins Pinge
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr^a.Lisete Compagno Michelini
USP – São Paulo

Prof. Dr^a. Helenir Medri de Souza
UEL – Londrina – PR

Londrina, _____ de _____ de _____

Dedico este trabalho à todos aqueles que, assim como eu, desejam que um dia a humanidade possa compreender o real significado do amor, e assim proceder em relação às pessoas que as cercam.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por seu cuidado; sabedoria que com certeza permitiu o desenvolvimento deste trabalho; seu amor incondicional por mim; pela certeza de estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida; e por me enviar tantas pessoas especiais.

Agradeço aos meus pais Cida e João, esses dois professores de vida, que de maneira tão especial apostaram em mim sempre, doutores no amor que torcem e sofrem por minhas conquistas. À minha mãe pela capacidade de transformar a vontade de sempre ajudar, em oração.

A toda minha família que entendeu ou pelo menos aceitou a minha ausência, em especial meu irmão André sempre pronto a me ajudar e me salvar na informática. À Cibele, por seu exemplo e a seu filho meu sobrinho Luis Fernando, destaque na minha vida. Prometo ser mais tio agora.

À minha orientadora, Profa. Marli Cardoso Martins Pinge, por acreditar desde o início em mim, fazendo-me acreditar sempre que podemos aprender mais, encontrar resultados, resolver problemas e que devemos crescer constantemente.

Ao meu co-orientador, Prof. Marco Antônio Peliky Fontes, que sempre esteve pronto a ajudar.

A todos professores que passaram pela minha vida neste período de mestrado. Obrigado aos que me escutaram, àqueles que me ajudaram, aos que compartilharam, àqueles que solucionaram problemas, aos que me deram motivos pra lutar mais um pouco, a todos que sorriram e dividiram experiências, e principalmente àqueles que fizeram me apaixonar pelo seu exemplo de professor, aos que foram amigos e a todos que deixaram uma lembrança, que lá na frente, olharei para trás com carinho e sentirei saudade.

A uma professora amiga que conquistou meu carinho e respeito, obrigado pela força Professora Sílvia Ponzoni.

À Professora Estefânia Gastaldello Moreira, com quem tive a oportunidade de trabalhar um pouquinho, não só me ensinava, como mostrava a todo instante querer o meu melhor, obrigado pelo seu exemplo de professor.

Aos funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas que deixavam tudo mais fácil, Silmara, Afonso, Daniela, Patrícia e Celso.

A todos meus amigos do laboratório pela a oportunidade de crescer e àqueles que fizeram deste período, história. Obrigado, Rose, Keiko, Nathália, Marlusa, Ozahyr, Andressa. Samantha, obrigado pela capacidade de ensinar, você construiu comigo esses resultados. Francis quero manter sempre a nossa parceria, é muito bom poder discutir tantas possibilidades, justificativas e contruir várias discussões em diversos e variados assuntos, obrigado de coração pela força no trabalho. Juliana, você foi realmente especial, diria essencial neste período, obrigado pela força nos experimentos.

Aos amigos da primeira turma de mestrado do Programa Multicêntrico em Ciências Fisiológicas - UEL, Tiago, Cássia, Rafaela, Helly e Ângelo. Aos amigos da van e aos amigos que sentia que estavam sempre me apoiando mesmo na distância de seus laboratórios, obrigado André, Daniela, Camila e Karina.

Leonardo, obrigado pelo presente de colocar a sua arte no meu trabalho na forma dos desenhos que o tornou único. Suelen, muito obrigado, sabemos que o início dessa história tem seu toque, toque de mestre, você é a amiga pra se guardar para eternidade. Fabrizia, lembra o quanto estudamos juntos? Obrigado pelo apoio e por saber que terei sempre que precisar. Anisia, mais uma mãe... mulher de oração, agora é hora de agradecer muito mais, estou voltando. Udhi, não esquecerei todo seu apoio e força para a busca desse sonho, foi muito importante, saudade.

Aos amigos que nasceram do multicêntrico, obrigado por toda ajuda, e por me ensinar a querer sempre pesquisar. Obrigado Carlos (UFMG), Augusto (UFMG), Ernane (USP-Ribeirão Preto), Felipe (UNESP-Araçatuba), Claudia (USP-SP) e Sergio (UFMG).

Aos meus amigos que tiveram de usar o dom da amizade neste período. Jolise, como eu falava dos meus ratos... acho que você não aguentava mais, mas já acabou, obrigado pelo carinho e atenção de sempre, desculpas. Aline, obrigado por viajar nas minhas imaginações. Diego, sei que agradecer só é pouco, mas obrigado, está no meu coração, o quanto fez por mim nesse período, posso dizer que realmente me fez compreender qual a relação entre mestrado e viver, desculpa as chateações, tenho orgulho de tê-lo como meu grande amigo, você fez a diferença. Lana, você é especial na minha vida, obrigado pelas orações e por me fazer sentir tão bem ao seu lado. Aos meus amigos que estão longe, mas são amigos como se estivessem muito perto, Daniel Prandi et al.

Obrigado à família Lobo Muniz que aprendi a admirar e amar no tempo do mestrado, que me ensinou o quanto devemos lutar para viver, não é mãe Lídia? Dé, obrigado por me abastecer com tanta energia (chocolate) e coragem (abraços) para viver.

Aos meus pacientes da Alfa Fisio que tiveram de trocar de fisioterapeuta sem grandes justificativas, isso tudo muito rápido para que eu pudesse estudar. A todos os meus pacientes, sem exceção.

Aos meus sócios, Gislaine, Claudiana e Eduardo, por trabalharem sempre mais por minha causa, e pela compreensão também.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Devo também o agradecimento aos meus ratos gordinhos e magrinhos pela construção desse trabalho.

OBRIGADO!

“Muitos de nossos sonhos parecem impossíveis, depois improváveis, depois inevitáveis.”

Christopher Reeve

MATTOS, Alexandre Márcio da Silva. **Alterações Cardiovasculares, autonômicas e comportamentais derivadas da obesidade induzida por glutamato monossódico em ratos**. 2010. 86 f. Dissertação (Mestrado Multicêntrico em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RESUMO

A hipertensão arterial faz parte do grupo de doenças cardiovasculares que representa o maior percentual de causas de mortalidade no mundo e atualmente tem sido demonstrada a relação entre hipertensão arterial e obesidade. A obesidade é considerada uma epidemia mundial, apresentando-se como importante fator de risco para uma série de doenças crônicas. O modelo de obesidade induzido por glutamato monossódico tem sido estudado do ponto de vista metabólico, e muito tem-se a investigar na fisiopatologia cardiovascular e a modulação autonômica envolvidas na relação obesidade e hipertensão. A indução deste modelo, resulta além da obesidade em anormalidades endócrinas, comportamentais, distúrbios no crescimento, hipogonadismo, hipoatividade motora. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das vias gabaérgicas no PVN nas respostas cardiovasculares, analisar o balanço autonômico na variabilidade da frequência cardíaca (FC) e da pressão arterial (PA), avaliar a atividade simpática renal e o comportamento dos animais com obesidade. A obesidade foi induzida pela administração intradérmica de 4 mg/g de peso corporal de glutamato monossódico (MSG) ou salina equimolar (controle) nos cinco primeiros dias de vida em ratos Wistar. Aos 90 dias os animais foram anestesiados, para implantação de cânulas-guia ao PVN e cateterização da artéria e veia femural. Depois de 24 horas foi realizado o registro da pressão arterial média (PAM) e da FC antes e após a microinjeção de bicuculina ou muscimol em animais acordados. Após muscimol houve maior queda na PAM no animal obeso MSG quando comparado com o controle. O aumento da PAM e FC após bicuculina não foi diferente entre controle e obesos. A atividade simpática renal e PAM no animal obeso MSG anestesiado apresentaram-se aumentados comparado com os controles. A avaliação comportamental indicou aumento de ansiedade nos animais tratados com MSG, mas, devido à hipoatividade e à apatia também observadas nestes animais, a interpretação dos dados comportamentais ficou comprometida. Os resultados sugerem que o sistema nervoso simpático, periférico e central, parece ser alvo de modulação cardiovascular na obesidade induzida por glutamato monossódico.

Palavras-chave: Obesidade. Glutamato monossódico. Hipertensão. Núcleo paraventricular do hipotálamo. Atividade simpática. Ansiedade.

MATTOS, Alexandro Márcio da Silva. **Cardiovascular, autonomic and behavioral changes derived from msg-induced obesity in rats**. 2010. 86 f. Dissertation (Mestrado Multicêntrico em Ciências Fisiológicas) - State University of Londrina, Londrina.

ABSTRACT

Hypertension is part of the group of cardiovascular diseases that represent the highest percentage of causes of mortality worldwide and currently has a proven relationship between hypertension and obesity. Obesity is a worldwide epidemic, presenting itself as an important risk factor for a number of chronic diseases. The model of obesity induced by monosodium glutamate has been studied from the metabolic point of view, and much has to investigate the pathophysiology and cardiovascular autonomic modulation involved in the relationship between obesity and hypertension. The induction of this model, besides obesity results in endocrine abnormalities, behavioral, growth disorders, hypogonadism, motor hypoactivity. The aim of this study was to evaluate the influence of GABAergic pathways in the PVN in cardiovascular responses, analyze the autonomic balance in heart rate variability (HR) and blood pressure (BP), to evaluate the renal sympathetic activity and behavior of animals with obesity. Obesity was induced by intradermal administration of 4 mg / g body weight monosodium glutamate (MSG) or hyperosmotic saline (control) in the first five days of life in rats. At 90 days the animals were anesthetized for implantation of guide cannulas in the PVN and catheterization of the femoral artery and vein. After 24 hours was recorded mean arterial pressure (MAP) and HR before and after microinjection of muscimol or bicuculline in awake animals. After muscimol was larger decrease in MAP in obese MSG animals when compared with control. The increase in MAP and HR after bicuculline was not different between control and obese. The MAP and renal sympathetic activity in MSG obese anesthetized animal were increased compared with controls. Behavioral evaluation indicated increased anxiety in the MSG rats; however, considering that the animals presented hypoactivity and decreased motivation, the interpretation of the behavioral analysis was compromised. The results suggest that the sympathetic nervous system, peripheral and central, seems to be the target of cardiovascular modulation in obesity induced by monosodium glutamate.

Key Words: Obesity. Monosodium glutamate. Hypertension. Paraventricular nucleus of the hypothalamus. Sympathetic activity. Anxiety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Figuras esquemáticas demonstrando a localização do núcleo paraventricular do hipotálamo.....	20
Figura 2 – Figura esquemática com a localização das suturas de referência para a cirurgia estereotáxica.....	33
Figura 3 – Rato Wistar após a cirurgia de estereotaxia para implantação das cânulas no PVN	33
Figura 4 – Rato Wistar no equipamento estereotáxico	34
Figura 5 – Processo de canulação da artéria e veia femoral em rato Wistar.....	35
Figura 6 – Experimento crônico, figura esquemática do procedimento experimental 01 para a captação dos parâmetros cardiovasculares.....	37
Figura 7 – Experimento agudo, figura esquemática do procedimento experimental 02 para a captação dos parâmetros cardiovasculares.....	37
Figura 8 – Visualização dos cortes para a mensuração das coordenadas antero-posterior (AP) e dorso-ventral (DV)	39
Figura 9 – Arena para o procedimento experimental da análise do comportamento para os testes de campo aberto e interação social	42
Figura 10 – Protocolo experimental da análise comportamental	43
Figura 11 – Evolução temporal do peso corporal dos ratos dos grupos Controle Salina e MSG	45
Figura 12 – Experimento crônico, evolução do peso do modelo obesidade MSG em ratos adultos	48
Figura 13 – Experimento agudo, evolução do peso do modelo obesidade MSG em ratos adultos	49
Figura 14 – Gráfico da microinjeção de Bicuculina no PVN em ratos obesos MSG acordados.....	51
Figura 15 – Variação máxima da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), grupo MSG e no grupo controle salina	52

Figura 16 – Gráfico da microinjeção de muscimol no PVN em ratos obesos MSG acordados.....	53
Figura 17 – Variação máxima da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), grupo MSG e no grupo controle salina	54
Figura 18 – Histologia do encéfalo do rato modelo obesidade MSG adulto para localização do sítio da microinjeção bilateral do PVN	60
Figura 19 – Interação Social em ratos obeso MSG adultos.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeitos da administração de MSG em ratos adultos	46
Tabela 2 – Medidas dos parâmetros do encéfalo de modelo obesidade MSG em ratos adultos	47
Tabela 3 – Comparação do experimento crônico e experimento agudo	50
Tabela 4 – Microinjeção de bicuculina no PVN em ratos obesos MSG adultos acordados	52
Tabela 5 – Microinjeção de muscimol no PVN em ratos obesos MSG adultos acordados	53
Tabela 6 – Bicuculina - Parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica	55
Tabela 7 – Bicuculina - Parâmetros espectrais do intervalo de pulso	56
Tabela 8 – Bicuculina – Parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso valores de delta	57
Tabela 9 – Muscimol - Parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica	58
Tabela 10 – Muscimol - Parâmetros espectrais do intervalo de pulso.....	58
Tabela 11 – Muscimol - Parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso valores de delta	59
Tabela 12 – Atividade simpática, pressão arterial e frequência cardíaca de ratos obeso MSG adultos anestesiados	61
Tabela 13 – Análise do comportamento, campo Aberto	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Antero Posterior
ASNR	Atividade Simpática do Nervo Renal
ASP	Proteína Estimuladora de Acilação
ASR	Arritmia Sinusal Respiratória
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CNA	Comprimento Naso-anal
CVLM	Caudoverolateral
DCVs	Doenças Cardiovasculares
DMNIID	Diabete Melito não Insulino-dependente
DVD	Dorso-ventral Direita
DVE	Dorso-ventral Esquerda
FC	Frequencia Cardíaca
GABA	Ácido Gama-aminobutílico
HÁ	Hipertensão Arterial
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HF	Alta Frequência
HRVS	Variabilidade da Frequência Cardíaca
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
IML	Intermédio Lateral
IP	Intra-peritonal
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LF	Frequência Baixa
MSG	Glutamato Monossódico
NA	Núcleo Ambíguo
NDV	Núcleo Motor Dorsal do Vago
NTS	Núcleo Trato Solitário
PA	Pressão Arterial
PAM	Pressão Arterial Média
PAP	Pressão Arterial de Pulso
PI	Intervalo de Pulso

PVN	Núcleo Paraventricular
RAS	Sistema Renina Angiotensina
RVLM	Rostroventrolateral
SAP	Pressão Arterial Sistólica
SCN	Núcleo Supraquiasmático
SM	Síndrome Metabólica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
TNFα	Fator de Necrose Tumoral α
VLF	Frequência Muito Baixa
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 HIPERTENSÃO	17
1.1.1 Controle Neural da Pressão Arterial	19
1.1.2 Núcleo Paraventricular do Hipotálamo	20
1.1.3 Sistema Nervoso Simpático e a Variabilidade Cardiovascular	21
1.2 OBESIDADE.....	23
1.2.1 Tecido Adiposo.....	27
1.3 ANSIEDADE	29
2 OBJETIVOS	30
2.1 OBJETIVO GERAL.....	30
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 ANIMAIS	31
3.2 INDUÇÃO DE OBESIDADE	31
3.3 PESO CORPORAL.....	31
3.4 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES	32
3.4.1 Grupos Experimentais	32
3.4.2 Implante de Cânulas-Guia Direcionadas ao PVN	34
3.4.3 Canulação da Artéria e Veia Femorais	34
3.4.4 Microinjeção	35
3.4.5 Registro da Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca.....	35
3.4.6 Protocolo Experimental.....	36
3.4.6.1 Experimento crônico	36
3.4.6.2 Experimento agudo.....	37
3.4.7 Variação do Peso durante as Cirurgias nos Experimentos.....	37
3.4.8 Perfusão do Cérebro	38
3.4.9 Histologia e Anatomia do Encéfalo	38
3.4.10 Análise Espectral da Variabilidade	39
3.5 ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL	40
3.6 ANÁLISE COMPORTAMENTAL	41

3.6.1 Interação Social.....	43
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4 RESULTADOS	45
4.1 CURVA DE GANHO DE PESO	45
4.2 ANATOMIA DO ENCÉFALO.....	46
4.3 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS E PESO CORPORAL	47
4.3.1 Experimento Crônico	47
4.3.2 Experimento Agudo	48
4.3.3 Experimento Crônico x Experimento Agudo	49
4.4 EFEITOS CARDIOVASCULARES À MICROINJEÇÃO DE DROGAS NO PVN	50
4.4.1 Bicuculina	51
4.4.2 Muscimol	52
4.5 ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE	54
4.5.1 Bicuculina	54
4.5.2 Muscimol	57
4.6 HISTOLOGIA	59
4.7 ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL	60
4.8 ANÁLISE COMPORTAMENTAL	60
4.8.1 Campo Aberto	61
4.8.2 Interação Social.....	61
5 DISCUSSÃO	63
6 RESUMO	69
7 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 HIPERTENSÃO

A pressão arterial (PA) é determinada diretamente por dois fatores físicos principais, o volume de sangue arterial e a complacência arterial, que por sua vez sofrem a influência de fatores fisiológicos como a frequência cardíaca, volume sistólico, o débito cardíaco e a resistência periférica e a capacitância venosa (BERNE; LEVI, 2004). A FC, o débito sistólico e a resistência periférica e a capacitância venosa são, por sua vez, controlados por uma diversidade de fatores. Por exemplo, verifica-se que o volume sistólico depende da contratilidade cardíaca, da ação do sistema nervoso simpático e da pressão venosa central. A FC recebe influência dos sistemas simpático e parassimpático, além do ritmo cardíaco intrínseco. Finalmente, a resistência periférica é controlada por intermédio de fatores locais, neurais e humorais (ROCHA; SILVA, 2008).

A hipertensão arterial (HA) faz parte do grupo de doenças cardiovasculares que representa o maior percentual de causas de mortalidade por doenças como acidente vascular cerebral (AVC) e infarto agudo do miocárdio (IAM). Em 2001 as doenças do aparelho circulatório representaram 27% dos óbitos no Brasil (Ministério da saúde, 2004). A HA constitui um agravo à saúde e sua prevalência na população brasileira adulta varia entre 15% a 20%, aumentando progressivamente com a idade (KOHLMANN et al., 1999).

A HA é vista como um grave problema de saúde pública sendo apontada como uma das causas mais frequentes de morbidade, tanto em países industrializados quanto em países em desenvolvimento (*WORLD HEALTH ORGANIZATION*, 1999). Sabe-se que a HA está associada a outras patologias como acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, doenças renais e diabetes; atualmente tem sido demonstrado que a HA está relacionada com a obesidade, sendo um dos componentes da síndrome metabólica.

Muitos são os fatores que determinam o aumento da resistência periférica e/ou débito cardíaco contribuindo para a elevação transitória ou mantida da hipertensão arterial sistêmica (MICHELINI, 2004). Entre esses fatores estão a estimulação simpática, o aumento das catecolaminas circulantes, hiperatividade do sistema renina angiotensina plasmática e tecidual, aumento dos níveis plasmáticos

de vasopressina e de ocitocina, desequilíbrio entre fatores relaxantes e contráteis liberados pelo endotélio com predomínio destes últimos, aumento da resistência a insulina, alterações estruturais de vasos de resistência (aumento da razão da parede/luz de artérias/arteríolas) e capilares (rarefação), aumento de volemia entre outros fatores (MICHELINI, 2004; 2008a; 2008b). Estudo realizado por Bezerra e colaboradores em 2001 mostraram que a ativação do sistema renina angiotensina (RAS) correlacionava-se com o aumento da FC basal e da atividade simpática periférica, depressão do barorreceptor, o aumento da variabilidade da atividade do nervo depressor aórtico associado à redução de sua sensibilidade, fatores estes que contribuíram, para o aumento da PA. Apesar dos mecanismos determinantes da hipertensão não estarem completamente elucidados até o momento, algumas hipóteses baseadas em modelos de hipertensão tem sido propostas. Destacam-se o papel da angiotensina II e do sistema simpático na etiologia da hipertensão (BEZERRA et al., 2001; HWANG et al., 1987): evidências experimentais sugerem que a angiotensina II, atuando centralmente, através de receptores AT1, modula o balanço simpatovagal aumentando as eferências simpáticas e inibindo as eferências parassimpáticas, causando assim um aumento na pressão sanguínea. O bloqueio dos receptores AT1 normaliza o balanço simpatovagal, normalizando o tônus simpático para os vasos sanguíneos independente da HA, que neste modelo experimental era mantida por fator mecânico (coarctação subdiafragmática da aorta) (BEZERRA et al.,2001).

Atualmente vários trabalhos têm estudado os mecanismos envolvidos na associação entre obesidade e hipertensão uma vez que estudo *Framingham* sugerem que 78% da hipertensão essencial em homens e 65% em mulheres podem ser atribuídos à obesidade (GARRISON et al., 1987). Dentre estes os fatores determinantes da HÁ citam-se as alterações hemodinâmicas, a disfunção endotelial, a alteração da pressão da perfusão renal e da natriurese, bem como a ativação do sistema renina-angiotensina e do sistema nervoso simpático (DAVI; HALL, 2004; DAVI; ORR, 2009; DA SILVA et al., 2009).

