



UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA EXPRESSÃO
DE C-FOS EM CÉREBRO DE RATOS**

REJANE CONCEIÇÃO SANTANA

**Salvador - Bahia - Brasil
2003**

128



001696

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

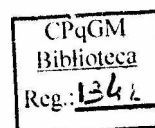
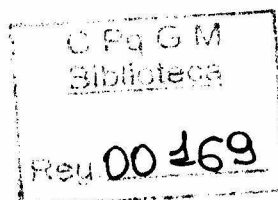
**EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA EXPRESSÃO DE
C-FOS EM CÉREBRO DE RATOS**

REJANE CONCEIÇÃO SANTANA

Orientadora: Dr^a. Josmara Bartolomei Fregoneze

Dissertação apresentada para a obtenção do
Grau de Mestre em Patologia, área de
concentração em Patologia Experimental.

**Salvador – Bahia
2003**



Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do Centro de Pesquisas Gonçalo
Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Santana, Rejane Conceição
S232e Efeito do estresse térmico agudo na expressão de c-Fos em cérebro de ratos
[manuscrito]. / Rejane Conceição Santana. - 2003.
82 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina.
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2003.
Orientador: Profa. Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze. Laboratório de Neuro-
ciências, ICS.

1. Sistema nervoso central. 2. Temperatura corporal. 3. Gene *c-fos*. I. Título.

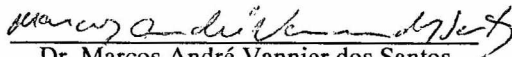
CDU 611.81:591.128

EFEITO DO ESTRESSES TÉRMICO AGUDO NA EXPRESSÃO DE c-Fos EM
CÉREBRO DE RATOS.

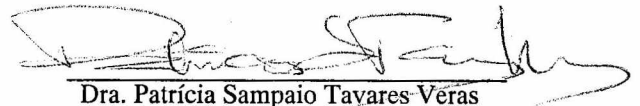
REJANE CONCEIÇÃO SANTANA

FOLHA DE APROVAÇÃO

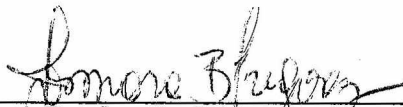
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Marcos André Vannier dos Santos
Pesquisador Titular
CPqGM - Fiocruz



Dra. Patrícia Sampaio Tavares Veras
Pesquisadora Adjunta
CPqGM - Fiocruz



Dra. Josmara B. Fregoneze
Professora Adjunta
Depto. de Bio-Regulação - ICS

“Tudo que vai com Deus e com fé vai bem”

Irmã Dulce

AGRADECIMENTOS

São Tantos e tão especiais...

A Deus, pelo dom da vida e por tudo que sou.

A Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze, orientadora querida sempre receptiva, atenciosa e, acima de tudo, mestra.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio em todos os momentos.

A Paulo Roberto, pelo companheirismo e firmeza nas horas mais difíceis.

Aos amigos: Amanda, Adriana Carigé, Patrícia, Vanessa e Walter, por nossa amizade e apoio fundamentais desde a graduação, sem palavras...

A Vanilson Silva, pelo incentivo, colaboração e amizade que me fizeram prosseguir nesta jornada, sua presença foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos pós-graduandos: Fernando Carvalho, Hilda Ferreira, Janeide Magrani, Leticia Castro e Mônica Ribeiro, pelo exemplo profissional e colaboração.

A José de Souza, pelo excelente trabalho e dedicação ao Laboratório de Neurociências.

A Rosália Meire Oliveira da Silva, pela atenção e ajuda em todos os momentos do curso de Mestrado.

A Bibliotecária Ana Maria Fiscina Vaz Sampaio, pela normalização desta tese e das referências bibliográficas.

Aos colegas e amigos do mestrado, pelo apoio e amizade ao longo do curso.

AO CPqGM/ FIOCRUZ, pelo apoio, infra-estrutura, a qualidade e simpatia dos seus professores, pesquisadores e funcionários.

Muito agradecida, por possibilitarem essa experiência enriquecedora e gratificante, de grande valia para meu crescimento profissional e pessoal.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	CONTROLE CENTRAL DA TERMORREGULAÇÃO	10
1.1.1	<i>Áreas envolvidas na regulação da temperatura corporal</i>	10
1.1.2	<i>Vias neurotransmissoras centrais envolvidas na regulação da temperatura corporal</i>	13
1.2	A TERMORREGULAÇÃO	14
1.2.1	<i>Integração entre o sistema cardiovascular, o Balanço hidrossalino e a Termorregulação</i>	14
1.2.2	<i>Efeito da desidratação sobre a termorregulação</i>	16
1.3	EXPRESSÃO DE DE C-FOS EM ÁREAS CEREBRAIS ENVOLVIDAS NO CONTROLE CARDIOVASCULAR, HIDROSSALINO E TERMORREGULATÓRIO	17
2	HIPÓTESES E OBJETIVOS	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1	ANIMAIS	21
3.2	MEDIDAS DA TEMPERATURA E PROTOCOLO DO ESTRESSE TÉRMICO	21
3.3	DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS NA ⁺ , K ⁺ E OSMOLARIDADE PLASMÁTICA	22
3.4	DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE C-FOS NO CÉREBRO	22
3.5	PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	24
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4	RESULTADOS	26
5	DISCUSSÃO	60
6	CONCLUSÃO	68
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
8	ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS

Para as abreviaturas das áreas cerebrais, foram utilizadas as denominações adotadas no Atlas estereotáxico de Paxinos e Watson (1998).

AII	Angiotensina II
AM	Amígdala
AP	Área postrema
AV3V	Área anteroventral do 3º ventrículo
AVP	Vasopressina
CeA	Núcleo central da amígdala
<i>c-fos</i>	Proto-oncogene envolvido na regulação da transcrição gênica
c-Fos	Produto do gene <i>c-fos</i>
CRF	Fator liberador de corticotrofinas
iv.	Via intavenosa
LC	<i>Locus coeruleus</i>
LHA	Área hipotalâmica lateral
LSV	Núcleo septal lateral, parte ventral
MnPO	Núcleo preóptico mediano
MPA	Área preóptica medial
NOS	Óxido nítrico sintase
NTS	Núcleo do trato solitário
OVL	Órgão vasculoso da lâmina terminal
PB	Tampão fosfato
PBN	Núcleo parabraquial
PVN	Núcleo paraventricular
Sch	Núcleo supraquiasmático
5-HT	Serotonina; 5- hidroxitriptamina
SFO	Órgão subfornical
SNC	Sistema nervoso central
SON	Núcleo supraóptico
VLM	Bulbo ventrolateral
VLPO	Área preóptica ventrolateral
VMPO	Área preóptica ventromedial
VSA	Área preóptica ventral

RESUMO

EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO AGUDO NA EXPRESSÃO DE C-FOS EM CÉREBRO DE RATOS **REJANE CONCEIÇÃO SANTANA**. Diferentes grupos de pesquisa têm se dedicado à investigação dos mecanismos cerebrais de controle cardiovascular, do balanço hidrossalino e da termorregulação. Entretanto, informações detalhadas sobre aspectos anatômicos, funcionais e neuroquímicos da rede neuronal responsável pela termorregulação são escassas. Objetivos desse trabalho foram: 1. Verificar a ativação de diferentes áreas cerebrais durante o estresse térmico agudo em ratos sob diferentes condições de hidratação (animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos); 2. Mensurar a concentração plasmática de Na^+ , K^+ e da osmolaridade plasmática, assim como a temperatura corporal de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. No estudo da expressão de c-Fos, foram utilizados três grupos experimentais com 16 ratos cada (Wistar, machos, 250-320g), sendo um grupo de normoidratados, um grupo de desidratados e um grupo de animais hiperosmóticos. Cada grupo foi subdividido em dois grupos com 8 ratos em cada, sendo o grupo controle mantido em condições normais de T_a ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e outro grupo exposto a T_a elevada (máximo 34°C) durante 45min. Em outro grupo experimental, as mesmas condições foram repetidas e foram feitas as determinações da temperatura corporal, das concentrações plasmáticas de Na^+ e K^+ e, da osmolaridade plasmática. Os resultados do presente estudo demonstraram que, ratos submetidos ao estresse térmico agudo durante 45 minutos, sob diferentes condições de hidratação (normoidratado, desidratado e hiperosmótico), apresentam mudanças nas concentrações plasmáticas de Na^+ e K^+ , osmolaridade plasmática, da temperatura corporal, assim como apresentaram aumento na expressão de c-Fos no núcleo neuronal de diferentes estruturas hipotalâmicas e extrahipotalâmicas conhecidas por estarem envolvidas no controle da temperatura corporal e do balanço hidrossalino. O aumento da expressão de c-Fos nas áreas: septal lateral (LSV) e área preóptica, em resposta ao estresse térmico e à desidratação sugere um papel integrador destas áreas para o controle homeostático e termorregulatório.

Palavras chaves: Sistema nervoso central. Temperatura corporal. Genes *c-fos*.

ABSTRACT

ACUTE HEAT STRESS INDUCES C-FOS EXPRESSION IN THE RAT FOREBRAIN. **REJANE CONCEIÇÃO SANTANA.** The body temperature is maintained within a narrow homeostatic range. Fever represents a variety of brain-induced autonomic responses designed to increase body temperature, while hyperthermia is an enhancement in body temperature due to an increase in environmental temperature. The brain activates heat-loss processes to achieve a reduction in body temperature during heating. The distinction among brain areas controlling fever and heat-loss responses during heating is not clear. In the present work, we investigated which brain areas are activated during acute (45 min) heat exposure in conscious Wistar male rats (250 ± 320 g) under different hydration condition (normohydrated, dehydrated, and hyperosmotic). In experimental animals, infrared lamps were used to increase cage temperature ($34\text{ }^{\circ}\text{C}$ max). Control animals were maintained under the same conditions, except that cage temperature was kept at $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Immediately after the experiments, the rats were anesthetized, and their brains removed and processed for c-Fos protein immunostaining using the avidin-biotin peroxidase method. A separated group of animals was submitted to the same experimental protocol and had trunk blood samples withdraw before and after the heating period for plasma osmolarity measurement and plasma sodium and potassium determination. Dehydrated and hyperosmotic rats showed plasma osmolarity and sodium concentration higher than normohydrated rats in both , control (thermoneutral) and experimental (heat) condition. Normohydrated rats exposed to heat showed a significant increase in c-Fos expression in the lateroventral septal nucleus (LSV), median preoptic nucleus (MnPO) when compared to controls. This response was more intense in dehydrated and hyperosmotic rats. Heat exposure induces an increase of body temperature as a consequence of an imbalance between the heat load and dissipation. The areas activated by heating, especially the MnPO and LSV, have been implicated in body fluid and thermoregulation. The current findings suggest that these areas may play an integrative role for multiple homeostatic activity.

Key words: Central nervous system, body temperature, *c-fos* genes.

1 INTRODUÇÃO

A hipertermia ocorre quando há uma exposição à temperatura ambiental elevada (T_a) que pode resultar em câibras, exaustão e intermação. A intermação está associada a T_a elevada e a alta umidade que podem superar a capacidade termorregulatória, levando a elevação anormal da temperatura corporal, e ocorre sobretudo em crianças e idosos durante os meses quentes de verão, sendo também comum em atletas e militares expostos a ambientes quentes e úmidos.

Dados da literatura mostram que em casos graves de hipertermia, foram registradas temperaturas corporais de 44°C a 45°C . Clinicamente, uma temperatura retal de 41°C ou mais é considerada como prognóstico grave e, nesses pacientes, a taxa de mortalidade ultrapassa 50%. Os mecanismos subjacentes da termorregulação consistem em acentuada vasodilatação cutânea generalizada, com acúmulo periférico de sangue e diminuição do volume circulante efetivo, podendo levar à necrose de músculos esqueléticos e do miocárdio. A ocorrência de arritmias, coagulação intravascular disseminada também são comuns (FOX et al., 1991).

A hipertermia por exposição à T_a elevada e a febre são as principais e mais comuns formas de distúrbios da temperatura corporal (T_c). A febre pode ser definida como um estado de T_c aumentada devido à liberação de fatores pirogênicos endógenos, tais como citocinas e prostaglandinas, o qual faz parte da resposta defensiva aguda à infecção, à inflamação e ao trauma. O aumento da T_c que ocorre na febre é um processo ativo que promove elevação do “set-point” hipotalâmico (termostato) de controle térmico. A hipertermia, por outro lado, pode ser definida como o aumento passivo da T_c acima do termostato devido à exposição ao calor, e é resultante da incapacidade, temporária ou permanente, de manter o balanço entre a carga e a dissipação de calor (IRIKI, 1988; SIMON, 1987).

Os primeiros estudos direcionados para a compreensão dos mecanismos termorregulatórios foram realizados no fim do século XIX, através de experimentos que utilizaram técnicas de lesão e/ou estimulação do tronco cerebral, levando ao estabelecimento desta região como o centro

termorregulatório. As observações de Barbour, em 1912, de que mudanças da temperatura da porção rostral do tronco cerebral levavam à alteração em sentido oposto da temperatura corporal, representaram o marco no conhecimento dos mecanismos termorregulatórios (BARBOUR, 1912). Posteriormente, foi identificado que outras áreas mostraram atividade termorregulatória e desenvolveu-se o conceito monocêntrico de controle da T_c, onde o hipotálamo foi considerado o centro regulador. Em 1960, a descoberta de locais extrahipotalâmicos para geração de sinais da regulação da T_c levou ao conceito do controle múltiplo da temperatura (HAMMEL et al., 1960).

Em relação à termorrecepção, os primeiros achados foram feitos na década de 70 com a descrição dos termorreceptores periféricos bimodais e dos neurônios hipotalâmicos sensíveis ao frio e calor. Hoje, este quadro apresenta-se complexo incluindo a monomodalidade dos termorreceptores periféricos para frio e calor e a multimodalidade de termossensores corporais profundos, principalmente os neurônios sensíveis ao calor que são caracterizados como interneurônios. (MERCER, 2001). Por outro lado, informações detalhadas sobre aspectos anatômicos, funcionais e neuroquímicos da rede neuronal responsável pela termorregulação ainda não são claras.

1.1 CONTROLE CENTRAL DA TERMORREGULAÇÃO

1.1.1 Áreas envolvidas na regulação da temperatura corporal

Respostas comportamentais e autonômicas à exposição a ambientes quentes e frios variam de espécie a espécie, sugerindo a possibilidade que diferentes vias centrais sejam responsáveis pela geração de diferentes respostas termorregulatórias.

Diversos estudos têm mostrado a participação do hipotálamo no controle da T_c, sendo que algumas áreas específicas são envolvidas na participação de diferentes formas de ajustes da temperatura corporal, tais como: termogênese por não-tremor, que envolvem mudanças no metabolismo do tecido adiposo marrom ou na termogênese induzida por dieta (FREEMAN et al.,

1987; HOLT et al., 1987; PERKINS et al., 1981; THORNHILL et al., 1994), na termogênese por tremor (THORNHILL et al., 1994) e nas mudanças circadianas da T_c (DERAMBURE et al., 1994).

Entre as áreas e núcleos que estão envolvidos na termorregulação estão: a região preóptica, a área hipotalâmica lateral, a região supraóptica, a região septal e estruturas circumventriculares como o órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), o órgão subfornical (SFO) e a área postrema (AP). A região preóptica constitui a substância cinzenta periventricular da parte mais rostral do terceiro ventrículo, e que está subdividida em áreas como a área preóptica ventromedial (VMPO), área preóptica ventrolateral (VLPO), área preóptica medial (MPA) e núcleo preóptico mediano (MnPO) (CARPENTER, 1991). As áreas VLPO e MPA estão envolvidas na percepção e integração de sinais termorregulatórios e modulação do fenômeno febril, enquanto o MnPO age como um centro integrador para circuitos do controle térmico e osmótico (PATRONAS, 1998).

A área hipotalâmica lateral (LHA) contém o núcleo hipotalâmico lateral e dois ou três grupos de células circulares delimitadas agudamente conhecidas como núcleos tuberales. A LHA está envolvida no balanço energético vinculado à defesa ao frio (ATRENS et al., 1982; KANOSUE et al., 1994; SIMON et al., 1986) e na termorregulação (PATRONAS, 1998).

A região supraóptica contém núcleos hipotalâmicos bem definidos, como o núcleo paraventricular (PVN), o núcleo supraóptico (SON) e o núcleo supraquiasmático (Sch). O PVN consiste de vários grupos celulares distintos, estando na parte medial o grupo de neurônios parvocelular e na porção lateral o grupo de neurônios magnocelular. O SON é composto uniformemente por células grandes. Tanto os neurônios magnocelulares do PVN, como do SON produzem vasopressina e oxitocina e se projetam para o lobo neural da hipófise. Já os elementos parvocelulares do PVN sintetizam CRF (SILVA et al., 2002) e se projetam para a adenohipófise, além de enviar axônios descendentes para o tronco cerebral e todos os níveis da medula espinhal. Assim, o PVN e SON representam um dos maiores sistemas neuroendócrinos hipotalâmicos (TAKAHASHI, 2001). O Sch forma um grupo de pequenas células redondas localizadas

dorsalmente ao quiasma óptico na base do terceiro ventrículo. Este pequeno núcleo recebe projeções bilaterais diretas da retina e tem importante papel no controle dos ritmos biológicos. Estudos demonstraram que o Sch está envolvido na resposta ao estresse térmico (PATRONAS, 1998).

A região septal é uma região telencefálica subcortical localizada medialmente aos ventrículos laterais e apresenta-se altamente interconectada com o hipocampo. Esta região está subdividida em: núcleo septal medial, núcleo septal lateral (LSV) e o núcleo *accumbens septi* (CARPENTER, 1991). A área septal lateral tem corpos celulares neuronais relativamente pequenos e é primariamente uma área para a recepção de informações. Estudos têm revelado que este núcleo está envolvido na modulação da resposta à febre (BLATTEIS, 1997; ZEISBERGER, 1990) e na resposta termorreguladora (PATRONAS, 1998).

Algumas áreas extra-hipotalâmicas, que são sensíveis a alterações osmóticas do plasma e do fluido cerebral, estão envolvidas no controle do equilíbrio hidrossalino, importante fator na manutenção da homeostasia térmica e cardiovascular. Dentre estas, estão as estruturas circunventriculares, que compreendem o SFO, OVLT e a AP. Estas estruturas apresentam conexões recíprocas, bem como conexões aferentes e eferentes com diversas áreas no SNC (FERGUSON; LI, 1993; GROSS; JOHNSON, 1993). Ao detectar alterações na homeostasia hidrossalina, as áreas circunventriculares integram as informações em grande parte no PVN, que por sua vez, transmite sinais à pituitária, ao núcleo do trato solitário (NTS), ao SON e ao *locus coeruleus* (LC) (HARDING; WRIGHT, 1992; BUGGY; JOHNSON, 1977) propiciando ajustes nos sistemas, simpático, parassimpático, neuroendócrino, além de ações comportamentais que mantêm o equilíbrio hidroeletrolítico (MCKINLEY et al., 1989; MONGENSON; SWANSON, 1981; SWANSON, 1987; TRASHER, 1989). O OVLT e SFO mostraram imunorreatividade a c-FOS em ratos expostos ao calor (PATRONAS, 1998), enquanto a AP mostrou imunorreatividade a c-FOS em animais que receberam salina hipertônica via subcutânea (RINAMAN, 1997).

1.1.2 Vias neurotransmissoras centrais envolvidas na regulação da temperatura corporal

Diversos sistemas neurotransmissores centrais parecem estar envolvidos no controle da temperatura corporal, entre eles, tem sido sugerido o envolvimento de vias: vasopressinérgicas, angiotensinérgicas, colinérgicas, serotoninérgicas e oxidonitrérgicas. Estudos sobre esses neurotransmissores mostraram que, a angiotensina (AII) pode estimular a liberação de AVP centralmente e desta forma, modula a regulação da Tc (KASPLER et al., 1997; KREGEL et al., 1994). As vias colinérgicas parecem também ter papel importante na regulação da Tc, pois estimulação colinérgica do hipotálamo anterior e área preóptica é acompanhada pela diminuição da Tc (TAKAHASHI, 2001). A serotonina, parece ter papel na diminuição da Tc desde que há evidências que este neurotransmissor excita neurônios sensitivos ao calor e inibe neurônios sensitivos ao frio, ação que leva à diminuição da Tc (IMERI, 2000). Quanto ao NO, tem sido mostrado que este neurotransmissor pode ter papel significativo na modulação da febre induzida pelo estresse de contenção em ratos (DE PAULA et al., 2000). No presente estudo, foi dado enfoque a AVP.

Alguns estudos têm mostrado que arginina vasopressina (AVP) central pode ter um papel no controle da Tc normal em diferentes condições, além de participar do controle térmico durante estados febris. A administração da AVP na área septal lateral inibe o aumento de produção de calor induzido por exposição ao frio (2°C) e por resfriamento da área preóptica (BANET, 1985). Em outro estudo, verificou-se que a administração de AVP na área preóptica leva à hipertermia de início rápido e de longa duração, enquanto a administração no núcleo *acumbens*, área septal, substância *innominata* e hipotálamo dorsomedial, não produz efeito (NAYLOR, 1986). Neste estudo, diverso do anterior, os animais foram mantidos a 25°C durante o experimento. Portanto, é possível que a AVP desencadeie diferentes respostas termorregulatórias dependendo da dose, do local de administração e da temperatura ambiente durante o experimento, dessa forma, o papel da AVP no sistema nervoso central em áreas específicas relacionadas com a termorregulação ainda não é claro.

No estresse, uma das situações freqüentemente enfrentadas pelos indivíduos, observa-se hipertermia, entre outras alterações do estado fisiológico basal. Em ratos, a hipertermia devida ao estresse, pode ser induzida por diferentes agentes estressores tais como exposição a campo aberto, mudança de habitat e contenção (KLUGER, 1987; LONG, 1990; MORIMOTO, 1991; BRIESE, 1991). A administração intracerebroventricular de AVP reduz a hipertermia induzida por estresse de contenção e leva a um aumento de temperatura corporal durante a recuperação da hipotermia induzida por nado em água fria (OLUYMI, 1992; TERLOUW, 1996). Em situação de estresse, verificou-se que a administração intracerebroventricular de AVP induz alterações na freqüência cardíaca e na Tc de forma tempo- e dose-dependentes. Respostas taquicárdica e hipertérmica foram observadas após baixas doses (1 e 3 ng) de AVP, enquanto altas doses (10 e 30 ng) levaram à hipotermia e à bradicardia seguida de taquicardia (DIAMANT, 1993).

1.2 A TERMORREGULAÇÃO

1.2.1 *Integração entre o sistema cardiovascular, o Balanço hidrossalino e a Termorregulação*

Vários estudos mostram que há uma integração entre o sistema cardiovascular, o balanço hidrossalino e a termorregulação para se obter um controle adequado da temperatura corporal. No sistema nervoso central, o hipotálamo recebe as informações sensoriais que resultam em ajustes destes sistemas. As áreas envolvidas no controle da ingestão de água e no apetite por sal, que resultam no equilíbrio hidrossalino, têm sido extensivamente estudadas. Revisões recentes mostram que as áreas prosencefálicas, compreendendo o SON, o PVN, a MPA, o OVLT, o SFO, a amígdala (AM) e o hipotálamo lateral, têm papel preponderante excitatório sobre a ingestão de água e sal, enquanto as áreas romboencefálicas, incluindo o NTS, a AP, o núcleo parabraquial (PBN), os núcleos dorsal e mediano da rafe e o LC, são eminentemente inibidoras destes comportamentos. Diversos estudos mostram que estas mesmas áreas podem estar envolvidas em ajustes cardiovasculares (FITZSIMONS, 1998; JOHNSON, 1997). Durante a exposição ao calor, a

diminuição do líquido circulante devido à evaporação, isto é, através do suor e vapor de água na respiração, leva à desidratação e, em casos extremos, pode se tornar uma ameaça para a homeostase hídrica e regulação cardiovascular. (ROWELL, 1983; ROWELL, 1986).

