

# ENVOLVIMENTO DO NÚCLEO PARAVENTRICULAR DO HIPOTÁLAMO (PVN) SOBRE A TERMORREGULAÇÃO DURANTE A EXPOSIÇÃO AO CALOR: PARTICIPAÇÃO DA ANGIOTENSINA II

Flávia A. Rocha<sup>1</sup>  
Katiúscia M. A. Souza<sup>2</sup>  
Laura H. R. Leite<sup>3</sup>

## RESUMO

Investigou-se o efeito do bloqueio dos receptores AT1 para angiotensina II no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) sobre ajustes termorregulatórios durante o estresse térmico. As temperaturas corporal interna (Tc) e da cauda foram registradas em ratos Wistar após injeção bilateral de salina (n=6) ou losartan (n=4) no PVN antes da exposição ao calor (42 °C, 30 min). O estímulo térmico induziu aumento rápido da Tc após ambos os tratamentos. No entanto, a variação da Tc foi superior nos animais tratados com losartan no PVN a partir de 20 minutos de estresse térmico até o final da exposição ao calor ( $p < 0,05$ ). A temperatura da cauda também se elevou nos animais de ambos os grupos, indicando que mecanismo autonômico de dissipação de calor foi ativado. Entre os minutos 15 e 18, os animais do grupo losartan apresentaram menor variação da temperatura da cauda, porém, ao final do estímulo térmico, a temperatura da cauda atingiu valores superiores nesses animais em comparação com os controles ( $p < 0,05$ ). Apesar disso, o tratamento com losartan não interferiu no estabelecimento do limiar térmico para vasodilatação da cauda. Os dados indicam que o bloqueio dos receptores AT1 no PVN induz aumento da taxa de aquecimento corporal, que rapidamente produz hipertermia. Sugere-se que o sistema angiotensinérgico atuando no PVN induz ajustes termorregulatórios durante a exposição ao calor, prevenindo níveis altos de acúmulo de calor e protegendo o cérebro da hipertermia excessiva.

**Palavras-chave:** Hipertermia. Temperatura corporal interna. Losartan. Atividade simpática.

---

1 Bolsista do Programa BIC/UFJF.

2 Bolsista do Programa Apoio à Instalação de Doutores/UFJF.

3 Professor orientador do Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia. Rua José Lourenço Kelper, s/n – Campus Universitário, Cep: 36036-900 -Juiz de Fora - MG, Fone: (32) 2102-3211. Email: laura.leite@ufjf.edu.br

## INTRODUÇÃO

O controle da temperatura corporal interna ( $T_c$ ) depende de ajustes termorregulatórios autonômicos e comportamentais responsáveis por manter o equilíbrio entre produção e dissipação de calor (WEBB, 1995). A regulação constante e integrada dessas variáveis é fundamental para que a  $T_c$  seja mantida em uma faixa estável e compatível com a sobrevivência dos mamíferos, tanto durante o repouso quanto em situações de estresse térmico (WEBB, 1995).

A área pré-óptica é apontada como sítio primário da integração de sinais térmicos originados de diferentes partes do corpo e pela regulação da  $T_c$  (NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007). Outras regiões do sistema nervoso central que recebem eferência da área pré-óptica também tem sido identificadas como termorreguladoras (NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007). Dentre esses núcleos, destaca-se o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), responsável pela integração da atividade simpática (PATEL, 2000) e também descrito como participante do controle da  $T_c$  (LEITE et al., 2012; NAGASHIMA, 2006; ROMANOVSKY, 2007) por conter neurônios termosensíveis que são ativados durante o estresse térmico (CHAM & BADOER, 2008). Ademais, o PVN comunica-se com outros centros termorreguladores, influenciando a atividade simpática de órgãos termoefetores como a vasculatura da cauda (CHAM & BADOER, 2008; LEITE et al., 2012).

