

TESE DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-
ALDOSTERONA NO APETITE POR SÓDIO EM RATOS
HIPOTIREÓIDEOS**

DANIEL BADAUÊ PASSOS JUNIOR

2001

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-
ALDOSTERONA NO APETITE POR SÓDIO EM RATOS
HIPOTIREÓIDEOS**

Daniel Badauê Passos Junior

Dissertação submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Magister Scientiae em Medicina
Veterinária, Área de Concentração de
Clínica Médica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luís Carlos Reis

Seropédica, Fevereiro de 2001.

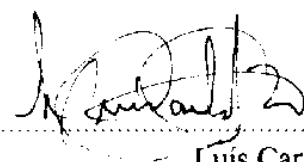
**AVALIAÇÃO DO PAPEL DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-
ALDOSTERONA NO APETITE POR SÓDIO EM RATOS
HIPOTIREÓIDEOS**

Daniel Badauê Passos Junior

APROVADO EM 22/02/2001.

BANCA EXAMINADORA

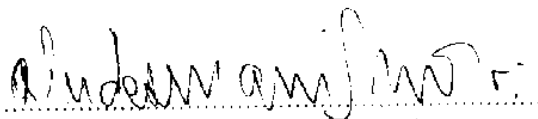
Presidente:



Luís Carlos Reis

D. Sc. - Universidade de São Paulo.

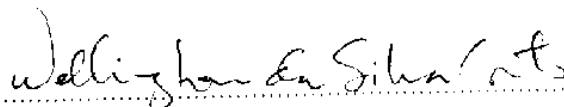
Membro:



Alcides Marinho Junior

D. Sc. - Universidade de São Paulo.

Membro:



Wellington da Silva Côrtes

D. Sc. - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

574.1 Badauê-Passos Jr, Daniel, 1975 -

B132a

T Avaliação do papel do sistema renina-angiotensina-aldosterona no apetite por sódio em ratos hipotireóideos / Daniel Badauê-Passos Junior. – Seropédica, 2001
92 f. *il* (grafs)

Bibliografia: f. 65-73.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária

Orientador: Luís Carlos Reis.

1. Fisiologia – Teses. 2. Sistema endócrino – Fisiologia – Teses. 3. Regulação hidroeletrolítica – Apetite por sódio – Teses. I. Reis, Luís Carlos. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

"Dedico esta obra a minha avó Swanie pelo apoio incondicional a tudo aquilo que me dispunha a fazer, ainda que muitas vezes não compartilhasse da mesma opinião; e pelo companheirismo e amor que havia e certamente continuará havendo entre nós."

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela família maravilhosa além das grandes e valiosas amizades. Por ter colocado ao meu redor pessoas capazes e sempre dispostas a me mostrarem o caminho da felicidade, da perseverança, da fraternidade e da verdade. Por ter me iluminado ao longo da minha caminhada até aqui.

Agradeço ao meu orientador e grande “mestre”, o professor, que nunca gostou de ser chamado de Professor Doutor, Luís Carlos Reis, pelas repetidas demonstrações, desde quando era por ele orientado ainda na graduação, de que competência e simplicidade devem sempre estar lado a lado; pela sempre disponível paciência para tirar as dúvidas que surgiam, pelo companheirismo nas horas difíceis, principalmente neste último ano, aconselhando-me sempre com palavras impecavelmente bem colocadas, a solucionar problemas que por ora pareciam sem solução; pelos momentos de descontração em sua casa, onde junto com seus familiares e com os demais colegas do Departamento frequentemente promovia verdadeiros festivais gastronômicos. Por me mostrar, bem como a outros colegas, a importância da Fisiologia como disciplina e como ciência para as profissões relacionadas às ciências da vida, e finalmente pela grande e valiosa amizade que se desenvolveu entre nós.

Um agradecimento especial ao professor Elson Alves Costa pelo incentivo ao meu ingresso na pesquisa e no Departamento de Ciências Fisiológicas desta instituição, quando na verdade ainda não tinha a perfeita consciência da importância da ciência básica e da pesquisa para a minha profissão. Agradeço aos professores Alcides Marinho e Lucas Vogel, pelos valiosos ensinamentos de conduta moral e profissional; aos professores Vinicius Resende e Cecita pela amizade e inúmeras demonstrações de confiança e apoio à realização deste sonho profissional. Aos professores Wellington Côrtes e Frederico Argollo pelo incentivo e disponibilidade em colaborar com o que fosse preciso. Aos professores Generoso e Edna pela colaboração e amizade. Aos professores Isis do Carmo Kettelhut, Hector Francisco Terenzi, Maria de Lourdes de Moraes Polizeli e Lea Maria Zanini Maciel, os três primeiros da Pós-graduação em Bioquímica e a última da Pós-graduação em Clínica

Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP - SP, onde cursei parte dos créditos, por atenderem prontamente a minha solicitação de envio de titulação, conforme requerido pelo colegiado de Pós-graduação do meu curso de origem. Aos professores José Antunes-Rodrigues e Maria José Pedreira Ramalho, respectivamente do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP - SP e do Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Bahia, pela importante colaboração na discussão dos resultados deste trabalho.