A habilidade para detectar mudanças na temperatura ambiental e corporal é crítica para a sobrevivência dos mamíferos. O nível da temperatura corporal é determinado por fatores endógenos, como a produção e a dissipação de calor, resultantes de reações bioquímicas e de fatores exógenos, como a temperatura ambiental e a umidade relativa do ar. Os animais regulam sua temperatura corporal a cerca de 8°C abaixo do limite superior letal, sendo que nos homeotermos a T_c oscila em uma faixa relativamente estreita graças a um sistema múltiplo de entrada/saída de informações, controlado pelo sistema nervoso central.

Respostas efectoras autonômicas e comportamentais atuam no controle da T_c de animais homeotermos e os termorreceptores responsáveis por essas respostas estão distribuídos pelo corpo estando presentes não somente na pele e no hipotálamo, mas também em áreas cerebrais e nas vísceras (SIMON et al., 1986).

Na periferia, o calor e o frio são detectados por neurônios termossensitivos regulados para responder a variações distintas de temperatura. Por exemplo, termorreceptores de calor detectam modesto aumento de temperatura na pele (34 – 42°C) enquanto os nociceptores de calor detectam altas temperaturas que causam dor (>42°C) (RAJA et al., 1999). De fato, as mesmas áreas envolvidas no equilíbrio hidrossalino também participam do controle térmico. Neurônios termossensitivos, mais notavelmente na área preóptica/hipotálamo, são ativados por calor ou frio local e recebem simultaneamente “inputs” térmicos da periferia (BOULANT, 2000). Dados da literatura mostram que a hipertermia induzida por exposição à temperatura ambiental elevada causa alteração dos líquidos corporais, ocasionando hipovolemia e aumento da osmolaridade plasmática.

Como foi descrito no tópico 1.1.1, diversas áreas do SNC parecem estar envolvidas no controle da T_c, sem, no entanto, existir um centro termorregulador localizado em uma área

específica e, embora a sobreposição das áreas de controle da osmolaridade e da Tc seja clara, existem poucas informações sobre as vias de integração entre osmorregulação e termorregulação. (BLATTEIS, 1997; ELMQUIST, 1996; KLUGER, 1991; SAPER, 1994).

Tendo em vista a importância do equilíbrio hidrossalino para a manutenção da homeostasia térmica e cardiovascular, parece lógico que as informações da periferia sejam integradas nas mesmas áreas no sistema nervoso central. Estudos isolados têm demonstrado que a área préóptica desempenha este papel integrador (SIMON, 1986).

1.2.2 Efeito da desidratação sobre a termorregulação

A importância da reposição de líquido após exercício físico em ambiente quente foi reportada pela primeira vez em 1944 por Pitts e colaboradores (PITTS et al., 1944). Adolph e colaboradores mostraram a existência da relação entre o déficit de água e o aumento da temperatura retal durante caminhadas no deserto, verificando que a desidratação, com perda de 1% do peso corporal causa aumento da temperatura retal em torno de 0.3°C e aumento da frequência cardíaca de 5-10 batimentos por minuto (ADOLPH et al., 1947). A desidratação devido à perda de água (pelo suor) em humanos (MACK et al., 1996), pelo ofegar em cães (BAKER et al., 1983) e coelhos (KEIL et al., 1994) e salivação em ratos (HOROWITZ, 1994) ocasiona uma diminuição do volume sanguíneo circulante e aumento da osmolaridade plasmática.

Os achados de Baker e Doris mostram evidências para um fator osmótico na regulação da temperatura corpórea, que pode agir alterando a resposta do hipotálamo ao aumento da temperatura (BAKER et al., 1982). Mudanças osmóticas induzidas por estímulo hiperosmótico aplicado localmente no hipotálamo ou periféricamente têm efeito na atividade de neurônios termossensitivos préópticos. Isto sugere que a desidratação reduz a resposta de estruturas hipotalâmicas que controlam a evaporação e que tanto osmorreceptores hepatoporiais, quanto centrais podem estar envolvidos nesta resposta (HORI et al., 1988).

Estudos mostram que neurônios termossensíveis respondem à estímulos osmótico e de alteração da pressão sanguínea, sugerindo uma possível interação entre a concentração plasmática de solutos e o volume sanguíneo. Baker e colaboradores apresentam dados confirmando esta interação entre osmorregulação e controle da Tc. Os autores observaram em cães normoidratados, que a perda de água pela evaporação respiratória e pela salivagem aumenta de forma linear com o aumento da Tc durante o exercício físico. Por outro lado, a perda de água por salivagem foi reduzida em cães que receberam infusão de salina hipertônica 3.0% e foi ainda menor em cães desidratados que apresentavam aumento da osmolaridade plasmática e diminuição do volume plasmático (BAKER, 1983; BAKER, 1989).

Tem sido demonstrado, que a desidratação osmótica causada por privação hídrica ou por administração de salina hipertônica, ativa células osmorreceptoras cerebrais que respondem ao aumento da osmolaridade efetiva do plasma circulante (STRICKER et al., 1970). Em contraste a estas informações concernentes à sinalização e à respostas neuronais centrais para a desidratação térmica, mecanismos periféricos que controlam a taxa de sudorese e fluxo sanguíneo para a pele têm sido pouco entendidos, embora o envolvimento da vasopressina (SENAY, 1979) e da angiotensina II (FORTNEY et al., 1983) tenha sido sugerido.

1.3 EXPRESSÃO DE C-FOS EM ÁREAS CEREBRAIS ENVOLVIDAS NO CONTROLE CARDIOVASCULAR, HIDROSSALINO E TERMORREGULATÓRIO

A proteína c-Fos é o produto do gene *c-fos*, que está envolvido na regulação da transcrição gênica, e interage com o produto de um outro gene imediato, Jun, formando um fator de transcrição heterodimérico que regula a expressão de genes de resposta tardia. Desta forma, a proteína c-Fos pode estimular ou reprimir a transcrição, dependendo com que membro da família Jun forma o complexo (MORGAN, 1990).

A relação precisa entre a expressão de c-Fos e a transcrição de produtos de genes tardios permanece incerta para muitos sistemas neuronais. Embora muitos neurônios sejam conhecidos por

expressar c-Fos somente após ativação sináptica, o RNAm ou a proteína c-Fos do gene *c-fos* podem ser usados como marcadores de ativação neuronal no cérebro (SAGAR et al., 1988).

Desta forma, a proteína c-Fos é especialmente útil, porque é rapidamente detectada por anticorpos diretamente contra c-Fos. Este procedimento imunohistoquímico permitiu investigações para determinar quais neurônios são ativados no cérebro em resposta a estímulos específicos (HOFFMAN et al., 1993).

A expressão do proto-oncogene *c-fos* é rapidamente induzida no hipotálamo ou outras regiões cerebrais por uma variedade de processos fisiológicos e manipulações experimentais incluindo a hipertermia induzida por exposição ao calor ou por administração de pirógenos. Recentemente, verificou-se que a desidratação estimula a expressão do gene *c-fos* nos neurônios do OVLT, SFO e preóptica mediana, PVN e SON, enquanto na exposição à Ta elevada o gene *c-fos* foi expresso na MPA e VMPO, no hipotálamo lateral e na parte ventral da área septal lateral (LSV). Entre as estruturas estudadas, apenas a área preóptica apresentou expressão do gene *c-fos* nas duas situações (desidratação e hipertermia) reforçando o papel integrador desta área. (PATRONAS, 1998).

Em ratos adultos, a hiperosmolaridade plasmática produzida por injeção sistêmica de salina hipertônica levou à expressão da proteína c-Fos pelos neurônios magnocelulares no PVN, SON e núcleo magnocelular acessório do hipotálamo em paralelo com o aumento da secreção de AVP e oxitocina neurohipofisária (VERBALIS et al., 1995). Em outro estudo, verificou-se que a administração de salina hipertônica em ratos adultos induziu a expressão da proteína c-Fos em outras áreas circunscritas do tronco - cerebral e romboencéfalo, incluindo o SFO, núcleo central da amígdala (CeA), PVN parvocelular, PBN, LC, bulbo ventrolateral (VLM), NTS e AP (HOFFMAN et al., 1993; LARSEN et al., 1995; OLSON et al., 1993).

Vê-se, portanto, que a manutenção da temperatura corporal é crítica para a sobrevivência dos mamíferos e que alterações dos níveis normais são especialmente importantes em idosos e

crianças, cuja capacidade termorregulatória é menos eficiente. No entanto, ainda não estão totalmente definidos os mecanismos de termorregulação, embora existam vários estudos enfocando estes mecanismos. Desta forma, os resultados do presente estudo podem trazer importante contribuição para o conhecimento dos mecanismos termorregulatórios com possibilidade de futuras aplicações clínicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 250 a 320 gramas, provenientes do biotério do Laboratório de Neurociências ICS/UFBA, mantidos em ciclo claro/ escuro de 12h, temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e com acesso a ração (Nuvital Nutrientes Ltd, Curitiba, Brasil) e água *ad libitum*. No estudo da expressão de c-Fos, foram utilizados três grupos experimentais com 16 ratos em cada, sendo um grupo de animais normoidratados, um grupo de animais que sofreu privação hídrica (desidratado) e um grupo de animais que recebeu sobrecarga de sal (hiperosmótico). Cada grupo foi subdividido em dois grupos com 8 ratos em cada, sendo o grupo controle mantido em condições normais de T_a ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e o outro grupo exposto a T_a elevada (máximo 34°C) durante 45min. Em outro grupo experimental, as mesmas condições foram adotadas e foram feitas as determinações das concentrações plasmáticas de Na^+ e K^+ e da osmolaridade plasmática.

3.2 MEDIDAS DE TEMPERATURA E PROTOCOLO DO ESTRESSE TÉRMICO

A temperatura corporal foi medida no início e ao final do período experimental através de sonda de temperatura introduzida 6 cm no cólon do animal e leitura através de termômetro digital (Minipa Thermometer, MOD: MT- 520). A temperatura da caixa foi medida continuamente durante todo o período experimental (45min).

O protocolo para indução do estresse térmico foi modificado daquele usado por Kregel e colaboradores (KREGEL et al., 1994). No dia do experimento, ratos conscientes foram colocados em caixas experimentais (50 x 30 x 30 cm), sendo o grupo controle mantido em condições normais de T_a ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e outro grupo exposto ao estresse térmico durante 45min, utilizando luz infravermelha (250W) posicionada 40 cm acima do animal. A temperatura da

caixa foi mantida aproximadamente a 33°C através da mudança da intensidade da lâmpada por um potenciômetro “dimer”.

3.3 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE Na^+ , K^+ E OSMOLARIDADE PLASMÁTICA

No final do experimento, os animais foram decapitados e o sangue coletado em tubos de ensaio contendo heparina. O sangue foi centrifugado (10 min a 5000 rpm) e o plasma separado para determinação das concentrações plasmáticas de Na^+ e K^+ (mEq/L) através da fotometria de chama (Micronal, B262) e da osmolaridade por determinação do ponto de congelamento (Precision Systems, modelo nº 2007).

3.4 DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE C-FOS NO CÉREBRO

Após 45 min do período experimental, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (Tionembutal, Abbott Laboratories) (40mg/kg) e procedeu-se a perfusão transcardíaca com 500 mL de tampão fosfato (PB) com sódio- PBS 0,01M, pH 7,6, seguida por 500 mL de paraformaldeído 4% diluído no mesmo tampão. Os cérebros foram então removidos e imersos no mesmo fixador durante a noite, mantidos a -4°C . No dia seguinte, os mesmos foram transferidos para uma solução de glicose 20% em PB 0,01M (pH 7,2) e mantidos a -4°C por no mínimo 48h. Os cérebros foram seccionados em criostato a -20°C , com espessura de 40 μm e submetidos ao processamento imunohistoquímico.

As secções do cérebro foram imunomarcadas para a proteína c-Fos usando o método da avidina-biotina peroxidase (kit ABC Elite Vectastain, Vector laboratories, CA, USA). A técnica utilizada foi modificada daquela descrita por Liu e colaboradores (LIU, 1991). Inicialmente os cortes foram lavados três vezes com PB 0,01 M com intervalos de 5 min entre cada lavagem (3x 5 min), mantidos em agitador de Klein com agitação leve. A seguir os cortes foram então incubados com H_2O_2 a 1% por 15 min para bloqueio da atividade da peroxidase endógena, e logo após lavados novamente com PB 0,01 M (3x 5 min). Depois das

lavagens as secções foram incubadas com soro normal de cabra diluído em PB 0,01M e leite em pó 3% (Molico) por 1 hora em temperatura ambiente sob agitação leve. A seguir o soro foi aspirado e acrescentou-se o primeiro anticorpo policlonal de coelho anti-Fos (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) diluído em PB 0,01M (1:4000) na presença de Triton-X 100 (0,3%) permanecendo durante 14 horas a temperatura ambiente em agitação leve. A seguir, as secções foram lavadas novamente em PB 0,01M (3x 5 min), e em seguida incubadas com o segundo anticorpo IgG anti-coelho de cabra biotilado (Vector, USA) diluído (1:400) em PB 0,01M e leite 3%, por 1h a temperatura ambiente sob agitação leve. Ao final desse período as secções foram lavadas em PB 0,01M (3x 5 min) e incubadas por 1h a temperatura ambiente com o complexo avidina-biotina peroxidase (1:200) em PB 0,01M. Após nova lavagem em PB 0,01M (3x 5 min), os cortes foram incubados em uma solução de (0,02%) de 3,3' diaminobenzidina-tetrahydroclorato (Sigma, MO, USA) contendo 0,08% de sulfato amoniacal de níquel e 0,00018% de H₂O₂. A seguir, as secções foram colocadas em gelatina contendo etanol 80% e montadas em lâminas. Após secagem dos cortes em estufa (50°C), as lâminas foram imersas em xilol 100% por 10min e cobertas com lamínula, utilizando Permount® (Fisher Scientific) para adesão. Os cérebros dos animais controles e experimentais foram processados simultaneamente para evitar possíveis variações entre os ensaios. A contagem dos núcleos celulares imunorreativos para c-Fos foi realizada através do programa Image Pro-Plus para Windows 98/2000 versão 4.1 (MediaCybernetics, USA).

3.5 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Grupo experimental 1 – Identificar áreas do SNC ativadas durante a exposição à temperatura ambiental elevada em ratos normoidratados.

Os animais tiveram livre acesso à água e ração no período anterior ao experimento, sendo os mesmos retirados no início do experimento. Os ratos foram pesados e após período de 30 minutos para estabilização da T_c , o grupo controle permaneceu à temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, enquanto os animais experimentais foram submetidos ao estresse térmico durante 45 minutos. Após exposição ao calor, os animais foram pesados novamente, anestesiados e perfundidos para remoção dos cérebros e processamento imunohistoquímico.

Grupo experimental 2 - Identificar áreas do SNC ativadas durante a exposição à temperatura ambiental elevada em ratos desidratados.

Neste grupo, os animais sofreram privação hídrica de 14h no período anterior ao experimento, foram pesados e colocados nas caixas experimentais e, após 30 minutos para estabilização da T_c , o grupo controle permaneceu à temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, enquanto os animais experimentais foram submetidos ao estresse térmico durante 45 minutos. Após exposição ao calor, os animais foram pesados novamente, anestesiados e perfundidos para remoção dos cérebros e processamento imunohistoquímico.

Grupo experimental 3 – Identificar áreas do SNC ativadas durante a exposição à temperatura ambiental elevada em ratos hiperosmóticos.

Neste grupo, os animais receberam administração de salina hipertônica (9,0%) no volume de 1mL/ 100g de peso corporal por sonda orogástrica 30 min antes da exposição ao calor. Estes animais foram pesados no início e no fim do experimento e após 30 minutos para estabilização da T_c , o grupo controle permaneceu à temperatura ambiente de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, enquanto os animais experimentais foram submetidos ao estresse térmico durante 45 minutos. Após exposição ao calor, os animais foram pesados novamente, anestesiados e perfundidos para remoção dos cérebros e processamento imunohistoquímico.

Grupo experimental 4 – Mensurar a concentração plasmática de Na^+ e K^+ , osmolaridade plasmática e a temperatura corporal de ratos submetidos à T_a elevada sob diferentes condições de hidratação.

Este grupo experimental foi subdividido em três grupos: normoidratado, desidratado e hiperosmótico. Os animais foram submetidos às mesmas condições experimentais utilizadas nos estudos da expressão de c-Fos. Entretanto, após 45 min do período experimental, os animais foram sacrificados por decaptação para a coleta de sangue para as dosagens plasmáticas de Na^+ e K^+ e osmolaridade.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo “software” SigmaStat para Windows versão 2.0 (Jandel Scientific, Erkrath, Germany). Os dados foram submetidos a ANOVA “TWO WAY” seguido do pós-teste Student-Newman-Keuls, sendo considerados os valores de significância de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 MUDANÇAS NA TEMPERATURA CORPORAL E DA TEMPERATURA AMBIENTE

Na Figura 1, e Tabela 1 (anexos) estão apresentados os dados das temperaturas corporais e das caixas experimentais, antes e depois (45 min) da exposição ao calor de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos.

O **gráfico A** mostra os valores da temperatura corporal de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos antes e depois de terem sido submetidos ao calor. Os dados foram submetidos a análise de variância “two way” sendo considerado como Fator A: a condição de hidratação (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) e como Fator B: a condição de temperatura da caixa (controle e experimental). Observa-se que houve diferença estatística significativa na temperatura corporal entre os animais controle e experimental submetidos à mesma condição de hidratação, e também entre os animais experimentais (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) expostos à mesma temperatura. A temperatura corporal dos animais controles foi de $37.8 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ em animais normoidratado, de $37.8 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ nos desidratado e de $37.6 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ nos hiperosmóticos. Depois da exposição ao calor, como era esperado, houve um aumento da temperatura corporal, sendo de $41.5^{\circ}\text{C} \pm 0.36$ em animais normoidratados, $43.2^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ nos desidratados e 41.8 ± 0.2 nos hiperosmóticos. Observa-se que o aumento da Tc depois do aquecimento foi diferente entre os grupos sendo que a Tc dos animais desidratados foi significativamente ($p < 0,05$) mais elevada do que nos animais normoidratados e hiperosmóticos. Além disso, deve-se salientar que 60% dos animais desidratados entraram em choque térmico ao final dos 45 minutos de exposição ao calor.

No **gráfico B** estão apresentados os valores da temperatura da caixa experimental onde foram colocados os animais em diferentes condições de hidratação prévias ao experimento. Observa-se que houve diferença estatística significativa na temperatura da caixa

dos animais controle e experimental submetidos à mesma condição de hidratação. A temperatura da caixa controle foi de $24.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ no grupo normoidratado; $26.0 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ para os desidratados e $24.1 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ para os hiperosmóticos. A temperatura das caixas experimentais também não mostrou diferença estatística significativa entre os grupos estudados, sendo de $32.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ para os normoidratados; $32.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ para animais desidratados e $32.0 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ para os hiperosmóticos. Entretanto, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as temperaturas das caixas na mesma condição de temperatura (controle e experimental).

Na tabela 4 (anexo), estão os valores referentes as mudanças do peso corporal de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos, submetidos ao estresse térmico agudo. Observa-se que não houve diferença estatística significativa entre os grupos estudados.

A 2 ANÁLISE DO NA⁺ E K⁺ PLASMÁTICOS E DA OSMOLARIDADE PLASMÁTICA

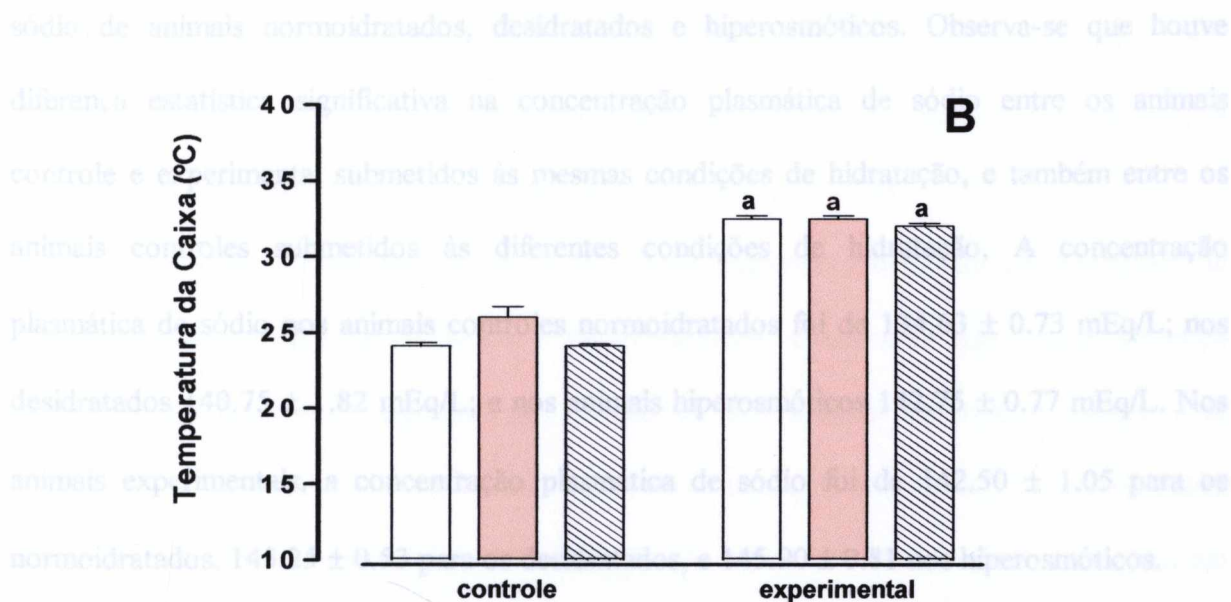
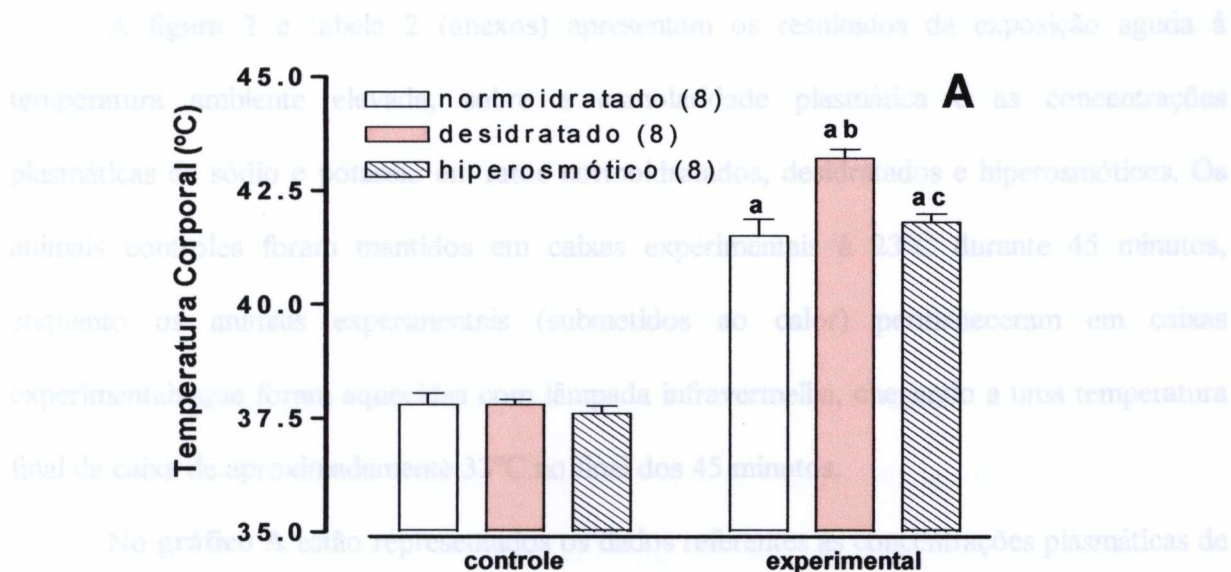


FIGURA 1 – Mudança da temperatura das caixas experimentais e da temperatura corporal em ratos normo-hidratados (n=8), desidratados (n=8) e hiperosmóticos (n=8) submetidos ao calor ($\approx 33^\circ\text{C}$) durante 45 min. O **gráfico A** mostra os valores da temperatura corporal [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(2,1)} = 8,16$; $p = 0,001$; Fator B- condição temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(2,1)} = 553,78$; $p < 0,0001$]. O **gráfico B** mostra os valores da temperatura das caixas experimentais [Fator A: $F_{(2,1)} = 3,86$; $p = 0,029$; Fator B: $F_{(2,1)} = 192,22$; $p < 0,0001$]. Os dados são expressos em média \pm EPM, tanto no painel A quanto no painel B as letras *a*, *b* e *c*, indicam as diferenças estatísticas ($p < 0,05$) demonstradas pelo pós-teste Student Newman Keuls, sendo que a *letra a*, representa a comparação entre as condições de temperatura da caixa (controle e experimental) na mesma condição de hidratação, a *letra b* representa a diferença em relação aos animais normo-hidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa (controle e experimental) e a *letra c* indica diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

4.2 ANÁLISE DO Na^+ E K^+ PLASMÁTICOS E DA OSMOLARIDADE PLASMÁTICA

A figura 2 e tabela 2 (anexos) apresentam os resultados da exposição aguda à temperatura ambiente elevada, sobre a osmolaridade plasmática e as concentrações plasmáticas de sódio e potássio em ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Os animais controles foram mantidos em caixas experimentais à 23°C durante 45 minutos, enquanto os animais experimentais (submetidos ao calor) permaneceram em caixas experimentais que foram aquecidas com lâmpada infravermelha, chegando a uma temperatura final da caixa de aproximadamente 33°C no final dos 45 minutos.