Estudos experimentais têm sugerido que a obesidade e hipertensão encontram-se associadas ao aumento da atividade simpática do nervo renal (ALVAREZ et al., 2002; BARNES et al., 2003; ESLER et al., 2006; GRASSI et al., 1995, 1998; HUGGETT et al., 2004; VAZ et al., 1997), embora, o mecanismo fisiopatológico desta relação seja desconhecido. Em trabalho recente observou-se

que a hiperatividade do sistema nervoso simpático pode ter papel fundamental na hipertensão derivada da obesidade (CHEN et al., 2010).

1.1.1 Controle Neural da Pressão Arterial

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA) desempenha papel fundamental na manutenção da homeostase do organismo sob condições normais e/ou patológicas (KENNEY et al., 2003). O tônus simpático, particularmente para o sistema cardiovascular, é gerado por descargas simpáticas originadas em áreas específicas do cérebro. Grupamentos neuronais localizados nestas regiões denominados neurônios pré-motores simpáticos, enviam projeções diretas para os neurônios pré-ganglionares da coluna intermédia lateral da medula (IML), onde fazem sinapses com os pós-ganglionares, que inervam todos os efetores do sistema cardiovascular.

Os centros bulbares responsáveis pela manutenção e controle do tônus cardiovascular autônomo ao sistema trabalham através de mecanismos reflexos, tais como o baroreflexo, o quimiorreflexo e o reflexo cardiopulmonar (DAMPNEY, 1994; SAPRU, 2002). As aferências provenientes do mecanorreceptores arteriais projetam-se ao trato solitário (NTS) a primeira estação simpática do SNC (MIURA; REIS, 1969; DAMPNEY, 1994). Neurônios de segunda ordem do NTS projetam-se e excitam o núcleo ambíguo(NA) e o núcleo motor dorsal do vago (NDV), onde se localizam os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos (MCALLEN; SPYER, 1976), os quais medeiam o tônus parassimpático do coração. Outros neurônios do NTS projetam-se e excitam neurônios GABAérgicos da área caudoventrolateral (CVLM) os quais projetam-se e inibem neurônios pré-motores simpáticos localizados no bulbo rostroventrolateral (RVLM), determinando o tônus simpático (DAMPNEY, 1994). Os neurônios da área caudoventrolateral (CVLM) e rostroventrolateral (RVLM) do bulbo determinando a redução do tônus simpático (FELDBERG; GUERTZENSTEIN, 1972; GUERTZENSTEIN; SILVER, 1974), além de mediar as alterações no componente simpático dos reflexos cardiovasculares.

Desta forma elevações instantâneas da pressão arterial são prontamente corrigidas pelo aumento do tônus vagal e redução do tônus simpático os quais determinam aumento da capacitância venosa, redução da frequência e contratilidade cardíacas e queda da resistência periférica total, respostas estas que

O PVN é bastante estudado por ser um local de integração de respostas autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais (SWANSON; SAWCHENKO, 1983). Além do papel bem estabelecido do PVN no eixo hipotálamo-neurohipófise, o PVN é importante no controle homeostático da PA e da atividade simpática (COOTE, 1995; COOTE et al., 1998; BADOER, 2001; COOTE, 2005). Estudos morfológicos e eletrofisiológicos mostraram que o PVN está conectado reciprocamente a outras áreas do cérebro envolvidas na função cardiovascular (LUITEN et al., 1995; SWANSON; KUYPERS, 1980).

A literatura tem mostrado que o PVN está sob uma importante influência inibitória gabaérgica (MARTIN; HAYWOOD, 1993; MARTIN et al., 1997). Segundo Boubada (1996) há evidências eletrofisiológicas de projeções inibitórias para os neurônios magnocelulares e parvocelulares do PVN provenientes de uma área dorsal ao quiasma óptico, que parece incluir o núcleo supraquiasmático (SCN).

O ácido gama-aminobutírico (GABA) é um dos mais importantes neurotransmissores inibitórios no SNC, sendo o aminoácido inibitório de maior abrangência. Um estudo eletrofisiológico demonstrou que a grande maioria dos impulsos sinápticos locais para os neurônios do PVN são gabaérgicos (TASKER; DUDEK, 1993), perfazendo aproximadamente 50% da inervação local (DECAVEL; VAN DEN POL, 1990); uma proporção significativa desta inervação gabaérgica deriva de regiões intrínsecas do hipotálamo (ROLAND; SAWCHENKO, 1993).

A diminuição da ação do GABA no hipotálamo pode contribuir para a instalação da hipertensão uma vez que a sua quantidade é reduzida em modelos de hipertensão em animais (HAMBLEY et al., 1984). No entanto o hipotálamo contém uma concentração relativamente alta de GABA em animais normotensos

Em estudos recente Chen e colaboradores (2010) sugeriram que ativação na atividade de neurônios do PVN contribui de forma importante para aumento da atividade simpática observada em obesos.

1.1.3 Sistema Nervoso Simpático e a Variabilidade Cardiovascular

O sistema nervoso simpático tem sido estudado como um importante mecanismo envolvido na obesidade e na hipertensão (SHIBAO et al., 2007). O aumento da atividade simpática promovido pela obesidade, leva à hipertensão arterial através da vasoconstrição periférica e do aumento da reabsorção renal de

sódio, causando retenção de volume e aumentando reflexamente a PA (RAHMOUNI et al., 2005). Pacientes obesos com hiperleptinemia apresentam atividade simpática renal aumentada (EIKELIS et al., 2003), a qual causa aumento na secreção de renina (YOUNG; LANDSBERG, 1977), contribuindo para o desenvolvimento da hipertensão arterial.

A análise espectral da variabilidade da FC e as flutuações da PA permitem uma análise indireta e não invasiva do controle autonômico cardiovascular em uma vasta variedade de perturbações fisiológicas (AKSELROD et al., 1981; PAGANI et al., 1986; MONTANO et al., 1994). Nas últimas duas décadas, tem sido demonstrado consistentemente que as variações batimento-a-batimento da frequência cardíaca contém informações sobre a atividade dos efetores autônomos controlando o débito cardíaco (SAUL, 1990). O interesse na análise espectral é focado na separação quantitativa dos mecanismos fisiologicamente relevantes a partir das variações sequenciais na frequência cardíaca instantânea, a qual tem sido mais apropriadamente chamada de sinal de variabilidade da frequência cardíaca (HRVS).

O espectro de força do HRVS em mamíferos usualmente revela três componentes espectrais. Os trabalhos pioneiros de Akserlrod e colaboradores (1981) em cães anestesiados por exemplo, caracterizam um componente de alta frequência (HF); um componente de baixa frequência (LF); e um componente de frequência muito baixa (VLF).

O componente HF é atribuído ao tônus vagal durante a inspiração. A inibição vagal durante a inspiração sobre centros cardiovasculares explica o aumento momentâneo da FC e sua ação flutua com a frequência respiratória. Em adição, os reflexos periféricos provenientes dos receptores de estiramento torácicos também contribuem para a chamada arritmia sinusal respiratória (ASR). A ASR é claramente abolida pela atropina ou pela vagotomia, e o HF tem sido usado como índice da condução vagal (ALTMIRAS, 1999).

O componente LF do HRVS é usualmente caracterizado por um padrão oscilatório com um período de 10 segundos. Esse ritmo é originado da própria oscilação na parte vasomotora do “loop” do barorreflexo como resultado de uma retroalimentação negativa (MADWED et al., 1989), sendo comumente associado com flutuações sincronizadas na PA, as chamadas ondas de Mayer. Antagonistas muscarínicos e β -adrenérgicos são capazes de alterar a área do pico

de LF. Em cães, o componente LF parece ser principalmente mediado pelo sistema nervoso parassimpático (AKSELROD et al., 1985), enquanto em ratos a influência simpática é responsável por 80% da área de LF.

O componente VLF leva em conta oscilações de frequência muito baixa FC, como áquelas associadas a fatores termoreguladores humorais e locais (ALTIMIRAS, 1999).

1.2 OBESIDADE

A obesidade pode ser definida como um distúrbio da homeostasia energética, sendo em humanos caracterizada pelo Índice de Massa Corporal (IMC) > 30 Kg/m². A obesidade caracteriza-se pelo excesso de gordura corpórea, o qual pode ser desencadeado por erros no metabolismo e na utilização dos nutrientes ou por balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, promovendo aumento dos estoques de energia e do peso corporal (WHO – *WORLD HEALTH ORGANIZATION*, 1997).

A obesidade é uma tendência alarmante em nossos dias, em virtude de seu rápido e constante crescimento, estando associada a várias doenças e ao aumento da mortalidade. O aumento da prevalência da obesidade está ligado às mudanças gradativas no estilo de vida, determinadas pelo progresso ou modernização que aumentou não apenas o sedentarismo, mas também o êxodo rural, com a conseqüente urbanização das populações. O surgimento de novas tecnologias cada vez mais ligadas à informática e a crescente industrialização dos produtos alimentares são os grandes responsáveis pelo sedentarismo e pela alimentação inadequada respectivamente, levando ao aumento de pessoas obesas na sociedade.

Atualmente a obesidade constitui um problema de saúde pública, sendo considerada uma epidemia mundial independente de condições econômicas e sociais, apresentando-se como importante fator de risco para uma série de doenças crônicas. Pesquisas indicam que mais de 1,6 bilhões de adultos apresentam sobrepeso e pelo menos 400 milhões de adultos são obesos no mundo (WHO – *WORLD HEALTH ORGANIZATION*, 2005). Dados de 2008-2009 do IBGE e estudos no Brasil mostraram que o sobrepeso atinge mais de 30% das crianças entre 5 e 9 anos de idade, cerca de 20% da população entre 10 e 19 anos e nada menos que

48% das mulheres e 50,1% dos homens acima de 20 anos. Entre os 20% mais ricos, o excesso de peso chega a 61,8% na população de mais de 20 anos e é também neste grupo em que se encontra o maior percentual de obesos de 16,9% em relação aos outros grupos. VIGITEL, em um estudo de 2008, encontrou uma prevalência de 13% de obesidade na população brasileira.

Quanto à relação da obesidade com a situação sócio econômica, os resultados da pesquisa nacional de saúde e nutrição (COUTINHO et al., 1991) mostraram que a prevalência de excesso de peso aumenta de acordo com o poder aquisitivo. A obesidade está associada com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças que diminuem a qualidade e a expectativa de vida podendo levar a morte prematura (HILL; PETERS, 1998), trazendo ainda sérias conseqüências econômicas relativas a custos médicos diretos e indiretos (WOLF; COLDITZ, 1998). Doenças como hipertensão e diabetes *mellitus* tipo 2 são mais prevalentes em pessoas obesas do que na população em geral (PI-SUNIER, 1999), assim como pessoas obesas são mais propensas a desenvolver doenças coronarianas (KANDEL et al., 1996), apresentando maiores níveis de estresse oxidativo após exercício físico quando comparadas com pessoas não obesas (VINCENT et al., 2004). A obesidade tem também sido relacionada com aumento do risco para alguns tipos de câncer (RENEHAN et al., 2008; RENEHAN et al., 2009) e para patologias osteoarticulares como artrite óssea de joelho promovido pelo impacto devido ao sobrepeso em mulheres de meia-idade (HART; SPECTOR, 1993; BROWNING; KRAN, 2007). Há também relação direta entre obesidade e resistência à insulina, tornando indivíduos obesos mais propensos a desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (MANSON et al., 1990). Estudos epidemiológicos têm apresentado uma associação positiva entre obesidade e alterações de humor, transtornos relacionados à ansiedade, transtornos alimentares e de personalidade (SIMON et al., 2006; HUDSON et al., 2007; PICKERING et al., 2007; PETRY et al., 2008; SCOTT et al., 2008).

A obesidade é considerada o maior fator de risco no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs), mas apesar dos contínuos esforços da comunidade científica, os mecanismos pelos quais ela interfere no desenvolvimento destas patologias não estão completamente esclarecidos. A obesidade também está relacionada com a síndrome metabólica (SM), ou síndrome "X", caracterizada pela presença conjunta de resistência à insulina, intolerância a

glicose, hipertensão, obesidade e hipertrigliceridemia e/ou redução dos níveis de HDL, a qual encontra-se associada à maior incidência de DCVs. O mecanismo pelo qual a obesidade contribui para a hipertensão é desconhecido, mas qualquer que seja esse mecanismo, a perda de peso diminui a pressão arterial (GALVÃO; KOHLMANN, 2002).

O tratamento farmacológico da obesidade, apesar de controverso no passado, pode ser bastante útil em algumas situações. Os agentes que inibem a ingestão alimentar dividem-se em dois grupos: os catecolaminérgicos e os serotoninérgicos. O primeiro grupo compreende os anorexígenos, que atuam diminuindo a sensação de fome, e o segundo grupo compreende fármacos que aumentam a ação da serotonina, reduzindo a ingestão alimentar por aumento da saciedade (GALVÃO; KOHLMANN, 2002).

A ansiedade também provoca várias reações físicas relacionadas à ingestão de alimentos. Muitas pessoas dizem que quando estão ansiosas buscam se alimentar em demasia, conseguindo desta forma diminuir a ansiedade, o que acaba resultando em ganho de peso (CAPITÃO; TELLO, 2004). Comer por compulsão pode evidenciar distúrbios emocionais, visto que indivíduos obesos freqüentemente tendem a se autodepreciar (GALVÃO; KOHLMANN, 2002).

Um fator importante para a caracterização do aumento do risco a saúde decorrente da obesidade é quanto à distribuição do tecido adiposo (OHLSON, 1985; BJORNTORP, 1997). O termo distribuição refere-se à quantidade absoluta ou relativa de tecido adiposo em diferentes regiões ou compartimentos do corpo. A distribuição de tecido adiposo é influenciada por fatores genéticos e ambientais, enquanto que a massa adiposa total e regional depende do número de adipócitos e da capacidade de armazenamento de gordura destes (BJORNTORP, 1991).

O termo padrão é também utilizado em discussões relacionadas à composição corporal regional. O acúmulo relativamente maior de tecido adiposo subcutâneo no tronco comparado às extremidades é descrito como padrão de distribuição de gordura centrípeto ou localização central; um acúmulo relativamente maior de tecido adiposo sob o abdômen comparado com aquele sobre o quadril é descrito como padrão andróide, e o inverso (acúmulo maior do tecido adiposo no quadril) é classificado como padrão ginecóide (MALINA, 1996).

O tecido adiposo pode também ser diferenciado em visceral (interno ou profundo) e externo ou superficial (região subcutânea). Estudos mostraram maior

depósito de gordura subcutânea na região glúteo-femoral no sexo feminino e, no sexo masculino, na região intra-abdominal (BJORNTORP, 1991b). A gordura pode acumular-se no interior dos adipócitos aumentando seu tamanho (hipertrofia) ou acumular-se por formação de novas células adiposas (hiperplasia). O aumento da quantidade de gordura corporal ocorre através da combinação de hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos do nascimento a maturidade. Na idade adulta o aumento da gordura corporal ocorre somente por hipertrofia das células adiposas.

Indivíduos que acumulam gordura na região abdominal-visceral geralmente possuem uma série de anormalidades metabólicas, incluindo diminuição na sensibilidade à insulina, que leva à hiperinsulinemia compensatória. Estas anormalidades metabólicas podem levar à intolerância a glicose, resultando em diabetes melito não insulino-dependente (DMNID), a dislipidemia e hipertensão, à doença coronariana, e acidente vascular cerebral, resultantes de interações entre fatores genéticos, neuroendócrinos e ambientais, com elevação da taxa de mortalidade (KISSEBAH et al., 1982, 1997).

Em com animais tem sido descrito um modelo que mimetiza, ao menos em parte, a situação clínica de síndrome metabólica rotulada como obesidade neuroendócrina, a qual pode ser mimetizada em ratos por meio da administração subcutânea de glutamato monossódico (MSG), um aminoácido neuroexcitatório lesivo ao sistema nervoso central quando em altas concentrações, por promover excitotoxicidade (KIZER et al., 1978).

O efeito da administração de MSG no período neonatal foi estudado extensivamente (PERELLO et al., 2003; DOLNIKOFFI et al., 2001; MACHEO et al., 2000; BALDO et al., 2000; OLNEY, 1969). Um número de anormalidades endócrinas e comportamentais, presentes neste modelo tem sido descritas como resultado deste tratamento: distúrbio de crescimento, obesidade, disfunção sexual (MARTINS et al., 2004; PERELLO et al., 2003; DE CARVALHO et al., 2002; HIRATA et al., 1997).

A administração subcutânea de MSG em ratos durante o período neonatal provoca a destruição dos corpos celulares de neurônios do SNC, devido ao fato de que a barreira hematoencefálica não está totalmente desenvolvida. A lesão ocorre principalmente em neurônios localizados no núcleo arqueado do hipotálamo, uma área intimamente envolvida com o balanço energético e com o eixo hipotálamo-hipófise, induzindo uma situação de desnervação funcional deste eixo e do eixo

hipotálamo-tecido adiposo (DAWSON et al., 1997). As lesões no SNC e os conseqüentes déficits potenciais têm sido usados por diferentes autores para explicar as respostas neuroendócrinas alteradas encontradas neste modelo (PERELLO et al., 2003).

1.2.1 Tecido Adiposo

Antigamente, o tecido adiposo era considerado um tecido simples que servia para o armazenamento de energia, como isolante térmico e para estruturar e sustentar os órgãos do organismo. Atualmente sabe-se que o tecido adiposo é mais do que um mero armazenador de energia, pois é capaz de secretar muitas substâncias e responde à uma diversidade de estímulos, caracterizando-o como um tecido de intensa atividade endócrina e metabólica (MOHAMED-ALI et al., 1998).

Pesquisas apontam a presença de um leve estado inflamatório em indivíduos obesos, e as prostaglandinas vêm sendo exploradas dentre os potenciais mecanismos envolvidos no aumento da PA na obesidade (CUNHA et al., 2010). Os adipócitos do tecido adiposo branco produzem citocinas inflamatórias, espécies reativas de oxigênio e leptina estando a obesidade associada com o aumento de vários destes peptídeos pró-inflamatórios (MATHIEU et al., 2009; MORRIS, 2008; LOPES, 2007; ANEJA et al., 2004). Adipocitocinas (leptina, adiponectina, resistina, proteína estimuladora de acilação, fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-6) são proteínas bioativas que modulam alguns processos fisiológicos, entre eles o controle da ingesta alimentar, homeostase energética, sensibilidade à insulina, angiogênese, proteção vascular, regulação da PA e coagulação sanguínea. Vários estudos que relacionam o processo fisiopatológico da obesidade com alterações na secreção das adipocitocinas (HAVEEL, 2004).

A leptina é expressa principalmente no tecido adiposo branco sendo que a quantidade circulante é proporcional a massa adiposa e sua produção é regulada pelas alterações induzidas pela insulina nos adipócitos (HALAAS et al., 1995). A infusão crônica de leptina eleva a PA e a FC (SHEK et al., 1998; AIZAWA-ABE et al., 2000), enquanto que a deficiência de leptina em ratos ob/ob diminuiu a PA (MARK et al., 1999). A presença de níveis circulantes elevados de leptina em pacientes obesos sugere a existência de resistência a leptina no quadro da

obesidade (MAFFEI et al., 1995). Concentrações fisiológicas de leptina inibem a secreção de insulina indiretamente em ratos, via SNC (MUZUMDAR et al., 2003). É importante salientar que tanto a deficiência quanto a resistência a leptina, em roedores obesos, é acompanhada de resistência à insulina, situação característica da síndrome metabólica.

A adiponectina é uma proteína secretada pelos adipócitos cuja expressão diminui à medida que o tecido adiposo aumenta (OUCHI et al., 1999). Ela apresenta a capacidade de diminuir ou inibir a adesão de monócitos ao endotélio vascular, suprimindo a expressão de TNF α induzida por essas moléculas de adesão (GOLDSTEIN et al., 2004; FANTUZZI, 2005). A adiponectina tem sido avaliada como protetora do endotélio vascular enquanto indivíduos que apresentam redução do volume circulante da adiponectina apresentam problemas associados às disfunções metabólicas (FUNAHASHI et al., 2004). A infusão de adiponectina melhora a resistência insulínica em modelos animais de obesidade (YAMAUCHI et al., 2002). O nível de adiponectina encontra-se diminuído na obesidade e na resistência à insulina (BERG et al., 2005; DREVON, 2005).

A resistina é uma proteína expressa especificamente no tecido adiposo branco tendo sua produção elevada em monócitos e macrófagos e está relacionada à resistência insulínica (STEPPAN et al., 2001).

A proteína estimuladora de acilação (ASP) é uma proteína cuja produção pelo tecido adiposo acompanha o aumento das concentrações de insulina e leptina circulante, e sua função envolve o controle de colesterol circulante total, LDL-c e triacilgliceróis (COMUZZIE et al., 2001).