Agradeço ao funcionário Ipojucan Pereira de Souza pela imprescindível colaboração na manutenção da higiene do material e aparelhos utilizados no experimento, além dos cuidados com a alimentação e higienização diária dos animais, o que certamente facilitou o andamento do experimento. Ao funcionário Otacilio José por sempre ter procurado simplificar os assuntos relativos a matrículas em disciplinas, e por se colocar sempre disponível a instruir os pós-graduandos a respeito dos processos burocráticos ligados à pós-graduação.

Aos colegas Carlos Giovanni, Raphaella, Lilian Rangel, Karina e Valéria, pela amizade e apoio. Especialmente a Renato Ventura e Emerson Olivares por colaborarem intensamente na execução deste trabalho, e ainda a Luis Felipe Souza da Silva pela gentileza em confeccionar a figura ilustrativa de uma gaiola metabólica utilizada no experimento, presente nesta Tese.

Aos meus “tios” Abraão e Máisa por manterem sempre abertas as portas de seu lar para que quando quisesse ou precisasse pudesse nele entrar e me sentir como se estivesse em minha própria casa.

Aos meus padrinhos Heitor e Sonia por me receberem em sua casa no momento mais difícil de minha vida. Aos demais tios, primos e amigos que foram e são importantes colaboradores diretos ou indiretos da concretização deste sonho.

Aos meus pais Daniel e Sandra, e aos meus irmãos Swanie e Halley um agradecimento muitíssimo especial por tudo que representam para mim como pais e irmãos, mas principalmente por representarem os mais verdadeiros “amigos de todas as horas”, proporcionando-me sempre a tranquilidade necessária para enfrentar os mais insuperáveis obstáculos com a certeza do amparo quando da possibilidade da derrota. Pelos bons

ensinamentos, e pelo amor e carinho semeados e mantidos em nosso lar desde a concepção desta família maravilhosa. Por me mostrarem a todo o momento o caminho da vitória, partilhando sempre das mesmas alegrias e tristezas. Por isto, partilho com eles mais este sonho realizado.

Àqueles que doam suas vidas em prol de novos conhecimentos para as ciências da vida. Mais precisamente a todos os animais, de laboratório ou não, que de alguma forma contribuem com a ciência, elucidando ou mesmo incrementando dúvidas relativas a fenômenos fisiológicos desconhecidos ou ainda não bem esclarecidos. Despertando desta forma a curiosidade científica, e mais que isso, salvando outras vidas.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram com mais esta vitória, e que por falta de memória não foram nominalmente relacionados, o meu muito obrigado!

À CAPES e ao PRONEX pelo incentivo financeiro a realização deste trabalho de pesquisa.

Finalmente, à pessoa com quem compartilhei nos últimos anos os meus segredos e dúvidas, alegrias e tristezas, vitórias e derrotas, erros e acertos, enfim àquela que me recebeu em sua casa por quase sete anos e dela saiu para não mais voltar. À minha avó, aonde quer que ela esteja, os meus eternos agradecimentos.

BIOGRAFIA

Daniel Badaué Passos Júnior nasceu em 21 de Agosto de 1975, na cidade de Aracaju-SE, onde residiu até dezembro de 1993, quando concluiu o 2º Grau. Em março de 1994 ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Em Maio de 1999 colou o grau de Médico Veterinário, sendo agraciado com o Prêmio Octavio Dupont durante a cerimônia. Neste momento já ingressara no curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração Clínica Médica Veterinária.

Durante o período em que cursou a graduação foi aprovado em 1º Lugar nos concursos de monitoria para as disciplinas de Anatomia Animal e de Fisiologia Animal, esta última por duas vezes, exercendo a função de monitor pelos períodos de 1 e 2 anos, respectivamente. Como monitor de Fisiologia Animal se dedicou a atividades teórico-práticas de auxílio aos alunos da disciplina e aos estudos dos processos fisiológicos para um melhor entendimento dos mecanismos integrados de controle e manutenção da homeostase. Desenvolveu em co-autoria alguns trabalhos científicos no Departamento de Ciências Fisiológicas, sendo estes apresentados nas 4 últimas reuniões da Federação das Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE, realizadas anualmente em Caxambu-MG. Estagiou em Clínicas Veterinárias de Pequenos Animais e ainda participou do Curso de Verão-99 de

Fisiologia ministrado pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde exerceu atividades teórico-práticas.

Antes mesmo de ingressar na pós-graduação já desenvolvia trabalhos de pesquisas, compondo o grupo liderado na UFRRJ pelo Professor Luís Carlos Reis que por sua vez desenvolve parte do projeto auxiliado pelo PRONEX, compondo o grupo liderado nacionalmente pelo Professor Dr. José Antunes-Rodrigues.

A convite do Professor Alcides Marinho Junior, Daniel Badaué ministrou aulas na disciplina de Fisiologia Animal II para o curso de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Barra Mansa durante o 2º semestre letivo de 2000.