No **gráfico A** estão representados os dados referentes às concentrações plasmáticas de sódio de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa na concentração plasmática de sódio entre os animais controle e experimental submetidos às mesmas condições de hidratação, e também entre os animais controles submetidos às diferentes condições de hidratação. A concentração plasmática de sódio nos animais controles normoidratados foi de 134.63 ± 0.73 mEq/L; nos desidratados 140.75 ± 1.82 mEq/L; e nos animais hiperosmóticos 142.75 ± 0.77 mEq/L. Nos animais experimentais, a concentração plasmática de sódio foi de 142.50 ± 1.05 para os normoidratados, 145.25 ± 0.53 para os desidratados, e 145.90 ± 0.81 nos hiperosmóticos.

Verificou-se que em animais submetidos à desidratação, como também à hiperosmolaridade, a concentração plasmática de sódio foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada ao grupo normoidratado. Quando animais normoidratados e desidratados são submetidos ao calor, observa-se um aumento considerável na concentração plasmática de sódio ($p < 0,05$) quando comparado aos seus respectivos grupos controles. Entretanto, a exposição ao calor, não alterou a concentração plasmática de sódio em animais hiperosmóticos

No **gráfico B** estão representados os valores referentes às concentrações plasmáticas de potássio de animais normoidratados desidratados e hiperosmóticos. Verifica-se não haver diferença estatística significativa na concentração plasmática de potássio entre os animais controle e experimental, como também, entre as concentrações plasmáticas de potássio dos animais submetidos às diferentes condições de hidratação. A concentração plasmática de potássio nos animais controles normoidratados foi de 5.94 ± 0.16 mEq/L, nos desidratados 5.96 ± 0.17 mEq/L e nos hiperosmóticos 4.96 ± 0.15 mEq/L. Nos animais experimentais, a concentração plasmática de potássio foi de 5.25 ± 0.13 mEq/L nos normoidratados, 5.40 ± 0.28 mEq/L nos desidratados e 5.41 ± 0.35 mEq/L nos hiperosmóticos. A concentração plasmática de potássio foi menor no grupo de animais controles hiperosmóticos ($p < 0,05$), quando comparado aos grupos controles normoidratado e desidratado. No entanto, a exposição ao calor não alterou as concentrações plasmáticas deste íon.

No **gráfico C** estão representados os valores referentes a osmolaridade plasmática de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa na osmolaridade plasmática dos animais controle e experimental submetidos às mesmas condições de hidratação, como também entre os animais experimentais submetidos às diferentes condições de hidratação. Os valores da osmolaridade plasmática em animais controles normoidratados foi de 323.00 ± 1.36 mOsm, nos desidratados 325.75 ± 2.02 mOsm, e nos hiperosmóticos 329.25 ± 1.14 mOsm. Os valores da osmolaridade plasmática de animais experimentais foram: 332.50 ± 3.18 mOsm em normoidratados, 334.63 ± 1.16 mOsm em desidratados, e 340.00 ± 2.51 mOsm nos hiperosmóticos. A exposição ao calor induziu um aumento significativo da osmolaridade plasmática nos três grupos estudados quando comparado aos respectivos controles ($p < 0,05$). Este aumento foi ainda maior no grupo experimental hiperosmótico quando comparado ao grupo normoidratado ($p < 0,05$).

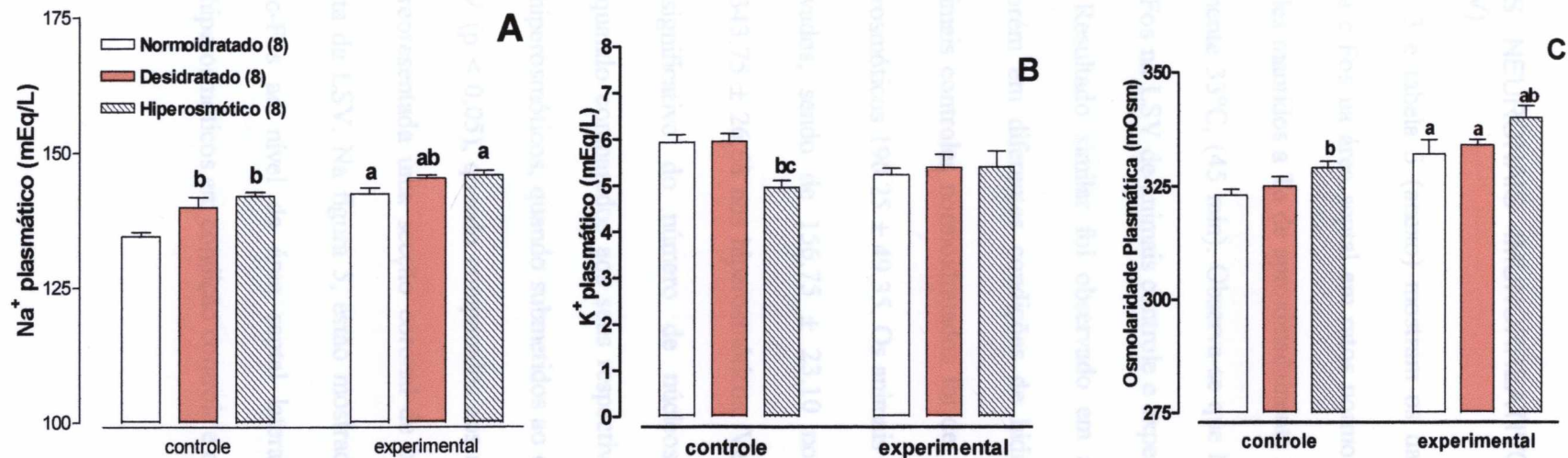


FIGURA 2 – Alterações nas concentrações plasmáticas de sódio e potássio e da osmolaridade plasmática em ratos normoidratados (n=8), desidratados (n=8) e hiperosmóticos (n=8) submetido s ao calor por 45 min. Os animais controles permaneceram a Ta 23°C e os experimentais no máximo a 33°C. O **gráfico A** mostra os valores da concentração plasmática de sódio (mEq/L) [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 16,80$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 37,04$; $p < 0,0001$]. O **gráfico B** mostra a Concentração plasmática de potássio (mEq/L) [ANOVA: Fator A $F_{(1,2)} = 2,84$; $p = 0,069$; Fator B $F_{(1,2)} = 2,18$; $p = 0,147$]. O **gráfico C** mostra os valores da osmolaridade plasmática (mOsm) [ANOVA: Fator A $F_{(1,2)} = 5,66$; $p = 0,007$; Fator B $F_{(1,2)} = 32,92$; $p < 0,0001$]. Os dados são expressos em média \pm EPM. Tanto no painel A quanto nos painéis B e C as letras *a*, *b* e *c*, indicam as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste de Student Newman Keuls ($p < 0,05$), sendo que a *letra a*, representa comparação entre as condições de temperatura (controle e experimental) na mesma condição de hidratação, a *letra b*, representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa, e a *letra c*, representa a diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

4.3 NÚCLEOS NEURONAIS IMUNORREATIVOS A C-FOS NA ÁREA SEPTAL LATERAL (LSV)

A figura 3 e tabela 3 (anexo) mostram os dados referentes à distribuição de núcleos imunorreativos à c-Fos na área septal em ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos, sendo os controles mantidos a Ta de aproximadamente 23°C e experimentais submetidos ao calor de aproximadamente 33°C, (45 min). Observa-se que houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos na LSV de animais controle e experimental submetidos às mesmas condições de hidratação. Resultado similar foi observado em animais expostos a mesma condição de temperatura, porém em diferentes condições de hidratação. O número de núcleos celulares ativados em animais controles normoidratados foi de: 14.25 ± 3.73 , nos desidratados 143.00 ± 1.68 e nos hiperosmóticos 190.25 ± 49.35 . Os animais experimentais apresentaram maior número de núcleos ativados, sendo de 156.75 ± 23.10 nos normoidratados, 320.75 ± 23.51 nos desidratados e 343.75 ± 26.68 nos hiperosmóticos. Verifica-se que a exposição ao calor induziu um aumento significativo do número de núcleos imunorreativos a c-Fos nos animais experimentais, quando comparados aos seus respectivos grupos controles ($p < 0,05$). Animais desidratados e hiperosmóticos, quando submetidos ao calor, apresentam maior imunorreatividade a c-Fos na LSV ($p < 0,05$), quando comparados aos animais experimentais normoidratados. Na figura 4, está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da LSV. Na figura 5, estão mostradas as secções coronais representativas da expressão de c-Fos ao nível da área septal lateral em cérebro de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle e experimental de temperatura.

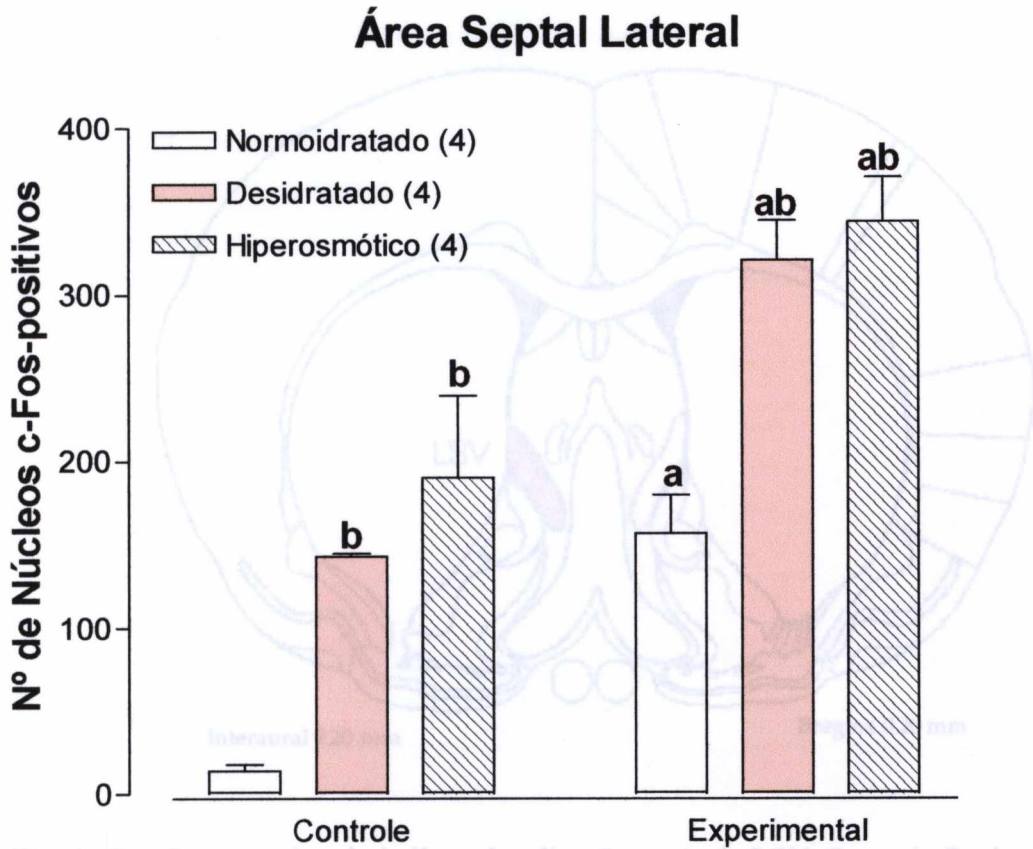


FIGURA 4 | Secção coronal onde indica a localização exata da LSV. Segundo Paxinos e Watson, 2.ª ed. 1998.

FIGURA 3 – Número de núcleos c-Fos positivos na área septal lateral em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 26,16$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 52,80$; $p < 0,0001$]. As letras *a* e *b* indicam as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra a*, representa a comparação entre as condições de temperatura (controle e experimental) sob a mesma condição de hidratação, e a *letra b* representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

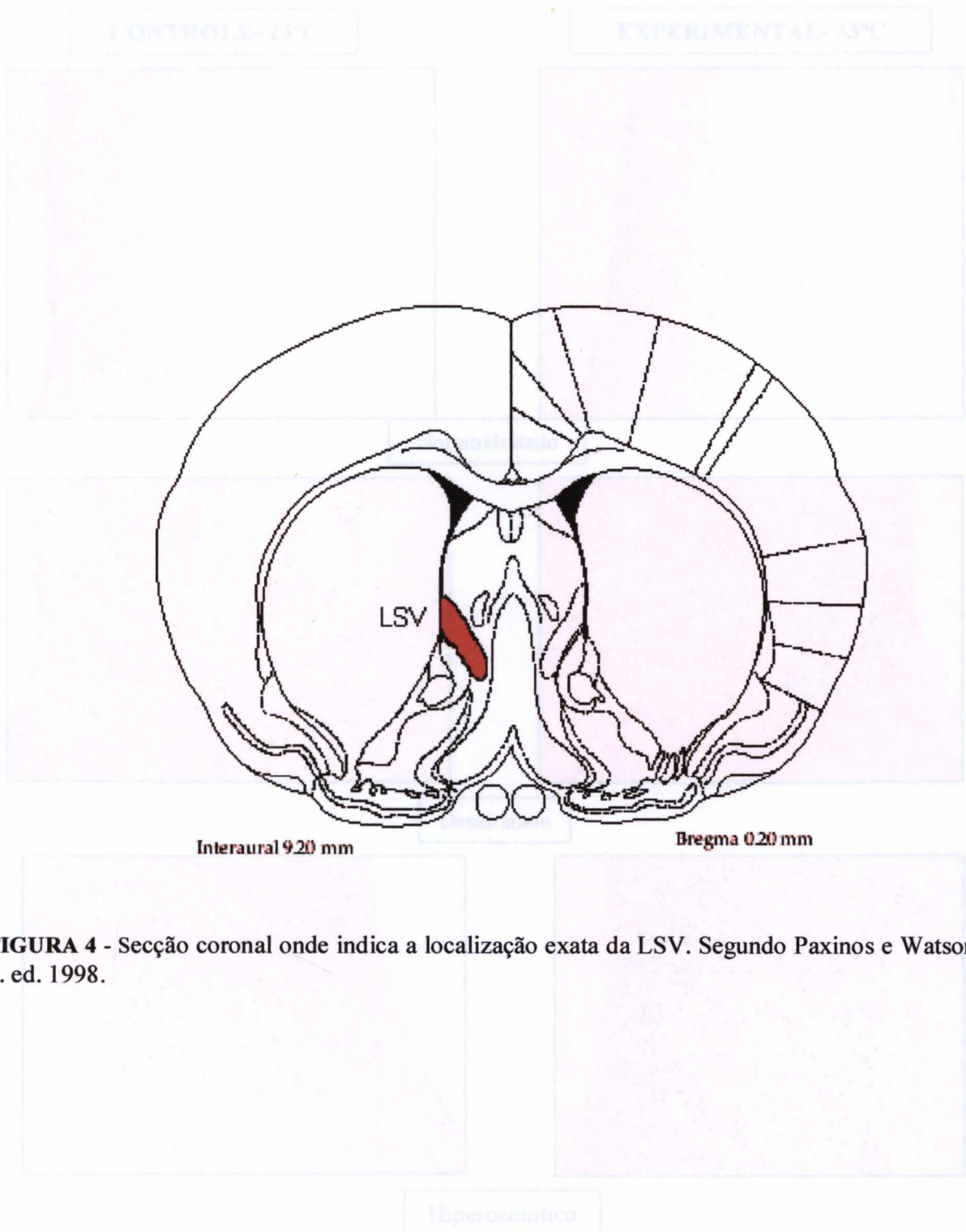


FIGURA 4 - Secção coronal onde indica a localização exata da LSV. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.

FIGURA 5 - Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível da LSV. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controlada ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

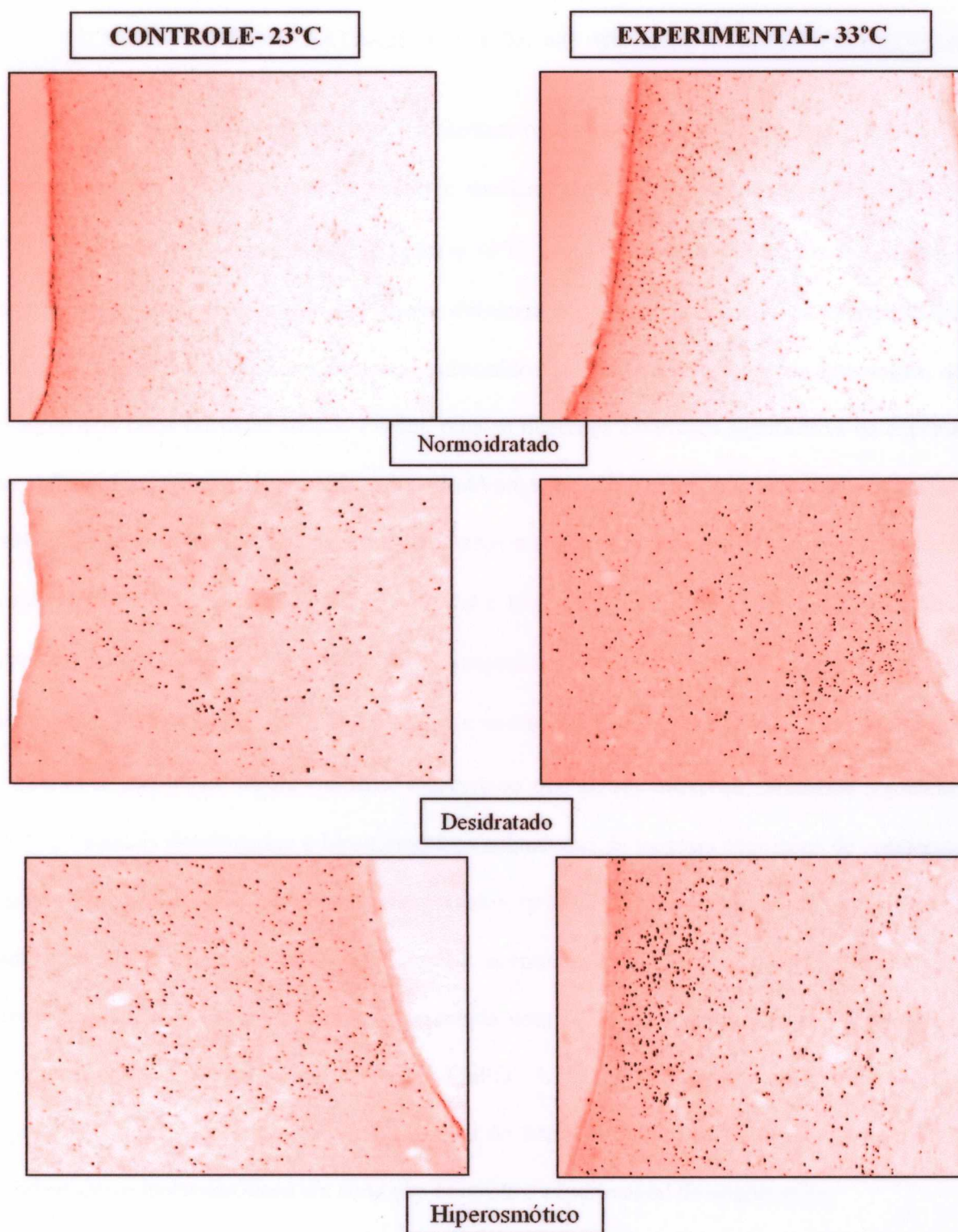


FIGURA 5 – Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível da LSV. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.4. NÚCLEOS IMUNORREATIVOS À C-FOS NO NÚCLEO PREÓPTICO MEDIANO (MnPO)

A figura 6, e tabela 3 (anexos) apresentam os dados referentes à distribuição de núcleos imunorreativos à c-Fos no núcleo preóptico mediano em ratos controles (mantidos a Ta de $\approx 23^{\circ}\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que não houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos em animais controle e experimental submetidos às mesmas condições de hidratação, com exceção dos ratos normoidratados. Porém, nota-se diferença estatística significativa na expressão de c-Fos dos animais (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) expostos às mesmas condições de temperatura. Os números de núcleos imunorreativos no MnPO de animais controles foram: 28.75 ± 8.52 no normoidratados, 179.50 ± 19.90 nos desidratados e de 206.75 ± 68.90 nos hiperosmóticos. Animais expostos ao calor (experimentais) apresentaram os seguintes números de neurônios c-Fos positivos: 70.00 ± 9.95 nos normoidratados, 193.00 ± 33.90 nos desidratados e 238.30 ± 39.90 nos hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa entre os animais desidratados e hiperosmóticos submetidos às mesmas condições de temperatura quando comparados com animais normoidratados ($p < 0,05$). A exposição ao calor foi capaz de aumentar a expressão de c-Fos em animais normoidratados quando comparados ao grupo controle ($p < 0,05$). Na figura 7 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da MnPO. A figura 8 apresenta as secções coronais representativas da expressão de c-Fos ao nível do MnPO em cérebro de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle e experimental de temperatura.