O fator de necrose tumoral (TNF- α) é uma citocina pro-inflamatória produzida por macrófagos em processos inflamatórios. Estudos demonstram a relação do TNF- α com a obesidade, sendo sua expressão maior com o aumento da obesidade e menor com a perda de peso, e, além disso, a quantidade de triacilgliceróis e ácidos graxos livres circulantes influenciam na expressão do TNF- α (FRUHBECK et al., 2001; MORIN et al., 1997).

A interleucina -6 (IL-6), secretada pelo tecido adiposo visceral, tem sua produção relativamente proporcional a massa corporal e inversamente proporcional à concentração de insulina, e é modulada pelo TNF- α , interferindo no quadro de complicações da obesidade (FRIED et al., 1998). Estudos mostraram que cardiopatas apresentaram teores circulantes elevados de IL-6 (HADDY et al., 2003).

A IL-6 está também relacionada à sensibilidade à insulina, pois inibe receptores dependentes de autofosforilação, como é o caso do receptor de insulina, pertencente à família dos receptores de tirosina-quinase; assim, ela altera a sinalização da insulina nos hepatócitos, oferecendo resistência à ação deste hormônio (GUIMARÃES et al., 2007).

1.3 ANSIEDADE

A ansiedade em um contexto psicopatológico pode ser definida como um conjunto de manifestações somáticas – aumento da frequência cardíaca e respiratória, sudorese, tensão muscular, náusea, sensação de vazio no estômago e lipotímia, e manifestações psicológicas – apreensão, estado de alerta, inquietude, dificuldade de concentração e de conciliação do sono, entre outros (DRATCU; LADER, 1993).

Com a hipótese da interferência do estado emocional na variabilidade da PA, estudos concluíram que estados emocionais como felicidade, raiva e ansiedade em pacientes hipertensos *borderline* elevam a PA, encontrando forte associação entre a intensidade da ansiedade e a pressão arterial diastólica (JAMES et al., 1986).

Estudos realizados com pacientes portadores de doenças coronarianas e psiquiátricas sugerem que transtornos de ansiedade podem estar associados a maior mortalidade, particularmente em morte cardíaca repentina e maior morbidade cardíaca (CORYELL et al., 1982); outros pesquisadores tem associado altos níveis de ansiedade com pior prognóstico e maior recorrência de eventos cardíacos pós-infarto em pacientes coronarianos (FRASURE-SMITH et al., 1995). Muriel e colaboradores (2006) têm também sugerido forte associação entre ansiedade e origem e progressão da hipertensão arterial, o que justifica a proposta deste estudo sobre a avaliação comportamental no animal obeso MSG, objetivando maior entendimento entre este modelo e hipertensão arterial, neste trabalho.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar em ratos Wistar com obesidade induzida por MSG as alterações cardiovasculares, autonômicas e comportamentais na situação basal e durante estimulação e bloqueio de neurônios GABAérgicos do PVN.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a participação do aminoácido GABA na região do PVN através da microinjeção local de agonista dos receptores GABA_A (muscimol) e antagonista dos receptores GABA_A (bicuculina) sobre a PA e FC em ratos controle e obesos acordados.
- Analisar o balanço autonômico na variabilidade da FC e da PA através da análise espectral no modelo de obesidade MSG e seu grupo controle salina antes e após a microinjeção de agonista e antagonista GABA_A diretamente nos neurônios do PVN destes mesmos grupos.
- Avaliar a atividade simpática do nervo renal (ASNR) em ratos anestesiados com obesidade induzida por MSG.
- Avaliar no modelo de obesidade MSG o comportamento no teste de interação social, como modelo de ansiedade, e de campo aberto, como modelo de atividade geral.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Este trabalho foi realizado no laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardiovascular, do Departamento de Ciências Fisiológicas (CIF) do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UEL (CEEA nº 04/10, processo nº 1294/20ID-58). Foram utilizados ratos Wistar machos, obtidos a partir de cruzamentos realizados no biotério setorial do CIF. Aos 21 dias de vida os animais foram desmamados e mantidos em gaiolas coletivas (máximo de cinco animais por gaiola), à temperatura constante de 21 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

3.2 INDUÇÃO DE OBESIDADE

Os animais foram divididos em dois grupos: O grupo MSG, em que os animais receberam durante os cinco primeiros dias de vida injeções intradérmicas de glutamato monossódico (4 mg/g) no dorso do animal, e o grupo controle, em que os animais receberam injeções intradérmicas de salina equimolar (12 %) na mesma região.

A obesidade foi avaliada aos 90 dias de vida pelo cálculo do Índice de Lee [peso corporal (g)^{1/3} / comprimento nasoanal (CNA) (cm) X (1000)] e posteriormente confirmada pela soma dos peso das gorduras retroperitoneal e perigonadal, que foram retiradas ao final dos experimentos. O CNA é a distância do nariz ao ânus, a qual foi mensurada com os animais anestesiados.

3.3 PESO CORPORAL

A partir dos 21 dias de vida os animais foram pesados diariamente para o controle da massa corporal. Este procedimento foi realizado até o término do experimento (90 a 96 dias de vida dos animais). Os dados coletados foram utilizados para a elaboração das curvas de crescimento.

3.4 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES

3.4.1 Grupos Experimentais

Os dois grupos de animais (MSG e Controle) foram divididos em três grupos cada, formando 6 grupos experimentais, sendo 3 grupos MSG e 3 grupos Controle. Cada grupo MSG foi pareado com um grupo controle no qual foi microinjetada a mesma substância no PVN. As drogas testadas foram a bicuculina (n=6), o muscimol (n=7), e a Salina 0,9% (n=6) foi microinjetada em um par de grupos para serem usados como controles na análise dos dados (MSG e Controle).

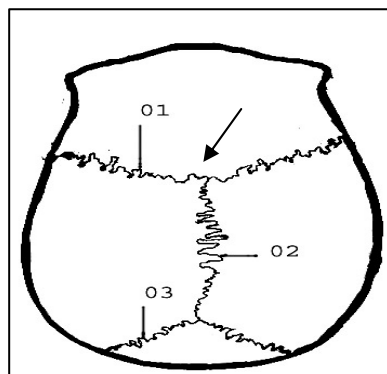
3.4.2 Implante de Cânulas-Guia Direcionadas ao PVN

A metodologia de fixação de cânulas-guia direcionadas ao PVN foi realizada de acordo com de Abreu e colaboradores (2009). Os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.) e foram postos em decúbito ventral em um aparelho estereotáxico (Insight). A barra incisiva foi posicionada 5,0 mm abaixo da linha interaural. Para início do procedimento cirúrgico foi realizada a tricotomia da cabeça do animal seguida de abertura da pele no sentido rostro caudal, deixando em evidência a sutura bregma. A seguir, foram produzidos dois forâmes bilaterais e eqüidistantes da linha média, para o implante das cânulas-guia, cujas coordenadas estereotáxicas foram obtidas do atlas Paxinos (PAXINOS; WATSON, 1986), utilizando como referência a sutura bregma. As suturas cranianas são mostradas na figura 2.

As coordenadas utilizadas para os grupos Controle nos animais que apresentaram peso entre 300 a 340 gramas foram: AP= -1,7 mm; L= 0,5 mm; e DV= 6,6 mm, e para os animais que apresentaram peso entre 340 a 380 gramas as coordenadas foram: AP= -1,8 mm; L= 0,5 mm; e DV= 6,6 mm.

As coordenadas para os animais dos grupos MSG que apresentaram peso entre 280 a 320 gramas foram AP= -1,4 mm; L= 0,5 mm; e DV= 5,4 mm, e os animais para os animais que apresentaram peso entre 320 a 360 gramas as coordenadas foram: AP= -1,5 mm; L= 0,5 mm; e DV= 5,6 mm.

Figura 2 – Figura esquemática com a localização das suturas de referência para a cirurgia estereotáxica. 01 – sutura coronal; 02 – sutura sagital; 03 – sutura lambdóide. A seta indica a sutura bregma.

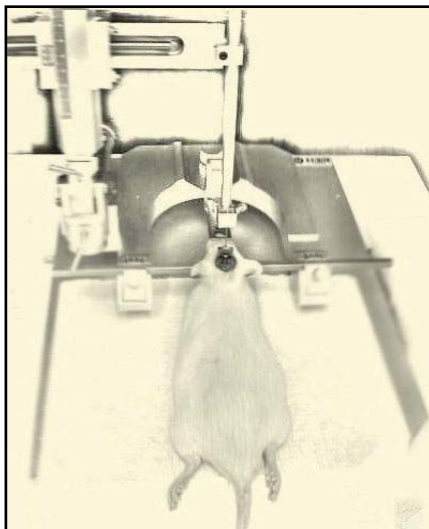


A torre do estereotáxico foi posicionada sem inclinação (0 grau), e para dar suporte às cânulas-guia utilizou-se uma peça (pé de pato) com encaixe entalhado para as cânulas-guia e estas ficaram separadas pela distância de 1 mm. Foram fixados no crânio do animal dois parafusos pequenos, um em cada extremidade da abertura no sentido rostro-caudal, com o objetivo de reforçar a fixação das cânulas-guias pelo acrílico (Figura 3). A cânula guia tinha 15 mm de comprimento. Essas cânulas foram fixadas no crânio com resina acrílica. Após a completa fixação das cânulas, a torre do estereotáxico foi removida e com o objetivo de não obstruir as cânulas-guia até a realização dos experimentos, foi introduzido nas mesmas um oclisor (Figura 4). Em seguida, o animal foi retirado do aparelho estereotáxico e como medida profilática, após a cirurgia cerebral administrou-se uma dose de penicilina por via intramuscular.

Figura 3 – Rato Wistar após a cirurgia de estereotaxia com as cânulas implantadas no PVN



Figura 4 – Rato Wistar no equipamento estereotáxico

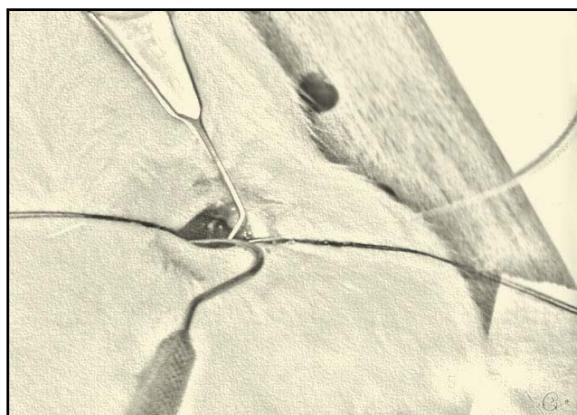


3.4.3 Canulação da Artéria e Veia Femorais

Com a finalidade de registrar os parâmetros cardiovasculares os animais foram submetidos a outro procedimento cirúrgico, a canulação da artéria femoral. Para possível necessidade de injeção de drogas, foi canulado também a veia femoral.

Os catéteres foram confeccionados com um segmento de polietileno PE-10 (4-5 cm) soldado a um segmento de polietileno PE-50 (12-13 cm), e as cânulas foram preenchidas com solução salina 0,9% e obstruídas com um ocluser. Após verificar se o animal permanecia anestesiado e avaliar se havia ou não a necessidade de um ajuste através de uma nova administração de pentobarbital, foi realizada a tricotomia do flanco inferior direito do animal e então uma incisão de 1,0 cm foi feita na fossa ilíaca direita, e a artéria femoral direita foi dissecada (Figura 5). Um fio de algodão foi utilizado para isolar a região distal da artéria femoral e uma pinça hemostática foi nela colocada, obstruindo temporariamente o fluxo arterial. Em seguida, um pequeno corte foi feito na artéria femoral e o catéter foi introduzido e cuidadosamente atado à artéria. O mesmo procedimento foi realizado para a implantação de um catéter na veia femoral, localizada ao lado da artéria femoral.

Figura 5 – Processo de canulação da artéria e veia femoral em rato Wistar



Após esse procedimento, os catéteres foram exteriorizados na região dorsal do animal através de um trocáter por via subcutânea e fixados à pele por sutura cirúrgica, e por fim, o catéter da artéria femoral foi preenchido com um anticoagulante (15 U/mL de heparina) e obstruído novamente com um oclisor.

Os animais, durante o período de reabilitação pós-anestésica, foram mantidos em observação e aquecidos até que acordassem e então foram levados ao biotério setorial do departamento e mantidos em caixas individuais durante todo o período pós-operatório (24h).

3.4.4 Microinjeção

A microinjeção das drogas bicuculina (1mM), muscimol (15 mM) e solução fisiológica (0,9%) foi realizada com uma seringa Hamilton de 10 μ l, sendo o volume microinjetado de 100nL. As agulha para a microinjeção tinham o comprimento de 16.0 mm e 16.2mm, sendo que a mesma agulha utilizada para a microinjeção da droga foi utilizada na microinjeção do corante Azul de Evans para a localização do sítio da microinjeção. A escolha das doses das drogas utilizadas foi baseada em trabalhos prévios (DE ABREU et al., 2009).

3.4.5 Registro da Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca

Após as 24 horas de recuperação do procedimento de canulação da artéria e veia femorais, os animais foram submetidos ao registro direto da PA e FC.

O registro foi feito com os animais não anestesiados, mantidos em caixas individuais, com livre movimentação e em ambiente silencioso, e durante todo o procedimento de registro o animal foi privado de ração e água. Os registros foram realizados no período matutino (7 – 12 horas).

A cânula arterial do animal foi acoplada a um transdutor de pressão (MLT0380, ADInstruments), o qual foi conectado a um sistema de registro computadorizado (Powerlab, 4/20T, ADInstruments), obtendo-se assim os valores da pressão arterial pulsátil (PAP) e suas derivadas: pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

Experimentos pilotos já evidenciaram que os procedimentos utilizados neste trabalho não causam reações dolorosas ou outro tipo de comportamento que interfira no registro cardiovascular ou que não seja previsível pela administração de certas substâncias no PVN.

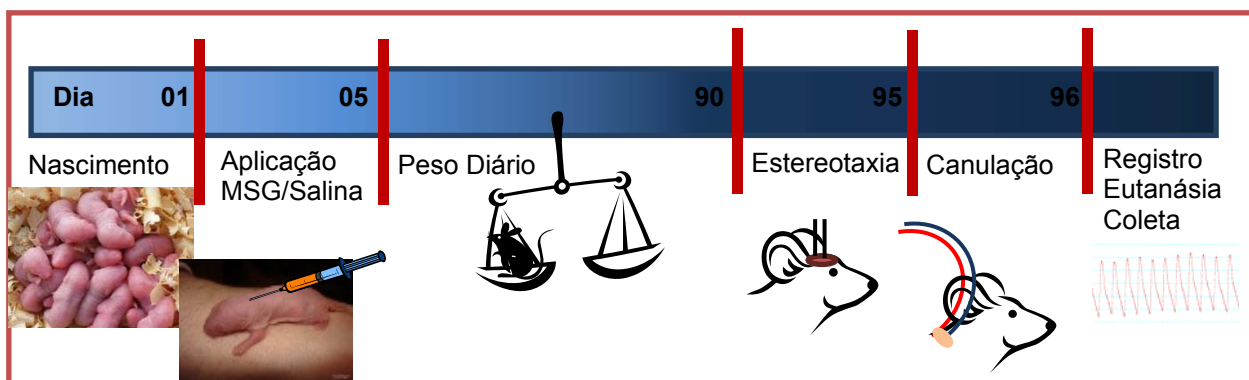
3.4.6 Protocolo Experimental

3.4.6.1 Experimento crônico

Os animais MSG e Controle Salina ao completarem 90 dias de vida, foram submetidos à cirurgia estereotáxia e permaneceram 4 dias em recuperação, no biotério. No quinto dia após a estereotaxia os animais foram canulados e, após 24hs de repouso, tiveram seus parâmetros cardiovasculares registrados.

Os parâmetros cardiovasculares dos animais foram registrados durante 30 minutos (registro basal), e então foi realizada a microinjeção de drogas bilateralmente no PVN, através das cânulas-guia implantadas. As substâncias que foram administradas no PVN são as seguintes: bicuculina (1 mM) e muscimol (15 mM), em um volume de 100 nL, e somente uma única substância foi administrada por animal. A PA e FC foram registradas, após a microinjeção, por um período de 30 a 60 minutos.

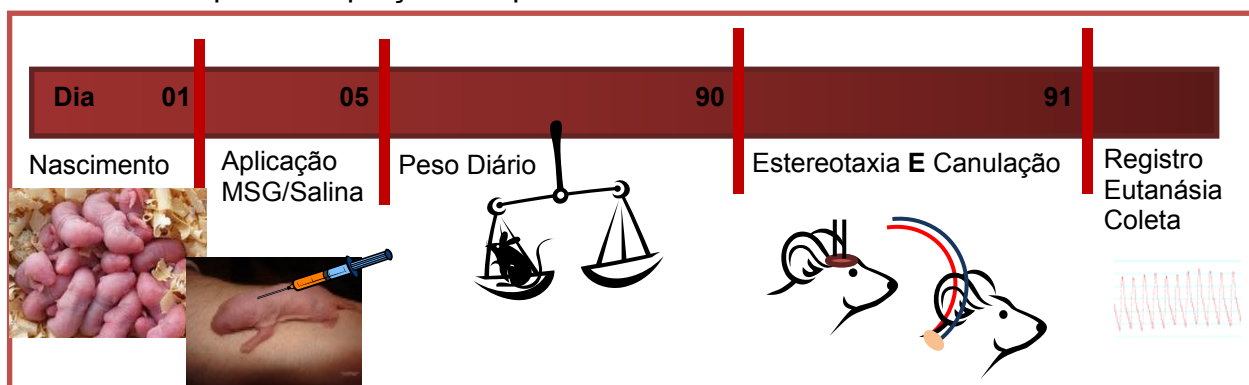
Figura 6 - Experimento Crônico, figura esquemática do procedimento experimental 01 para a captação dos parâmetros cardiovasculares.



3.4.6.2 Experimento Agudo

Os animais MSG e Controle Salina ao completarem 90 dias de vida, foram submetidos à cirurgia estereotáxica e logo em seguida submetidos à canulação e, após 24hs de repouso, tiveram seus parâmetros cardiovasculares registrados. Os parâmetros cardiovasculares dos animais foram registrados conforme descrito para o experimento Crônico.

Figura 7 - Experimento Agudo, figura esquemática do procedimento experimental 02 para a captação dos parâmetros cardiovasculares.



3.4.7 Variação do Peso Durante as Cirurgias nos Experimentos

Os animais do grupo MSG (n=6) e do grupo controle salina (n=6), para o experimento crônico e experimento agudo, tiveram o seu peso corporal

verificado no período das 7 às 8 horas da manhã, cinco dias antes no procedimento cirúrgico de estereotaxia para o experimento crônico ou cinco dias antes do procedimento cirúrgico de estereotaxia e canulação para o experimento agudo, repetido diariamente até o dia do registro do animal.

3.4.8 Perfusão do Cérebro

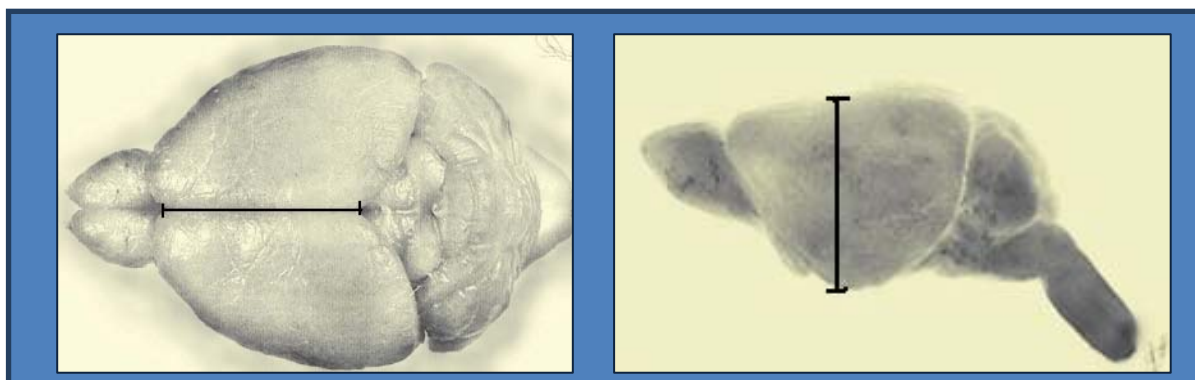
Após o término do registro e marcação dos sítios de microinjeção com 100 nl de solução de Azul de Evans (2%), os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico na dose de 30 mg/Kg i.v. O coração foi exposto e uma cânula de ponta romba foi inserida no ventrículo esquerdo e posicionada na aorta ascendente. A fixação do tecido cerebral foi efetuada mediante a perfusão intracardíaca de 200 ml de solução salina 0,9% seguida de igual volume de formalina 10%. O cérebro foi retirado e mantido em solução fixadora (formalina 10%).