Nos últimos meses se dedicou a conclusão de seu projeto de Tese de Mestrado sob a orientação do Professor Luís Carlos Reis, no Departamento de Ciências Fisiológicas, Área de Fisiologia Animal.

Daniel Badaué acredita que sua Dissertação servirá de auxílio para profissionais das ciências básicas e aplicadas, pois acredita ter abordado assuntos de relevada importância para a clínica bem como para a ampliação dos conhecimentos dos processos fisiológicos e ainda considera importante a manutenção de uma interface entre estes dois segmentos.

SUMÁRIO

	Páginas
RELAÇÃO DE FIGURAS & TABELAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A glândula tireóide	2
<i>1.1.1. Aspectos morfológicos</i>	<i>2</i>
<i>1.1.2. Fisiologia</i>	<i>3</i>
1.1.2.a. Eixo hipotálamo – hipófise – tireóide	3
1.1.2.b. Síntese e secreção dos hormônios da tireóide.	4
1.1.2.c. Principais ações dos hormônios tireoideanos.	5
<i>1.1.2.c.i. Efeito permissivo</i>	<i>5</i>
<i>1.1.2.c.ii. Crescimento e desenvolvimento</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2.c.iii. Reprodução</i>	<i>6</i>
<i>1.1.2.c.iv. Galactogênese</i>	<i>7</i>
<i>1.1.2.c.v. Sistema cardiovascular</i>	<i>7</i>
<i>1.1.2.c.vi. Termogênese e consumo de O₂</i>	<i>8</i>
<i>1.1.2.c.vii. Motricidade</i>	<i>8</i>
<i>1.1.2.c.viii. Metabolismo energético</i>	<i>8</i>
<i>1.1.2.c.ix. Interação com as catecolaminas</i>	<i>9</i>
<i>1.1.2.c.x. Tegumento</i>	<i>9</i>
<i>1.1.2.c.xi. Interação com o sistema imunológico</i>	<i>9</i>
<i>1.1.2.c.xii. Sistema nervoso central e periférico</i>	<i>10</i>
1.2. O sistema renina-angiotensina-aldosterona	10
<i>1.2.1. Aspectos morfofisiológicos</i>	<i>10</i>
<i>1.2.2. O papel da angiotensina II</i>	<i>12</i>

1.2.3. <i>O papel da aldosterona</i>	13
1.3. Outras considerações	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Hormônios tireoideanos, neurogênese e neurotransmissão	16
2.2. Tireóide, sistema renina-angiotensina-aldosterona e apetite por sódio	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Animais utilizados e indução de hipotireoidismo	24
3.2. Material utilizado	24
3.3. Procedimentos experimentais	25
3.3.1. <i>Avaliação do apetite por sódio espontâneo em ratos hipotireóides</i>	25
3.3.2. <i>Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides submetidos a baixas doses de captopril</i>	26
3.3.3. <i>Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com aldosterona antes e durante tratamento com captopril</i>	26
3.3.4. <i>Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com losartan seguido da administração de captopril</i>	27
3.3.5. <i>Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com captopril seguido da administração de losartan</i>	27
3.3.6. <i>Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pelo tratamento com furosemida associada a captopril</i>	28
3.3.7. <i>Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pela privação hidrossalina e alimentar prolongada</i>	29
3.3.8. <i>Avaliação dos níveis de T4 total e TSH em animais tratados com metimazol</i>	30

3.4. Análise estatística	31
4. RESULTADOS	32
4.1. Avaliação dos níveis de T4 total e TSH em animais tratados com metimazol	32
4.2. Avaliação do apetite por sódio espontâneo em ratos hipotireóides	33
4.3. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides submetidos a baixas doses de captopril	35
4.4. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com aldosterona antes e durante tratamento com captopril	39
4.5. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com losartan seguido da administração de captopril	40
4.6. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com captopril seguido da administração de losartan	42
4.7. Avaliação aguda e crônica do efeito de losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pelo tratamento com furosemida associada a captopril	44
4.8. Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pela privação hidrossalina e alimentar prolongada	49
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÕES	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

RELAÇÃO DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Gaiola metabólica utilizada no experimento.	25
Figura 2. Escala temporal das avaliações crônicas e aguda do efeito do losartan sobre o apetite por sódio e ingestão de água em ratos hipotireóides e eutireóides tratados com captopril e furosemida.	29
Figura 3. Escala temporal das avaliações crônicas e aguda do efeito do losartan sobre o apetite por sódio e ingestão de água em ratos hipotireóides e eutireóides privados de água, sódio e alimento.	30
Figura 4. Volume de ingestão espontânea diária de água e sódio em ratos eutireóides e hipotireóides com 30 dias de tratamento com metimazol.	34
Figura 5. Produção espontânea diária de urina em ratos eutireóides e hipotireóides. ...	34
Figura 6. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril.	35
Figura 7. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril.	36
Figura 8. Produção diária de urina em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril.	37
Figura 9. Ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóides tratados com captopril.	38
Figura 10. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com aldosterona combinado posteriormente à administração de captopril.	39
Figura 11. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com aldosterona combinado posteriormente à administração de captopril.	40
Figura 12. Ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóides tratados com losartan e captopril.	41
Figura 13. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril associado à administração de losartan.	42
Figura 14. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril associado à administração de losartan.	43