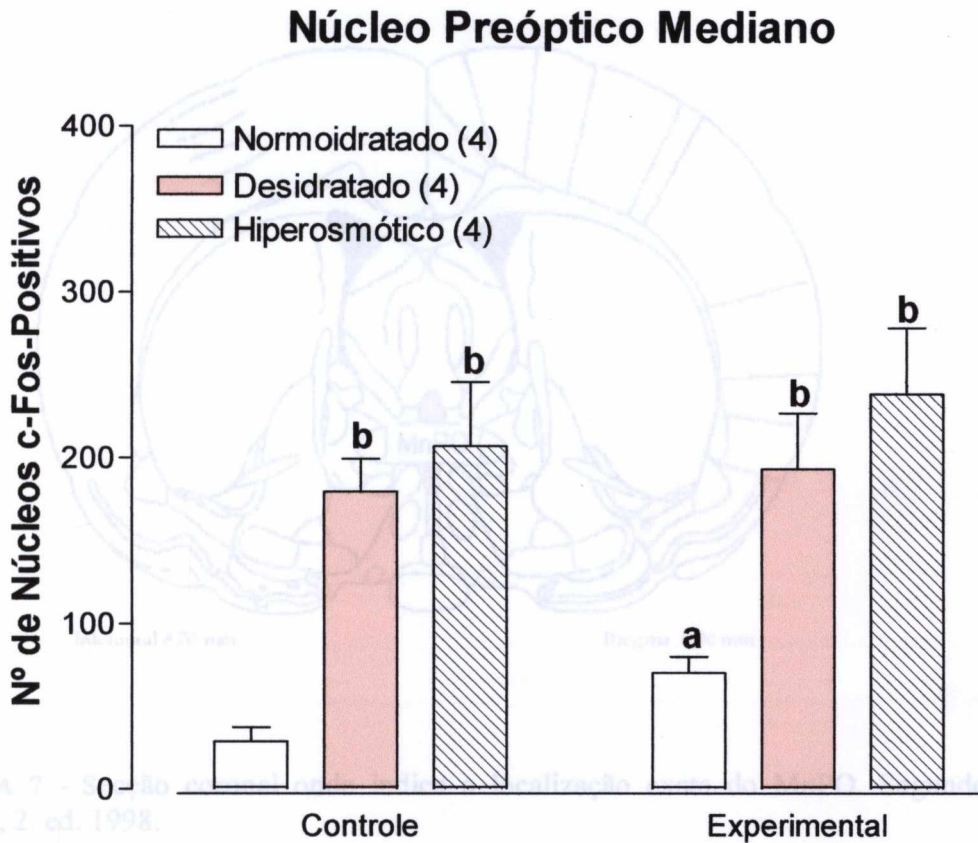


FIGURA 6 – Número de núcleos c-Fos positivos no núcleo preóptico mediano em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 12,43$; $p < 0,0004$; Fator B- temperatura da caixa experimental $F_{(1,2)} = 0,92$; $p = 0,35$]. As letras *a* e *b* indicam as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra a*, representa a comparação entre as condições de temperatura da caixa (controle e experimental) na mesma condição de hidratação e a *letra b* representa a diferença em relação aos animais normoidratados.

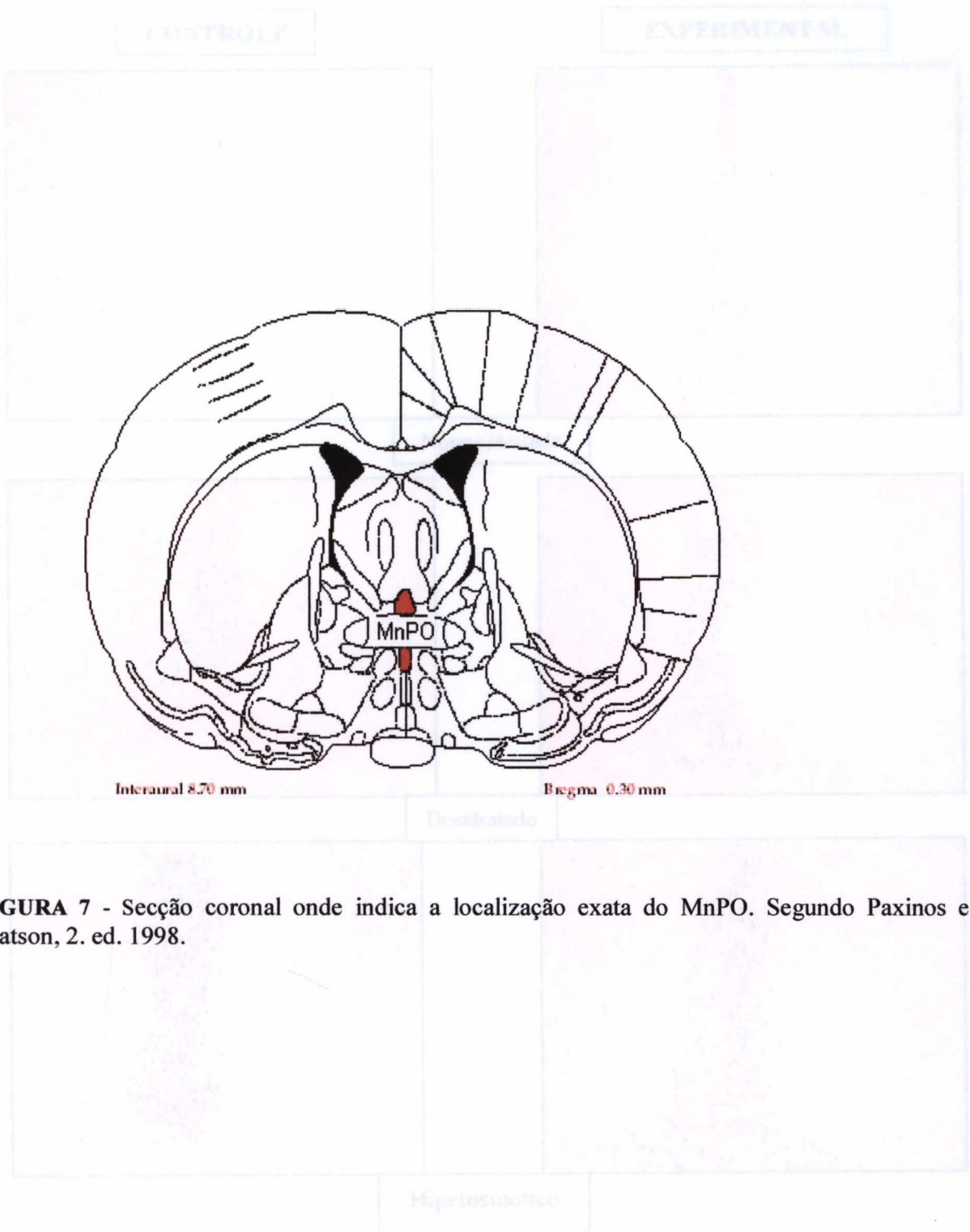


FIGURA 7 - Secção coronal onde indica a localização exata do MnPO. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.

FIGURA 8- Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoativos em secções coronais de cérebro de rato ao nível do MnPO. Na coluna à direita estão as secções representativas de animais normotérmicos, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$), à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

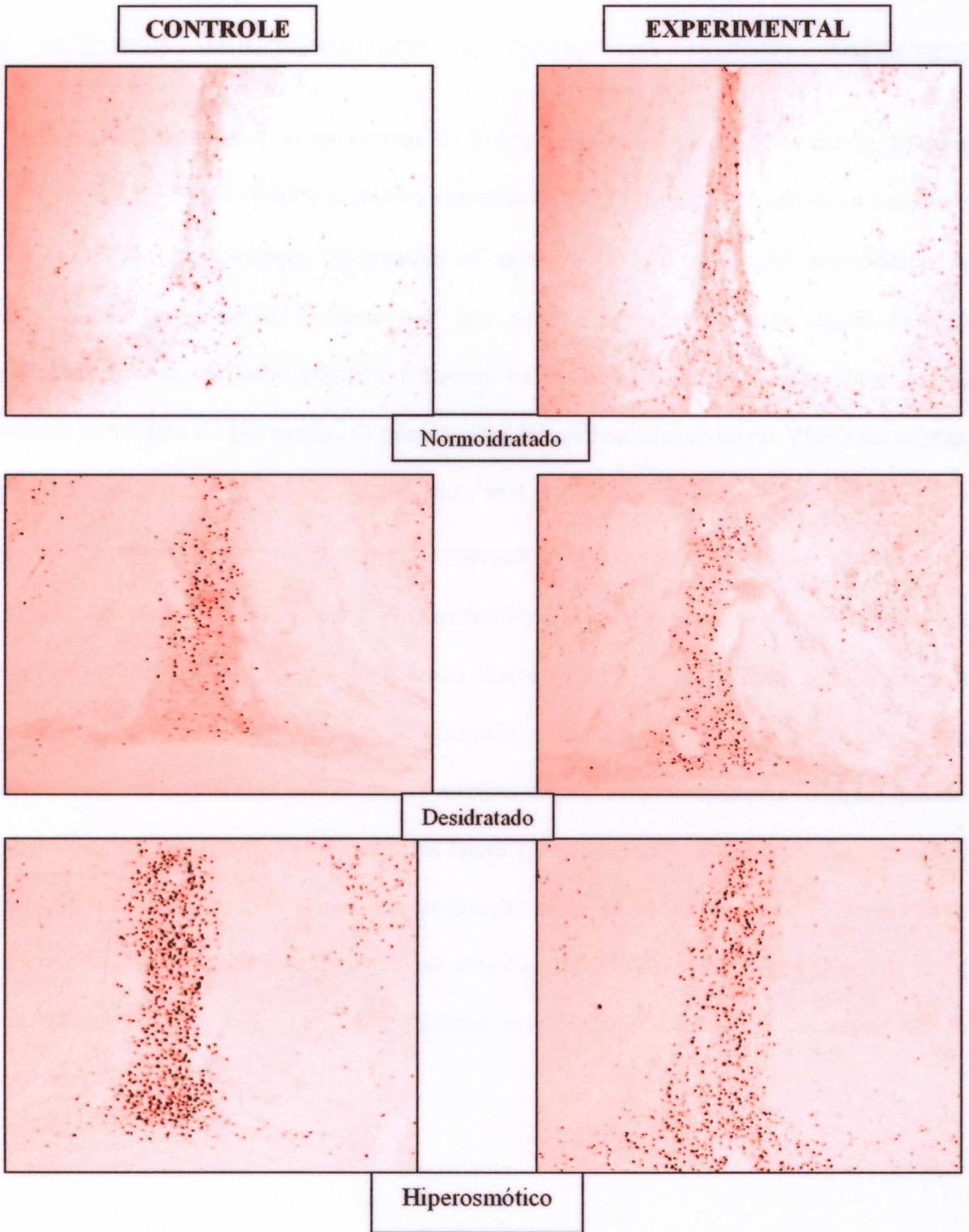


FIGURA 8– Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do MnPO. Na coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$), à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.5 NÚCLEOS IMUNORREATIVOS À C-FOS NO NÚCLEO PREÓPTICO VENTROLATERAL (VLPO)

A figura 9 e tabela 3 (anexos) apresentam os dados referentes à ativação de núcleos celulares imunorreativos à c-Fos no núcleo preóptico ventrolateral (VLPO) em ratos controles (mantidos a T_a de $\approx 23^\circ\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^\circ\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos em ratos expostos à mesma temperatura da caixa, porém submetidos às diferentes condições de hidratação. O número de núcleos imunorreativos no VLPO de animais controle foi de 9.3 ± 1.6 nos normoidratados, 50.5 ± 6.0 nos desidratados e 50.5 ± 6.3 nos hiperosmóticos. Animais submetidos ao calor apresentaram valores de núcleos c-Fos positivos de 24.0 ± 3.7 nos normoidratados, 64.3 ± 5.2 nos desidratados e 58.8 ± 10.1 nos hiperosmóticos. A imunorreatividade à Fos foi geralmente muito discreta nos grupos controles e experimentais normoidratados. Observa-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos desidratados e hiperosmóticos submetidos às mesmas condições de temperatura ($p < 0,05$) quando comparados com o grupo normoidratado. Na figura 10 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da VLPO. A figura 11 apresenta as secções coronais representativas da expressão de c-Fos ao nível do VLPO em cérebro de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle e experimental de temperatura.

Núcleo Preóptico Ventrolateral

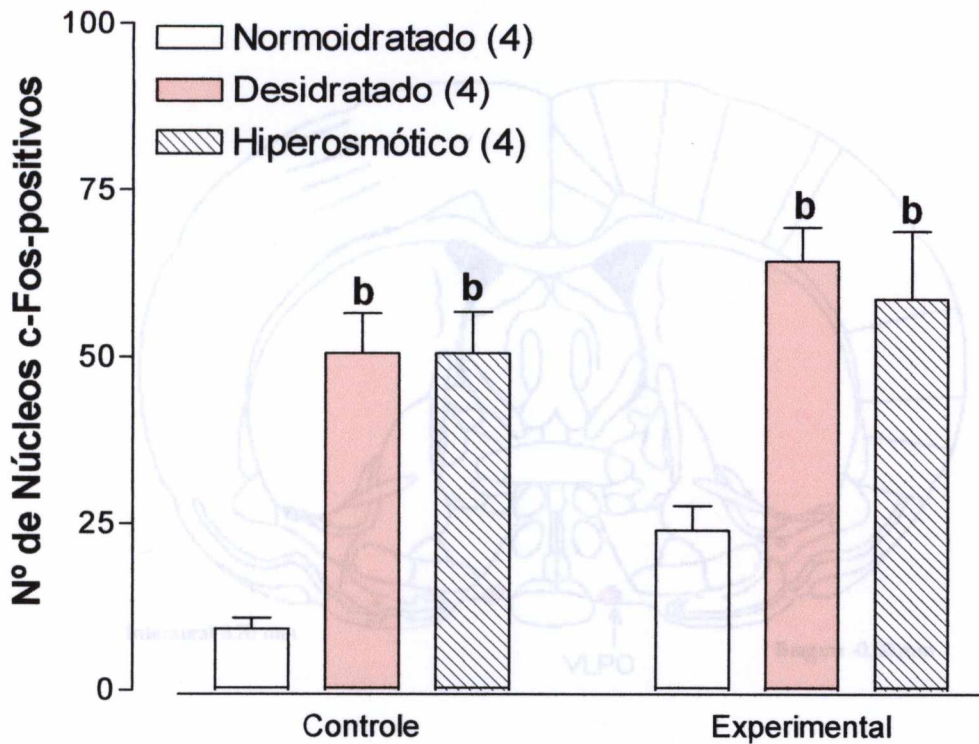


FIGURA 10 - Seção coronal onde indica a localização exata do VLPO. Segundo Paxinos e Watson, 2ª ed 1998.

FIGURA 9 –Número de núcleos c-Fos positivos no núcleo preóptico ventrolateral em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 28,33$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 6,15$; $p = 0,023$]. A letra *b* indica as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra b*, representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

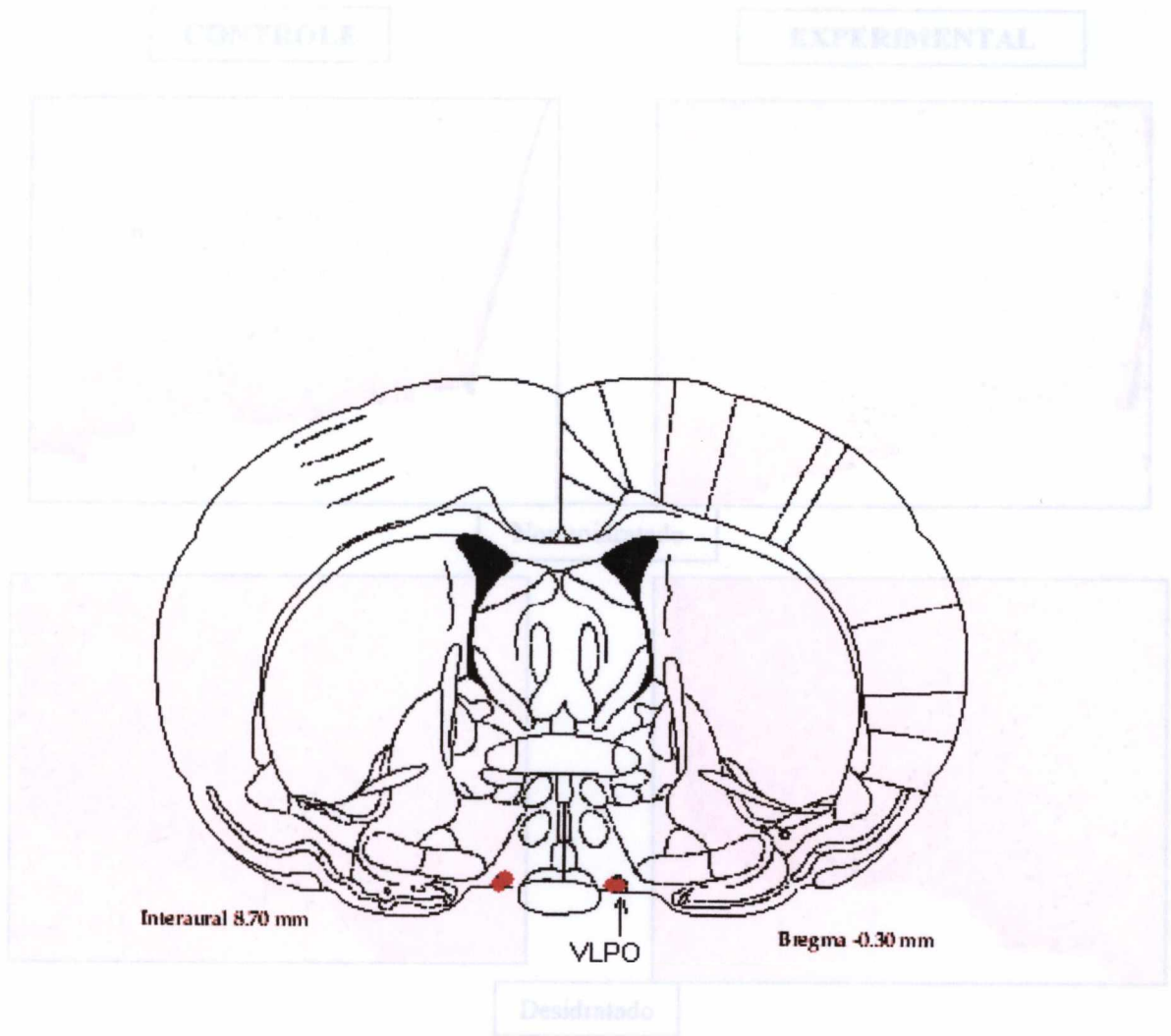


FIGURA 10 - Secção coronal onde indica a localização exata do VLPO. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.



FIGURA 11 - Distribuição espacial de células neuronais imunoreativas em secções coronais de cérebro de ratos no nível do VLPO. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normohidratados, desidratados e hiperosmóticos: em condição controle ($+23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($+3^{\circ}\text{C}$).

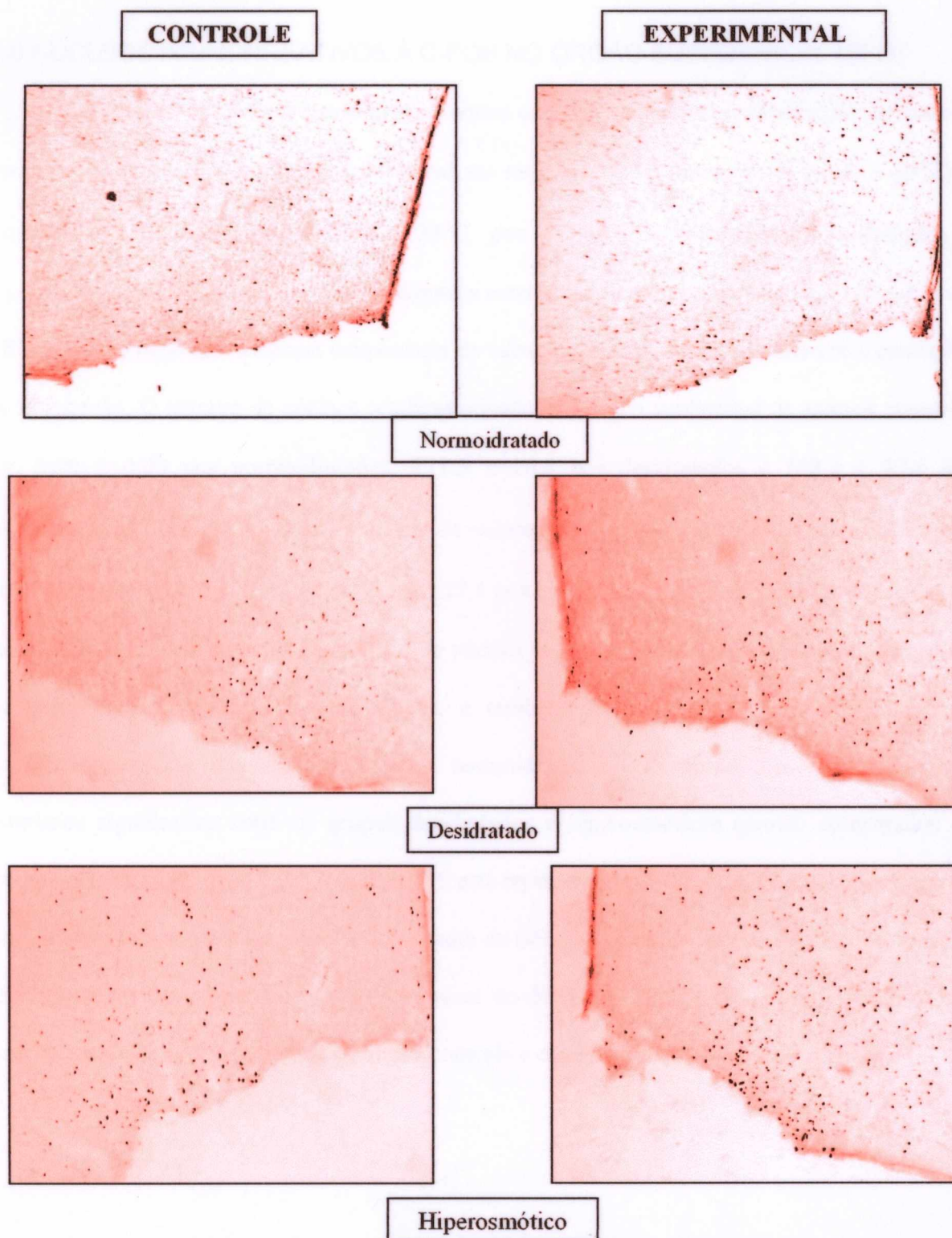


FIGURA 11.- Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do VLPO. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.6 NÚCLEOS IMUNORREATIVOS À C-FOS NO ÓRGÃO SUBFORNICAL (SFO)

A figura 12 e tabela 3 (anexos) apresentam os dados referentes à distribuição de núcleos imunorreativos à c-Fos no órgão subfornical em ratos controles (mantidos a Ta de $\approx 23^{\circ}\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos no SFO em ratos expostos à mesma temperatura da caixa, porém submetidos às diferentes condições de hidratação. O número de núcleos celulares ativados no órgão subfornical de animais controles foi: 0.00 ± 0.00 nos normoidratados, 171.5 ± 20.4 nos desidratados e 108.3 ± 17.6 nos hiperosmóticos. Em animais experimentais os valores foram: 0.00 ± 0.00 nos normoidratados, 162.00 ± 18.5 nos desidratados e de 123.8 ± 22.4 nos hiperosmóticos. Nota-se que a exposição ao calor não induziu um aumento no número de núcleos celulares imunorreativos à c-Fos nos grupos de animais desidratados e hiperosmóticos, e também não induziu aumento do número de neurônios positivos à c-Fos em animais normoidratados. Entretanto, observa-se diferença estatística significativa entre os grupos desidratados e hiperosmóticos quando comparados ao grupo normoidratado ($p < 0,05$). Na figura 13 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da SFO. A figura 14 mostra as secções coronais representativas da expressão de c-Fos ao nível do SFO em cérebro de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle e experimental de temperatura.