3.4.9 Histologia e Anatomia do Encéfalo

Antes da perfusão, com o animal anestesiado, os sítios de microinjeção foram marcados com uma solução de Azul de Evans 2%, num volume de 100 nL. Os cérebros fixados em formalina 10% foram cortados em micrótomo de congelamento com corte histológico de 40 μ m na região do PVN. Os cortes obtidos foram posicionados e fixados em lâminas de vidro e corados pela técnica do cresil-violeta. Somente os animais que tiveram os sítios marcados na área do PVN com localização bilateral foram considerados como animais experimentais.

Para os parâmetros anatômicos, o encéfalo de 15 animais MSG e 15 animais controles foram mensurados com um paquímetro para obtenção dos parâmetros antero-posteriores (AP) e dorso-ventrais (DV) por 5 observadores diferentes, e obteve-se então uma média destes parâmetros para serem analisadas estatisticamente (Figura 8).

Figura 8 - Visualização dos cortes para a mensuração das coordenadas antero-posterior (AP) e dorso-ventral (DV) respectivamente.



3.4.10 Análise Espectral da Variabilidade

A PA e a FC foram registradas durante um período de no mínimo de 30 minutos no período basal e 30 minutos após as microinjeções e pelo menos 10 minutos destes períodos foram processados por um software customizado que aplica um algoritmo para detectar pontos de inflexão ciclo-a-ciclo no sinal da pressão arterial pulsátil (PAP), desta forma determinando batimento a batimento os valores das pressões sistólicas e diastólicas. Séries de intervalos de pulso (PI) batimento a batimento do sinal da PAP foram também gerados pela mensuração do espaço de tempo entre ondas sistólicas adjacentes. De um período de registro basal de 60 minutos, as séries temporais de PI e PA sistólica (SAP) foram divididas em segmentos contíguos de 300 batimentos, sobrepostos pela metade.

Após o cálculo do valor médio e variância para cada segmento, os mesmos foram submetidos a uma análise espectral baseada em um modelo autoregressivo anteriormente descrito (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY, 1996; MALLIANI et al., 1991).

Em resumo, um modelamento dos componentes oscilatórios presentes em segmentos estacionários das séries temporais batimento a batimento da SAP e PI foram calculados baseados no recurso de Levinson-Durbin com a ordem do modelo escolhida de acordo com o critério de Akaike (MALLIANI et al., 1991). Este procedimento permite uma quantificação automática do centro de

freqüência e força de cada componente oscilatório presente na série temporal. Os componentes oscilatórios são definidos como tendo muito baixa (VLF: 0.01-0.20 Hz), baixa (LF: 0.20-0.75 Hz) ou alta frequência (HF: 0.75-2.50 Hz). A força dos componentes LF e HF da variabilidade da frequência cardíaca é também expressa em unidades normalizadas obtidas por cálculo da porcentagem da variabilidade de LF e HF com respeito à força total subtraindo-se a força do componente VLF.

O procedimento de normalização tem a finalidade de minimizar o efeito das mudanças da variância total nos valores absolutos de LF e HF. A proporção entre LF e HF foi calculada para obter o índice de balanço da modulação autonômica para determinar a variabilidade cardíaca (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY, 1996; MALLIANI et al., 1991).

3.5 ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL

O estudo foi realizado em parceria com a Universidade Federal de Minas Gerais, com orientação do Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes.

Para este experimento, foi utilizado um grupo MSG (n=5) com seu respectivo grupo controle (n=6) para a avaliação da atividade simpática renal, com 90 dias de idade. Os animais foram anestesiados com uretana (1g/Kg) por via intraperitoneal (IP). O procedimento teve início com a canulação da artéria femoral esquerda, para implantação de cateter de polietileno para o registro da pressão arterial (PAP). O rato foi traqueostomizado e fixado em um aparelho estereotáxico. A temperatura corporal foi mantida entre 37 a 37,5°C usando uma almofada de aquecimento térmico. Durante todo o procedimento o animal foi avaliado quanto à permanência do efeito anestésico e quanto à necessidade de suplementação anestésica, mantendo a profundidade da anestesia estável durante o período experimental.

Usando um microscópio de dissecação, o nervo renal esquerdo foi exposto retroperitonealmente através de uma incisão no flanco esquerdo. O nervo renal foi dissecado na porção distal, e foi pinçado com um par de eletrodos de arame de prata para fazer a gravação eferente da atividade simpática do nervo renal (ASNR). Os eletrodos do registro foram mantidos imersos em óleo vegetal, para evitar a desidratação e para conferir isolamento elétrico. O animal permaneceu por

30 minutos no registro para estabilizar os parâmetros e então foi registrado por mais 30-60 minutos, captando um sinal amplificado 2000-5000 vezes com caminho de banda de 100-1000 kHz, monitorados com um osciloscópio. Os dados assim obtidos são convertidos em pulsos padrão que descarregam ruídos de fundo da atividade elétrica discriminando valores reais da ASNR. Tanto as taxas de descarga quanto o neurograma foram amostrados por um conversor analógico-digital (Power-Lab, ADInstruments). O catéter implantado na artéria femoral esquerda foi conectado a um transdutor de pressão arterial (Power-lab, ADInstruments) efetuando o registro da pressão arterial de pulso (PAP) e suas derivadas: pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

Ao final do procedimento os ratos foram eutanasiados e a gordura retroperitoneal e perigonadal foi retirada para caracterização da obesidade.

3.6 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

A análise comportamental foi realizada no laboratório de farmacologia do comportamento da Profa. Estefânia Gastaldello Moreira. Neste experimento, utilizou-se um grupo MSG (n=16) e um grupo Controle (n=14). Aos 50 dias de idade, os animais foram pareados com parceiros pertencentes ao mesmo tratamento e mantidos no biotério em duplas nas gaiolas. Aos 80 dias de idade os animais foram submetidos ao teste de campo aberto e, aos 82 dias de idade, ao teste de interação social.

A análise comportamental foi filmada e quantificada por um observador localizado em uma sala adjacente ao Laboratório de Atividade Geral.

Foi avaliada através de observação direta em um campo aberto, construído conforme especificações modificadas por Broadhurst, 1960. O campo aberto constitui de uma arena circular de madeira, sendo o chão dividido por meio de dois círculos concêntricos e segmentos de reta, em doze partes similares. O diâmetro da arena utilizada para a avaliação de ratos adultos é de 97cm. A arena encontrava-se uniformemente iluminada (Figura 9).

Figura 9 - Arena para o procedimento experimental da análise do comportamento para os testes de campo aberto e interação social.



Para a análise comportamental, cada rato foi colocado individualmente no centro da arena e, durante 3 minutos, foram registrados os seguintes comportamentos:

- *Locomoção*: número de divisões da arena adentradas pelo animal, com suas quatro patas;
- *Levantar*: número de vezes em que o animal se colocou sobre as patas traseiras;
- *Limpeza*: tempo, em segundos, que o animal executou movimento com as patas anteriores em direção à boca ou cabeça, podendo haver continuidade destes em direção aos pavilhões auriculares e/ou movimentos de lambe dirigidos, principalmente às porções laterais do corpo e região genital;
- *Tempo na área interna da arena*: tempo, em segundos, que o animal permaneceu no círculo central da arena;
- *Tempo na área externa da arena*: tempo, em segundos, que o animal permaneceu na área externa da arena (rente à parede).

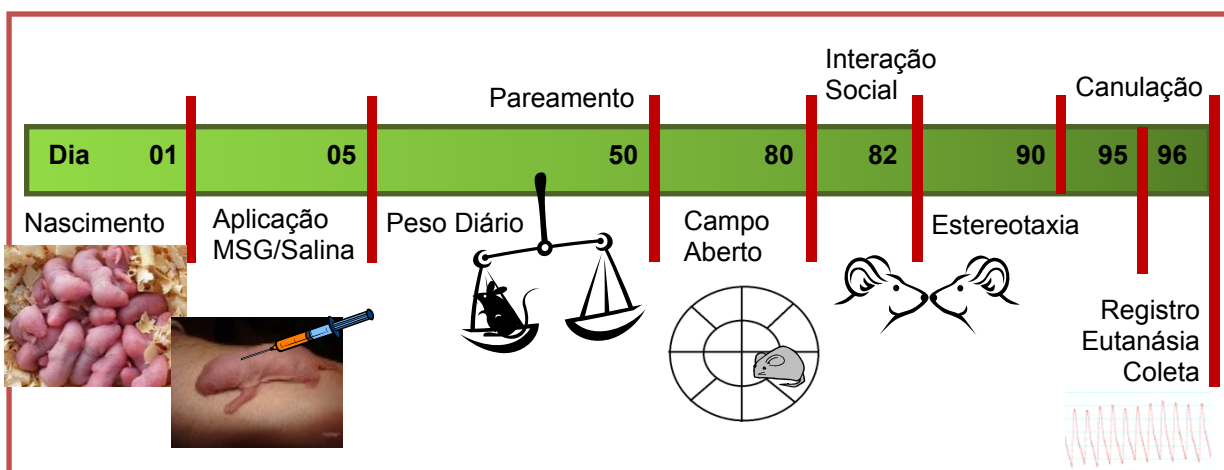
Ao final de cada sessão, a arena foi limpa com solução de álcool etílico 5%.

3.6.1 Interação Social

Os pares de ratos foram colocados por 2 dias consecutivos, durante 8 minutos, na arena de campo aberto para que se adaptassem à arena de observação. No terceiro dia, os ratos pertencentes ao mesmo tratamento foram repareados de acordo com seus pesos e novamente levados à arena do campo aberto. Neste dia, os animais já estavam adaptados ao ambiente e o único estímulo diferente era a presença do parceiro desconhecido. Durante 5 minutos, foi registrado o tempo, em segundos, de interação social entre os dois ratos, avaliado através de alguns comportamentos exibidos pelos ratos: escalação, investigação da genitália, locomoção ao redor do outro, arrastar-se sob o outro e limpeza mútua. Comportamento agressivo não foi considerado como interação social (MOREIRA et al., 2000).

Ao final de cada sessão, a arena foi limpa com uma solução de álcool etílico a 5%.

Figura 10 - Protocolo experimental da análise comportamental.



3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos dados, foi utilizado o teste *t* de Student, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Para as comparações feitas em um mesmo animal foi utilizado o teste *t* de *Student* pareado, e para comparações entre grupos de animais diferentes foi utilizado o teste *t* de *Student* não pareado.

Para comparações entre curvas de ganho de peso foi utilizada ANOVA fatorial complementada com o teste de Bonferroni. Os fatores foram denominados dia e tratamento.

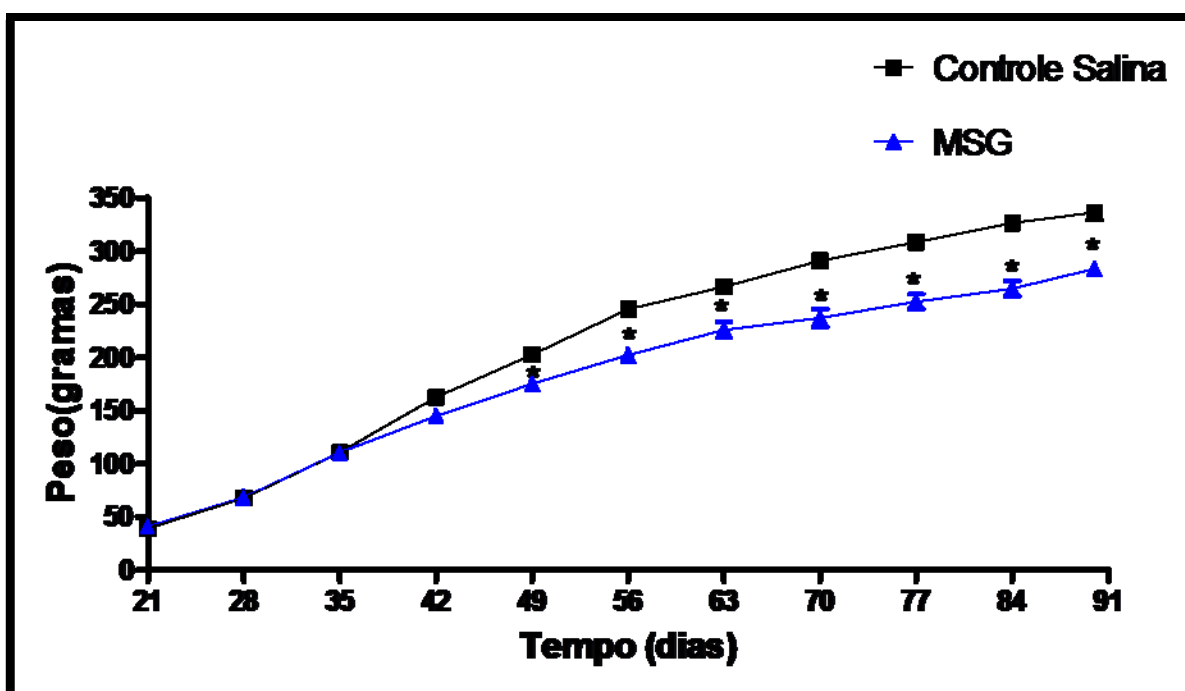
Todos os resultados estão expressos como médias \pm EPM.

4 RESULTADOS

4.1 CURVA DE GANHO DE PESO

Os animais, após o período do tratamento, permaneceram com as suas respectivas mães até os 21 dias de idade, quando então foram desmamados. A partir desta data foi realizado um acompanhamento diário do ganho de peso do animal até os 90 dias de vida. Nosso estudo mostrou que os animais obesos do modelo MSG apresentam ganho de peso inferior quando comparado com os animais Controles (Figura 11).

Figura 11 – Evolução temporal do peso corporal dos ratos dos grupos Controle Salina e MSG.



* $p < 0.05$ em relação ao grupo controle (ANOVA multivariada para medidas repetidas complementada com teste de Bonferroni).

Os resultados também mostraram que os animais do grupo MSG apresentam menor crescimento quando comparados com animais do grupo Controle. O Índice de Lee do grupo MSG foi maior do que no grupo Controle, evidenciando que os animais MSG são obesos, em relação ao grupo controle; contudo, como os animais MSG têm tamanho menor, conforme demonstrado pelos

resultados do CNA foi analisado também o peso das gorduras perigonadal e retroperitoneal, somadas, ou seja a gordura total, para confirmar a obesidade dos animais MSG, visto que o fato destes animais serem menores poderia alterar o resultado do Índice de Lee. Os resultados mostraram que o peso de gordura total do grupo MSG é maior quando comparado com o grupo Controle, confirmando a obesidade dos animais MSG (Tabela 1).

Assim, demonstramos que o tratamento com MSG durante os cinco primeiros dias de vida em filhotes de ratos Wistar de fato induziu a obesidade desejada em ratos adultos, que apresentaram maior acúmulo de gordura retroperitoneal e perigonadal. Apesar dos animais MSG pesarem menos que os animais controles, eles são obesos por possuírem maior quantidade de gordura corporal total.

Tabela 1 – Efeitos da administração de MSG em ratos adultos.

PARÂMETRO	CONTROLE (n=10)	MSG (n=10)
Peso (g)	381.2 ± 8.73	304.2 ± 8.35 *
CNA (cm)	24.21 ± 0.16	20.58 ± 0.22 *
Índice de Lee	0.30 ± 0.002	0.33 ± 0.004 *
Gordura Total (g)	7.400 ± 0.45	14.40 ± 0.63 *

CNA: comprimento naso-anal; Gordura Total: soma da gordura perigonadal e retroperitoneal.

Estes resultados foram analisados por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. * p<0,05.

4.2 ANATOMIA DO ENCÉFALO

Durante a retirada do encéfalo dos animais para posterior processamento histológico para localização do sítio de microinjeção no PVN, foram observadas diferenças anatômicas entre os encéfalos do grupo MSG e do grupo Controle; portanto, realizou-se medidas do encéfalo nas coordenadas antero-posterior (AP) e dorso-ventral direita e esquerda (DVD e DVE), para a averiguação de possíveis diferenças anatômicas e alterações das coordenadas utilizadas na cirurgia estereotáxica. O estudo demonstrou que o grupo MSG apresenta

coordenadas em AP, DVD e DVE menores quando comparadas com o grupo Controle (Tabela 2).

Após este estudo, as coordenadas da cirurgia estereotáxica do grupo MSG foram corrigidas, com AP diminuída em 0,2 mm e DV diminuída em 1 mm em relação às coordenadas utilizadas para a cirurgia estereotáxica do grupo Controle.

Tabela 2 - Medidas em milímetros (mm) do encéfalo dos animais do grupo Controle e MSG.

PARÂMETRO	CONTROLE SALINA (n=10)	MSG (n=10)
AP (mm)	13.32 ± 0.16	11.97 ± 0.16 *
DVD (mm)	9.690 ± 0.12	8.800 ± 0.11 *
DVE (mm)	9.670 ± 0.12	8.740 ± 0.10 *

AP: antero-posterior; DVD: dorso-ventral direita; DVE: dorso-ventral esquerda.

Estes resultados foram analisados por teste *t Student* não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. * p<0,05.

4.3 PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS E PESO CORPORAL

Os valores da PA e FC basais foram calculados para uma média de 10 minutos estáveis selecionados do período de 30 minutos do registro basal.

4.3.1 Experimento Crônico

Não houve diferenças estatisticamente significantes dos valores basais de PA e FC registrados nos animais submetidos ao protocolo de experimento crônico, como esperado. Portanto, os dois grupos (MSG e Controle) foram considerados normotensos, neste protocolo.

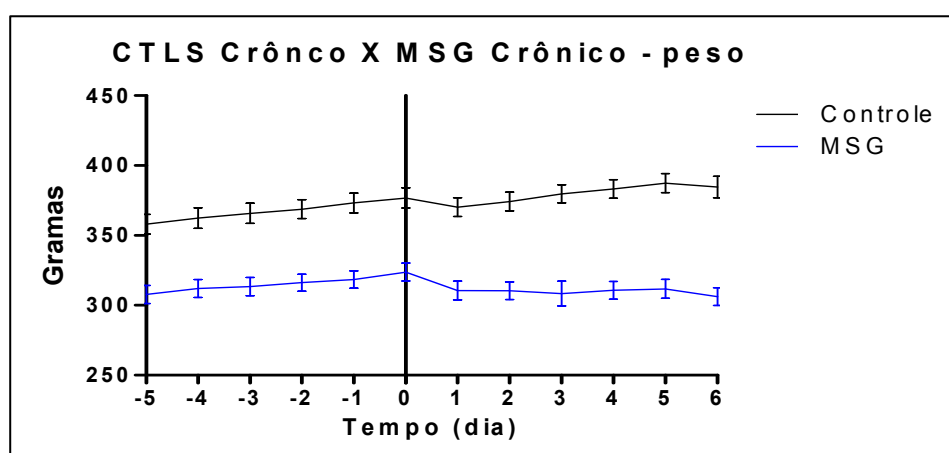
A perda de peso corporal dos animais foi calculada para quantificar o peso que o animal perde no período de recuperação do procedimento cirúrgico, ou seja, o peso do animal no dia do registro (pós-canulação) foi subtraído do peso do animal no dia da realização da estereotaxia. Para o experimento crônico o intervalo

de recuperação foi de 6 dias. Foi observado que os animais do grupo MSG apresentaram uma perda de peso corporal maior, quando comparados com os animais controles, durante o mesmo período.

Com a avaliação do peso diário observou-se que os animais do grupo MSG, no experimento crônico, após a cirurgia estereotáxica apresentavam uma perda de peso corporal que se mantinha por todo o período de recuperação (5 dias), enquanto que o grupo controle salina apresentava perda de peso corporal no 1º dia após a estereotaxia, mas nos dias seguintes recuperava o peso corporal e retornava aos valores normais de peso.

A Figura 12 mostra o acompanhamento do peso dos animais durante o período dos experimentos no protocolo crônico.

Figura 12 - Evolução do peso corporal no Experimento Crônico. O dia 0 marca o dia da realização da estereotaxia, onde se nota a perda de peso dos animais no dia que se segue. No dia 5 foi realizada a canulação, aonde pode-se observar nova perda de peso dos animais. Note que o grupo MSG perde mais peso corporal e não recupera seu peso normal durante os 5 dias de recuperação. CTLS – grupo controle salina, MSG – grupo modelo de obesidade por glutamato monossódico. Para a análise estatística foi utilizado *two-way* ANOVA, com pós-teste *Bonferroni* com valor de $p < 0.05$. Os * marcam os resultados estatisticamente significantes.