Várias evidências comprovaram que um dos principais mediadores do sistema renina angiotensina, a angiotensina II, agindo centralmente, exerce efeito hipotérmico caracterizado pela facilitação da dissipação de calor e diminuição da produção deste (LEITE et al., 2006, 2007, 2009). Em situações de hipertermia, como o exercício físico, demonstrou-se que o bloqueio intracerebroventricular do receptor AT1 para angiotensina II, utilizando o losartan, induz aumento significativo das taxas de aquecimento corporal e acúmulo de calor, responsáveis pelo agravamento da hipertermia do exercício, decorrente tanto do aumento do limiar térmico para vasodilatação cutânea quanto da elevação da taxa metabólica (LEITE et al., 2006, 2007, 2009). Diante disso, o papel termorregulatório da angiotensina II central parece ser fundamental para o controle da  $T_c$  em situações de hipertermia, como durante a exposição ao calor.

Os receptores AT1 para angiotensina II estão difusamente localizados no sistema nervoso central, incluindo o PVN (MCKINLEY et al., 2003). No PVN, a angiotensina II participa do controle da atividade simpática, modulando as respostas de ajuste a um evento estressante, inclusive o estresse térmico (LI et al., 2006). Propôs-se que a influência do PVN sobre o balanço térmico estaria associada às respostas termorregulatórias induzidas pela angiotensina II. Portanto, o presente estudo objetivou verificar o efeito do bloqueio dos receptores AT1 no PVN sobre o balanço térmico durante a exposição ao calor.

## METODOLOGIA

### ANIMAIS:

Foram utilizados ratos Wistar adultos ( $330 \pm 8$  g), provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora (CBR/UFJF). Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com fotoperíodo de 12h luz/12h escuro, sob temperatura ambiente de  $23 \pm 2^\circ$  C, tendo livre acesso à ração para ratos (Nuvilab) e água.

Todos os procedimentos foram submetidos à comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEEA) e foram executados de acordo com o regulamento do Comitê.

### PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS:

Os animais foram submetidos à cirurgia para implante de cânulas guia (18 mm de comprimento x 0,5 mm de diâmetro interno) bilateralmente no PVN. Para tal, os ratos foram anestesiados com mistura de cetamina (72 mg/kg de peso corporal) e xilazina (8 mg/kg de peso corporal, via intraperitoneal) e adaptados em estereotáxico para roedores (Insight EFF 331, Riberirão Preto, Brasil). Foram obedecidas as coordenadas estereotáxicas estabelecidas pelo atlas de Paxinos e Watson (1986) cujos parâmetros para o PVN são: -1,5 mm posterior ao bregma (ântero-posterior), -0,4 mm a partir da linha mediana (látero-lateral) e -7,8 mm a partir da dura mater (vertical). O correto posicionamento das cânulas foi verificado através de análise histológica. As microinjeções localizadas nos arredores do PVN foram consideradas efetivas.

Durante o mesmo ato cirúrgico de canulação do PVN, o sensor de temperatura (G2 E-Mitter, Mini Mitter, Sun River, OR) foi implantado na cavidade intraperitoneal, através das camadas musculares, por meio de pequena incisão na linha Alba de aproximadamente 2 cm.

Ao término das cirurgias, os animais receberam antibiótico (48.000 U - Pentabiótico Veterinário Pequeno Porte®, Fort Dodge; 2,0 ml/Kg via intramuscular) e analgésico/anti-inflamatório (Banamine injetável®, Schering-Plough; 1,0 mg/Kg, via subcutânea). Foi permitido aos animais um período de recuperação de, no mínimo, uma semana antes de serem submetidos aos experimentos.

### EXPOSIÇÃO AO CALOR

O estresse térmico em ratos foi induzido utilizando-se aquecedor (Britania, Modelo AB 1100). O tempo de exposição dos animais ao calor foi de 30 minutos a uma temperatura ambiente de 42° C.

### REGISTRO DA T<sub>c</sub>, TEMPERATURA DA CAUDA E TEMPERATURA AMBIENTE

A T<sub>c</sub> foi medida por telemetria através do sensor implantado intraperitonealmente. Para determinação da temperatura da cauda, um termistor de cauda (Yellow Springs Instruments, 409-B) foi fixado sobre a pele com esparadrapo, cerca de 10 mm de distância da base da cauda. Este termistor foi conectado a um leitor digital (Yellow Springs Instruments, 4600 Precision Thermometer). A temperatura ambiente foi controlada por meio de termômetro digital fixado no local do experimento (Minipa, ET-1400).