Órgão Subfornical

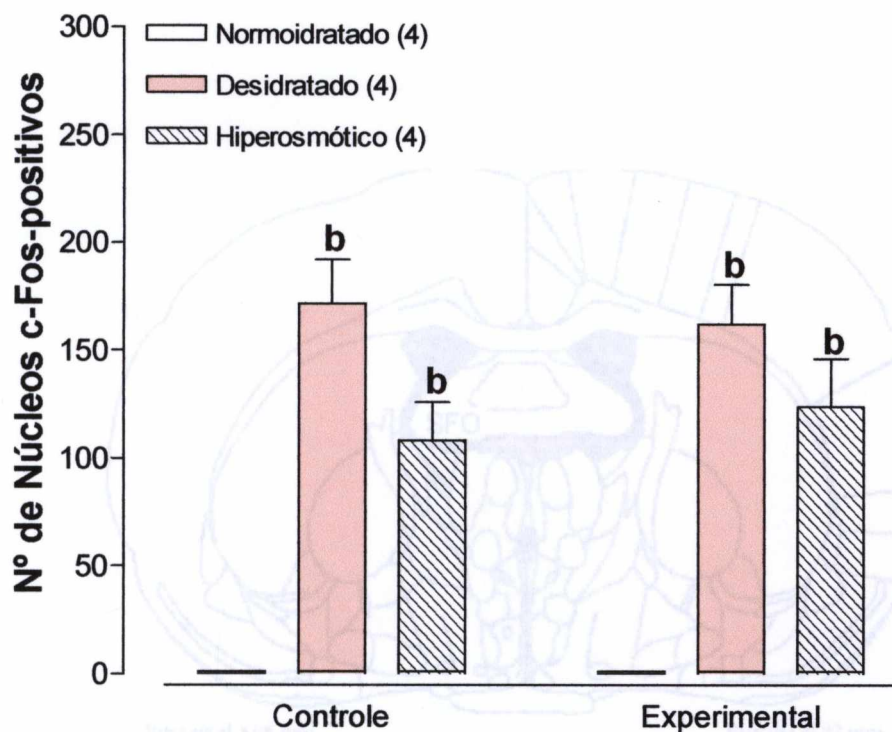


FIGURA 12 – Número de núcleos c-Fos positivos no órgão subfornical em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 55,88$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 0,023$; $p = 0,88$]. A letra *b* indica as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra b*, representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

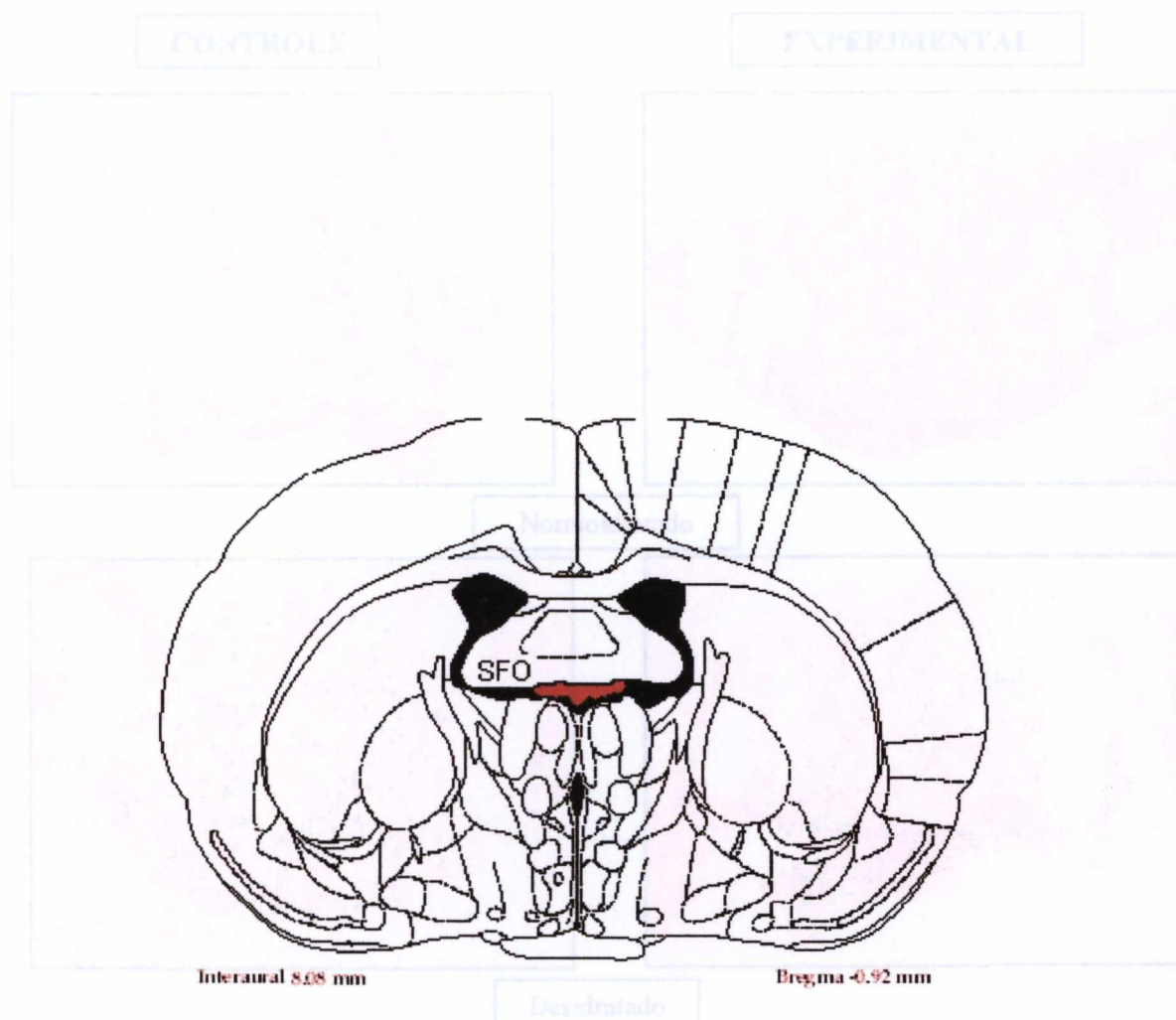


FIGURA 13 - Secção coronal onde indica a localização exata do SFO. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.

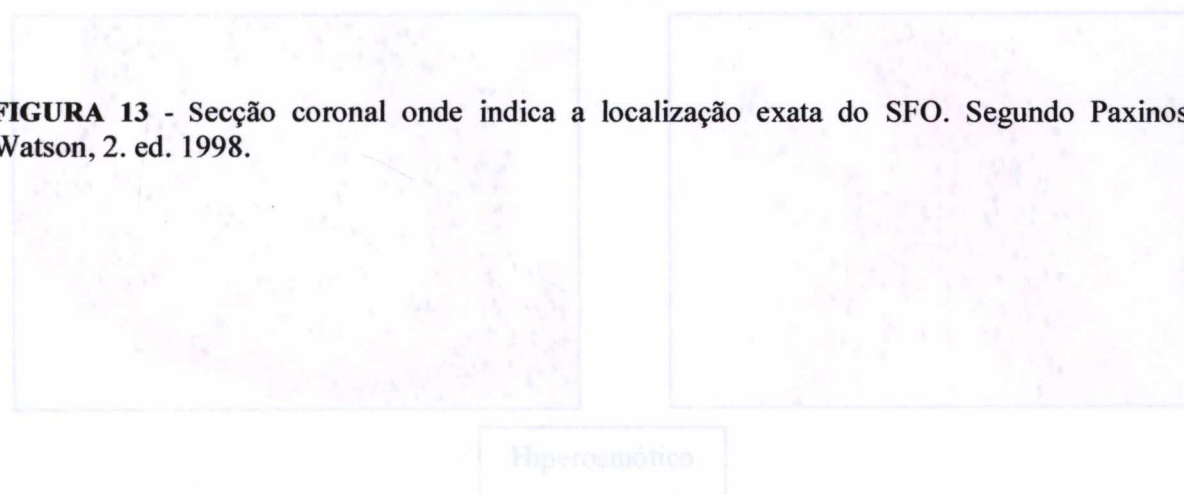


FIGURA 14 - Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebros de ratos ao nível do SFO. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normohidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controla ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais (1°C).

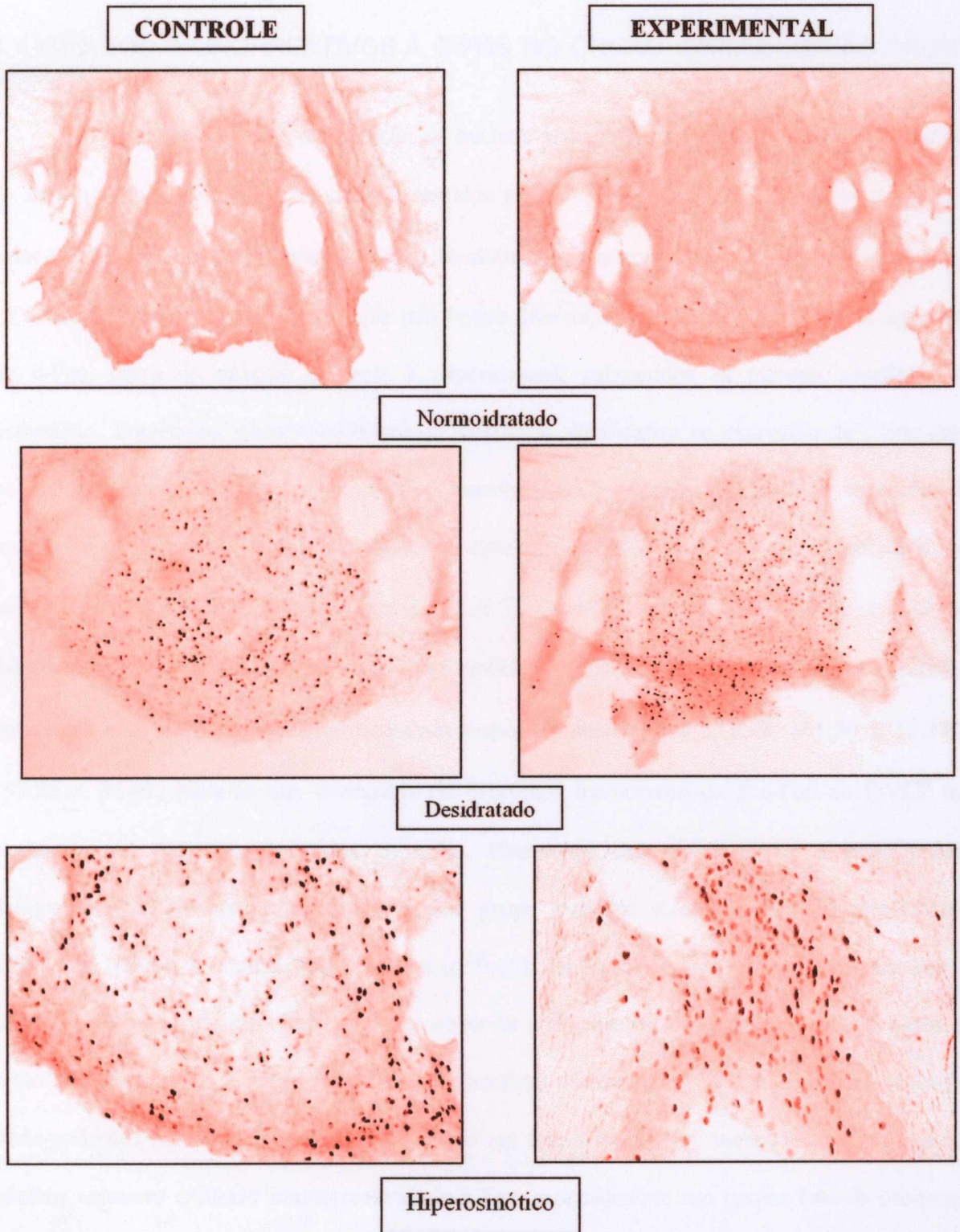


FIGURA 14.- Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do SFO. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.7. NÚCLEOS IMUNORREATIVOS À C-FOS NO ÓRGÃO VASCULOSO DA LÂMINA TERMINAL (OVLT)

Os dados referentes à distribuição de núcleos imunorreativos à c-Fos no órgão vascular da lâmina terminal em ratos controles (mantidos a $T_a \approx 23^\circ\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^\circ\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos estão mostrados na Fig. 15, e tabela 3 (anexos) Observa-se que não houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos, entre os animais controle e experimental, submetidos às mesmas condições de hidratação. Entretanto, observa-se diferença estatística significativa na expressão de c-Fos entre os animais (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) expostos às mesmas condições de temperatura da caixa. O número de núcleos celulares ativados no órgão vascular da lâmina terminal nos animais controles foi de: 35.25 ± 7.53 nos normoidratados, 141.50 ± 6.29 nos desidratados, e 164.75 ± 29.69 nos hiperosmóticos. Animais experimentais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos apresentaram respectivamente 55.50 ± 3.12 ; 161.50 ± 18.37 ; e 192.25 ± 21.01 . Nota-se que o número de neurônios imunorreativos à c-Fos no OVLT não aumentou em animais submetidos ao calor. Entretanto, animais controles e experimentais desidratados e hiperosmóticos diferem dos grupo controle e experimental normoidratado, mostrando diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Na figura 16 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da OVLT. Na figura 17 estão apresentadas as secções coronais representativas ao nível do OVLT nos grupos estudados, onde podemos observar uma área bem definida em forma de um “V” invertido contendo muitos núcleos celulares exibindo imunoreatividade à Fos, especialmente nas bordas laterais observada em animais experimentais desidratados e hiperosmóticos. Animais controles desidratados e hiperosmóticos exibem imunoreatividade a Fos na região dorsal formando um “cap”.

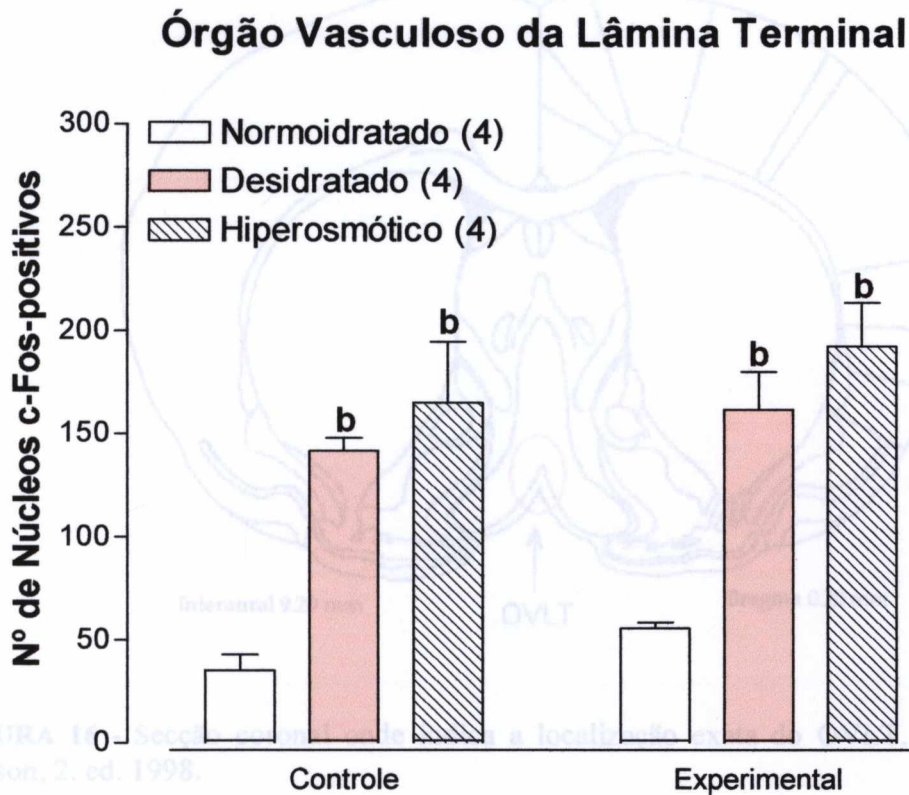


FIGURA 15 – Número de núcleos c-Fos positivos no órgão vasculoso da lâmina terminal em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 33,63$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 2,59$; $p = 0,124$]. A letra *b* indica as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós-teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra b*, representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

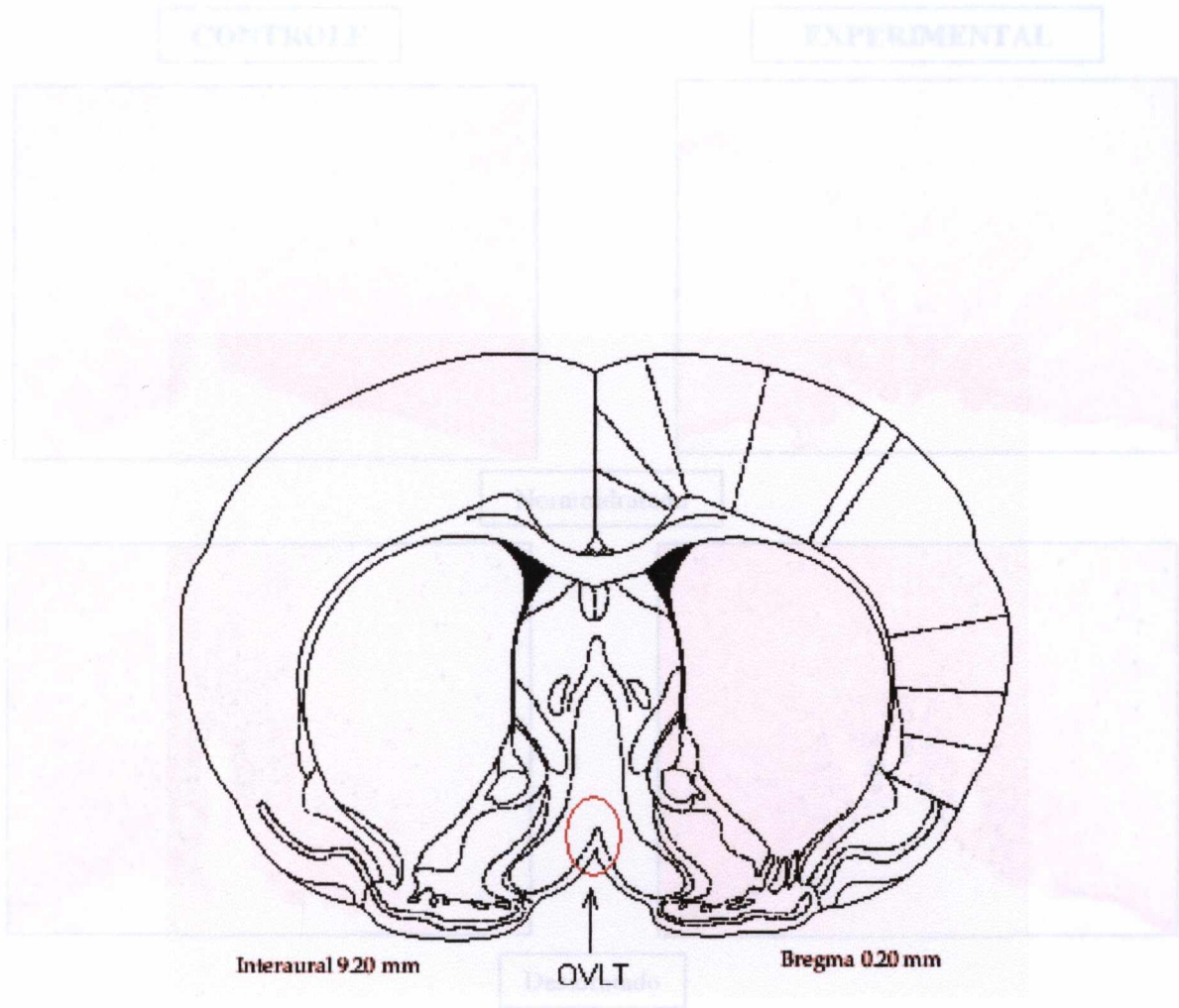


FIGURA 16 - Secção coronal onde indica a localização exata do OVLT. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.

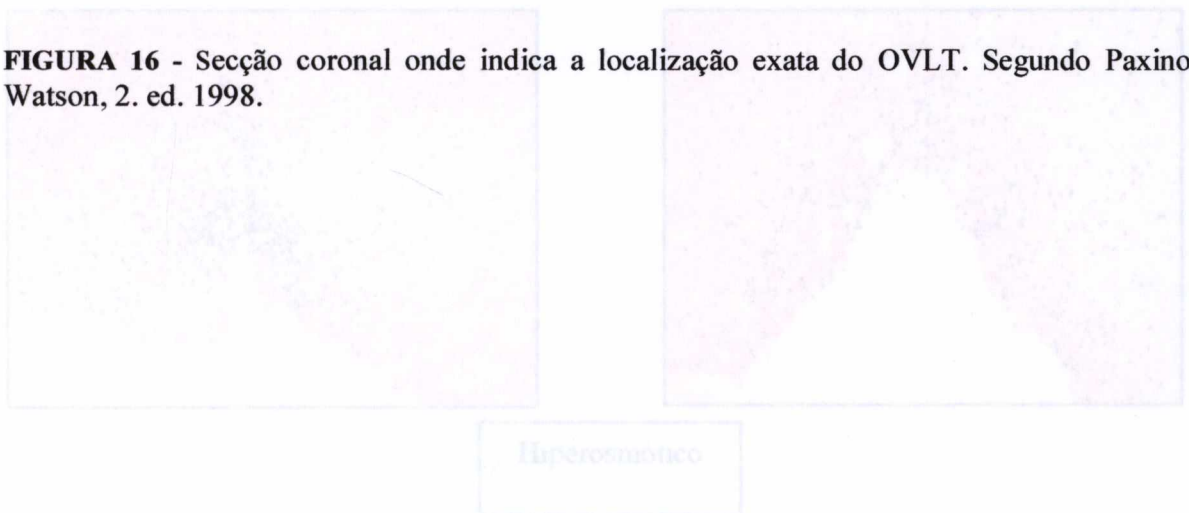


FIGURA 17 – Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos para c-Fos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do OVLT. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normohidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

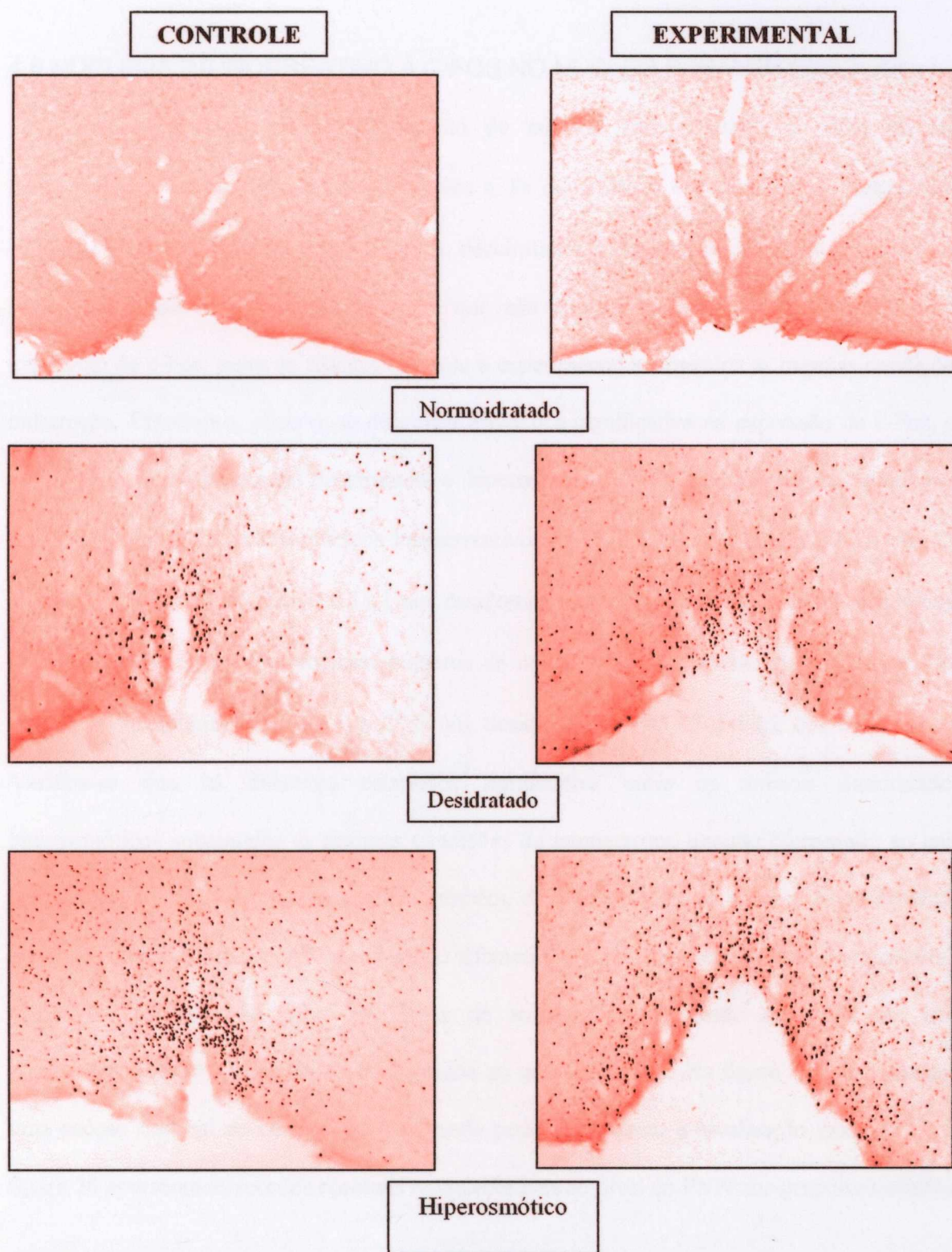


FIGURA 17 – Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos para c-Fos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do OVLT. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.8 NÚCLEOS IMUNORREATIVO À C-FOS NO NÚCLEO PARAVENTRICULAR

Os dados referentes à distribuição de núcleos imunorreativos à c-Fos no núcleo paraventricular em ratos controles (mantidos a T_a de $\approx 23^\circ\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^\circ\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos estão apresentados na Fig. 18 e tabela 3 (anexos). Observa-se que não houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos, entre os animais controle e experimental submetidos às mesmas condições de hidratação. Entretanto, observa-se diferença estatística significativa na expressão de c-Fos, entre os animais (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) expostos às mesmas condições de temperatura. Os números de núcleos imunorreativos no PVN de animais controles foram: 12.0 ± 1.7 nos normoidratados, 165.0 ± 11.1 nos desidratados e de 495.0 ± 75.2 nos hiperosmóticos. Os animais experimentais apresentaram números de núcleos imunorreativos nos valores de: 86.0 ± 10.8 nos normoidratados, 192.5 ± 27.5 nos desidratados e 437.5 ± 62.2 nos hiperosmóticos. Verifica-se que há diferença estatística significativa entre os animais desidratados e hiperosmóticos submetidos as mesmas condições de temperatura, quando comparado ao animais normoidratados ($p < 0,05$). Observa-se, também, diferença estatística entre o grupo desidratado, quando comparado ao grupo hiperosmótico submetidos às mesmas condições de temperatura ($p < 0,05$). A exposição ao calor foi capaz de aumentar a expressão de c-Fos em animais normoidratados ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle. Na figura 19 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da PVN. A figura 20 apresenta as secções coronais representativas ao nível do PVN nos grupos estudados.