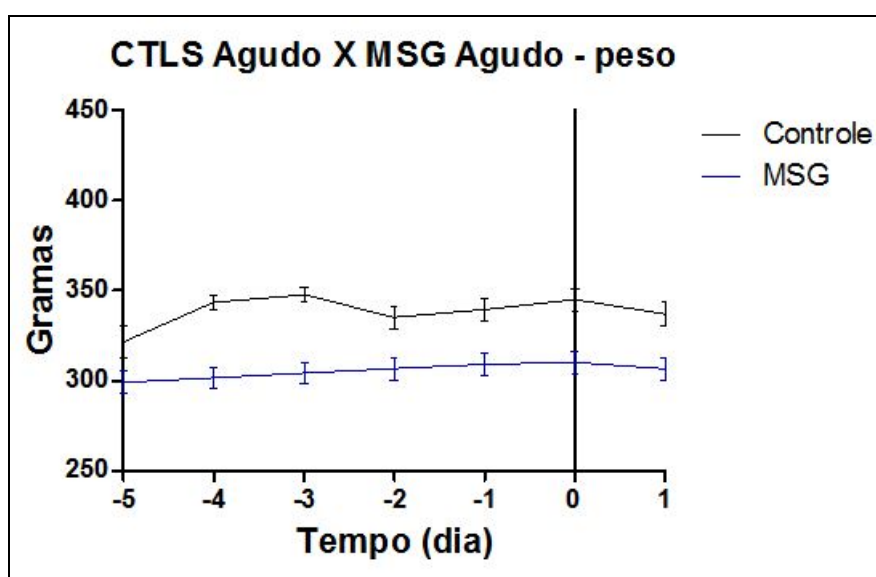
4.3.2 Experimento Agudo

Os animais do grupo MSG submetidos ao protocolo de experimento agudo apresentaram valores maiores de PA basais quando comparados aos

controles submetidos a este mesmo protocolo. Assim, os animais MSG foram considerados hipertensos neste protocolo. Os valores de FC basais não diferiram significativamente entre os grupos.

A perda de peso corporal no experimento agudo não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Ambos os animais MSG e Controles apresentaram perda de peso no dia seguinte aos procedimentos cirúrgicos (Figura 13).

Figura 13 - Evolução do peso corporal no Experimento Agudo. Os dois procedimentos cirúrgicos foram realizados conjuntamente no dia 0, e foi observada a perda de peso corporal logo no dia seguinte, conforme pode ser visto no gráfico. CTLS – grupo controle salina, MSG – grupo modelo de obesidade por glutamato monossódico. Para a análise estatística foi utilizado *two-way* ANOVA, com pós-teste *Bonferroni* com valor de $p < 0.05$. Os * marcam os resultados estatisticamente significantes.



4.3.3 Experimento Crônico x Experimento Agudo

A partir destes dados preliminares, mostrados nas Figuras 12 e 13, padronizamos todos os experimentos no protocolo agudo, considerando que os animais que passaram por este protocolo apresentavam valores basais de PA e FC mais próximos dos valores normais inerentes aos animais, ou seja, mais próximos

dos valores de PA e FC que os animais provavelmente apresentavam antes da realização de qualquer procedimento cirúrgico.

Notavelmente, os animais MSG submetidos ao protocolo de experimento crônico apresentaram perda de peso corporal significativa, fato que pode estar relacionado com redução dos valores basais de PA apresentados por esses animais, considerando que os animais MSG que passaram pelo experimento agudo e tiveram seus parâmetros cardiovasculares basais registrados no dia seguinte aos procedimentos cirúrgicos apresentaram PA mais alta e perda de peso semelhante aos animais do grupo Controle.

A Tabela 3 apresenta um resumo dos dados preliminares obtidos nos protocolos de experimento crônico e agudo, para fins de comparação.

Tabela 3 - Comparação de parâmetros do experimento crônico e experimento agudo.

	EXPERIMENTO CRÔNICO		EXPERIMENTO AGUDO	
	CTR (n=13)	MSG (n=13)	CTR (n=13)	MSG (n=13)
PAM	108.9 ± 1.60	107.5 ± 2.41	111.7 ± 1.61	118.6 ± 1.12 *
FC	349.8 ± 6.66	364.4 ± 11.40	342.2 ± 7.18	361.2 ± 9.35
GT	5.902 ± 0.36	13.74 ± 0.75 *	7.970 ± 0.56	15.28 ± 0.58 *
% Gordura	1.637 ± 0.08	4.617 ± 0.22 *	2.178 ± 0.15	5.023 ± 0.18 *
Perda de Peso	5.385 ± 2.10	24.46 ± 2.66 *	6.538 ± 1.19	5.000 ± 0.78
% Perda de Peso	1.437 ± 0.54	7.637 ± 0.81 *	1.751 ± 0.32	1.610 ± 0.26

CTR: Grupo Controle; PAM: pressão arterial média; FC: frequência cardíaca; GT: Gordura Total; % gordura: % gordura corporal; Perda de Peso: peso que o animal perdeu no intervalo do primeiro ato cirúrgico até o dia do registro; %perda de peso: % de peso corporal perdida em relação ao peso do animal antes do primeiro ato cirúrgico. Note que não há perda de peso significativa entre os grupos no experimento agudo. Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados).

4.4 EFEITOS CARDIOVASCULARES À MICROINJEÇÃO DE DROGAS NO PVN

Para a análise das alterações cardiovasculares causadas pela microinjeção de drogas no PVN, foi calculada a variação do parâmetro analisado, PA ou FC (valor Δ), considerando o pico máximo de variação (para mais ou para menos)

obtido após a microinjeção da droga, em relação aos valores basais registrados. Os valores basais foram rotulados de valores “pré-droga”, e o pico máximo de resposta obtida após a microinjeção da droga foi chamado de “pós-droga”.

Assim, as análises foram realizadas baseadas na alteração máxima dos parâmetros cardiovasculares evocada pela microinjeção de uma determinada droga no PVN.

4.4.1 Bicuculina

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos para os valores de ΔPA (mmHg) e ΔFC (bpm) obtidos nos animais em que foi microinjetado um antagonista gabaérgico seletivo $GABA_A$ no PVN. Os valores de Δ obtidos foram positivos (ocorreu aumento de PA e FC nos animais). As Figuras 14 e 15 e a Tabela 4 resumizam os resultados obtidos para os grupos nos quais foi microinjetada a Bicuculina.

Figura 14 – Registro Cardiovascular de um animal MSG antes e após a microinjeção de Bicuculina.

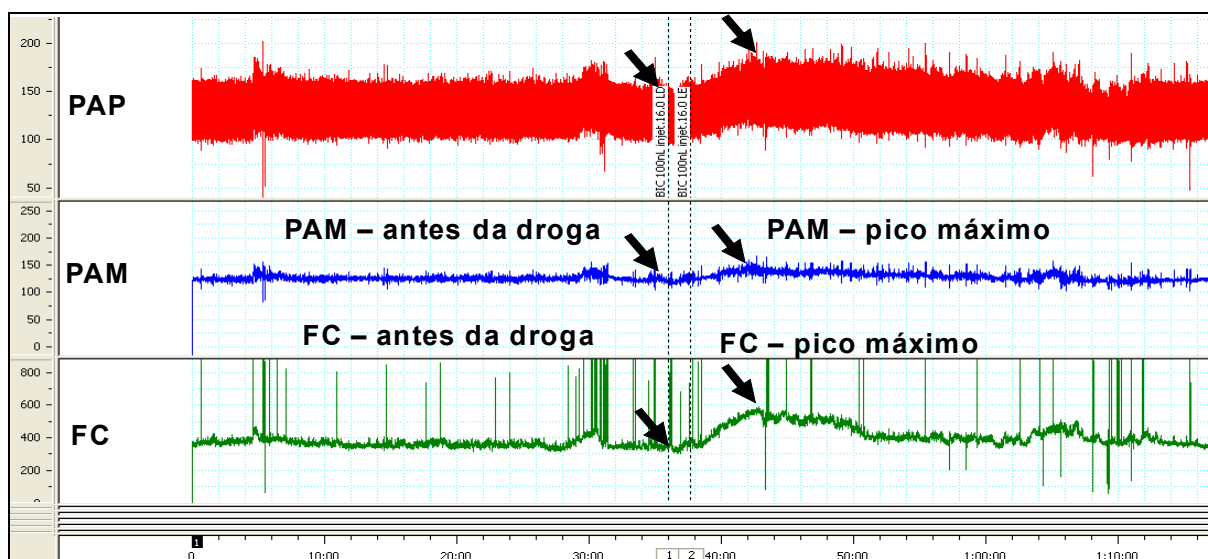
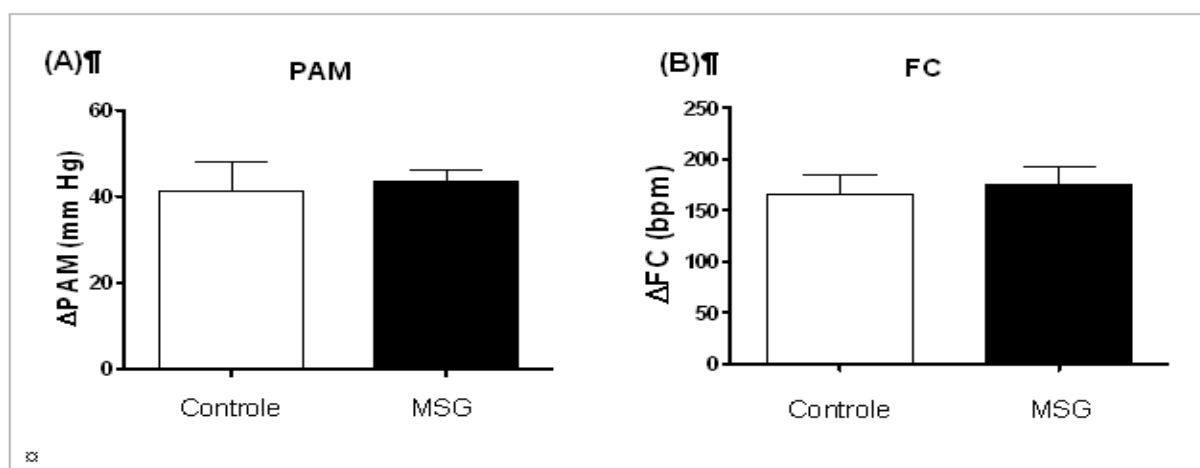


Tabela 4 – Efeitos da microinjeção de bicuculina no PVN sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos acordados.

REGISTRO-BASAL		
	CTR-SALINA-(n=6)	MSG-(n=6)
PAM	110±2.74*	118.2±1.11.*
FC	342.8±6.59*	343.6±7.72*
APOS-BICUCULINA		
Δ PA-(mmHg)	41.27±6.90*	43.51±2.53*
Δ FC-(bpm)	165.3±19.48*	175.7±17.27*

PAM: pressão arterial média em mmHg; FC: frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm).
 Δ PA e Δ FC: Variação máxima da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), respectivamente. Análise estatística por teste *t* Student não pareado.
 Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05.

Figura 15 - Variação máxima da PAM (A) e da FC (B) após a microinjeção de bicuculina no PVN. Análise estatística por teste *t* Student não pareado. n=6 para ambos os grupos. * p<0,05.



4.4.2 Muscimol

Nos animais em que foi microinjetada uma droga com efeito diretamente oposto à bicuculina, o Muscimol (agonista gabaérgico GABA_A), os animais do grupo MSG apresentaram maior Δ PA quando comparados com o grupo

Controle; contudo, não houve diferença significativa estatisticamente quanto aos valores de ΔFC .

A Figura 16 e 17 resumam os resultados obtidos nos grupos Muscimol, juntamente com a Tabela 5.

Figura 16 – Registro Cardiovascular de um animal MSG antes e após a microinjeção de Muscimol.

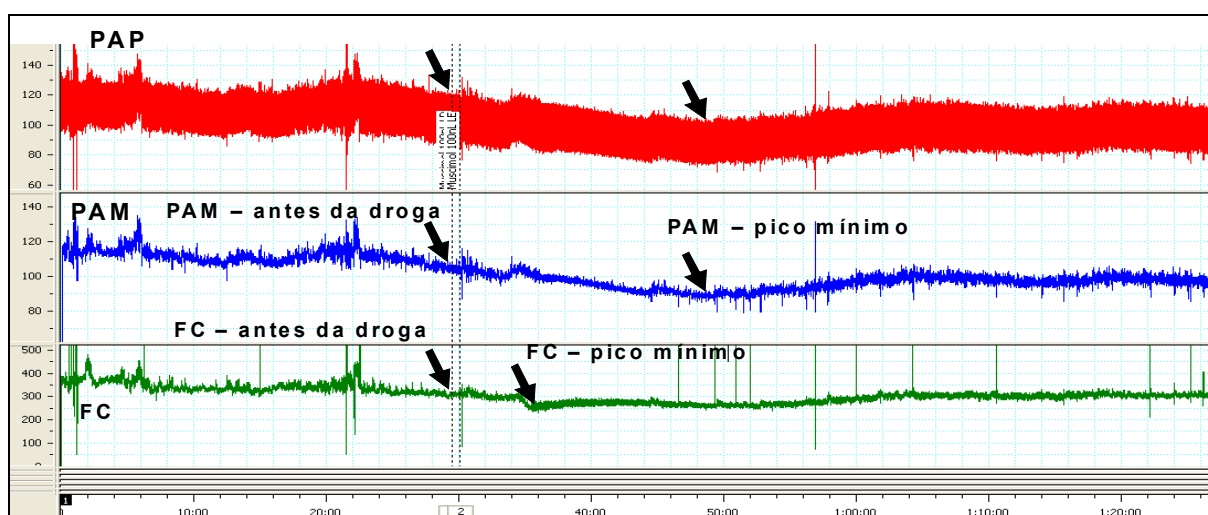
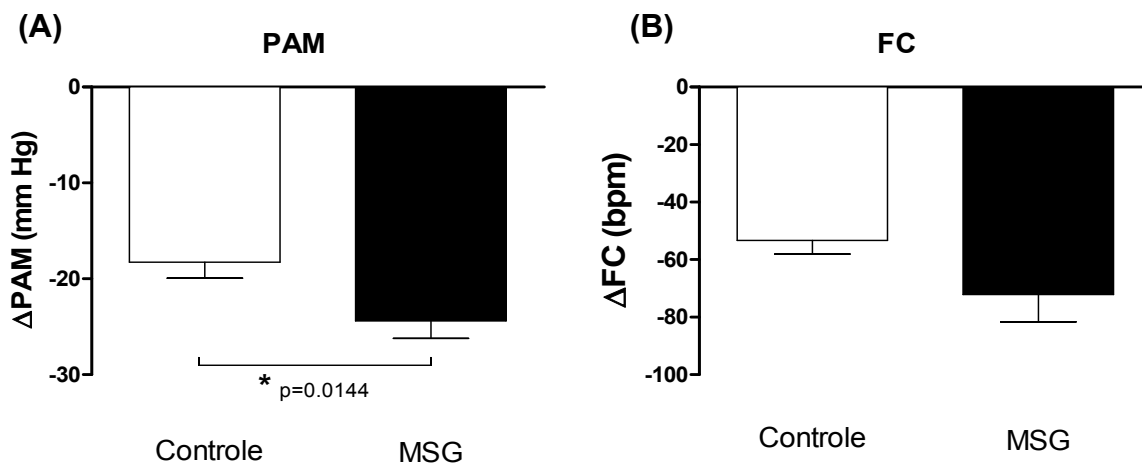


Tabela 5 - Efeitos da microinjeção de muscimol no PVN sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos acordados.

REGISTRO-BASAL		
	CTR-SALINA-(n=7)	MSG-(n=7)
PAM	113.2 ± 1.88	119.0 ± 1.93.*
FC	341.6 ± 12.67	376.4 ± 14.12.*
APÓS-MUSCIMOL		
ΔPA (mmHg)	-18.26 ± 1.67	-24.40 ± 1.82.*
ΔFC (mmHg)	-53.29 ± 4.78	-72.13 ± 9.51

PAM: pressão arterial média em mmHg; FC: frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm). ΔPA e ΔFC : Variação máxima da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC), respectivamente. Análise estatística por teste *t* Student não pareado. Valores expressos como média ± EPM. * $p < 0,05$ (Valor realçado)

Figura 17 - Variação máxima da PAM (A) e da FC (B) após a microinjeção de bicuculina no PVN. Análise estatística por teste *t* Student não pareado. N=7 para ambos os grupos. * $p < 0,05$



4.5 ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE

Os componentes da Análise Espectral dos registros cardiovasculares, no domínio da frequência, que foram avaliados são os seguintes:

- Variabilidade;
- Componente de Baixa Frequência (LF), correspondente ao sistema simpático;
- Componente de Alta Frequência (HF), correspondente ao sistema parassimpático;
- LF e HF normalizados;
- Razão LF/HF.

Foram analisados o registro basal e o registro pós-droga, tanto para a pressão arterial quanto para intervalo de pulso, para todos os grupos.

4.5.1 Bicuculina

A modulação do sistema nervoso autônomo pela análise espectral da pressão arterial e frequência cardíaca em resposta a bicuculina em ratos MSG

mostrou que a variabilidade está diminuída no período basal para a pressão arterial sistólica e aumentado no período pós-droga para o intervalo de pulso quando comparado com o grupo controle salina.

O componente LF absoluto no grupo MSG está diminuído e o HF absoluto está aumentado no período pós-droga para o intervalo de pulso quando comparado com o grupo controle salina. Para o componente LF normatizado apresenta-se diminuído para o grupo MSG no período basal e pós-droga para o intervalo de pulso, aumentado no período pós-droga para a pressão arterial sistólica quando comparado com o grupo controle salina. Em relação ao componente HF normatizado encontra-se aumentado para grupo MSG no período basal e pós droga para o intervalo de pulso, diminuído no período pós droga para a pressão arterial quando comparado com o grupo controle salina. A relação LF/HF mostrou-se diminuída para o grupo MSG no período basal e pós-droga para o intervalo de pulso, aumentado no período pós droga para a pressão arterial sistólica quando comparado com o grupo controle salina.

A análise espectral da frequência cardíaca não apresenta diferença estatística na análise no intervalo de pulso no período basal entre os grupos, porém encontra-se diminuída para o grupo MSG, quando comparado com o grupo controle salina no período pós-droga.

Tabela 6 - Parâmetros espectrais da Pressão Arterial Sistólica antes e após a microinjeção de bicuculina no PVN.

PARÂMETROS	PERÍODO-BASAL		PÓS-BICUCULINA	
	CONTROLE (n=6)	MSG (n=6)	CONTROLE·(n=6)	MSG (n=6)
Variabilidade·(mmHg ²)	13.41 ± 1.48*	8.26 ± 1.08**	23.65 ± 1.71**	23.16 ± 1.61 ^d *
LF(mmHg ²)	8.53 ± 1.07*	7.79 ± 2.81*	15.41 ± 1.66**	17.42 ± 1.13 ^D *
LFun	79.12 ± 1.91*	79.07 ± 1.16*	77.27 ± 3.46**	86.98 ± 1.34 ^{b,d} *
HF(mmHg ²)	2.09 ± 0.31*	2.07 ± 0.49*	4.40 ± 0.80*	3.72 ± 0.45 ^d *
HFun	20.88 ± 1.91*	20.77 ± 1.23*	22.73 ± 3.46*	13.02 ± 1.34 ^{b,d} *
LF/HF	4.41 ± 0.69*	3.73 ± 1.00*	4.04 ± 0.73*	5.08 ± 0.69*

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;
 HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;
 LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal).
 Análise estatística por teste *t* Student não pareado.
 Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

- a** – teste t-student não pareado controle basal vs MSG basal, VAR p=0.0092.
b – teste t-student não pareado Controle pós-droga vs MSG pós-droga, LF norm p=0.0129; HF norm p=0.0128.
c – teste t-student pareado Controle Basal vs Controle pós-droga, VAR p=0.0002; LF p=0.0019; HF p=0.0223.
d – teste t-student pareado MSG basal vs MSG pós-droga, VAR p=0.0005; LF p= 0.0147; LF norm p=0.0076; HF p=0.0079; HF norm p=0.0091.

Tabela 7 - Parâmetros espectrais do Intervalo de Pulso antes e após a microinjeção de bicuculina no PVN.

PARÂMETROS	PERÍODO-BASAL		PÓS-BICUCULINA	
	CONTROLE (n=6)	MSG (n=6)	CONTROLE (n=6)	MSG (n=6)
Variabilidade (ms ²)	15.17 ± 1.27*	13.71 ± 0.76*	18.62 ± 2.09*	30.46 ± 3.71 ^{b,d} *
LF (ms ²)	3.09 ± 0.36*	1.35 ± 0.54 ^a *	8.02 ± 1.81 ^c *	2.39 ± 0.43 ^{b,d} *
LFun	32.73 ± 1.18*	24.28 ± 2.13 ^a *	68.77 ± 2.89 ^c *	14.30 ± 2.83 ^{b,d} *
HF (ms ²)	5.78 ± 0.64*	5.66 ± 0.67*	3.43 ± 0.51 ^c *	15.31 ± 1.6 ^{b,d} *
HFun	67.27 ± 1.18*	75.71 ± 2.13 ^a *	31.23 ± 2.89 ^c *	85.70 ± 2.83 ^{b,d} *
LF/HF	0.55 ± 0.07*	0.25 ± 0.08 ^a *	2.33 ± 0.27 ^c *	0.17 ± 0.04 ^b *

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;

HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;

LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal).

Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

- a** – teste t-student não pareado controle basal vs MSG basal LF p= 0.0113; LF norm p=0.0030; HF norm p=0.0030; LF/HF p=0.0104.
b – teste t-student não pareado controle pós-droga vs MSG pós-droga, VAR p=0.0098; LF p=0.0065; LF norm p<0.0001; HF p<0.0003; HF norm p<0.0001; LF/HF p<0.0001.
c – teste t-student pareado controle basal vs controle pós-droga, LF p=0.0183; LF norm p<0.0001; HF p=0.0228; HF norm p<0.0001; LF/HF p=0.0003.
d – teste t-student pareado MSG basal vs MSG pós-droga, VAR p=0.0029; LF p= 0.0186; LF norm p=0.0094; HF p= 0.0025; HF norm p=0.0093.

Tabela 8 - Bicuculina - Parâmetros espectrais com os valores da variação do período basal e pós-droga, para a Pressão arterial sistólica e Intervalo de Pulso.

BICUCULINA \square				
DELTA \square				
\square	SAP (mmHg 2) \ast		PI (ms 2) \ast	
PARAMETROS \square	CONTROLE \uparrow (n=6) \square	MSG \uparrow (n=6) \square	CONTROLE (n=6) \square	MSG \uparrow (n=6) \square
Variabilidade \square	10.25 \pm 1.15 \ast	14.90 \pm 2.12 \ast	3.45 \pm 3.04 \ast	16.76 \pm 3.65 \ast
LF \square	6.88 \pm 1.35 \ast	9.62 \pm 3.18 \ast	4.93 \pm 1.74 \ast	1.05 \pm 0.37 \ast
LFun \square	-1.86 \pm 4.55 \ast	7.92 \pm 2.19 \ast	36.04 \pm 2.47 \ast	-9.99 \pm 2.91 \ast
HF \square	2.31 \pm 0.87 \ast	1.65 \pm 0.46 \ast	-2.36 \pm 0.89 \ast	9.65 \pm 2.02 \ast
HFun \square	1.86 \pm 4.56 \ast	-7.75 \pm 2.24 \ast	-36.04 \pm 2.47 \ast	10.00 \pm 2.91 \ast
LF/HF \square	-0.37 \pm 1.00 \ast	1.35 \pm 0.69 \ast	1.77 \pm 0.23 \ast	-0.08 \pm 0.08 \ast

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;

HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;

LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal);

SAP: pressão arterial sistólica;

PI: intervalo de pulso.

Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média \pm EPM. \ast p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

a – teste t-student não pareado para valores de variação controle vs valores de variação MSG, parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica - SAP, VAR p=0.0005; LF p= 0.0147; LF norm p=0.0408; HF norm p=0.0437.

b – teste t-student não pareado para valores de variação controle vs valores de variação MSG, parâmetros espectrais da frequência cardíaca – PI, VAR p=0.0094; LF p=0.0271; LF norm p<0.0001; HF p=0.0001; HF norm p<0.0001; LF/HF p<0.0001.

4.5.2 Muscimol

A modulação do sistema nervoso autonômico pela análise espectral em resposta ao muscimol no grupo MSG mostrou que o LF absoluto está aumentado, o HF absoluto diminuído, o LF normatizado aumentado, o HF normatizado diminuído e a relação LF/ HF aumentada no período pós-droga para o intervalo de pulso quando comparado com o grupo controle salina. A frequência cardíaca não apresenta diferença estatística na análise no intervalo de pulso no período basal e pós-droga entre os grupos MSG e controle salina.

Tabela 9 - Parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica antes e após a microinjeção de muscimol no PVN.

PARÂMETROS	PERÍODO-BASAL		POS-MUSCIMOL	
	CONTROLE (n=7)	MSG (n=7)	CONTROLE (n=7)	MSG (n=7)
Variabilidade (mmHg ²)	17.26 ± 5.10	13.25 ± 3.34*	18.37 ± 9.49*	10.02 ± 2.07*
LF (mmHg ²)	4.45 ± 0.32*	4.03 ± 0.58*	8.06 ± 1.79 ^c *	7.20 ± 1.71 ^d *
LF-um	70.11 ± 1.82*	62.70 ± 4.30*	81.06 ± 4.48*	72.62 ± 2.73 ^d *
HF (mmHg ²)	1.93 ± 0.23*	2.31 ± 0.29*	1.54 ± 0.21 ^c *	2.50 ± 0.25 ^b *
HF-um	29.89 ± 1.82*	37.30 ± 4.30*	18.51 ± 4.18 ^c *	28.24 ± 2.66 ^{b,d} *
LF/HF	2.42 ± 0.20*	2.02 ± 0.54*	5.95 ± 1.37 ^c *	2.77 ± 0.41 ^b *

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;

HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;

LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal).

Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

a – teste t-student não pareado controle basal vs MSG basal.

b – teste t-student não pareado Controle pós-droga vs MSG pós-droga, HF p=0.0063; HF norm p=0.0366; LF/HF p=0.232.

c – teste t-student pareado Controle Basal vs Controle pós-droga, LF p=0.0427; LF norm p=0.0453; HF norm p=0.0342; LF/HF p=0.0217.

d – teste t-student pareado MSG basal vs MSG pós-droga, LF p=0.0421; LF norm p=0.0430; HF norm p=0.456.

Tabela 10 - Parâmetros espectrais do Intervalo de Pulso antes e após a microinjeção de muscimol no PVN.

PARAMETROS	PERÍODO-BASAL		POS-MUSCIMOL	
	CONTROLE (n=7)	MSG (n=7)	CONTROLE (n=7)	MSG (n=7)
Variabilidade (ms ²)	10.26 ± 1.40*	20.54 ± 3.14 ^a *	17.23 ± 2.08 ^c *	8.00 ± 1.45 ^{b,d} *
LF (ms ²)	2.72 ± 0.39*	3.91 ± 0.94*	0.99 ± 0.14 ^c *	2.013 ± 0.57 ^d *
LF-um	34.60 ± 3.94*	32.34 ± 3.78*	11.95 ± 1.73 ^c *	36.18 ± 3.30 ^b *
HF (ms ²)	5.12 ± 0.69*	7.39 ± 1.11*	7.42 ± 0.46 ^c *	3.20 ± 0.64 ^{b,d} *
HF-um	65.40 ± 3.94*	67.66 ± 3.78*	88.05 ± 1.73 ^c *	63.82 ± 3.30 ^b *
LF/HF	0.57 ± 0.08*	0.50 ± 0.07*	0.14 ± 0.02 ^c *	0.60 ± 0.09 ^b *

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;

HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;

LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal).

Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

- a – teste t-student não pareado controle pós-droga vs MSG pós-droga, VAR p=0.0056.
 b – teste t-student pareado controle basal vs controle pós-droga, VAR p=0.0017; LF norm p<0.0001; HF p<0.0001; HF norm p<0.0001; LF/HF p=0.0001.
 c – teste t-student pareado MSG basal vs MSG pós-droga, VAR p=0.0336; LF p=0.0400; HF p=0.0031.
 d – teste t-student não pareado delta controle vs delta MSG, VAR p= 0.0029; LF p=0.0005; HF p=0.0116; HF norm p=0.0005; LF/HF p=0.0048.

Tabela 11 - Muscimol - Parâmetros espectrais com os valores da variação do período basal e pós-droga, para a Pressão arterial sistólica e Intervalo de Pulso.

MUSCIMOL □				
DELTA □				
□	SAP·(mmHg ²)※		PI·(ms ²)※	
PARÂMETROS □	CONTROLE † (n=6) □	MSG † (n=6) □	CONTROLE·(n=6) □	MSG † (n=6) □
Variabilidade □	1.10 ± 10.80※	-3.24 ± 3.37※	6.97 ± 3.12※	-12.54 ± 3.00 ^a ※
LF □	3.61 ± 1.75※	3.17 ± 1.54※	-1.73 ± 0.33※	-1.90 ± 0.90※
LFun □	10.96 ± 5.44※	9.92 ± 4.83※	-22.65 ± 3.48※	3.84 ± 4.71 ^a ※
HF □	-0.38 ± 0.22※	0.19 ± 0.22 ^a ※	2.31 ± 0.63※	-4.20 ± 1.01 ^a ※
HFun □	-11.39 ± 5.13※	-9.06 ± 4.51※	22.65 ± 3.48※	-3.84 ± 4.71 ^a ※
LF/HF □	3.53 ± 1.38※	0.75 ± 0.59 ^a ※	-0.43 ± 0.007※	0.09 ± 0.11 ^a ※

LF: faixa de baixa frequência absoluta; LFun: faixa de baixa frequência normalizada;
 HF: faixa de alta frequência absoluta; HFun: faixa de alta frequência normalizada;
 LF/HF: razão entre LF e HF (indica o balanço simpato-vagal);
 SAP: pressão arterial sistólica;
 PI: intervalo de pulso

Análise estatística por teste *t* Student não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 (Valores realçados em vermelho).

- a – teste t-student não pareado para valores de variação controle vs valores de variação MSG, parâmetros espectrais da pressão arterial sistólica - SAP, HF p= 0.0457; LF/HF p=0.444.
 b – teste t-student não pareado para valores de variação controle vs valores de variação MSG, parâmetros espectrais da frequência cardíaca - PI, VAR p=0.0004; LF norm p=0.0004; HF p<0.0001; HF norm p=0.0004; LF/HF p=0.0010.

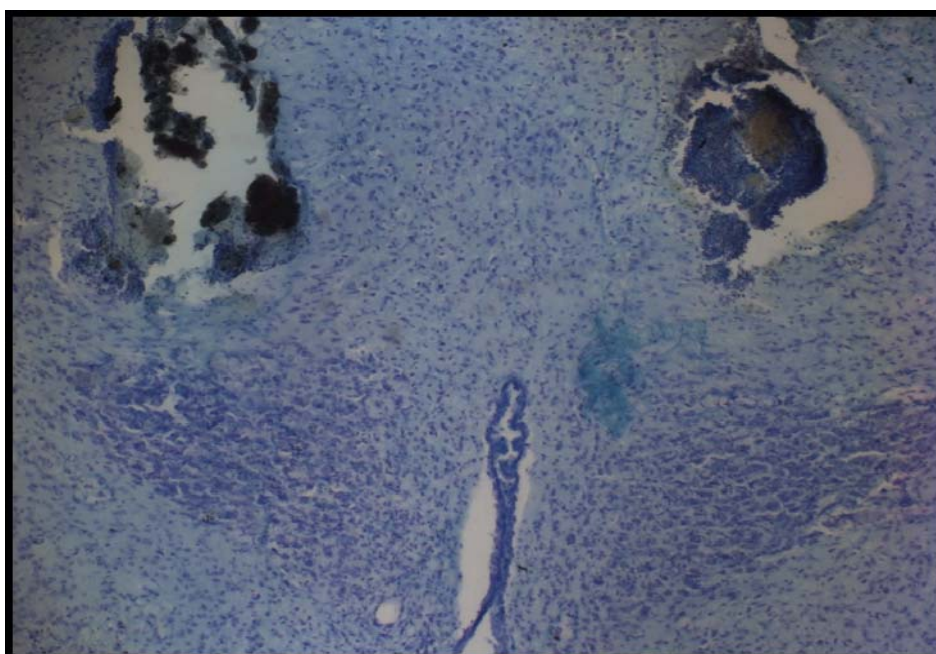
4.6 HISTOLOGIA

Na análise histológica foram avaliados os cérebros de todos os animais que foram submetidos aos protocolos experimentais, e foram identificados os sítios de microinjeção de cada animal individualmente. A Figura 18 ilustra uma lâmina histológica do cérebro de um animal MSG, na qual pode ser observado o

PVN (região em azul mais escuro) e os dois sítios de microinjeção das drogas ou salina.

Todos os animais que apresentaram sítios de microinjeção localizados fora da área do PVN, ou com interpretação duvidosa quanto à localização do sítio de microinjeção, foram descartados da análise estatística e seus resultados não foram considerados.

Figura 18 – Lâmina histológica do encéfalo de um rato adulto modelo MSG, corada para localização do sítio da microinjeção bilateral no PVN. Observe o PVN corado em azul mais escuro na parte inferior da imagem, e os dois sítios de microinjeção logo acima do PVN.



4.7 ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL

Os resultados de atividade simpática do nervo renal mostraram que o grupo MSG apresenta atividade simpática renal aumentada em relação ao Grupo Controle.

Diferentemente dos demais experimentos realizados neste trabalho, para a determinação da atividade simpática renal foram utilizados ratos anestesiados. Os parâmetros cardiovasculares avaliados (PA e FC) nos animais deste experimento mostraram que o valor da PA no grupo MSG está aumentado

quando comparado com o Grupo Controle. Não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos valores de FC entre os grupos (Tabela 12).

Tabela 12 - Valores da Atividade Simpática do Nervo Renal (ASNR), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) registrados em ratos controle e obesos MSG anestesiados.

☼	CONTROLE (n=10)☼	MSG (n=10)☼
ASNR☼	72.01 ± 6.42☼	94.48 ± 7.75 · *☼
PAM☼	90.00 ± 3.65☼	110.4 ± 8.25 · *☼
FC☼	363.7 ± 14.65☼	392.6 ± 16.45☼

ASNR: Atividade Simpática do Nervo Renal expressa em counts/10min bin; PAM: pressão arterial média em mmHg; FC: frequência cardíaca expressa em bpm. Análise Estatística por teste *t'* *Student* não pareado.

Valores expressos como média ± EPM. * p<0.05.

4.8 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

4.8.1 Campo Aberto

Conforme pode ser observada na Tabela 13, os animais MSG apresentaram, em relação ao grupo controle, redução significativa dos comportamentos de locomoção e de levantar e aumento do tempo de limpeza. Ainda mais, também apresentaram menor tempo na área interna da arena e maior tempo na área externa.

Tabela 13 - Análise do comportamento no teste de campo aberto.

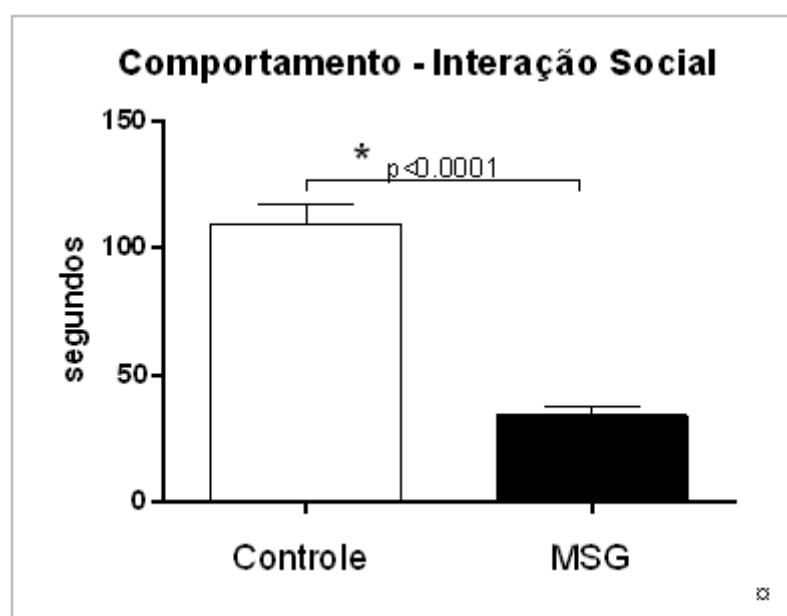
PARAMETRO□	CONTROLE·(n=14)□	MSG·(n=16)□
Locomoção·(número)□	36.4±2.5*	27.6±2.6·**
Levantar·(número)□	13.6±1.3*	8.9±1.0·**
Limpeza·(segundos)□	4.8±1.5*	9.6±1.9·**
Defecação·(número)□	2.4±0.6*	1.5±0.4·*
Locomoção·interna·(segundos)□	7.7±1.5*	3.4±1.5·**
Locomoção·externa·(segundos)□	155.8±2.4*	166.6±2.3·**

Valores expressos como média ± EPM. *p<0,05 em relação ao grupo controle (teste *t* de *Student* não pareado).

4.8.2 Interação Social

No teste de interação social, os ratos MSG apresentaram menor tempo de interação social em relação ao grupo controle (Figura 19).

Figura 19 – Análise do comportamento no teste de interação social. Valores expressos como média ± EPM de 14 (Controle) a 16 (MSG) animais por grupo. *p<0,05 em relação ao grupo controle (teste *t* de *Student* não pareado).



5 DISCUSSÃO

O presente trabalho vem à primeira instância confirmar o que já tem sido apresentado pela literatura sobre o modelo de obesidade pela administração de MSG. Os animais que receberam MSG nos primeiros cinco dias de vida apresentaram alteração em seu desenvolvimento quanto ao crescimento sendo notável seu menor tamanho, com conseqüente peso corporal reduzido desde o início ao fim do período de experimentação. Apesar dos animais obesos MSG não apresentarem um aumento no peso corporal, tiveram sim um aumento da gordura visceral. Essas alterações parecem estar relacionadas com uma menor secreção do hormônio de crescimento (ROMAGNANO et al., 1982), resultando na redução do comprimento do corpo e atrofia da hipófise, gônadas e nervos ópticos (ZELEZNÁ et al., 2008). O aumento da gordura corporal, apresentada pelos ratos obesos MSG, sem aumento do peso corporal, pode ser explicada por uma menor taxa metabólica e não por elevada ingestão de alimento que geralmente é observado em outros modelos de obesidade (ZELEZNÁ et al., 2008; MALETÍNSKÁ et al., 2006).

Além do fato dos ratos obesos MSG apresentarem alteração quanto ao crescimento corporal, nosso trabalho verificou uma alteração do tamanho do encéfalo do animal, sendo seu tamanho menor nos parâmetros ântero-posterior e dorso-ventral quando comparado aos animais controle. Esses achados foram importantes para a realização de ajustes das coordenadas anteriormente utilizadas, obtidas pelo atlas Paxinos e Watson (1986) para a implantação das cânulas de microinjeção direcionadas para o PVN.

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório com os animais acordados demonstraram que a administração de MSG no período neonatal em ratos, além da obesidade, ocasiona um nível moderado de hipertensão na idade adulta (CUNHA et al., 2010). Trabalhos realizados por VOLTERA e colaboradores (2008) não mostraram diferenças quanto à pressão arterial média (PAM) em animais MSG, quando a aferição da pressão arterial foi realizada por método indireto através da mensuração por manguito na cauda; porém, quando a aferição da PAM foi realizada por método direto, mas com os animais anestesiados, o grupo MSG apresentou-se hipertenso. Nosso estudo realizou a coleta dos parâmetros cardiovasculares através da mensuração direta em ratos acordados e também anestesiados.

No trabalho de Cunha e colaboradores (2010) os ratos com obesidade MSG apresentaram uma PAM superior quando comparada com os animais controle salina, o que sugere a relação entre síndrome metabólica e hipertensão arterial. Estudos nesta área têm demonstrado que existem fatores que corroboram para o desenvolvimento do quadro hipertensivo em indivíduos obesos como o acúmulo de ácidos graxos livres e atenuação da sinalização da insulina (HIROSUM, 2002; GAO, 2004; NGUYEN, 2005; BANDYOPADHYAY, 2005). A literatura aponta para uma relação entre obesidade o aumento da expressão de P85 α , uma subunidade regulatória da enzima PI-3-kinase, competindo pelo sítio de ligação da mesma com IRS-1 prejudicando a translocação de transportadores de glicose (GLUT-4) para a membrana das células (DRAZNIN, 2006), e há também uma relação entre a quantidade dos adipócitos e a produção de citocinas inflamatórias, espécies reativas de oxigênio e concentração plasmática de leptina associadas à elevação da pressão arterial média (MATHIEU et al., 2009; MORRIS, 2008; LOPES, 2007; ANEJA et al., 2004).

Não foi observada a presença de hipertensão nos animais obesos MSG em repouso, que foram submetidos ao protocolo experimental crônico utilizado no início deste trabalho. Este fato nos levou a investigação das possíveis causas da ausência da hipertensão nestes animais em comparação aos achados de nosso próprio laboratório (CUNHA et al., 2010), que diferiam do presente protocolo por não realizar a cirurgia estereotáxica para implante de cânulas direcionadas ao PVN. Assim, neste trabalho foi observado que os animais MSG apresentavam perda de peso durante o período de recuperação entre os dois procedimentos cirúrgicos, o que poderia ser a causa da ausência de hipertensão nesses animais, visto que o tecido adiposo secreta hormônios que interferem diretamente em patologias cardiovasculares (RUMANTIR et al., 1999; CIANFLONE et al., 1994). Há evidências de que a leptina promove aumento da atividade simpática (HALL, 2001), portanto com a diminuição de gordura corporal, conseqüentemente há diminuição da secreção de leptina o que poderia ser responsável pela menor ativação do sistema simpático e justificaria a ausência de hipertensão encontrada nesses animais.