### PROTOCOLO EXPERIMENTAL

No dia do experimento, após pesagem do animal, tubos de polietileno PE 10 foram fixados às cânulas guias para infusão das drogas. Os animais foram escolhidos aleatoriamente para receber 100 nL de 0,15 M NaCl (salina, n=6) ou losartan (60 nmol, n=4) bilateralmente no PVN imediatamente antes da exposição ao calor. O tempo de infusão foi de 1 minuto.

### CÁLCULOS:

A partir dos dados colhidos foram determinados:

Limiar térmico para vasodilatação da cauda (°C):  $\Delta T_c$  até o momento no qual a temperatura da cauda começou a se elevar; onde  $\Delta T_c$  = variação da T<sub>c</sub> (T<sub>f</sub>-T<sub>i</sub>); T<sub>f</sub> = T<sub>c</sub> ao final da exposição ao calor; e T<sub>i</sub> = T<sub>c</sub> inicial, medida antes da injeção;

*Taxa de aquecimento corporal ( $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ):  $\Delta\text{Tc}/\text{tempo de exposição ao calor (30 min)}$ ;  
Taxa de acúmulo de calor ( $\text{cal}\cdot\text{min}^{-1}$ ):  $\Delta\text{Tc}\cdot\text{m}(\text{g})\cdot\text{c}/\text{tempo de exposição ao calor (30 min)}$ , onde  
 $\text{m}$  = massa corporal em gramas; e  $\text{c}$  = calor específico dos tecidos do animal ( $0.826 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}$ ) (Leite et al., 2006).*

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os dados estão apresentados como média  $\pm$  E.P.M. As respostas da Tc e da temperatura da cauda foram analisadas através de análise de variância (ANOVA) *two-way*, seguido do teste de Newman-Keuls. O limiar térmico para vasodilatação da cauda e as taxas de aquecimento e de acúmulo de calor foram comparados usando o teste de t de Student não pareado. O nível de significância foi de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Como ilustrado na Fig. 1, durante a exposição ao calor houve elevação da Tc em ambos os grupos experimentais. Entretanto, a partir do vigésimo minuto do início do estresse térmico, os animais tratados com losartan apresentaram variação maior da Tc ( $1,65 \pm 0,17$  salina vs  $2,10 \pm 0,18$  losartan;  $p < 0,05$ ). Ao final da exposição ao calor, os animais tratados com losartan apresentaram valores superiores de Tc em relação aos animais tratados com salina ( $2,52 \pm 0,11$  salina vs  $3,54 \pm 0,14$  losartan;  $p < 0,05$ ).

A temperatura da cauda (Fig.2) aumentou em ambos os grupos ao longo da exposição ao calor, o que demonstra a ativação de mecanismo de dissipação de calor. Entre os minutos 15 e 18, os animais do grupo losartan apresentaram aumento menos intenso da temperatura da cauda ( $p < 0,05$ ). Essa diferença não se manteve entre os minutos 18 e 27 de estresse térmico. Porém, a partir do vigésimo oitavo minuto até o final do experimento, os animais tratados com losartan apresentaram aumento mais acentuado da temperatura da cauda em comparação com os animais controles ( $4,86 \pm 0,38$  salina vs  $6,35 \pm 0,21$  losartan;  $p < 0,05$ ).

O cálculo do limiar térmico para vasodilatação cutânea (Fig. 3) demonstrou que o valor da Tc limite para desencadeamento da vasodilatação da cauda durante o estresse térmico não foi afetado pelo tratamento com losartan no PVN ( $0,6 \pm 0,13$  salina vs  $0,75 \pm 0,26$  losartan;  $p < 0,05$ ).