Figura 15. Produção diária de urina em ratos eutireóideos e hipotireóideos tratados com captopril associado a administração de losartan.	44
Figura 16. Ingestão acumulativa de água e sódio, em ratos eutireóideos e hipotireóideos depletados de água e sódio através da administração de captopril e furosemida 60 minutos antes da reapresentação de água e salina 1,8%.	45
Figura 17. Efeito do tratamento com losartan sobre a ingestão acumulativa de água em ratos eutireóideos e hipotireóideos depletados de água e sódio pela administração de captopril e furosemida 60 minutos antes da reapresentação de líquidos.	46
Figura 18. Efeito do tratamento com losartan sobre a ingestão acumulativa de sódio em ratos eutireóideos e hipotireóideos depletados de água e sódio pela administração de captopril e furosemida, 60 minutos antes da reapresentação de líquidos.	47
Figura 19. Influência do losartan sobre a ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóideos e eutireóideos previamente tratados com captopril e furosemida.	48
Figura 20. Ingestão acumulativa de água e sódio em ratos eutireóideos e hipotireóideos privados de água, sódio e alimento.	50
Figura 21. Ingestão diária de água e sódio em ratos eutireóideos e hipotireóideos previamente depletados de água e sódio através da privação de água, sódio e alimento.	50
Figura 22. Influência do tratamento com losartan sobre a ingestão de água em ratos eutireóideos e hipotireóideos previamente privados de água, sódio e alimento por 16 horas.	51
Figura 23. Influência do tratamento com losartan sobre a ingestão de sódio em ratos eutireóideos e hipotireóideos previamente privados de água, sódio e alimento por 16 horas.	52
Figura 24. Influência do losartan sobre a ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóideos e eutireóideos previamente depletados de água e sódio por privação hidroeletrólítica e alimentar de 16 horas.	53
Tabela 1. Efeito do tratamento com metimazol sobre os níveis séricos de T4 total e TSH de ratos machos, após 30 dias de tratamento.	33
Tabela 2. Ingestão de água e NaCl em ratos eutireóideos e hipotireóideos, depletados de água e sódio, 24 horas após tratamento com losartan.	49
Tabela 3. Ingestão de água e NaCl em ratos eutireóideos e hipotireóideos privados de água, NaCl e alimento, 24 horas após tratamento com losartan.	54

RESUMO

Resultados de nosso laboratório confirmaram evidências de que ratos tornados hipotireóideos pelo tratamento com metimazol desenvolvem exagerado apetite por sódio. No presente trabalho investigamos a capacidade de ratos hipotireóideos responderem à baixa dose de captopril adicionado à ração. Adicionalmente avaliamos a influência da aldosterona em ratos hipotireóideos, durante a expressão do apetite espontâneo por sódio e após o tratamento com captopril. Captopril aumentou significativamente a ingestão diária de NaCl 1,8% nos ratos hipotireóideos após 32 dias de administração de metimazol. Após a interrupção do tratamento com captopril a ingestão diária de NaCl 1,8% atingiu valores superiores a $10,0 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}$ de peso corporal⁻¹ entre 48 e 60 dias pós-tratamento com metimazol. A administração de aldosterona reduziu significativamente a ingestão espontânea de NaCl 1,8%, e após o tratamento com captopril. Nossos resultados demonstram que não obstante os ratos hipotireóideos desenvolverem deficiência na produção de todos os componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona sistêmico a sua capacidade de sintetizar angiotensina II em nível cerebral está preservada. A reversão parcial da ingestão diária de NaCl 1,8% durante o tratamento com aldosterona possivelmente significa que a retenção de sódio atenua tanto o apetite espontâneo por sal quanto o induzido por captopril.

Adicionalmente, o envolvimento de receptores AT1 na expressão do apetite por sódio foi investigado em ratos hipotireóideos tratados com o antagonista angiotensinérgico AT1, losartan, administrado cronicamente, adicionado ao alimento ou agudamente, por via subcutânea, após depleção hidrossalina ou privação de água, sódio e ração. O tratamento