Em trabalho similar ao nosso, Chen e colaboradores (2010) observaram que animais obesos anestesiados são normotensos quando comparados com os animais controle, utilizando o modelo por dieta hipercalórica. Além desse estudo outros também não relataram aumento da pressão sanguínea

(CARROLL et al., 2006). No entanto, alguns trabalhos têm observado aumento da pressão arterial, utilizando o modelo de obesidade com alto teor de gordura na alimentação (DOBRIAN et al., 2000; STOCKER et al., 2007). Esses achados sugerem que as diferentes linhagens de ratos e dietas alimentares podem contribuir para aumentar a pressão arterial de repouso.

Considerando estes fatores, o protocolo experimental com período de recuperação pós-operatório da estereotaxia de cinco dias foi denominado experimento crônico, e o período de recuperação pós-operatório da estereotaxia reduzido para um dia, foi denominado experimento agudo. Neste novo protocolo houve diferença estatística para os valores de pressão PAM em repouso quando foi comparado os obesos com o seu controle, sendo aumentada para os animais obesos MSG, porém com valores de PAM menores do que os encontrados por Cunha e colaboradores (2010). Os valores de PAM foram inversamente proporcionais à perda de gordura sofrida pelos animais submetidos ao experimento crônico, sugerindo uma relação do aumento de tecido adiposo com os níveis de PA. Os maiores valores da PAM no protocolo agudo poderiam ser resultado de maior liberação de hormônios e citocinas pelo tecido adiposo que levariam a um aumento da PA (RUMANTIR et al., 1999; CIANFLONE et al., 1994). A literatura sugere que pacientes obesos apresentam níveis elevados de renina plasmática o que leva a maiores níveis de angiotensina II, contribuindo assim para a gênese da hipertensão em pacientes obesos (HALL, 2001). Níveis elevados de ácidos graxos livres circulantes também têm demonstrado elevar a pressão arterial sanguínea e como anteriormente citado a leptina pode estar envolvida neste processo (STEPNIAKOWSKI, 1995). A literatura tem mostrado que existe uma relação da magnitude do efeito protetor para a saúde com a redução do índice de massa corpórea. Em mulheres com sobrepeso, que experimentam perda moderada de peso (>10%), encontrou-se até 20% de redução de mortalidade prematura, também associada ao controle de fatores de risco, como diabetes melito II, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (ZICCARDI et al., 2002).

A alteração da atividade neuronal do PVN pode provocar mudanças acentuadas na atividade nervosa simpática e a destruição do PVN pode atenuar ou prevenir o desenvolvimento da hipertensão arterial (EARLI et al., 1995; HERZIG et al., 1991; KANNAN et al., 1989; TAKEDA et al., 1991). Estudos sugerem que a atividade dos neurônios no PVN influencia e pode ter o potencial de contribuir para o

aumento da atividade nervosa simpática observada na obesidade (CHEN et al., 2010).

Neste estudo, os resultados das microinjeções no PVN em ratos obesos MSG acordados, utilizando o agonista de receptores GABA_A muscimol, mostrou que houve maior redução da pressão sanguínea nos ratos obesos MSG do que nos controle, o que sugere que a atividade dos neurônios no PVN dos animais obesos MSG apresenta-se aumentada em relação aos animais controle. Em relação aos resultados obtidos com a microinjeção do antagonista de receptor GABA_A bicuculina em contraste com os resultados encontrados com o muscimol, as respostas foram similares nos ratos obesos MSG e controles. Para a frequência cardíaca não foi observada diferença estatisticamente significativa para os resultados obtidos nos grupos muscimol e bicuculina em relação aos respectivos controles. Estes resultados demonstram que a modulação do PVN na regulação do sistema cardiovascular é mais expressiva nos animais obesos, e nossos resultados vieram corroborar os resultados apresentados em estudo de Chen e colaboradores (2010) com animais obesos anestesiados.

Um dado interessante em relação aos valores basais encontrados no nosso estudo é que a diferença de pressão entre os animais obesos MSG e controle salina anestesiados comparado com a mesma diferença nos animais acordados, mostrou terem valores semelhantes. Além disso, os dados basais de PAM obtidos no trabalho de VOLTERA e colaboradores (2008) em animais anestesiados são similares aos obtidos neste trabalho.

Dentro do nosso estudo foi realizada também a análise da atividade simpática do nervo renal (ASNR) nos animais com obesidade MSG e foi observado que estes animais apresentaram maior ASNR. Estudos afirmam que há relação entre a obesidade, ASNR e PA (SHIBAO et al., 2007). Eikelis et al. (2003), descreveram que pacientes obesos com hiperleptinemia apresentam atividade simpática renal aumentada e no trabalho de Young e Landsberg (1977) os autores demonstraram que os níveis plasmáticos de renina destes pacientes estavam aumentados, contribuindo para a hipertensão arterial. Estudos realizados com animais também sugerem o aumento da atividade simpática renal relacionada à obesidade e hipertensão (BARNES et al., 2003; ESLER et al., 2006; GRASSI et al., 1995, 1998; HUGGETT et al., 2004; VAZ et al., 1997). Dessa forma é possível

observar que os dados encontrados com animais obesos MSG neste estudo corroboram com os dados já apresentados pela literatura.

A análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial tem sido usada como uma ferramenta de estudo da modulação simpática para estabelecer a avaliação, o diagnóstico e o prognóstico de doenças que ocorrem devido a disfunções autonômicas, como acontece na obesidade (PAL et al., 2009). Estudos realizados utilizando análise espectral como ferramenta de avaliação, mostraram o aumento da atividade simpática em indivíduos obesos. (PASCHOAL et al., 2009; KAUFMAN et al., 2007). No entanto, nos nossos resultados não foi possível verificar essa confirmação de aumento da atividade simpática nos níveis basais nos animais obesos através da ferramenta da análise espectral. Porém, ao realizar a desinibição do PVN com a microinjeção de bicuculina, a modulação simpática aumenta mais nos animais obesos, mesmo os resultados não apresentando alterações nos níveis de pressão arterial entre controles e obesos.

No presente estudo, foi realizada análise comportamental para se verificar se os animais do modelo de obesidade induzida por MSG apresentam alterações de atividade geral e ansiedade. Corroborando estudos anteriores, os animais MSG apresentaram hipoatividade no teste de campo aberto (KLINGBERG et al., 1987; ISHIKAWA et al., 1997; ALI et al., 2000; SANCHIS-SEGURA; ARAGON, 2002). Para a realização da maioria dos testes comportamentais é necessário que os animais executem determinados comportamentos ou tarefas e, assim, alteração na atividade motora pode ser um viés na análise de outros comportamentos mais específicos. Considerando isso, escolheu-se, como modelo para avaliação da ansiedade, o teste de interação social, pois, diferentemente do teste de labirinto em cruz elevado, o teste de interação social parece sofrer menor influência de variações na atividade motora. No teste de interação, observou-se menor tempo de interação social entre animais MSG do que entre animais controles. Este dado poderia sugerir que os animais MSG são mais ansiosos do que os animais controles. Essa interpretação estaria fortalecida pela observação, no teste de campo aberto, de que animais MSG gastaram menos tempo na parte interna e maior tempo na parte externa da arena, o que também é interpretado como ansiedade. Entretanto, durante a avaliação no teste de interação social, pude-se notar que os animais MSG não pareciam ansiosos, tanto que não foi observado nenhum episódio de

comportamento agressivo entre os ratos. Nota-se, ainda, que os animais pareciam completamente desinteressados pela presença do parceiro desconhecido na arena. Assim, embora a análise quantitativa sugira que os animais MSG são ansiosos, a análise qualitativa sugere que a alteração primária nesses animais poderia ser apatia ou falta de motivação. É interessante mencionar que animais tratados com MSG tiveram comportamento prejudicado em um paradigma que avalia busca por novidade (KISS et al., 2005).

6 RESUMO

- Os animais obesos MSG possuem níveis mais altos de pressão arterial, sendo isso observado com o protocolo agudo de experimentação;
- Os animais obesos MSG possuem níveis mais altos de atividade simpática renal;
- A inibição gabaérgica pelo muscimol evidenciou uma maior atividade dos neurônios do PVN nos animais obesos MSG sobre a pressão arterial;
- A desinibição do PVN com bicuculina mostrou uma maior modulação simpática na pressão arterial sistólica pelos animais obesos MSG;
- A análise comportamental dos ratos MSG mostrou que eles são ansiosos, além de hipoativos e apáticos.

7 CONCLUSÕES

Em conjunto, os resultados deste estudo nos permitem concluir que os animais obesos MSG possuem níveis leves de hipertensão que parece ter como mecanismo envolvido, a hiperatividade do sistema nervoso simpático. É possível também que a neurotransmissão ao nível do PVN possa participar dessas alterações no sistema nervoso simpático nos animais obesos MSG.

REFERÊNCIAS

AIZAWA-ABE, M.; OGAWA, Y.; MASUZAKI, H.; EBIHARA, K.; SATOH, N.; IWAI, H.; MATSUOKA, N.; HAYASHI, T.; HOSODA, K.; INOUE, G.; YOSHIMASA, Y.; NAKAO, K. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertention. **J Clin Invest.**, v. 105, p. 1243-1252, 2000.

AKSELROD, S. GORDON, D.; MADWED, J. B.; SNIDMAN, N. C.; SHANNON, D. C.; COHEN, R.J. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. **American Journal Physiology**, v. 249, p. 867-75, 1985.

AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEL, F. A.; SHANNON, D. C.; BARGER, A. C.; COHEN, R.J. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**, v. 213, p. 220-223, 1981.

ALI, M. M.; BAWARI, M.; MISRA, U. K.; BABU, G. N. Locomotor and learning deficits in adult rats exposed to monosodium-L-glutamate during early life. **Neuroscience**, v. 84:57-60, 2000.

ALTIMIRAS, J. Understanding autonomic sympathovagal balance from short-term heart rate variations. Are we analyzing noise? **Comparative Biochemistry and Physiology**, pt. 124, p. 447-460, 1999.

ALVAREZ, G.E.; BESKE, S.D.; BALLARD, T.P.; DAVY, K.P. Sympathetic neural activation in visceral obesity. **Circulation**, v. 106, p. 2533-2536, 2002.

ANEJA, A.; EL-ATAT, F.; MCFARLANE, S. I.; SOWERS, J. R. Hypertension and Obesity. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 59, p. 169-205. 2004.

BADOER, E. Hypothalamic paraventricular nucleus and cardiovascular regulation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 28, n. 1-2, p. 95-9, 2001.

BADOER, E.; MCKINLEY, M. J.; OLDFIELD, B. J.; McALLEN, R. M. A comparison of hypotensive and non-hypotensive hemorrhage on Fos expression in spinally projecting neurons of the paraventricular nucleus and rostral ventrolateral medulla. **Brain Research**, v. 610, n. 2, p. 216-223, 1993.

BALDO, S. L.; MATHIAS, P. C.; BONFLEUR, M. L.; ALVES, H. F.; SIROTI, F. J.; MONTEIRO, O. G.; RIBEIRO, F. B.; SOUZA, A. C. Vagotomy reduces obesity in MSG-treated rats. **Research Communications in Molecular Pathology; pharmacology**, v. 108, p. 291-6. 2000.

BANDYOPADHYAY, G.K.; YU, J.G.; OFRECIO, J.; OLEFSKY, J.M. Increased p85/55/50 expression and decreased phosphatidylinositol 3-kinase activity in insulin-resistant human skeletal muscle. **Diabetes**, v.54, p.2351-2359, 2005.

BARNES, M. J.; LAPANOWSKI, K.; CONLEY, A.; RAFOLS, J. A.; JEN, K. L.; DUMBAR, J. C. High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic μ -opioid receptors. **Brain Research Bull**, v. 61, p. 511-519, 2003.

BERG, A.H.; SCHERER, P.E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 30, n.1, p. 13-19, 2005.

BERNE, R. M.; LEVI, N. Fisiologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 988.

BEZERRA, S. M. M. S.; SANTOS, C. M.; MOREIRA, E. D.; KRIEGER, E. M.; MICHELINI, L. C. Chronic AT1 receptor blockade alters autonomic balance and sympathetic responses in hypertension. **Hypertension**, v. 38, part 2, p. 569-575, 2001.

BEZERRA, S. M. M. S et al. A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 1155-1160, 2001.

BJÖRNTORP, P. Adipose tissue distribution and function. **International Journal of Obesity**, v.15, p. 67-81, 1991b.

BJORNTORP, P. Body fat distribution, insulin resistance, and metabolic diseases. **Nutrition**, v.13, p.795-803, 1997.

BJÖRNTORP, P. Metabolic implications of body fat distribution. **Diabetes Care**, v. 14, n. 12, p. 1132-1143, 1991.

BOUBADA, C.; SZABÓ, K.; TASKER, J. G. Physiological mapping of local inhibitory inputs to the hypothalamic paraventricular nucleus. **Jouranl of Neuroscience**, v. 16, n. 22, p. 7151-60, 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Saúde Brasil 2004**: uma análise da situação de saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2004.

BROWNING, R.C.; KRAN, R. Effects of obesity on the biomechanics of walking at different speeds. **Med Sci Sports Exercise**, v. 39, n. 9, p. 1632-41, 2007.

BURT, A. M. Neuroanatomia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 311.
CAMPOS, R. J.; COLOMBARI, E.; CRAVO, S.; Lopes, O. U. Hipertensão arterial: o que tem a dizer o Sistema Nervoso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 41-54, 2001.

CAPITÃO, C. G.; TELLO, R. R. Traço e estado de ansiedade em mulheres obesas. **Psicologia Hospitalar**, v. 2, n. 2, 2004.

CARROLL, J. F.; ZENEBE, W. J.; STRANGE, T. B. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 48, p. 65-72, 2006.

CHEN, F.; CAHM, J. L.; BADOER, E. High-fat feeding alters the cardiovascular role of the hypothalamic paraventricular nucleus. **American Physiological Society**, v. 298, p. 799-807, 2010.

CIANFLONE, K.; RONCARI, D. A. K.; MASLOWSKA, M.; BALDO, A.; FORDEN, J.; SHIDERMAN, A.D. The adipisin-acylation stimulating protein system in human adipocytes: regulation of triacylglycerol synthesis. **Biochemistry**, v. 33, p. 9489-95, 1994.

COMUZZIE, A. G.; CIANFLONE, K.; MARTIN, L. J.; ZAKARIAN, R.; NAGRANI, G.; ALMASY, L. et al. Serum levels of acylation stimulating protein (ASP) show evidence of a pleiotropic relationship with total cholesterol, LDL, and triglycerides and preliminary evidence of linkage on chromosomes 5 and 17 in Mexican Americans. **Obesity Research**, v. 9, p. 103, 2001.

COOTE, J. H. A role for the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the autonomic control of heart and kidney. **Experimental Physiology**, v. 90, n. 2, p. 169-73, 2005.

COOTE, J. H. Cardiovascular function of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Biological Signals**, v. 4, n. 3, p. 142-149, 1995.

COOTE, J.H.; YANG, Z.; PYNER, S.; DEERING, J. Control of Sympathetic outflows by the hypothalamic paraventricular nucleus. **Clin Esp. Pharmacol Physiology**, v. 25, p. 461-463, 1998.

CORYELL, W.; NOYES, R.; CLANCY, J. Excess mortality in panic disorder. A comparison with primary unipolar depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 39, p. 701-3, 1982.

COUTINHO, D. C.; LEÃO, M. M.; RECINE, E.; SICHIERI, R. **Condições nutricionais da população brasileira: adultos e idosos**. Brasília, 1991. (Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição, MS/INAM).

CUNHA, N. V.; DE ABREU, S. B.; PANIS, C.; GRASSIOLLI, S.; GUARNIER, F. A.; CECCHINI, R.; MAZZUCO, T. L.; PINGE-FILHO, P.; MARTINS-PINGE, M. C. Cox-2 inhibition attenuates cardiovascular and inflammatory aspects in monosodium glutamate-induced obese rats. **Life Sciences** (1973), 2010.

DA SILVA, A. A.; DO CARMO, J.; DUBINION, J.; HALL, J. E. The role of sympathetic nervous in obesity-related hypertension. **Curr Hypertens Rep.**, v. 11, p. 206-211, 2009.

DAMPNEY, R. A. L. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. **Physiological Reviews**, v. 74, n. 2, p. 323-364, 1994.

DAVY, K. P.; ORR, J. S. Sympathetic nervous system behavior in human obesity. **Neuroscience Biobehavior**, v 33, p. 116-124, 2009.

DAVY, K. P.; HALL, J. E. Obesity and hypertension: two epidemics or one? **Am J. Physiology Regul Integr Comp Physiology**, v. 286, p. 803-813, 2004.

DAWSON, R.; PELLEYMOUNTER, M. A.; MILLARD, W.; LIU, S.; EPPLER, B. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 273, p. 202-6, 1997.

DE ABREU, S. B.; LENHARD, A.; MEHANNA, A.; DE SOUZA, H. C.; DUTRA, A.C.; MORGAN, F.; HASSER, E. M.; MARTINS-PINGE, M. C. Role of paraventricular nucleus in exercise training-induced autonomic modulation in conscious rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 148, p. 28-35, 2009.

DE CARVALHO PAPA, P.; VARGAS, A. M.; DA SILVA, J. L.; NUNES, M. T.; Machado, U. F. GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated mice. **Life Sciences**, v. 71, p. 1917-28. 2002.

DECAVEL, C.; VAN DEN POL, A. N. GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 302, p.1019-1037, 1990.

DOBRIAN, A.; DAVIES, M.; PREWIT, R.; LAUTERIO, T. Development of hypertension in rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 35, p. 1009-1015, 2000.

DOLNIKOFF, M.; MARTIN-HIDALDO, A.; MACHEADO, U. F.; LIMA, F. B.; HERRERA, E. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats. **International Journal of Obesity**, v. 25, p. 426-33, 2001.

DRATCU, L.; LADER, M. Ansiedade: conceito, classificação e biologia. **Jornal Brasileiro de Psicologia**, v. 42, n. 1, p. 19-32, 1993.

DRAZNIN, B. Molecular mechanisms of insulin resistance: serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85 α . **Diabetes**, v. 55, p. 2392-2397, 2006.

DREVON, C. A. Fatty acids and expression of adipokines. **Biochim Biophys Acta**, v. 1740, n. 2, p. 287-292, 2005.

EARLI, M. L.; PITTMAN, Q. J. Involvement of the PVN and BST in IKIC hypertension in the rat. **Brain Research**, v.669, p.41-47, 1995.

EIKELIS, N.; SCHLAICH, M.; AGGARWAL, A.; KAYE, D.; ESLER, M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. **Hypertension**, v. 41, p. 1072-9, 2003.

ESLER, M.; STRAZNICKY, N.; EIKELIS, N.; MASUO, K.; LAMBERT, G.; LAMBERT, E. Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension. **Hypertension**, v. 48, p. 787-796, 2006.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J Allergy Clin Immunol**, v. 115, n. 5, p. 911-9, 2005.

FELDBERG, W.; GUERTZENSTEIN, P. G. A vasodepressor effect of pentobarbitone sodium. **Journal Physiology**, v. 224, n.1, p. 83-103, 1972.

FRASURE-SMITH, N.; LESPERENCE, F.; TALAJIC, M. The impact of negative emotions on prognosis following myocardial infarction: is it more than depression? **Health Psychol**, v. 14, n. 5, p. 388-98, 1995.

FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 83, n. 3, p. 847-50, 1998.

FRUHBECK, G.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, F. J.; BURRELL, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 280, n. 6, p. 827-47, 2001.

FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; KIHARA, S. Adiponectin as a potential key player in metabolic syndrome Insights into atherosclerosis, diabetes and cancer. **Int Congress Series**, v. 1262, p. 368-71, 2004.

GALVÃO, R.; KOHLMANN JR, O. Hipertensão arterial no paciente obeso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 9, p. 262-267, 2002.

GAO, Z.; ZHANG, X.; ZUBERI, A.; HWANG, D.; QUON, M. J.; LEFEVRE, M.; YE, J. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. **Journal Biology Chem**, v. 280, p. 35361-35371, 2004.

GARRISON, R. J.; KANNEL, W. B.; STOKES, J.; CASTELE, W. B. Incidence and precursors of hypertension in young adults: the Framingham Offspring Study. **Prev Med**, v. 16, p. 235-251, 1987.

GOLDSTEIN, B. J.; SCALIA, R. Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 89, n. 6, p. 2563-8, 2004.

GRASSI, G.; SERVALLE, G.; CATTANEO, B. M.; BOLLA, G. B.; LANFRANCHI, A.; COLOMBO, M.; GIANATTASIO, C.; BRUNANI, A.; CAVAGNINI, F.; MANCIA, G. Sympathetic activity in obese normotensive subjects. **Hypertension**, v. 25, p. 560-563, 1995.

GREKIN, R. J.; DUMONT, C. J.; VOLLMER, A. P.; WATTS, S. W.; WEBB, R. C. Mechanisms in the pressor effects of hepatic portal venous fatty acid infusion. **Am J Physiol**, v.273, p.324–330, 1997.

GUERTZENSTEIN, P. G.; SILVER, A. Further studies on the role of a bilateral chemosensitive zone on the ventral surface of the brain stem in the maintenance of arterial blood pressure. **Journal Physiology**, v. 233, n. 1, p. 27-28, 1974.