Para avaliar os efeitos térmicos da exposição ao calor, foram calculadas as taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor (Fig. 4). Os valores para tais taxas foram 50% e 39,1% maiores nos animais tratados com losartan, respectivamente ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

No presente estudo, o bloqueio dos receptores AT1 para angiotensina II no PVN durante a exposição ao calor produziu aumento da Tc, a qual se associou à elevação das taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor. Esses dados sugerem que as vias centrais mediadas pela angiotensina II no PVN modulam o balanço térmico durante o estresse térmico.

A hipertermia é um estímulo potente para a ativação do sistema autonômico simpático (MORRISON, 2001). Este contribui para a manutenção da Tc ao alterar seletivamente o padrão de sua atividade de acordo com o leito vascular específico, modificando de modo distinto o fluxo sanguíneo de

vários órgãos (MORRISON, 2001). O resultado é a combinação de alterações adaptativas precisamente coordenadas, dentre as quais estão incluídas vasoconstrição visceral e vasodilatação cutânea (LEITE et al., 2012). Tais respostas resultam em redistribuição sanguínea do centro para a periferia, favorecendo a dissipação de calor. Em situações de estresse térmico, 60% da pós-carga é redistribuída para a superfície da pele para aumentar a dissipação de calor, sendo esse efeito primariamente dependente da diminuição da resistência vascular da pele (LEITE et al., 2012).

Em roedores, a vasodilatação da cauda é o principal meio de dissipação de calor e, assim sendo, o aumento do fluxo sanguíneo nessa região facilita tal mecanismo (YOUNG & DAWSON, 1982). A vasodilatação inicia-se quando o limiar térmico para vasodilatação cutânea é atingido, o qual corresponde ao momento em que o tônus simpático é superado pela vasodilatação ativa (LEITE et al., 2012). Estudos demonstraram que durante o exercício físico, o bloqueio angiotensinérgico através de injeção intracerebroventricular de losartan induz aumento do limiar térmico para vasodilatação da cauda, ou seja, a vasodilatação inicia-se em um valor de Tc maior, sugerindo atraso na dissipação de calor e consequente aumento das taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor (LEITE et al., 2006, 2007, 2009). No presente estudo, apesar do bloqueio dos receptores AT1 localmente no PVN resultar em quadro semelhante de hipertermia e elevação das taxas de aquecimento corporal e de acúmulo de calor, o limiar térmico para vasodilatação da cauda não foi afetado. Portanto, vias angiotensinérgicas no PVN parecem não interferir no reflexo térmico para início da vasodilatação cutânea.

A maioria dos estudos demonstra que a temperatura da cauda em ratos aumenta paralelamente com a elevação da Tc (CHAM & BADOER, 2008; LEITE et al., 2012). Tal perfil de variação da temperatura da cauda foi observado nos animais controles. No entanto, nos animais tratados com losartan no PVN, após 15 minutos de estresse térmico, observou-se aumento mais sutil da temperatura da cauda. Curiosamente, passados 4 minutos, houve recuperação seguida de elevação mais intensa da temperatura da cauda nesses animais, o que reflete magnitude maior de vasodilatação da artéria da cauda e, conseqüentemente, dissipação de calor mais eficiente. Apesar do início da vasodilatação da cauda ter sido semelhante entre os tratamentos no PVN, é possível que adaptações locais do endotélio microvascular, as quais participam das alterações do fluxo sanguíneo cutâneo mediante situações de estresse térmico possam estar envolvidas com a vasodilatação da cauda (SIMMONS et al., 2011). Dessa maneira, a maior temperatura da cauda alcançada após breve período de redução desta pelos ratos tratados com losartan no PVN pode estar relacionada com mecanismos endotélio-dependentes compensatórios (SIMMONS et al., 2011). Ainda assim, tal ajuste não foi suficiente para resultar em aumento menos acentuado da Tc. Baseando-se em evidências de que o PVN, assim como as vias centrais angiotensinérgicas, também modulam a taxa metabólica (LEITE et al., 2006, 2007, 2009, 2012), não pode ser descartada a hipótese de que o agravamento da hipertermia observado neste estudo, desencadeada pelo tratamento com losartan no PVN durante o estresse térmico, esteja relacionada com modificação da taxa de produção de calor.