com losartan adicionado à ração reduziu significativamente a ingestão de salina hipertônica em ratos hipotireóideos. Mesmo após o aumento da dose de losartan não se verificou redução da ingestão de NaCl, ao contrário, a intensidade do apetite por sódio foi retornando gradualmente aos níveis anteriores. A administração simultânea de captopril e losartan elevou significativamente a ingestão de NaCl em ratos hipotireóideos, e após remoção do captopril a ingestão de NaCl retornou para os níveis observados antes do início do tratamento com losartan. A administração de losartan em ratos hipotireóideos durante o tratamento com captopril reduziu significativamente a ingestão de NaCl. A administração aguda sistêmica de losartan em ratos hipotireóideos sob depleção hidrossalina reduziu significativamente a ingestão de NaCl e água. A privação de água, NaCl e ração em ratos hipotireóideos similarmente, provocou uma maior preferência por sódio entre os ratos hipotireóideos. Nesta condição, a administração de losartan também induziu uma redução significativa na ingestão de NaCl e água. Os resultados demonstram que o tratamento oral com losartan inibiu o apetite por sódio espontâneo dos ratos hipotireóideos. O efeito natriorexigênico do captopril foi reduzido pela administração concomitante de losartan o que sugere que no hipotireoidismo (assim como no eutireoidismo) a angiotensina II gerada centralmente participa da expressão do apetite por sódio. A continuação do tratamento com losartan em ratos hipotireóideos revelou mecanismo central adicional àquele dependente de angiotensina II. Por outro lado, foi demonstrado que tanto a depleção hidrossalina quanto a privação de água, NaCl e ração induzem um apetite por sódio que em curto prazo depende de atividade angiotensinérgica cerebral nos ratos hipotireóideos mediada pela ativação de receptores AT1.

Palavras-chave: rato, hipotireoidismo, apetite por sódio, losartan, sistema renina-angiotensina, aldosterona.

ABSTRACT

Results from our laboratory have confirmed evidence that rats rendered hypothyroid by treatment with methimazole develop an exaggerated sodium appetite. We investigated here the capacity of hypothyroid rats to respond to a low dose of captopril added to the ration. In addition, we determined the influence of aldosterone in hypothyroid rats during the expression of spontaneous sodium appetite and after captopril treatment. Captopril significantly increased the daily intake of 1.8% NaCl in hypothyroid rats after 32 days of methimazole administration. After the discontinuation of captopril treatment, daily 1.8% NaCl intake reached values ranging from $10.0 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g body weight}^{-1}$, 48 to 60 days after treatment with methimazole. Aldosterone treatment significantly reduced saline intake before and after captopril treatment. Our results demonstrate that, although hypothyroid rats develop a deficiency in the production of all components of the renin-angiotensin-aldosterone system, their capacity to synthesize angiotensin II at the cerebral level is preserved. The partial reversal of daily 1.8% NaCl intake during aldosterone treatment may suggest that sodium retention reduces both spontaneous and captopril-induced salt appetite. In addition, the involvement of AT1 receptors in the expression of sodium appetite was studied in hypothyroid rats treated with the angiotensinergic AT1 antagonist losartan. Losartan added to the diet was administered chronically by the oral route or was administered acutely by the subcutaneous route after hydrosaline depletion or water, sodium and food deprivation. Losartan added to the food significantly reduced hypertonic

saline intake in hypothyroid rats. Even an increase of the losartan dose did not reduce NaCl intake; in contrast, the intensity of sodium appetite gradually returned to previous levels. The simultaneous administration of captopril and losartan significantly increased NaCl intake in hypothyroid rats, and after captopril removal NaCl intake returned to the levels observed before the beginning of losartan treatment. The administration of losartan during captopril treatment significantly reduced NaCl intake in hypothyroid rats. Acute systemic administration of losartan to hydrosaline-depleted rats significantly reduced NaCl and water intake. Water, NaCl and food deprivation similarly provoked a higher sodium preference in hypothyroid rats. The administration of losartan also induced a significant reduction in NaCl and water intake under these conditions. The present results show that chronic oral treatment with losartan inhibited spontaneous sodium appetite in hypothyroid rats. The natriorexigenic effect of captopril was drastically reduced by the concomitant administration of losartan, suggesting that centrally produced angiotensin II participates in the expression of sodium appetite in hypothyroidism. The progressive restoration of the ingestion response after the continuation of losartan treatment in combination with captopril observed for hypothyroid rats suggests that this response is mediated by a central adaptive mechanism in addition to that depending on AT1 receptors. On the other hand, both hydrosaline depletion and water, NaCl and food deprivation induced sodium appetite, which in the short term depends on cerebral angiotensinergic activity mediated by the activation of AT1 receptors in hypothyroid rats.

Key words: rat, hypothyroidism, sodium appetite, losartan, renin-angiotensin system, aldosterone.

1. INTRODUÇÃO

Os recentes avanços nas ciências biomédicas têm proporcionado um maior acerto na constatação das mais diversas endocrinopatias. Associado a isto, o acesso facilitado aos meios laboratoriais de diagnóstico e pesquisa da doença em curso favorece a sua constatação precoce, propiciando um maior detalhamento fisio-clínico destas endocrinopatias.

Dentre as endocrinopatias, as disfunções da glândula tireóide são cada vez mais comumente diagnosticadas tanto em seres humanos como nos animais. Variações anormais dos níveis plasmáticos de hormônios tireoideanos refletem as mais diversas apresentações clínicas, uma vez que estes hormônios são importantes na modulação de diferentes sistemas fisiológicos. Termorregulação, função reprodutiva, regulação glicêmica, tônus do sistema nervoso simpático (SNS), atividade cardio-circulatória, desenvolvimento do sistema nervoso (SN) em animais jovens, diferenciação, desenvolvimento e crescimento músculo-esquelético, controle da pressão arterial são apenas alguns dos sistemas fisiológicos que sofrem influência dos hormônios tireoideanos.