GUIMARÃES, D. E.; SARDINHA, F. A.; MIZURINI, D. M.; DARMO, M. G. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**, v. 5, n. 20, 2007.

HADDY, N.; SASS, C.; DROESCH, S.; ZAIYOU, M.; SIEST, G.; PONTHEUX, A. et al. IL-6, TNF-alpha and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the STANISLAS cohort. **Atherosclerosis**, v. 170, n. 2, p. 277-83, 2003.

HALAAS, J. L.; GAJIWALA, K. S.; MAFFEI, M.; COHEN, S. L.; CHAIT, B. T.; Rabinowitz D. et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, v. 269, n. 5223, p. 543-6, 1995.

HALL, J.E; HILDEBRANDT, D.A; KUO, J. Obesity Hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 6, p. 104-115, 2001.

HAMBLEY, J. W.; JOHNSTON, G. A. R.; SHAW, J. Alterations in a hypothalamic GABA system in the spontaneously hypertensive rat. **Neurochem. Int.**, v. 6, p. 813-821, 1984.

HART, D. J.; SPECTOR, T. D.; The relationship of obesity, fat distribution and osteoarthritis in women in the general population: the Chingford study. **Journal Rheumatology**, v. 20, n. 2, p. 331-5, 1993.

HAVEL, P. J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes**, v. 53, Suppl 1, p. 143-51, 2004.

HERZIG, T. C.; BUCHHOLZ, R. A.; HAYWOOD, J. R. Effects of paraventricular nucleus lesions on chronic renal hypertension. **American Journal Physiology Heart Circulation Physiology**, v. 261, p. 860-867, 1991.

HILL, J. O.; PETERS, J. C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science**, v. 280, p. 1371-1373, 1998.

HIRATA, A. E.; ANDRADE, I. S.; VASKEVICIUS, P.; DOLNIKOFF, M. S. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 671-4, 1997.

HIROSUMI, J.; TUNCMAN, G.; CHANG, L.; GORZUN, C. Z.; UYSAL, K. T.; MAEDA, K.; KARIN, M.; HATAMISLIGIL, G. S. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. **Nature**, v. 420, p. 333-336, 2002.

HUDSON, J. I.; HIRIPI, E.; POPE JUNIOR, H. G.; KESSLER, R. C. The prevalence and correlates of eating disorders in the National comorbidity Survey replication. **Biol Psychiatry**, v. 61, p. 348-358, 2007.

HUGGETT, R. J.; BURNS, J.; MACKINTOSH, A. F.; MARY, D. A. Sympathetic neural activation in nondiabetic metabolic syndrome its further augmentation by hypertension. **Hypertension**, v. 44, p.1-6, 2004.

HWANG I-S, Ho H.; HOFFMAN, B. B.; REAVEN, G. M. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, p. 512-516, 1987.

ISHIKAWA, K. T.; KUBO, S.; SHIBANOKI, A.; MATSUMOTO, H. Hippocampal degeneration inducing impairment of learning in rats: rats model of dementia? **Behavior Brain Research**, v. 83, p. 39-44, 1997.

JAMES, G. D.; YEE, L. S.; HARSHFIELD, G. A.; BLANK, S. G.; PICHERING, T. G. The influence of happiness, anger, and anxiety on the blood pressure of borderline hypertensives. **Psychosom Med**, v. 48, n. 7, p. 502-8, 1986.

KANNAN, H.; HAYASHIDA, Y. YAMASHITA, H. Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. *American Journal Physiology Regul. Integr Comp Physiology*, v. 256, p. 1325-1330, 1989.

KANNE, L. W. B.; D'AGOSTINO, R. B.; COBB, J. L. Effect of weight on cardiovascular disease. **Am Journal Clin Nutr**, v. 63, Suppl 3, p. 419-22, 1996.

KAUFMAN, C. L.; KAISER, D. R.; STEINBERGER, J.; KELLY, A. S.; DENGEL, D. R. Relationships of cardiac autonomic function with metabolic abnormalities in childhood obesity. **Obesity**, v. 15, p. 1164-1171, 2007.

KENNEY, M. J.; WEISS, M. L.; HAYWOOD, J. R. The paraventricular nucleus: an important component of the central neurocircuitry regulating sympathetic nerve outflow. **Acta Physiology Scand.**, v. 177, n. 1, p. 7-15, 2003.

KISS, P. A.; TAMAS, A.; LUBICS, I.; LENGVARI, M.; SZALAI, L.; SZALONTAY, I. Developmente of neurological reflexes and motor coordination in rats neonatally treated with monosodium glutamate. **Neurotox Research**, v. 8, p. 235-244, 2005.

KISSEBAH, A.; VYDELINGUM, N.; MURRAY, R.; EVANS, D.; HARTZ, A. et al. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. **Journal Clin Endocrinology Metab.**, v. 54, p. 254-60, 1982.

KISSEBAH, A. H. Central obesity: measurement and metabolic effects. **Diabetes Reviews**, v. 5, n. 1, p.8-20, 1997.

KIZER, J. S.; NEMEROFF, C. B.; YOUNGBLOOD, W. W. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. **Pharmacological Reviews**, v. 29, p. 301-18, 1978.

KLINGBERG, H. J.; BRANKACK, F. Long-term effects on behavior after postnatal treatment with monosodium-L-glutamate. **Biomed. Biochim**, v. 46, p. 705-711, 1987.

KOHLMANN JUNIOR, O.; GUIMARÃES, A. C.; CARVALHO, M. H. C.; CHAVES JUNIOR, H. C.; MACHADO, C. A.; PRAXEDES, J. N. et al. CONCENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL (CBHA), 3.. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 43, n.4, 1999.

LOPES, H. F. Hipertensão e inflamação: papel da obesidade. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.14, p. 239-244, 2007.

LUITEN, P. G.; ter HOST, G. J.; KARST, H.; STEFFENS, A. B. The course of paraventricular hypothalamic efferents to autonomic structures in medulla and spinal cord. **Brain Research**, v. 329, n. 1-2, p. 374-378, 1995.

MACHEO, L.; FICKOVA, M.; JEZOVA, R.; ZORAD, S. Late effects of postnatal administration of monossodim glutamate on insulin action in adult rats. **Physiology Research**, v. 49, p. 79-85, 2000.

MADWED, J. B.; ALBRETCHT, P.; MARK, R. G.; COHEN, R. J. Low frequency oscillations and arterial pressure and heart rate: a simple computer model. **American Journal of Physiology**, v. 256, p. 1573-9, 1989.

MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R. E.; LEE, G. H.; ZHANG, Y. et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nat Med.**, v. 1, n. 11, p. 1155-61, 1995.

MALETÍNSKÁ, L.; TOMA, R. S.; PIRNIK, Z.; DISS, A.; SLANINOVÁ, J.; HALUZIK, M.; ŽELEZNÁ, B. Effect of cholecystokinin on feeding is attenuated in monosodium glutamate obese mice. **Regulatory Peptides**, v. 136, p. 58-63, 2006.

MALINA, R.M. Regional body composition: age, sex and ethnic variation. In: ROCHE, A.F. et al. Human body composition. **Human Kinetics, Champaign, IL**, p. 217-255, 1996.

MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; CERUTTI, S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, p. 482-92, 1991.

MANSON, J. E.; COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M.J.; WILLET, W.C.; ROSNER, B.; MONSON, R. R.; SPEIFER, F. E.; HENNEKENS, C.H. A Prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 822-9, 1990.

MARK, A. L.; SHALFFER, R. A.; CORREIA, M. L.; MORGAN, D. A.; SIGMUND, C. D.; HAYNES, W. G. Contrasting blood pressure effects of obesity in leptin-deficient ob/ob mice and agouti yellow obese mice. **J Hypertens**, v. 17, p. 1949-1953, 1999.

MARTIN, D. S.; HAYWOOD, J. R. Hemodynamic responses to paraventricular nucleus disinhibition with bicuculline in conscious rats. **The American Journal of Physiology**, v. 265, n. 5, pt.2, p. 1727-1733, 1993.

MARTIN, D. S.; RODRIGO, M. C.; EGLAND, M. C.; BARNES, L. U. Disinhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus increases mean circulatory filling pressure in conscious rats. **Brain Research**, v. 756, n. 1-2, p. 106-113, 1997.

MARTINS, A. C.; SOUZA, K. L.; SHIO, M. T.; MATHIAS, P. C.; LELKES, P. I.; GARCIA, R. M. Adrenal medullary function and expression of catecholamine-synthesizing enzymes in mice with hypothalamic obesity. **Life sciences**, v. 74, p. 3211-22, 2004.

MATHIEU, P.; POIRIER, P.; PIBAROT, P.; LEMIEUX, I.; DESPRÉS, J.P. Visceral Obesity: the link among inflammation, hypertension, and cardiovascular disease. **Hypertension**, v. 53, p. 577-584. 2009.

MCALLEN, R. M.; SPYER, K. M. The location of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the medulla of the cat. **Journal Physiology**, v. 258, n.1, p.187-204, 1976.

MICHELINI, L. C. Conceitos básicos sobre a pressão arterial. In: MION, J. R. D.; OIGMAN, W.; NOBRE, F. (Ed.). MAPA Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p.1-9.

MICHELINI, L. C. Regulação a longo prazo da pressão arterial. In: AYRES, M. M. (Ed). Fisiologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008b, p. 594-604.

MICHELINI, L. C. Regulação da pressão arterial: mecanismos neuro-hormonais. In: AYRES, M. M. (Ed.). **Fisiologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008a. p. 571-593.

MIURA, M.; REIS, D. J. Cerebellum: a pressor response elicited from the fastigial nucleus and its efferent pathway in brainstem. **Brain Research**, v. 13, n. 3, p. 595-9, 1969.

MOHAMED-ALI, V.; PINKNEY, J. H.; COPPACK, S. W. adipose Tissue as an endocrine and paracrine organ. **Int. J. Obesity**, v. 22, p. 1125-33, 1998.

MONTANO, N.; GNECCHI RUSCONE, T.; PORTA, A.; LOMBARDI, F.; PAGANI, M.; MALLIANI, A. Power spectral analysis of heart rate variability assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation**, v. 90, p. 1826-1831, 1994.

MOREIRA, E. G.; NASCIMENTO, N.; ROGERO, J. R.; VASSILIEFF, V. S. Gabaergic-benzodiazepine system is involved in the crotoxin-induced anxiogenic effect. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 65, n.1, p. 7-13, 2000.

MORIN, C. L.; ECKEL, R. H.; MARCEL, T.; PAGLIASSOTTI, M. J. High fat diets elevate adipose tissue-derived tumor necrosis factor- α activity. **Endocrinology**, v. 138, n. 11, p. 4665-71, 1997.

MORRIS, M. J. Cardiovascular and metabolic effects of obesity. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 8, p. 566-70.2008.

MURIEL, D. M. A.; CAMPO, J. L. B.; DUQUE, O. B.; CUADROZ, V.P.Z.; ECHEVERRI, D. R. P.; IBÁÑEZ, L.G. et al. Estudio comparativo del nivel de ansiedad, personalidad tipo A y factores de riesgo asociados a hipertensión arterial em pacientes hipertensos y no hipertensos. **Arch Med.**; v.6, n. 13, p. 51-67, 2006.

MUZUMDAR, R.; MA, X.; YANG, X.; ATZMON, G.; BERNSTEIN, J.; KARKANIAS, G. et al. Physiologic effect of leptin on insulin secretion is mediated mainly through central mechanisms. **FASEB J.**, v.17, n.9, p.1130-2, 2003.

NGUYEN, M. T. A.; SATOH, H. FAVELYUKIS, S.; BABENDURE, J. L.; IMAMURA, T.; SBODIO, J. L.; ZALEVSKY, J.; DAHIYAT, B.; CHI, N-W.; OLEFSKY, J. M. JNK and tumor necrosis factor- α mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. **Journal Biology Chem**, v. 280, p. 35361-34371, 2005.

OHLSON, L. O.; LARSSON, B.; SVARDSUDD, K.; WELIN, L.; ERIKSON, H. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. **Diabetes**, v.34, p. 1055-1058, 1985.

OLNEY, J. W. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science**, v. 164, p. 719-21, 1969.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H. OKOMOTO, Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. **Circulation**, v. 100, n. 25, p. 2473-6, 1999.
PAGANI, M.; LOMBARD, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLD, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDROME, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; GERUTTI, S.; MALLIANA, A. Power espectral analisys of heart rate and arterial pressure variability as a marker of sympathovagal interaction in man and conscious dogs. **Circulation Research**, v. 59, p. 178-193, 1986.

PAL, G. K.; PAL, P.; NANDA, N.; AMUDHARAJ, D.; KARTHIK, S. Spectral analisys of heart rate variability (HRV) may predict the future development of essential hypertension. **Medical Hypotheses**, v. 72, p. 183-185, 2009.

PASCHOAL, M. A.; TREVISAN, P. F.; SCODELER, N. F. Variabilidade da frequência cardíaca, lipídeos e capacidade física de crianças obesas e não-obesas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, p. 239-246, 2009.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 2004.

PERELLO, M.; GAILLARD, R. C.; CHISARI, A.; SPINEDI, E. Adrenal enucleation in MSG-damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. **Neuroendocrinology**, v. 78, p. 176-84, 2003.

PERELLO, M.; GAILLARD, R. C.; CHISARI, A.; SPINEDI, E. Adrenal enucleation in MSG-damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. **Neuroendocrinology**, v.78, p.176-84, 2003.

PETRY, N.M.; BARRY, D.; PIETRZAK, R.H.; WAGNER, J.A. Overweight and obesity are associated with psychiatry disorders: Results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. **Psychosom Med.**, v. 70, p. 288-297, 2008.

PICKERING, R. P.; GRANT, B. F.; CHOU, S. P. COMPTON, W. N. Are overweight, obesity, and extreme obesity associated with psychopathology? Results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. **Journal Clinic Psychiatry**, v. 68, p. 998-1009, 2007.

PI-SUNYER, F. X. comorbidities of overweight and obesity: current evidence and research issues. **Med Science Sports Exerc.**, v. 31, suppl 11, p. 602-8, 1993.

PYNER, S.; COOTE, J.H. Identification of branching paraventricular neurons of the hypothalamus that project to the rostroventrolateral medulla and spinal cord. **Neuroscience**, v. 100, p. 549-556, 2000.

RAHMOUNI, K.; CORREIA, M.L.; HAYNES, W. G.; MARK, A. L. obesity-associated hypertention: new insights into mechanisms. **Hypertension**, v. 45, p. 9-14, 2005.

RENEHAN, A. G.; EGGER, M.; ZWAHLEN, M. Body-mass index and cancer risk: the evidence for casual association. **BMC open J. Obesity in pressure**, 2009.

RENEHAN, A. G.; TYSON, M.; EGGER, M. et al. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta analisys and prospective observational studies. **Lancet**, v. 371, p. 569-78, 2008.

ROCHA e SILVA, M. Regulação circulatória geral. In AIRES, M.M. fisiologia. Guanabara Koogan, rio de Janeiro, 447-459, 2008.

ROLAND, B. L.; SAWCHENKO, P. E. Local origins of some GABAergic projections to the paraventricula and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 332, n. 1, p. 123-43, 1993.

ROMAGNANO, M. A.; PILCHER, W. H.; BENNETT-CLARKE, C.; CHAFEL, T. L.; JOSEPH, S. A. Distribution of somatostatin in the mouse brain: effects of neonatal MSG treatment. **Brain Research**, v. 234, p. 387-98, 1982.

RUMANTIR, M. S.; VAZ, M.; JENNINGS, G. L. et al. Neural mechanism in human obesity-related hypertension. **Journal hypertension**, v. 17, p. 1125-33, 1999.

SANCHIS-SEGURA, C.; ARAGON, C. M. Consequences of monosodium glutamate or goldthioglucoase arcuate nucleus lesions on ethanol-induced locomotion. **Drugs Alcohol Depend.**, v. 68, p. 189-194, 2002.

SAPRU, H.N. Glutamate circuits in selected medullo-spinal areas regulating cardiovascular function. **Clin Exp Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 5-6, p. 491-6, 2002.

SAUL, J. P. L.; REA, R. F.; ECKBERG, D. L.; BERGER, R. D.; COHEN, R. J. Heart rate and muscle sympathetic nerve variability during reflex changes of autonomic activity. **American Journal Physiology**, v. 258, n. 3, Pt 2, p. H713-21, 1990.

SCOTT, K. M.; BRUFFAERTS, R.; SIMOM, G. E.; ALONSO, J.; ANGERMEYER, M.; de GIROLANO, G. Obesity and disorders in the general population: Results from de world mental health surveys. **Int J Obesity**, v. 32, p.192-200, 2008.
SHEK, E. W.; BRANDS, M. W.; HALL, J. E. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. **Hypertension**, v. 32, p. 376-377, 1998.

SHIBAO, C.; GAMBOA, A.; DIEDRICH, A.; ERTL, A.C.; CHEN, K.Y.; BYRNE, D.W.; FARLEY, G.; PARANJAPE, S.Y.; DAVIS, S.N.; CIAGGIONI, I. Autonomic Contribution to Blood Pressure and Metabolism in Obesity. **Hypertension**, v.49, p. 27-33. 2007.

SIMON, G. E.; VON KORF, M.; SAUNDERS, K.; MIGLIORETTI, D. L.; CRANE, P.K.; VAN BELLE, G. Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. **Arch Gen Psychiatry**, v. 63, p. 824-830, 2006.

STEBPAN, C. M.; BAILEY, S. T.; BHAT, S.; BROWN, E. J.; BANERJEE, R. R.; WRIGHT, C. M. et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nature**, v. 409, n. 6818, p. 307-12, 2001.

STEPNIAKOWSKI, K. T.; GOODFRIEND, T.L.; EGAN, B. M. Fatty acids enhance vascular α -adrenergic sensitivity. **Hypertension**, v. 25, p. 774-778, 1995.

STOCKER, S.; MEADOR, R.; ADAMS, J. Neurons in the rostral ventrolateral medulla contribute to the obesity-induced hypertension in rats. **Hypertension**, v. 49, p. 640-646, 2007.

SWANSON, L. W.; KUYPERS, H. G. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 194, n. 3, p. 555-570, 1980.

SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. **Annual Review of Neuroscience**, v. 6, p. 269-324, 1983.

TAKEDA, K.; NAKATA, T.; TAKESAKO, T.; ITOH, H.; HIRATA, M.; KAWASAKI, S.; HAYASHI, J.; OGURO, M.; SASAKI, S.; NAKAGAWA, N. Sympathetic inhibition and attenuation of spontaneous hypertension by PVN lesions in rats. **Brain Res.**, v. 543, p. 296-300, 1991.

TASKER, J. G.; DUDEK, F. E. Local inhibitory synaptic inputs to neurones of the paraventricular nucleus in slice of rat hypothalamus. **Journal of Physiology**, v. 469, n. 179-192, 1993.

VAZ, M.; JENNINGS, G.; TURNER, A.; COX, H.; LAMBERT, G.; ESLER, M. Regional sympathetic nervous activity and oxygen consumption in obese normotensive human subjects. **Circulation**, v. 96, p. 3423-3429, 1997.

VICENT, H. K.; MORGAN, J. W.; VICENT, K. R. Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. **Med Sci Sports Exercise**, v. 36, n. 5, p. 772-9, 2004.

VIGITEL BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico, 2008.

VOLTERA, A. F.; CESARETTI, M. L. R.; GINOZA, M.; KOHLMANN, J. R. O efeito da indução de obesidade neuroendócrina sobre a hemodinâmica sistêmica e a função ventricular esquerda de ratos normotensos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 52, p. 47-54, 2008.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: **World Health Organization**, (Report of a WHO Consultation on Obesity), 1997.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. **World Health Organization**, 2005.

WOLF, A. M.; COLDITZ, G. A. Current estimates of the economic cost of obesity in the United States. **Obes Res**, v. 6, p. 97-106, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Society of Hypertation. Guidelines for the management of hypertation. **J. Hypertens.**, v. 17, p.151-83, 1999.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat Med.**, v. 8, n. 11, p. 1288-95, 2002.

YOUNG, J. B.; LANDSBERG. Catecholamines and the regulation of hormone secretion. **Clinic Endocrinology and Metabolism**, v. 6, p. 657-95, 1977.

ZELEZNÁ, B.; MAIXNEROVÁ, J.; MATYŠKOVÁ, R.; HAUGVICOVÁ, R.; BLOKEŠOVÁ, D.; MALETÍNSKÁ, L. Anorexigenic effect of cholecystokinin is lost but that of CART (cocaine and amphetamine regulated transcript) peptide is preserved in monosodium glutamate obese mice. **Physiological Research**, 2008.

ZICCARDI, P.; NAPPO, F.; GIUGLIANO, G.; ESPOSITO, K.; MARFELLA, R.; CIOFFI, M. et al. Reduction of inflammatory cytokine concentration and improvement after weight loss over one year. **Circulation**, v. 105, p. 804-9, 2002.