## CONCLUSÃO

Os dados indicam que o bloqueio dos receptores AT1 no PVN induz aumento da taxa de aquecimento corporal, que rapidamente produz hipertermia. Sugere-se que o sistema angiotensinérgico atuando no PVN induz ajustes termorregulatórios durante a exposição ao calor, prevenindo níveis altos de acúmulo de calor e protegendo o cérebro da hipertermia excessiva.

## AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro proveniente da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## FIGURAS

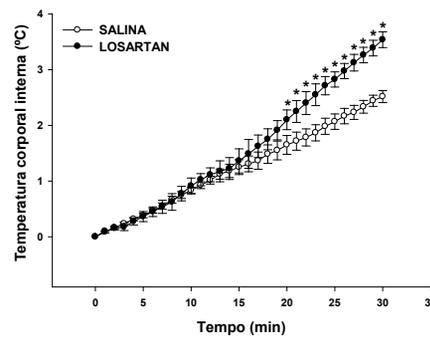


Fig. 1 - Efeito da microinjeção bilateral no PVN de salina (n=6) ou losartan (n=4) sobre a variação da temperatura corporal interna durante o estresse térmico. Os valores estão expressos como média±E.P.M. \*Diferença entre grupos,  $p<0,05$ .

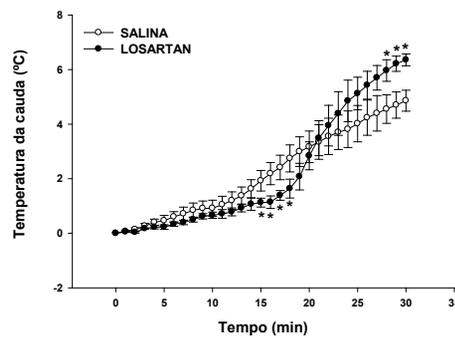


Fig. 2 - Efeito da microinjeção bilateral no PVN de salina (n=6) ou losartan (n=4) sobre a variação da temperatura da cauda durante o estresse térmico. Os valores estão expressos como média±E.P.M. \*Diferença entre grupos,  $p<0,05$ .

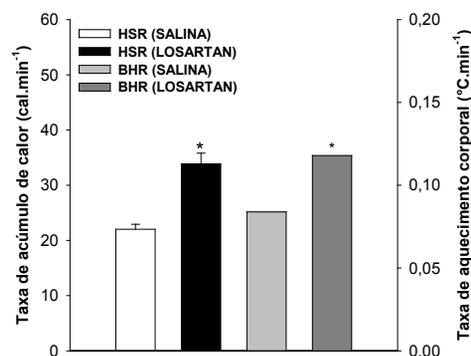
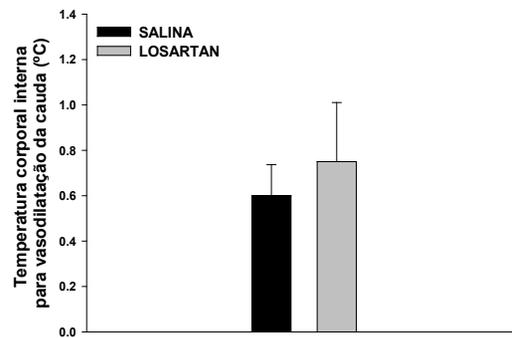


Fig. 3 - Efeito da microinjeção bilateral no PVN de salina (n=6) ou losartan (n=4) sobre a taxa de acúmulo de calor (HSR) e a taxa de aquecimento corporal (BHR) durante o estresse térmico. Os valores estão expressos como média±E.P.M. \*Diferença entre grupos,  $p<0,05$ .



**Fig. 4** - Efeito da microinjeção bilateral no PVN de salina (n=6) ou losartan (n=4) sobre o limiar térmico para vasodilatação cutânea. Os valores estão expressos como média±E.P.M.