1.1. A glândula tireóide

1.1.1. Aspectos morfológicos

A glândula tireóide é derivada embriologicamente do endoderma da porção cefálica do canal embrionário.

Anatomicamente é formada por dois lobos unidos por um estreito istmo, localizados ventralmente à traquéia, imediatamente posterior à cartilagem cricóide. Seu formato anatômico detalhado varia nas diferentes espécies. Tecidos tireoideanos ectópicos podem ser encontrados na região da crossa da aorta, língua e base do coração, fato que deve ser relevado no estudo da localização do foco de disfunção tireoideana. A glândula tireóide é extremamente irrigada, com uma perfusão sangüínea significativamente maior que a maioria dos outros tecidos. Recebe inervação simpática direta do sistema nervoso autônomo, para controle da secreção de seus hormônios num curto espaço de tempo, de acordo com as necessidades fisiológicas instantâneas. Faz sintopia com as glândulas paratireóides, vasos e nervos importantes.

Histologicamente possui como unidade funcional os folículos tireoideanos compondo o parênquima do órgão, além das células “C”, produtoras de calcitonina, um hormônio hipocalcemiante. Entre os folículos são encontrados ainda mastócitos, que têm importante papel na regulação da secreção de hormônios tireoideanos.

Os folículos tireoideanos são formados por uma monocamada de células foliculares e contêm no seu interior uma substância colóide, formada por uma glicoproteína chamada tireoglobulina. Através da conformação das células foliculares e da quantidade de vacúolos

no colóide, é possível se caracterizar o grau de atividade da glândula. Células foliculares em forma cilíndrica e com numerosos vacúolos no colóide, além de pouca substância colóide no lúmen folicular, indicam o *status* funcional da glândula. Por outro lado, a glândula hipofuncional apresenta epitélio na forma cúbica com poucas vacuolizações no colóide e grande acúmulo do mesmo.

1.1.2. Fisiologia

1.1.2.a. Eixo hipotálamo – hipófise – tireóide

A regulação dos níveis plasmáticos dos hormônios tireoideanos é realizada basicamente pelas estruturas e hormônios constituintes do eixo hipotálamo-adenohipófise-tireóide. Hormônio liberador de tireotrofina (TRH) produzido e liberado pelo hipotálamo, através do sistema porta-hipofisário chega à adenohipofise e estimula tireotrofos a produzirem e liberarem hormônio tireoestimulante (TSH). Este por sua vez estimula a tireóide a produzir e liberar os seus hormônios. Níveis plasmáticos elevados dos hormônios tireoideanos determinam a inibição da liberação de TRH pelo hipotálamo pelo mecanismo classicamente conhecido como feed-back negativo. O TSH é também inibido pela ação direta e indireta dos elevados níveis dos hormônios tireoideanos. O TSH age sobre mastócitos presentes na tireóide que liberam histamina, fazendo vasodilatação local, promovendo dessa forma um aumento do aporte sanguíneo para a glândula e assim melhorando a impregnação da mesma pelo TSH. Contrariamente, a queda da concentração plasmática dos hormônios da tireóide cessa o feed-back negativo sobre as áreas regulatórias

centrais, liberando-as para o aumento da síntese de TRH e TSH, desta forma eleva os níveis plasmáticos de T3 e T4.

Outro mecanismo de controle da liberação dos hormônios da tireóide seria a inervação simpática, determinando liberações rápidas dos hormônios da tireóide, por intermédio de receptores tipo β -adrenérgico.

1.1.2.b. Síntese e secreção dos hormônios da tireóide.

Os principais hormônios secretados pela tireóide são a tiroxina ou tetraiodotironina (T4) e a triiodotironina (T3). T3 é a forma ativa, e além de secretada pela tireóide também é formado nos tecidos periféricos a partir da deiodação de T4 através de deiodases, tanto no interior da célula-alvo como no plasma. Outra forma de T3 também é encontrada na circulação periférica, contendo um iodo na posição 5' da cadeia, ao invés da posição 5 do T3 ativo. Por isto é chamado de T3 reverso (RT3), que é inativo.

T4 e T3 são sintetizados na substância coloidal do folículo tireoideano. Através do acoplamento entre uma moniodotirosina (MIT) com uma diiodotirosina (DIT) T3 é formado, e do acoplamento entre DITs entre si forma-se o T4. Esses radicais tirosil iodados estão ligados a uma molécula de tireoglobulina que é produzida pelas células foliculares e secretada para formar o colóide, onde na presença de iodo e de enzimas iodases formarão MIT, DIT, T3 e T4, que ficarão ligados a tireoglobulina.

Sob ação do TSH, diversos processos bioquímicos das células foliculares estarão potencializados como a ativação de bombas de iodo, para captar iodeto da circulação e enviar para o lúmen folicular; a captação de glicose, para fornecer energia para estas células; além da síntese aumentada de tireoglobulinas, bem como a formação de digitações

da membrana apical das células foliculares para aumentar a superfície e a capacidade absorviva de colóide e dessa forma facilitar a fagocitose das tireoglobulinas com seus radicais tirosil iodados.