Núcleo Paraventricular

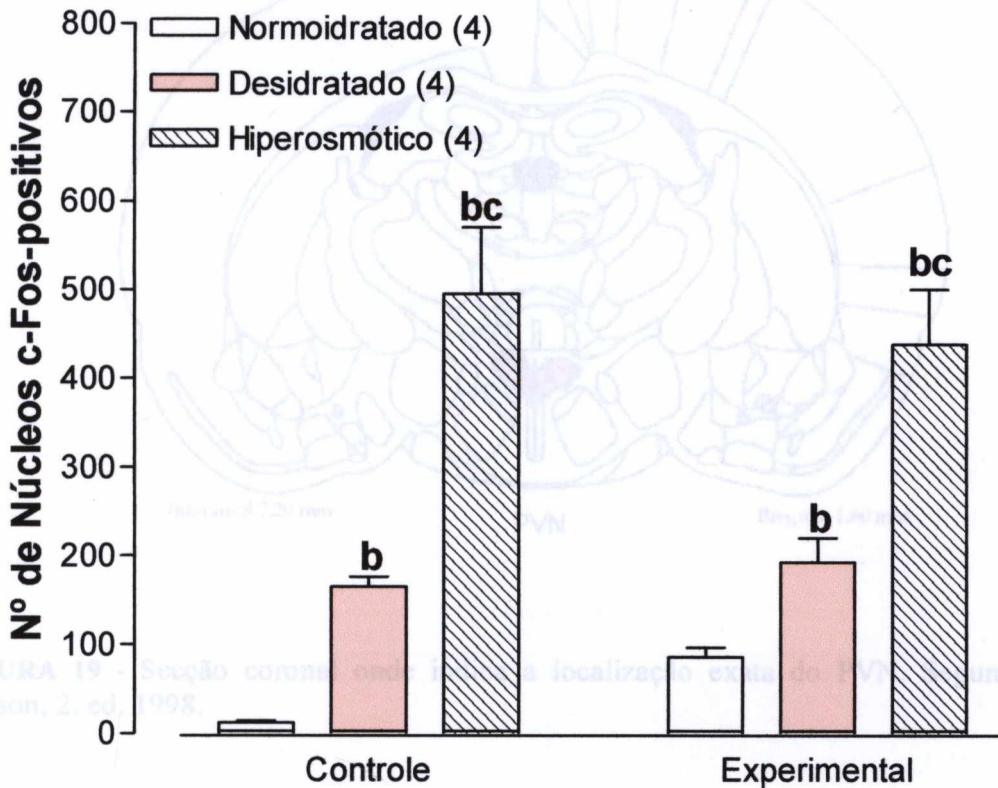
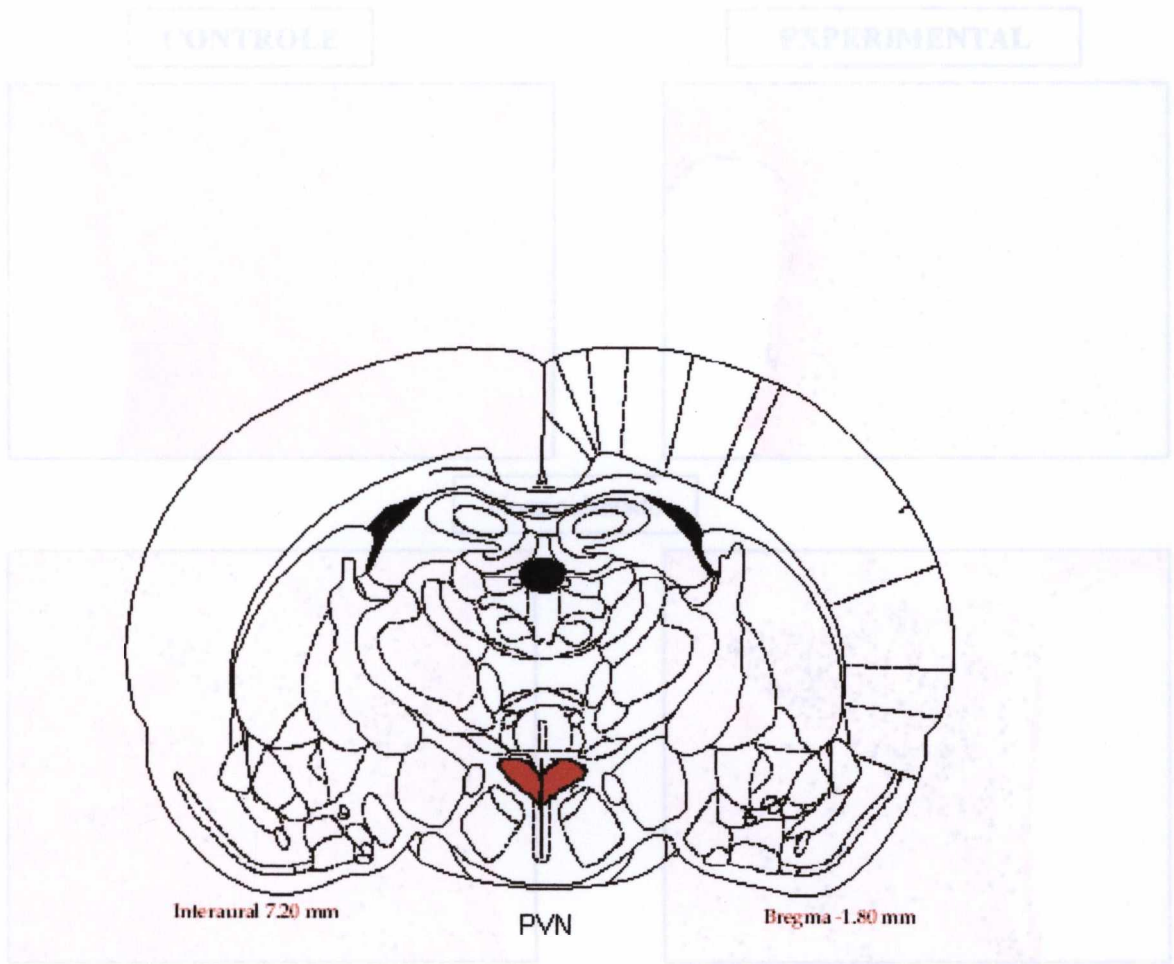


FIGURA 18 — Número de núcleos c-Fos positivos no núcleo paraventricular em animais normoidratados ($n=4$), desidratados ($n=4$) e hiperosmóticos ($n=4$) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 51,9$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 0,18$; $p = 0,67$]. As letras *a*, *b* e *c* indicam as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a letra *b*, representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa, e a letra *c* representa a diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.



Desidratado

FIGURA 19 - Secção coronal onde indica a localização exata do PVN. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.



Hiperosmótico

FIGURA 20 - Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos para c-Fos em seções coronais do cérebro de ratos ao nível do PVN. As colunas à direita estão as seções representativas de animais normohidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição ornizom (= 23°C) e, à esquerda em condições experimentais (= 33°C).

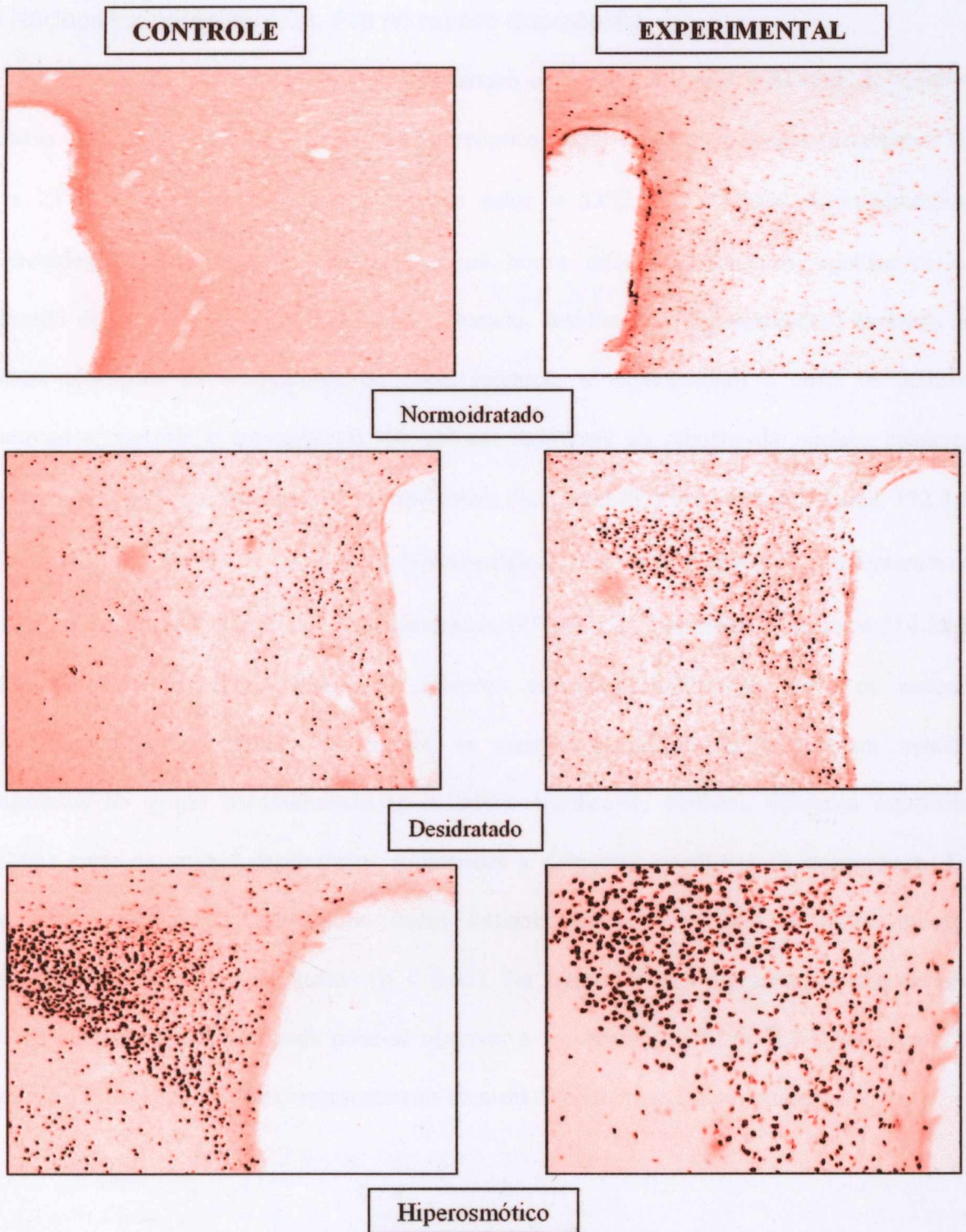


FIGURA 20 – Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos para c-Fos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do PVN. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

4.9 Núcleos imunorreativos à c-Fos no Núcleo Supraóptico

A figura 21, e tabela 3 (anexos) apresentam os dados referentes à ativação de núcleos celulares imunorreativos à c-Fos no núcleo supraóptico (SON) de ratos controles (mantidos a T_a de $\approx 23^\circ\text{C}$) e experimentais (submetidos ao calor $\approx 33^\circ\text{C}$, por 45 min) normoidratados, desidratados e hiperosmóticos. Observa-se que houve diferença estatística significativa na expressão de c-Fos, entre os animais (normoidratado, desidratado e hiperosmótico) expostos às mesmas condições de temperatura da caixa (controle e experimental) e entre os animais desidratados controle e experimental. Os valores referentes ao número de núcleos celulares imunorreativos à c-Fos em animais controles foram de: 1.75 ± 0.75 nos normoidratados, 182.5 ± 16.7 nos desidratados e 272.5 ± 26.9 nos hiperosmóticos. Animais experimentais apresentaram os seguintes valores: 11.5 ± 0.95 nos normoidratados, 307.25 ± 21.12 nos desidratados e 314.25 ± 19.14 nos hiperosmóticos. Observa-se diferença estatística significativa entre os animais desidratados e hiperosmóticos submetidos às mesmas condições de temperatura quando comparados ao grupo normoidratado ($p < 0,05$). Verifica-se, também, diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos desidratados submetidos a diferentes condições de temperatura. Os animais hiperosmóticos apresentaram maior imunorreatividade a c-Fos no SON, quando comparado aos animais desidratados ($p < 0,05$). Na figura 22 está representada uma secção coronal de cérebro de rato, onde pode-se observar a localização exata da SON. Na figura 23, observa-se as secções coronais representativas ao nível do SON nos grupos estudados.

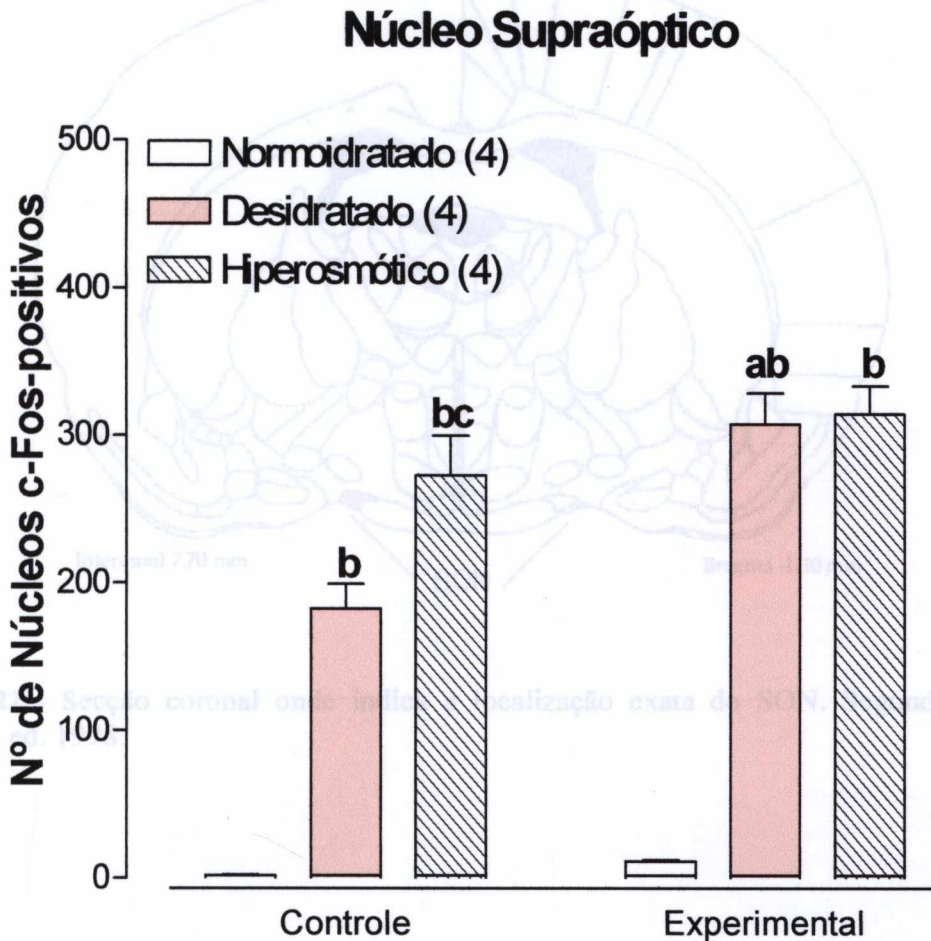


FIGURA 21 –Número de núcleos c-Fos positivos no núcleo supraóptico em animais normoidratados (n=4), desidratados (n=4) e hiperosmóticos (n=4) submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 min. Os animais controles permaneceram a $T_a 23^{\circ}\text{C}$. Os dados são expressos em média \pm EPM [ANOVA: Fator A- condição de hidratação $F_{(1,2)} = 155,34$; $p < 0,0001$; Fator B- temperatura da caixa (controle e experimental) $F_{(1,2)} = 17,07$; $p = 0,0006$. As letras *a*, *b* e *c* indicam as diferenças estatísticas demonstradas pelo pós- teste Student Newman Keuls ($p < 0,05$) sendo que a *letra a*, representa a comparação entre as condições de temperatura (controle e experimental) na mesma condição de hidratação, a *letra b*, indica a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura e a *letra c*, representa a diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura da caixa.

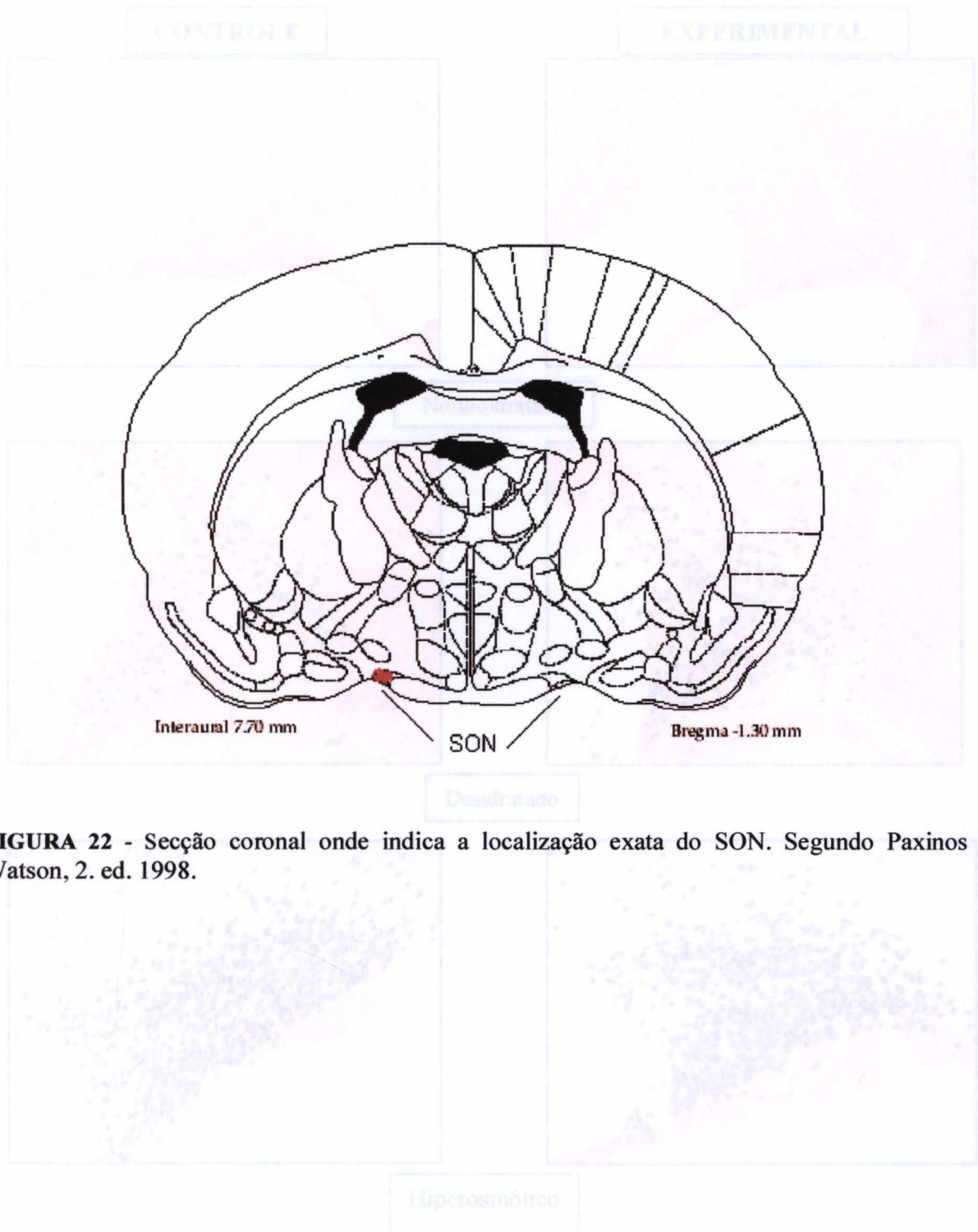


FIGURA 22 - Secção coronal onde indica a localização exata do SON. Segundo Paxinos e Watson, 2. ed. 1998.