## CONTRIBUTION OF THE PARAVENTRICULAR NUCLEUS ON THERMOREGULATION DURING HEAT EXPOSURE: ROLE OF ANGIOTENSIN II

### ABSTRACT

The effect of angiotensin II AT1 receptors blockade within the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) on thermoregulatory adjustments during heat stress was investigated. Internal body (T<sub>c</sub>) and tail temperatures were recorded in male Wistar rats after bilateral injection of saline (n = 6) or losartan (n = 4) in the PVN during heat exposure (42 °C, 30 min). The thermal stimulation induced rapid increase in T<sub>c</sub> following both treatments. However, T<sub>c</sub> variation was greater in animals treated with losartan in the PVN from 20 minutes of heating until the end of heat exposure (p<0.05). Tail temperature also increased in both groups, indicating that autonomic mechanism of heat dissipation was activated. Between the minutes 15 and 18, the animals treated with losartan had lower tail temperature variation; nevertheless, at the end of heat stress, tail temperature reached higher values in these animals in comparison with controls (p<0.05). Still, losartan treatment did not change the body temperature threshold for tail vasodilation. The data indicate the blockade of AT1 receptors in the PVN increases the rate of body heating, which rapidly produces hyperthermia. It is suggested that the angiotensinergic system acting in the PVN induces thermoregulatory adjustments during heat exposure, preventing high levels of heat storage and protecting the brain against excessive hyperthermia.

**Keywords:** Hyperthermia. Internal body temperature. Losartan. Sympathetic activation.

### REFERÊNCIAS

CHAM, J. L.; BADOER, E. Exposure to a hot environment can activate rostral ventrolateral medulla-projecting neurones in the hypothalamic paraventricular nucleus in conscious rats. **Exp Physiol**, v. 93, n. 1, p. 64-74, Jan 2008.

\_\_\_\_\_. Hypothalamic paraventricular nucleus is critical for renal vasoconstriction elicited by elevations in body temperature. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 294, n. 2, p. F309-15, Feb 2008.

LEITE, L. H. et al. Central AT(1) receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. **Neuropeptides**, v. 41, n. 3, p. 189-94, Jun 2007.

\_\_\_\_\_. Central angiotensin AT1 receptors are involved in metabolic adjustments in response to graded exercise in rats. **Peptides**, v. 30, n. 10, p. 1931-5, Oct 2009.

LEITE, L. H. et al. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 3, p. R603-7, Sep 2006.

LEITE, L. H. et al. Contribution of the paraventricular nucleus in autonomic adjustments to heat stress. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 237, n. 5, p. 570-7, May 1 2012.

LI, Y. F. et al. Angiotensin-mediated increase in renal sympathetic nerve discharge within the PVN: role of nitric oxide. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 290, n. 4, p. R1035-43, Apr 2006.

MCKINLEY, M. J. et al. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 35, n. 6, p. 901-18, Jun 2003.

MORRISON, S. F. Differential regulation of sympathetic outflows to vasoconstrictor and thermoregulatory effectors. **Ann N Y Acad Sci**, v. 940, p. 286-98, Jun 2001.

NAGASHIMA, K. Central mechanisms for thermoregulation in a hot environment. **Ind Health**, v. 44, n. 3, p. 359-67, Jul 2006.

PATEL, K. P. Role of paraventricular nucleus in mediating sympathetic outflow in heart failure. **Heart Fail Rev**, v. 5, n. 1, p. 73-86, Mar 2000.

ROMANOVSKY, A. A. Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 292, n. 1, p. R37-46, Jan 2007.

SIMMONS, G. H. et al. Changes in the control of skin blood flow with exercise training: where do cutaneous vascular adaptations fit in? **Exp Physiol**, v. 96, n. 9, p. 822-8, Sep 2011.

WEBB, P. The physiology of heat regulation. **Am J Physiol**, v. 268, n. 4 Pt 2, p. R838-50, Apr 1995.

YOUNG, A. A.; DAWSON, N. J. Evidence for on-off control of heat dissipation from the tail of the rat. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 60, n. 3, p. 392-8, Mar 1982.