Uma vez fagocitada a tireoglobulina, com MIT, DIT, T3 e T4, ligados a sua cadeia, esta sofrerá ação de enzimas lisossomais que liberarão T3 e T4 para o citossol, que por difusão passam para a circulação, além de MIT e DIT que sob ação das deiodases dessas células liberarão o iodo que será reciclado e retornará ao colóide. Portanto apenas T3 e T4 ganham a circulação. Já na circulação eles ligam-se a proteínas plasmáticas e apenas 0,5 e 0,3% de T4 e T3 respectivamente, ficam na forma livre ou desligada, portanto potencialmente ativas em indivíduos normais.

1.1.2.c. Principais ações dos hormônios tireoideanos.

1.1.2.c.i. *Efeito permissivo*

Da mesma forma que os esteróides gonadais e adrenais, os hormônios tireoideanos têm importância na permissividade à ação de outros hormônios. Isso porque o seu mecanismo de ação está relacionado com a síntese de proteínas por estimulação de receptores nucleares, e muitas vezes essas proteínas são substratos importantes na transdução de um sinal hormonal pela célula.

O efeito de glicocorticóides na estimulação da produção de somatotropina (GH) em cultivo de células tumorais da pituitária só ocorre na presença de hormônios tireoideanos.

1.1.2.c.ii. *Crescimento e desenvolvimento*

A ausência de hormônios tireoideanos resulta em severo retardo no crescimento de vertebrados, o que se deve principalmente à inibição do alongamento dos grandes ossos, bem como da maturação óssea. A secreção de GH está diminuída em animais hipotireóides e é retomada com a reposição hormonal. Os hormônios tireoideanos interferem também na atividade do GH nas suas células alvo, sendo necessários para esse fim. Assim, tanto o crescimento como a maturação músculo-esquelética estão prejudicados em indivíduos hipotireóides jovens.

Estudos realizados em anfíbios oferecem um bom exemplo da participação dos hormônios tireoideanos em processos de crescimento e diferenciação. A concentração sérica dos hormônios tireoideanos é muito baixa na faixa embrionária e parece não depender de regulação hipotalâmica. Nesta fase a oferta de hormônios tireoideanos acelera o processo de metamorfose e antecipa a transição entre a forma larvária e adulta. As alterações morfofuncionais de absorção da cauda e crescimento dos membros ocorrem mais precocemente (Hourdry, 1993).

1.1.2.c.iii. *Reprodução*

A deficiência dos hormônios da tireóide está relacionada com atraso nos ciclos estrais, ciclos permanentes, com baixa taxa de ovulação além de ocorrência de abortos no terço inicial da gestação, ninhadas pouco numerosas, alta taxa de mortalidade dos recém-natos. Nos machos se observa diminuição da libido e baixa taxa de fertilidade.

Fêmeas jovens terão glândulas mamárias pouco desenvolvidas com ductos e alvéolos imaturos caso haja deficiência de hormônios tireoideanos. A ação direta dos hormônios tireoideanos nas glândulas mamárias, bem como a sua participação na síntese e liberação de prolactina, interferem no desenvolvimento dessas glândulas.

1.1.2.c.iv. *Galactogênese*

Os hormônios tireoideanos têm ação direta nas glândulas mamárias estimulando a galactogênese.

No entanto, a deficiência de hormônios tireoideanos eleva os níveis de TRH no hipotálamo, que parece ser também um fator estimulante de liberação de prolactina, podendo assim ocorrer galactorréia em animais hipotireóides, independente do sexo.

1.1.2.c.v. *Sistema cardiovascular*

Neste sistema, os hormônios tireoideanos estimulam o aumento da quantidade e sensibilidade de receptores β -adrenérgicos no coração e consequente aumento da sensibilidade inotrópica e cronotrópica a ação catecolaminérgica.

Animais hipertireóides tendem a ter todo o sistema renina-angiotensina- aldosterona (SRAA) potencializados, por aumento na produção dos mediadores bem como de receptores de Angiotensina II, AT1 e AT2 em diversos órgãos. Em consequência dessas alterações, especialmente do aumento da geração sistêmica de angiotensina II e da ação direta dos hormônios tireoideanos, resulta em hipertrofia miocárdica.

1.1.2.c.vi. *Termogênese e consumo de O₂*

Hormônios tireoideanos estimulam o consumo de O₂ pelas mitocôndrias potencializando a síntese de ATP. Este consiste no principal substrato final armazenador de energia e calor, e como consequência de sua hidrólise é importante na manutenção da ação da bomba de Na⁺. No tecido adiposo, especialmente o tecido adiposo marrom de animais jovens e de adultos hibernantes, os hormônios tireoideanos promovem intensa lipólise que contribui para a termogênese corporal.

1.1.2.c.vii. *Motricidade*

A deficiência dos hormônios tireoideanos está relacionada com um atraso no tempo de reflexo motor, por lentidão na condução nervosa, mas também por menor sensibilidade da placa motora.