FIGURA 21 - Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do SON. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

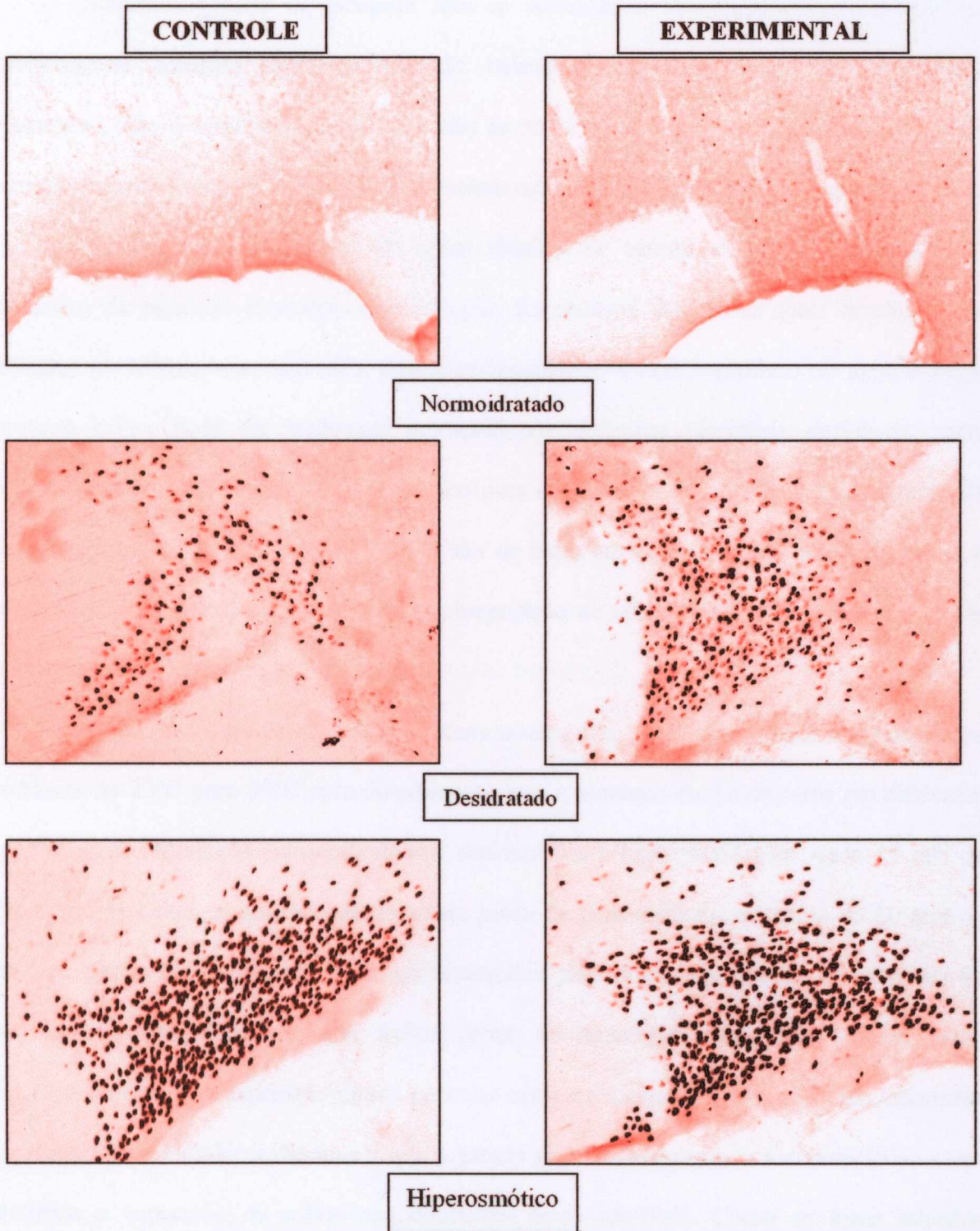


FIGURA 23 – Distribuição espacial de núcleos neuronais imunoreativos em secções coronais de cérebro de ratos ao nível do SON. A coluna à direita estão as secções representativas de animais normoidratados, desidratados e hiperosmóticos em condição controle ($\approx 23^{\circ}\text{C}$) e, à esquerda em condições experimentais ($\approx 33^{\circ}\text{C}$).

5 DISCUSSÃO

Diferentes grupos de pesquisa têm se dedicado à investigação dos mecanismos cerebrais de controle cardiovascular, do balanço hidrossalino e da termorregulação. Entretanto, não é totalmente claro quais são as áreas do SNC e os neurotransmissores que participam deste controle, bem como não é claro como estas estruturas são integradas ao nível central. Com o desenvolvimento de novas técnicas de estudo, como a identificação do marcador de atividade neuronal, o gene *c-fos*, foi possível determinar quais neurônios são ativados no cérebro em resposta a estímulos específicos. Como o produto do gene *c-fos*, a proteína c-Fos, pode ser facilmente detectada por anticorpo específico, decidiu-se, neste estudo, utilizar o método imunohistoquímico para detecção da proteína c-Fos em cérebro de ratos, com o intuito de estabelecer quais são as áreas ativadas pela exposição ao calor e à mudanças da hidratação e, ainda, se há sobreposição de ativação das áreas cerebrais nestas condições de estimulação.

Os resultados do presente estudo demonstram que, a elevação aguda da temperatura ambiente de 23°C para 33°C aproximadamente leva a aumento da Tc de ratos em diferentes condições de hidratação (normoidratados, desidratados e hiperosmóticos). Após 45 min de exposição ao calor, os animais apresentaram perda de peso corporal em torno de 10 gramas em associação com o aumento das concentrações plasmáticas de Na⁺, K⁺, bem como da osmolaridade plasmática, o que indica perda de água por evaporação. Além disso, demonstrou-se que a exposição aguda ao calor aumenta a expressão de c-Fos em estruturas hipotalâmicas e extrahipotalâmicas e que o estado de hidratação prévio à exposição ao calor modifica a expressão de c-Fos nas diferentes áreas cerebrais. Como as áreas ativadas reconhecidamente participam dos mecanismos de controle da osmolaridade dos líquidos corporais e do sistema cardiovascular, o aumento da expressão de c-Fos na exposição ao calor sugere que estas áreas desempenham importante papel nos mecanismos de termorregulação.

Em ratos, um dos mecanismos de termorregulação por perda evaporativa de água é o resfriamento corporal, onde o animal espalha saliva pelo corpo. Assim a regulação da temperatura corporal durante a exposição ao calor é altamente dependente do nível de hidratação. De fato, ratos expostos ao calor aumentam a produção de saliva e a frequência com que os animais espalham a saliva pelo corpo, especialmente na região abdominal (HAINSWORTH, 1967; 1968; STRICKER et al., 1970). A redução do nível de hidratação diminui a capacidade de resfriamento evaporativo e altera a atividade de outros sistemas termorregulatórios efetores (MORIMOTO, 1990). Este efeito pode ser regulado em parte por neurônios hipotalâmicos, que são responsivos a ambas as mudanças, de temperatura e do nível de hidratação (HORI et al., 1988; TRAVIS et al., 1993). Em nosso estudo, animais desidratados apresentaram menor capacidade para regular a temperatura corporal, quando expostos ao estresse térmico, apresentando aumento brusco da temperatura colônica. Isto pode ser devido à redução do nível de hidratação ocasionado pela privação hídrica prévia à exposição ao calor, o que leva à deficiência da perda evaporativa de calor, ocasionando aumento da temperatura colônica, podendo até levar ao choque térmico que foi observado em alguns destes animais.

No presente estudo, a perda de peso corporal em animais normoidratados expostos ao calor foi de aproximadamente 10 gramas. Os animais que foram submetidos à privação hídrica de 14 horas perderam peso neste período (\approx 10 gramas) e, após exposição ao calor, houve perda adicional de mais 10 gramas. Os animais hiperosmóticos perderam 10 gramas de peso corporal antes do experimento devido à privação alimentar prévia ao experimento e quando submetidos ao calor perderam aproximadamente mais 5 gramas de peso corporal. Dados da literatura mostram que a desidratação térmica está associada com diminuição da água total do corpo, do volume do líquido extracelular e do volume plasmático. Quando o nível de desidratação térmica é pequeno o volume plasmático é mantido relativamente

constante, entretanto, quando há alto nível de desidratação térmica ocorre diminuição importante da volemia (DURKOT et al., 1986; HOROWITZ et al., 1979; NOSE et al., 1983; NOSE et al., 1985).

Além das alterações no volume dos líquidos corporais, a desidratação térmica altera a osmolaridade plasmática e a concentração de sódio plasmático (HAINSWORTH et al., 1968; NOSE et al., 1983; NOSE et al., 1986; NOSE et al., 1985; STRICKER et al., 1970). Os aumentos da osmolaridade plasmática e da natremia no presente estudo são indicativos de uma redução da água do compartimento intracelular. Resultados semelhantes foram observados por outros autores que sugerem que esta redução de água no compartimento intracelular seja a responsável pela sede desencadeada em animais submetidos ao calor (ANDERSSON, 1978; FITZSIMONS, 1971; RAMSAY et al., 1977; ROLLS et al., 1982).

No presente estudo, animais hiperosmóticos, mesmo em condições controle de temperatura, apresentaram diminuição da concentração de potássio plasmático. Efeito similar na concentração de potássio plasmático foi observado por Nose e colaboradores (NOSE et al., 1985; 1986). Por outro lado, alguns estudos mostram que a desidratação por privação hídrica em ratos reduz (BENNETT et al., 1987; MCKINLEY et al., 1983) ou não altera (BARNEY et al., 1983) a concentração plasmática de potássio. Estes autores sugerem que na privação hídrica, a diminuição do potássio plasmático pode ser devida à redução da água total corporal e ao aumento da concentração de sódio plasmático que elevam os níveis plasmáticos de vasopressina e esta, por sua vez, aumenta a captação celular de potássio reduzindo os níveis plasmáticos deste íon. Em nosso estudo, é possível que o mesmo mecanismo possa ter sido desencadeado resultando em diminuição da concentração plasmática de potássio em animais hiperosmóticos.

No presente trabalho, a desidratação ocasionada pela privação hídrica de 14 horas durante a noite foi capaz de aumentar significativamente a imunorreatividade a Fos em

núcleos neuronais do OVLT, SFO, que são envolvidos na osmorrecepção, no PVN e SON, onde os neurônios sintetizam vasopressina e no MnPO e LSV que parecem ser estruturas importantes na integração das respostas de controle hidrossalino, cardiovascular e termorregulador. Nossos dados estão de acordo com investigações prévias, onde ratos privados de água por 24 ou 48 horas apresentam aumento da expressão de c-Fos nas mesmas estruturas (McKINLEY et al., 1994). Dados semelhantes também foram observados após 3 dias e de 1-5 dias de privação hídrica (MIYATA et al., 1994; SLADER et al., 1994).

Os dados do presente estudo mostram que a administração de salina hipertônica 9% via orogástrica também induziu ativação de c-Fos no PVN, SON, LSV MnPO e nos órgãos circumventriculares SFO e OVLT. Respostas semelhantes foram observadas em ratos mantidos por 10 dias com oferta líquida exclusiva de salina 2 M (MIYATA et al., 1994). Após o mesmo tipo de tratamento crônico de 7 dias, com ingestão de sal, a imunorreatividade à c-Fos foi observada, não somente no PVN, mas também em estruturas da lâmina terminal, OVLT, MnPO e no SFO (KOVACS et al., 1993).

Os órgãos circumventriculares cerebrais contêm capilares fenestrados e possuem a barreira hematoencefálica deficiente, fazendo destas estruturas candidatas ideais para o local osmorreceptivo central. No presente estudo, duas dessas estruturas circumventriculares, o OVLT e SFO expressaram c-Fos em ratos que receberam salina hipertônica (9%) via orogástrica. Dados semelhantes foram obtidos em estudos que examinaram a expressão de c-Fos em ratos adultos depois de mudanças osmóticas (KOVACS et al., 1993; LARSEN et al., 1995; OLDFIELD et al., 1991; OLSON et al., 1993).

As evidências mostram que células do OVLT são osmossensitivas e que projeções eferentes desta estrutura medeiam certas respostas osmorregulatórias. Além disso, o SFO é muito conhecido por mediar os efeitos estimulatórios da angiotensina II na ingestão hídrica e secreção neurohipofisária em ratos (FERGUNSON et al., 1988; MANGIAPANE et al., 1984;

OLDFIELD et al, 1991). Nossos achados são consistentes com outros trabalhos que mostram que o SFO é importante componente osmoresponsivo. O SFO envia projeções para a região AV3V e apresenta conexões recíprocas com o MnPO, OVLT, PVN e SON (MISELIS, 1981). Células do SFO aumentam sua frequência de disparo durante a hipernatremia, (GUTMAN et al., 1988) e estudos com lesão desta estrutura têm sugerido que células desta estrutura podem ter um papel facilitador na ingestão de água induzida pela salina hipertônica (HOSUTT et al., 1981) e na secreção de AVP (MANGIAPANE et al., 1984) em ratos adultos. Nossos resultados evidenciam que áreas específicas do prosencéfalo são ativadas pela hiperosmolaridade plasmática induzida pela administração orogástrica de solução salina hipertônica (1,5 M) em ratos, o que também foi relatado em estudos que utilizaram administração subcutânea de salina hipertônica (2,0 M) (RINAMAN et al., 1997). Dados da literatura mostram que tanto a desidratação quanto à administração de salina hipertônica induzem expressão de c-Fos no PVN e SON (McKINLEY et al., 1990; SHARP et al., 1991).

Com relação às vias neurotransmissoras responsáveis pela osmorregulação e pela termorregulação, alguns estudos mostraram que injeção intracerebroventricular de carbacol, um agonista colinérgico, induz imunorreatividade a c-Fos no SON, PVN e MnPO (ROWLAND et al., 1994). A estimulação colinérgica do SON, pela microaplicação de neostigmina, aumentou a expressão de c-Fos neste núcleo e ocasionou aumento da Tc. Por outro lado, a estimulação colinérgica no PVN diminuiu a Tc e aumentou a ingestão de água. De acordo com evidências neuroquímicas, o MnPO tem conexões recíprocas com a área preóptica e hipotálamo anterior, sendo que o MnPO envia projeções para o PVN e SON. Desta forma, a estimulação de receptores colinérgicos muscarínicos e ativação colinérgica no PVN e SON pode ter função oposta na regulação da temperatura corporal e o circuito que inclui a área preóptica, hipotálamo anterior, MnPO, PVN e SON pode ser essencial nos mecanismos de termorregulação, como também na osmorregulação (TAKAHASHI, 2001).

Estudos mostram que estímulos como a hiperosmolaridade, causada pela desidratação e ingestão crônica de sal, aumentam a expressão do gene nNOS no PVN e SON (KADOWAKI, et al., 1994; UETA et al., 1995; VILLAR et al., 1994). Outros estudos demonstraram que NO hipotalâmico inibe (CHIODERA et al., 1994; KADOWAKI et al., 1994; YASIN et al., 1993) ou estimula a liberação de AVP (OTA et al., 1993). Ueta e colaboradores mostram que a produção de NO e o aumento da expressão do gene n-NOS no PVN e SON de ratos hipovolêmicos pode ter papel fisiológico na regulação da liberação de AVP ativada pela hipovolemia (UETA, 1995).

Em nosso estudo, animais desidratados e hiperosmóticos apresentaram forte imunorreatividade a c-Fos no PVN e SON, assim como redução de peso corporal, o que indica perda de água corporal e, conseqüente, hipovolemia. Assim, podemos sugerir que vias oxidonitrérgicas podem estar atuando na regulação da liberação de AVP nestes núcleos.

A AII pode agir como neurotransmissor no circuito neuronal mediando a regulação cardiovascular e homeostase do líquido corporal (PHILLIPS, 1987; UNGER et al., 1988). Estudos sugerem que vias angiotensinérgicas centrais, que estimulam a liberação de vasopressina na periferia, são ativadas durante o estresse térmico e pode ter papel na modulação cardiovascular, através da vasoconstrição mediada por receptores V_1 e V_2 , para ajustes na hipertermia. Alguns estudos também demonstram que é possível que termorreceptores enviem sinais para o SNC, podendo participar na modulação das ações centrais da AII e, conseqüentemente, das respostas neuroendócrinas e de ativação do sistema nervoso simpático (KREGEL et al., 1994).

O estresse térmico agudo pode produzir diminuição da água dos compartimentos de líquido intracelular e extracelular, resultando em aumento da osmolaridade plasmática e diminuição do volume plasmático (SAWKA et al., 1985). Tanto a hiperosmolaridade, quanto a hipovolemia, estimulam a secreção de vasopressina da hipófise posterior, que na circulação

periférica altera a atividade de receptores de volume cardiopulmonares e osmorreceptores (DUNN et al., 1973; WADE et al., 1986). Evidências sugerem que AVP circulante pode levar à vasoconstrição, resultando em aumento da resistência periférica total e da pressão arterial. A AVP também reduz a perda de água pela urina e este mecanismo pode ser crucial para a manutenção da homeostase hidrossalina durante o estresse térmico (UNGER et al., 1981).

Parâmetros como: redução da excreção urinária, aumento da frequência respiratória, da salivação e da movimentação, não foram mensurados em nosso estudo, entretanto, estes parâmetros puderam ser facilmente observados no período experimental. Nossas observações levaram aos seguintes resultados: ratos submetidos ao calor apresentam redução da excreção urinária, aumento da frequência respiratória, da salivação e da movimentação. Desta forma, estes dados em conjunto com dados da expressão de c-Fos em animais submetidos ao estresse térmico em diferentes condições de hidratação, sugerem que várias vias neurotransmissoras possam estar atuando em conjunto para a regulação da homeostasia térmica e osmótica. Nossos dados mostram que, animais submetidos ao calor apresentam hiperosmolaridade plasmática, perda do volume plasmático e aumento da expressão de c-Fos nos núcleos PVN e SON. Assim, podemos sugerir que vias vasopressinérgicas têm papel preponderante nesta regulação, além das vias angiotensinérgicas que podem estar estimulando a liberação de AVP.

Estresse, como a contenção, é conhecido por estimular a expressão de c-Fos no hipotálamo, especialmente na área preóptica mediana e no SON e elevar a Tc (SENBA, 1997). A POA geralmente envia sinais excitatórios para os neurônios do SON, embora o exato tipo de neurônio precisa ser esclarecido em estudos futuros. A POA é conhecida por ser importante não somente para mediar a perda de calor, mas também para controlar a produção de calor (KANASUE et al., 1998). Sinais eferentes inibitórios dos neurônios preópticos, sensitivos ao calor, provavelmente regulam a termogênese por tremor e por não-tremor (CHEN et al., 1998; ZHANG et al., 1995), mas suas conexões não são ainda claras.

Similarmente, a supressão da expressão de c-Fos induzida por exposição ao frio no PVNm devido ao aquecimento da POA sugere que neurônios recebem estímulos excitatórios dos receptores cutâneos e estímulos inibitórios da POA. A imunorreatividade a c-Fos no PVNm em ratos expostos ao frio corresponde bem com o envolvimento desta área na liberação de vasopressina em cães e cobaias durante a exposição ao frio (SADOWSKI et al., 1977; ZEISBERGER et al., 1988).

Estes dados, em conjunto com os nossos dados, mostram que o PVN, SON, OVLT e SFO têm papel fundamental na osmorregulação e que o LSV e MnPO além de participar na osmorregulação, também parecem ser importantes no controle da temperatura corporal.

Como entre os mecanismos de termorregulação, está a perda de água por evaporação, é importante que haja integração no SNC de áreas que controlam a osmorregulação, o sistema cardiovascular e a temperatura corporal. A ativação da LSV e área preóptica, em todas as situações de hidratação e de temperatura aqui estudadas, sugere que estas áreas podem ser as responsáveis pela integração das funções osmorregulatórias e termorregulatórias centrais.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo constitui o primeiro a mostrar o efeito da exposição aguda ao calor através de luz infravermelha (± 33) durante 45 min, na temperatura corporal, ativação neuronal e sua influência sobre as concentrações plasmáticas de sódio, potássio e da osmolaridade. Neste estudo, podemos fazer as seguintes conclusões:

A hipertermia induzida pela exposição aguda ao calor em ratos normoidratados leva à ativação de áreas hipotalâmicas, tais como a LSV, MnPO e PVN, que podem estar envolvidas na termorregulação. Entretanto, o OVLT, SFO e SON parecem estar mais envolvidos com a osmorregulação.

O aumento da expressão de c-Fos no MnPO e LSV, em resposta ao estresse térmico e à hiperosmolaridade demonstra parecer haver sobreposição funcional de áreas que controlam o equilíbrio hidrossalino e a temperatura corporal. Desta forma, sugerindo que estas áreas sejam responsáveis pela integração das funções termo e osmorregulatórias.

Nossos dados revelam pela primeira vez, que a área septal lateral (LSV) parece estar envolvida na sobreposição do controle da homeostasia hidrossalina e da termorregulação. Papel que antes era direcionado somente a área preóptica.

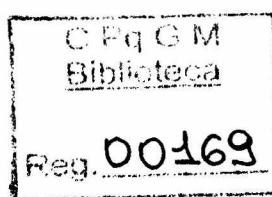
A hipertermia induzida pela exposição aguda ao calor leva à alterações da concentração de sódio plasmático e da osmolaridade plasmática que foram agravadas pela condição prévia a esta exposição.

6 REFERÊNCIAS

- ADOLPH, E. F. **Physiology of man in the desert**. Interscience: New York, 1947. p. 172-196.
- ANDERSSON, B. Regulation of water intake. **Physiol. Rev.**, **58**:582-602, 1978.
- ATRENS, D. M.; WILLIAMS, M. P.; BRADY, C. J.; HUNT, G. E. Energy balance and hypothalamic self-stimulation. **Brain Res.**, **152**:131-142, 1982.
- BAKER, M.A.; DORIS, P. A. Effect of dehydration of hypothalamic control of evaporation in the cat. **J. Physiol.**, **322**:457-468, 1982.
- BAKER, M.A.; DORIS, P. A.; HAWKINS, M. J. Effect of dehydration and hyperosmolality on thermoregulatory water losses in exercising dogs. **Am. J. Physiol.**, **244**:R516-521, 1983.
- BAKER, M. A.; TURLEJSKA, E. Thermal panting in dogs: Effects of plasma volume expansion and drinking. **Pflügers Arch.**, **413**:511-515, 1989.
- BANET, M.; WIELAND, U. E. The effect of intraseptally applied vasopressin on thermoregulation in the rat. **Brain Res. Bull.**, **14**:113-116, 1985.
- BARBOUR, H. G. Die Wirkung unmittelbarer Erwärmung und Abkühlung der Wärmezentrum auf die Körpertemperatur. **Arch. Exp. Pathol. Phmarkol.**, **70**: 1-26, 1912.
- BARNEY, C. C.; THREATTE, R. M.; FREGLY, M. J. Water deprivation - induced drinking in rats: role of angiotensin II. **Am. J. Physiol.**, **244**:R244-248, 1983.
- BENNET, T.; GARDINER, S. M. Water deprivation: effects on fluid and eletrolyte handling and plasma biochemistry in Long-Evans and Brattleboro rats. **J. Physiol.**, **385**:35-48, 1987.
- BLATTEIS, C. M.; SEHIC E. Fever: How may circulating pyrogens signal the brain? **NIPS**, 1-9, 1997.
- BOULANT, J. Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. **Clin . Infect. Dis.**, **31**: S157-S161, 2000.
- BRIESE, E.; CABANAC, M. Stress hyperthermia: a Physiological argument that is a fever. **Physiol. Behav.**, **49**:1153-1157, 1991.
- BUGGY, J.; JOHSON, A K. Preoptic-hypothalamic periventricular lesion: thirst deficits and hypernatremia. **Am. J. Physiol.**, **233**: R44-52, 1977^a.
- CARPENTER, M. B. The hypothalamus. In: CARPENTER, M. B. **Core text of Neuroanatomy**. (Ed.). 4. ed. New York: Williams & Williams, 1991. p. 297-307.
- CHEN, X.-M.; HOSONO, T.; YODA, T.; FUKUDA, Y.; KANASUE, K. Efferents projection from the preoptic area for the control of non-shivering thermogenesis in rats. **J. Physiol.**, **512**: 883-892, 1998.

- CHIODERA, P.; VOLPI, R.; COIRO, V. Inhibitory control of nitric on the arginine-vasopressin and oxytocin response to hypoglycaemia in normal man. **NeuroReport**, **5**:1822-1824, 1994.
- DE PAULA, D.; STEINER, A. A.; BRANCO, S. G. L. The nitric oxide pathway is an important modulator of stress-induced fever in rats. **Physiol. & Behav.**, **70**:505-511, 2000.
- DERAMBURE, P. S.; BOULANT, J. A. Circadian thermosensitive characteristics of suprachiasmatic neurons in vitro. **Am. J. Physiol.**, **266**: R1876-1884, 1994.
- DIAMANT, M.; DE WIED, D. Differential effects of central injected AVP on heart rate, core temperature, and behavior in rats. **Am. J. Physiol.**, **264**: R51-R61, 1993.
- DUNN, F. L.; BRENNAMAN, T. J.; NELSON, A. E.; ROBERTSON, G. L. The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. **J. Clin. Invest.**, **52**:3212-3219, 1973.
- DURKOT, M. J.; MARTINEZ, O.; BROOKS- MCQUADE, D.; FRANCESCONI, R. Simultaneous determination of fluid shifts during thermal stress in a small-animal model. **J. Appl. Physiol**, **61**:1031-1034, 1986.
- ELMQUIST, J. K.; SCAMMEL, T. E.; JACOBSON, C. D.; SAPER C. B. Distribution of cFos-like immunoreactivity in the rat brain following intravenous lipopolysaccharide administration. **J. Comp. Neurol.**, **371**:85-103, 1996.
- FERGUNSON, A. V.; KASTING, N. W. Angiotensin acts at the subfornical organ to increase plasma oxytocin concentrations in the rat. **Regul. Pept.**, **23**:343-352, 1988.
- FITZSIMONS, J. T. **The physiology of thirst and sodium appetite**. New York: Cambridge University Press, 102-108, 1971.
- FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Rev.**, **73**:583-686, 1998.
- FORTEY, S. M.; WENGER, C. B.; BOVE, J. R.; NADEL, E. R. Effect of blood volume on forearm venous and cardiac stroke volume during exercise. **J. Appl. Physiol.**, **55**: 884-890, 1983.
- FOX, E. L.; BOWERS, R. W.; FOSS, M. L. Equilíbrio térmico: exercício sob altas e baixas temperaturas. In: FOX, E. L.; BOWERS, R. W.; FOSS, M. L. (Ed.). **Bases fisiológicas da educação física e dos desportos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1991. v.4, p. 341-367.
- FREEMAN, P. H.; WELLMAN, P. J. Brown adipose tissue thermogenesis induced by low electrical stimulation of the hypothalamus in rats. **Brain Res. Bull.**, **18**:7-11, 1987.
- GUTMAN, M. B.; CIRIELLO, J.; MOGENSEN, G. J. Effects of plasma angiotensin II and hypernatremia on subfornical organ neurons. **Am. J. Physiol.**, **254**: R746-754, 1988.
- HAINSWORTH, F. R. Saliva spreading, activity, and body temperature regulation in the rat. **Am. J. Physiol.**, **212**:1288-1292, 1967.

- HAINSWORTH, F. R.; STRICKER, E. M.; EPSTEIN, A. N. Water metabolism of rats in the heat: dehydration and drinking. **Am. J. Physiol.**, **214**: 983-989, 1968.
- HAMMEL, H. T.; HARD, J. D.; FUSCO, M. M. Thermoregulatory responses to hypothalamic cooling in unanesthetized dogs. **Am. J. Physiol.**, **198**:481-486, 1960.
- HOFFMAN, G. E.; SMITH, M. S.; VERBALIS, J. G. c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems. **Neuroendocrinology**, **14**:173-213, 1993.
- HOLT, S. J.; WHEAL, H. V.; YORK, D. A. Hypothalamic control of brown adipose tissue in Zucker lean and obese rats. Effect of electrical stimulation of the ventromedial nucleus and other hypothalamic centres. **Brain Res.**, **405**: 227-233, 1987.
- HORI, T.; NAKASHIMA, T.; KOGA, H.; KIYOHARA, T.; INOUE, T. Convergence of thermal, osmotic and cardiovascular signals on preoptic and hypothalamic neurons in the rat. **Brain Res. Bull.**, **20**:879 – 885, 1988.
- HOROWITZ, M. Heat stress and heat acclimation: the cellular response-modifier of autonomic control, In: PLESCHKA, K.; GERSTBERGER, R. **Integrative and cellular aspects of autonomic functions: Temperature and Osmoregulation** (Ed.). Paris: John Libbey, 1994. p. 87-95.
- HOROWITZ, M.; SAMUELOFF, S. Plasma water shifts during thermal dehydration. **J. Appl. Physiol.**, **47**: 738-744; 1979.
- HOSUTT, J. A.; ROWLAND, N.; STRICKER, E. M. Impaired drinking responses of rats with lesions of the subfornical organ. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **95**:104-113, 1981.
- IMERI, L.; MANCIA, M.; BIANCHI, S.; OPP, M. R. 5-Hydroxytryptophan, but not L-Tryptophan, alters sleep and brain temperature in rats. **Neuroscience**, **95**:445-452, 2000.
- IRIKI, M. Fever and fever syndrome – Current problems. **Jpn. J. Physiol.**, **38**:233-250, 1988.
- JOHNSON, A. K.; THUNHORST, R. L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front. Neuroendocrinol.**, **18**: 292-353, 1997.
- JOHNSON, A. K.; GROSS, P. M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. **FASEB J.**, **7**:678-686, 1993.
- KADOWAKI, K.; KISHIMORO, J.; LENG, G.; EMSON, P. C. Upregulation of nitric oxide synthase (NOS) gene expression together with NOS activity in the rat hypothalamo-hypophysial-system after chronic salt loading: evidence of a neuromodulatory role of nitric oxide in arginine vasopressin and oxytocin secretion. **Endocrinology**, **134**:1011-1017, 1994.
- KANASUE, K.; HOSONO, T.; ZHANG, Y.; CHEN, X. Neuronal network controlling thermoregulatory effectors. **Brain Res.**, **115**:49-62, 1998.



- McKINLEY, M. J.; DENTON, D. A.; NELSON, J. F.; WEISINGER, R. S. Dehydration induces sodium depletion in rats, rabbits and sheep. **Am. J. Physiol.**, **245**:R287-R292, 1983.
- McKINLEY, M. J.; HARDS, D. K.; OLDFIELD, B.J. Identification of neural pathways activated in dehydrated rats by means of Fos- immunohistochemistry and neural tracing. **Brain Res.**, **653**: 305-314, 1994.
- McKINLEY, M. J.; MCALLEN, R. M.; MENDELSON, F. A. O.; ALLEN, A. M.; CHAI, S. Y.; OLDFIELD, B. J. Circumventricular organs: neuroendocrine interfaces between the brain and hemal milieu. **Front. Neuroendocrinol.**, **11**: 91-127, 1990.
- MERCER, J. B.; SIMON, E. Lessons from the past- human and animal thermal physiology. **J Thermal Biol.**, **26**:249-253, 2001.
- MISELIS, R. R. The efferent projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. **Brain Res.**, **230**:1-23, 1981.
- MIYATA, S.; NAKASHIMA, T.; KIYOHARA, T. Expression of *c-fos* immunoreactivity in the hypothalamic magnocellular neurons during chronic osmotic stimulation. **Neurosci. Lett.**, **175**: 63-66, 1994.
- MORGAN, S.; GREENBERG, E. M. The regulation and function of *c-fos* and other immediate early genes in the nervous system. **Neuron**, **4**:477-485, 1990.
- MORIMOTO, T. Thermoregulation and body fluids: Role of blood volume and central venous pressure. **Jpn. J. Physiol.**, **40**:165-179, 1990.
- MORIMOTO, A.; WATANABE, T.; MORIMOTO, K.; NAKAMORI, T.; MURAKAMI, N. Possible involvement of prostaglandins in psychological stress-induced responses in rats. **J. Physiol.**, **443**:421-429, 1991.
- NAYLOR, A. M.; RUWE, W. D.; VEALE, W. L. Thermoregulation actions of centrally-administered vasopressin in the rat. **Neuropharmacology**, **25**:787-794, 1986.
- NOSE, H.; MORIMOTO, T.; OGURA, K. Distribution of water losses among fluid compartments of tissues under thermal dehydration in the rat. **Jpn. J. Physiol.**, **33**:1019-1029, 1983.
- NOSE, H.; MORITA, M.; YAWATA, T.; MORIMOTO, T. Recovery of blood volume and osmolality after thermal dehydration in rats. **Am. J. Physiol.**, **251**:R492-R498, 1986.
- NOSE, H.; YAWATA, T.; MORIMOTO, T. Osmotic factors in restitution from thermal dehydration in rats. **Am. J. Physiol.**, **249**:R166-R171, 1985.
- OLDFIELD, B. J.; BICKNELL, R. J.; MCALLEN, R. M.; WEISINGER, R. S.; McKINLEY, M. J. Intravenous hypertonic saline induces *fos* immunoreactivity in neurons throughout the lamina terminalis. **Brain Res**, **561**: 151-156, 1991.

OLOYOMI, A. O.; HART, S. L. Antinociceptive and thermoregulatory actions of vasopressin are sensitive to a V1-receptor antagonist. **Neuropeptides**, **23**:137-142, 1992.

OLSON, B. R.; FREILINO, M.; HOFFMAN, G. E.; STRICKER, E. M.; SVED, A. F.; VERBALIS, J. G. c-Fos expression in rat brain and brainstem nuclei in response to treatments that alter food intake and gastric motility. **Mol. Cell. Neurosci.**, **4**:93-106, 1993.

OTA, M.; CROFTON, J. T.; FESTAVAN, G. T.; SHARE, L. Evidence that nitric oxide can act centrally to stimulate vasopressin release. **Neuroendocrinology**, **57**: 955-959, 1993.

PATRONAS, P.; HOROWITZ, M.; SIMON, E.; GERSTBERGER, R. Differential stimulation of c-fos expression in the hypothalamic nuclei of rat brain during short-term heat acclimation and mild dehydration. **Brain Res.**, **798**:127-139, 1998.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2. ed. Orlando: Academic Press, 16-77, 1998.

PERKINS, M. N.; ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J.; STONE, T. W. Activation of brown adipose tissue thermogenesis by the ventromedial hypothalamus. **Nature**, **289**:401-402, 1981.

PHILLIPS, M. I. Functions of angiotensin in the central nervous system. **Annu. Rev. Physiol.**, **49**:413-435, 1987.

PITTS, G.C.; JOHNSON, R. E.; CONSOLAZIO, F. C. Work in the heat as affected by intake of water, salt and glucose. **Am. J. Physiol.**, **142**: 253-259, 1944.

RAJA, S. N.; MEYER, R. A.; RINGKAMP, M.; CAMPBELL, J. N. Peripheral neural mechanisms of nociception. In: **Textbook of pain**. WALL, P.D. (Ed.). Edinburgh: Churchill- Livingstone, 1999. p. 11-57.

RAMSAY, D. J.; ROLLS, B. J.; WOOD, R. J. Body fluid changes which influence drinking in the water deprived rat. **J. Physiol.**, **266**:453-469, 1977.

RINAMAM, L.; STRICKER, E. M.; HOFFMAN, G. E.; VERBALIS, J. G. Central c-Fos expression in neonatal and adult rats after subcutaneous injection of hypertonic saline. **Neuroscience**, **79**:1165-1175, 1997.

ROLLS, B. J.; ROLLS, E. T. **Thirst**. New York: Cambridge University Press, 52-57, 1982.

ROWELL, L. B. Human cardiovascular adjustments to thermal stress. In: SHEPHERD, J. P.; ABOUD, F. M. **Handbook of Physiology. The cardiovascular System**. (Ed.). Bethesda: American Physiological Society, 1983. v. 3, p. 967-1023.

ROWELL, L. B. **Human Circulation: Regulation during Physical Stress**. New York: Oxford University Press, 967-1023, 1986.

ROWLAND, N. E.; LI, B. H.; ROZELLE, A. K.; SMITH, G. C. Comparison of *fos*-like immunoreactivity induced in rat brain by central injection of angiotensin II and carbachol. **Am. J. Physiol.**, **267**:792-798, 1994.

- SADOWSKI, J.; KURK, B.; CHWALBINSKA-MONETA, J. Renal function changes during preoptic-anterior hypothalamic heating in rabbit. **Pflügers Arch.**, **370**: 51-57, 1977.
- SAGAR, S. M.; SHARP, F. R.; CURRAN, T. Expression of *c-fos* protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. **Science**, **240**: 1328-1331, 1988.
- SAPER, C B.; BREDER, C D. The neurologic basis of fever. **N Engl. J. Méd.**, **330**:1880-1886, 1994.
- SAWKA, M. N.; YONG, A J.; FRANCESCONI, R. P.; MUZA, S. R.; PANDOLF, K. B. Thermoregulatory and blood responses during exercise at graded hypohydration levels. **J. Appl. Physiol.**, **59**: 1394-1401, 1985.
- SENAY, L. C. Temperature regulation and hypohydration: A singular view. **J. Appl. Physiol.**, **47**:1-7, 1979.
- SENBA, E. Stress-induced expression of immediated early genes in the brain and peripheral organs of the rat. **Neurosci. Res.**, **29**:183-207, 1997.
- SHARP, F.; SAGAR, S.; HICKS, K.; LOWENSTEIN, D.; HISANAGA, K. *c-fos* mRNA, Fos and Fos-related antigen induction by hypertonic saline and stress. **J. Neuroci.**, **11**:2321-2331, 1991.
- SILVA, S. M.; PAULA-BARBOSA, M. M.; Madeira, M. D. Prolonged alcohol intake leads to reversible depression of corticotrophin-releasing hormone and vasopressin immunoreactivity and mRNA levels in the parvocellular neurons of the paraventricular nucleus. **Brain Res.**, **954**: 82-93, 2002.
- SIMON, E. Glossary of terms for thermal physiology. **Pflugers. Arch.**, **410**:567-587, 1987.
- SIMON, E.; PIERAU, F. K.; TAYLOR, D. C. M. Central and peripheral thermal control of effectors in homeothermic temperature regulation. **Physiol. Rev.**, **66**:235-289, 1986.
- SLADER, C. D.; OLSCHOWKA, J. A. Dehydration induces Fos, but not increase vasopressin mRNA in the supraoptic nucleus of aged rats. **Brain Res.**, **652**:207-215, 1994.
- STRICKER, E. M.; HAINSWORTH, F. R. Evaporative cooling in the rat: effects of dehydration. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, **48**:18-27, 1970.
- SWANSON, L. W. The Hypothalamus. In: **Handbook of chemical neuroanatomy. Integrative systems of CNS. Part I**, (Ed.). BJORKLUND, A.; HOKFELT, T.; SWANSON, L.W. New York: Elsevier Sciences Publishers, 1987. v. 5, p. 1-24.
- SWANSON, L. W.; MOGENSEN, G. J. Neural mechanisms for the functional coupling of autonomic, endocrine and somatomotor responses in adaptative behavior. **Brain Res.**, **3**:1-34, 1981.
- TAKAHASHI, A.; ISHIMARU, H.; IKARASHI, Y.; KISHI, E.; MARUYAMA, Y. Opposite regulation of body temperature by cholinergic input to the paraventricular nucleus and supraoptic nucleus in rats. **Brain Res.**, **909**:102-111, 2001.

- TERLOUW, E. M. C.; KENT, S.; CREMONA, S.; DANTZER, R. Effect of intracerebroventricular administration of vasopressin on stress-induced hyperthermia in rats. **Physiol. Behav.**, **60**:417-424, 1996.
- THORNHILL, J. A.; HALVORSON, I. Electrical stimulation of the posterior and ventromedial hypothalamic nuclei causes specific activation of shivering and non-shivering thermogenesis. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, **72**:89-96, 1994.
- TRASHER, T. N. Role of forebrain circumventricular organs in body fluid balance. **Acta Physiol. Scand.**, **136**:141-150, 1989.
- TRAVIS, K. A.; JOHNSON, A. K. In vitro sensitivity of median preoptic neurons to angiotensin II, osmotic pressure, and temperature. **Am. J. Physiol.**, **264**:R1200-R1205, 1993.
- UETA, Y.; LEVY, A.; CHOWDREY, H. S.; LIGHTMAN, S. L. Water deprivation in the rat induces nitric oxide synthase (NOS) gene expression in the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei. **Neurosci. Res.**, **23**: 317-319, 1995.
- UNGER, T.; BADOER, E.; GANTEN, D.; LANG, R.E.; RETTING, R. Brain angiotensin: pathways and pharmacology. **Circulation**, **77**: 40-54, 1988.
- UNGER, T.; RASCHER, W.; SCHUSTER, C.; PAVLOVITCH, R.; SCHOMIG, A.; DIETZ, R.; GANTEN, D. Central blood pressure effects of central angiotensin II: role of the sympathetic nervous system and vasopressin. **Eur. J. Pharmacol.**, **71**: 33-42, 1981.
- VERBALIS, J. G.; HOFFMAN, G. E.; SHERMAN, T. G. Use of immediate early gene as markers of oxytocin and vasopressin neuronal activation. **Curr. Opin. Endocrinol. Metab.**, **2**: 157-168, 1995.
- VILLAR, M. J.; CECCATELLI, S.; RONNQVIST, M.; HÖKFELT, T. Nitric oxide synthase increase in hypothalamic magnocellular neurons after salt loading in the rat: an immunohistochemical and in situ hybridization study. **Brain Res**, **644**: 273-281, 1994.
- WADE, C. E.; KEIL, L. C.; RAMSAY, D. J. Role of volume and osmolality in the control of plasma vasopressin in dehydrated dogs. **Neuroendocrinology**, **37**:349-353, 1986.
- WRIGHT, J. W., HARDING, J. W. Regulatory role of brain angiotensins in the control of physiological and behavioral responses. **Brain Res. Rev.**, **17**:227-262, 1992.
- YASIN, S.; COSTA, A.; TRAINER, P.; WINDLE, R.; FORSLING, M. L.; GROSSMAN, A. Nitric oxide modulates the release of vasopressin from rat hypothalamic explants. **Endocrinology**, **133**: 1466-1469, 1993.
- ZEISBERGER, E. The role of septal peptides in thermoregulation. In: BLIGH, J.; VOIGT, K. **Thermoreception and Temperature Regulation**. (Ed.). Heidelberg: Springer, 1990. p. 273-284.
- ZEISBERGER, E.; ROTH, J.; SIMON, E. Changes in water balance and in release of arginine vasopressin during thermal adaptation in guinea-pig. **Pflügers Arch.**, **412**:285-291, 1988.

ZHANG, Y. H.; YANASE-FUJIWARA, M.; HOSONO, T.; KANASUE, K. Warm and cold signals from the preoptic area: which contribute more to the control of shivering in rats?. **J. Physiol.**, **485**:195-202, 1995.

ANEXOS

Tabela 1 – Temperatura das caixas experimentais e temperatura corporal de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 minutos ou mantidos em condições controle de temperatura ($\approx 23^{\circ}\text{C}$).

Estado de Hidratação	Tempertura Corporal		Temperatura Ambiente	
	controle	experimental	controle	experimental
Normoidratado (8)	37.8 ± 0.3	41.5 ± 0.4 <i>a</i> ,	24.1 ± 0.2	32.5 ± 0.2 <i>a</i>
Desidratado (8)	37.8 ± 0.1	43.2 ± 0.2 <i>a, b</i>	26.0 ± 0.7	32.5 ± 0.2 <i>a</i>
Hiperosmótico (8)	37.6 ± 0.2	41.8 ± 0.2 <i>a, c</i>	24.1 ± 0.1	32.0 ± 0.2 <i>a</i>

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: ANOVA para medidas repetidas "Two Way" seguido de pós-teste de Student-Newman-Keuls.

As diferenças estatísticas ($p < 0,05$) demonstradas pelo pós-teste Student-Newman-Keuls onde (*a*) representa a comparação entre as condições de temperatura da caixa (controle e experimental) na mesma condição de hidratação (*b*) representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura e (*c*) indica diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura.

Tabela 2 – Alterações nas concentrações plasmáticas de sódio e potássio e da osmolaridade plasmática em ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 minutos ou mantidos em condições controle de temperatura ($\approx 23^{\circ}\text{C}$).

Conc.	Normoidratado (8)		Desidratado (8)		Hiperosmótico (8)	
	Controle	Experimental	Controle	Experimental	Controle	Experimental
Na ⁺	134.63 \pm 0.73	142.50 \pm 1.05 <i>a</i>	140.75 \pm 1.82 <i>b</i>	145.25 \pm 0.53 <i>a</i>	142.75 \pm 0.77 <i>b</i>	145.88 \pm 0.81
K ⁺	5.94 \pm 0.16	5.25 \pm 0.13	5.96 \pm 0.17	5.40 \pm 0.28	4.96 \pm 0.15 <i>b, c</i>	5.41 \pm 0.35
Osm	323.00 \pm 1.36	332.50 \pm 3.19 <i>a</i>	325.75 \pm 2.02	334.63 \pm 1.16 <i>a</i>	329.25 \pm 1.41	340.00 \pm 2.51 <i>a, b</i>

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: ANOVA para medidas repetidas “Two Way” seguido de pós-teste de Student-Newman-Keuls.

As diferenças estatísticas ($p < 0,05$) demonstradas pelo pós-teste Student-Newman-Keuls onde (*a*) representa a comparação entre as condições de temperatura da caixa (controle e experimental) na mesma condição de hidratação (*b*) representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura e (*c*) indica diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura.

Tabela 3 – Número de núcleos c- Fos positivos em áreas do SNC de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos submetidos ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 minutos ou mantidos em condições controle de temperatura ($\approx 23^{\circ}\text{C}$).

Áreas SNC	Normoidratado		Desidratado		Hiperosmótico	
	Controle (4)	Experimental (4)	Controle (4)	Experimental (4)	Controle (4)	Experimental (4)
LSV	14.25 \pm 3.73	156.75 \pm 23.10 <i>a</i>	143.00 \pm 1.68 <i>b</i>	320.75 \pm 23.51 <i>a,b</i>	190.3 \pm 49.4 <i>b</i>	343.75 \pm 26.68 <i>a b</i>
MnPO	28.75 \pm 8.52	70.00 \pm 9.95 <i>a</i>	179.5 \pm 19.9 <i>b</i>	193.0 \pm 33.9 <i>b</i>	206.8 \pm 68.9 <i>b</i>	238.3 \pm 39.9 <i>b</i>
VLPO	9.3 \pm 1.6	24 \pm 3.7	50.5 \pm 6.0 <i>b</i>	64.3 \pm 5.2 <i>b</i>	50.5 \pm 6.3 <i>b</i>	58.8 \pm 10.1 <i>b</i>
SFO	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	171.5 \pm 20.4 <i>b</i>	162 \pm 18.5 <i>b</i>	108.3 \pm 17.6 <i>b</i>	123.8 \pm 22.4 <i>b</i>
OVLT	35.3 \pm 7.5	55.5 \pm 3.1	141.5 \pm 6.3 <i>b</i>	161.5 \pm 18.4 <i>b</i>	164.8 \pm 29.7 <i>b</i>	192.3 \pm 21.0 <i>b</i>
PVN	12.0 \pm 1.9	86.0 \pm 10.8 <i>a</i>	165.0 \pm 11.1 <i>b</i>	192.5 \pm 27.5 <i>b</i>	495.0 \pm 75.2 <i>b, c</i>	437.5 \pm 62.2 <i>b, c</i>
SON	1.75 \pm 0.75	11.50 \pm 0.96	182.5 \pm 16.9 <i>b</i>	307.3 \pm 21.1 <i>a, b</i>	272.5 \pm 26.9 <i>b, c</i>	314.3 \pm 19.1 <i>b</i>

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: ANOVA para medidas repetidas "Two Way" seguido de pós-teste de Student-Newman-Keuls.

As diferenças estatísticas ($p < 0,05$) demonstradas pelo pós-teste Student-Newman-Keuls onde (*a*) representa a comparação entre as condições de temperatura da caixa (controle e experimental) na mesma condição de hidratação (*b*) representa a diferença em relação aos animais normoidratados sob a mesma condição de temperatura e (*c*) indica diferença em relação aos animais desidratados sob a mesma condição de temperatura.

Tabela 4 – Mudanças no peso corporal de ratos normoidratados, desidratados e hiperosmóticos antes e após exposição ao calor $\approx 33^{\circ}\text{C}$ durante 45 minutos.

Peso (gramas)	Normoidratado (8)	Desidratado (8)	Hiperosmótico (8)
Peso inicial	301.6 ± 11.5	280.4 ± 5.74	264.9 ± 4.93
Peso final	289.0 ± 10.8	273.1 ± 4.95	260.0 ± 5.35

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses.

Análise estatística: ANOVA “One Way” demonstra não haver diferença estatística entre os grupos estudados.