1.1.2.c.viii. *Metabolismo energético*

Os níveis de carboidratos absorvidos no trato gastro-intestinal (TGI) estão aumentados na presença dos hormônios tireoideanos.

No hipertireoidismo, os níveis de glicose no plasma se elevam rapidamente após as refeições, podendo ultrapassar o limiar renal de glicose, no entanto a queda desses níveis também é rápida. Por outro lado, o trânsito intestinal também o está, e a despeito da hiperexia manifestada por alguns animais, estes podem emagrecer devido a esse fator adicional.

Os níveis de colesterol tendem a aumentar na ausência de hormônios tireoideanos.

1.1.2.c.ix. *Interação com as catecolaminas*

As catecolaminas como a adrenalina (ADR) e a noradrenalina (NOR) possuem efeitos semelhantes aos dos hormônios tireoideanos. Esta constatação possivelmente decorre do fato dos hormônios tireoideanos influenciarem a densidade e a sensibilidade de receptores β -adrenérgicos.

1.1.2.c.x. *Tegumento*

A disfunção tireoideana com deficiência dos hormônios tireoideanos determina uma diminuição da quantidade e da atividade de Δ -6-desaturase, enzima da cadeia de síntese de ácidos graxos necessários para a manutenção da integridade do filme protetor da pele em cães, proporcionando o aparecimento da seborréia seca. Além disso ocorre atrofia do folículo piloso.

1.1.2.c.xi. *Interação com o sistema imunológico*

O TSH foi um dos primeiros hormônios hipofisários identificados como tendo uma participação na regulação do sistema imunológico *in vivo*. *In vitro* foi constatado que, tireotropinas estimulavam a produção de anticorpos. No entanto, a produção de anticorpos que seria mediada por linfócitos B, na ausência de linfócitos T, o aumento na produção de anticorpos não ocorria, sugerindo que este efeito fosse mediado por linfócitos T.

Curiosamente, constatou-se que o TSH poderia também ser produzido por linfócitos T, sob estímulo de TRH, estimulando por sua vez a síntese de anticorpos.

1.1.2.c.xii. *Sistema nervoso central e periférico*

Os hormônios tireoideanos têm também importante papel na mielogênese e sinaptogênese neuronal, bem como na síntese de NGF (fator de crescimento neuronal) que determina a velocidade de reconstituição neuronal pós-lesão, incrementa a colaterização axonal e a dendritogênese.

Desta forma, alterações na aprendizagem, memória, comportamento e atividade reflexa são comuns na disfunção tireoideana.

1.2. O sistema renina-angiotensina-aldosterona

1.2.1. Aspectos morfofisiológicos

Localizadas na arteríola aferente de cada glomérulo, as células justaglomerulares constituem o principal substrato morfofisiológico para a síntese e secreção de renina. Estas células recebem inervação simpática, que por estimulação β -adrenérgica regulam a liberação de renina. A sua localização justaglomerular permite que sofra interferência adicional das células da mácula densa. A mácula densa é formada por um grupamento de células sensíveis às alterações da carga filtrada de íons Na^+ que chega ao túbulo contornado distal.

A renina é uma enzima proteolítica que ao interagir com o angiotensinogênio, uma α_2 -globulina sintetizada pelo fígado, forma um decapeptídeo denominado angiotensina I.

Este por sua vez é convertido em angiotensina II por ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), que retira dois aminoácidos terminais da molécula. A enzima conversora de angiotensina é sintetizada principalmente nos pulmões, apesar de diferentes órgãos também sintetizarem-na. A angiotensina II atua de diversas formas tanto no rim como sistemicamente, além de estimular a secreção de aldosterona pelas células glomerulosas da adrenal.

São três os principais mecanismos responsáveis pela liberação de renina:

a) Barorreceptores localizados nas paredes das arteríolas aferentes, sensíveis ao estiramento, detectam a diminuição da tensão na parede do vaso nos casos de diminuição da pressão arterial (*e.g.*: hemorragias, ligadura da aorta abdominal), e determinam a elevação da liberação de renina. Contrariamente, a elevação da pressão de perfusão nestes vasos determinam a diminuição ou cessação da liberação da renina.

b) A diminuição na concentração de NaCl constituinte do filtrado glomerular que chega a porção inicial do túbulo contornado distal é detectada pelas células da mácula densa. As células da mácula densa enviam projeções citoplasmáticas que se dirigem às células justaglomerulares. Provavelmente estes dois tipos celulares atuem como um sincício. As células da mácula densa detectam alterações de volume e composição do fluido tubular distal e enviam estas informações às células justaglomerulares, que liberam renina.

c) A inervação simpática das células justaglomerulares por intermédio de receptores β -adrenérgicos constitui um importante

mecanismo regulatório central direto das suas funções. A estimulação elétrica dos nervos renais, da mesma forma que a estimulação de receptores β -adrenérgicos por utilização de isoproterenol elevam a liberação de renina. Por outro lado, a ação simpatolítica central, a desnervação renal e o bloqueio dos receptores com o uso do propranolol diminuem a liberação de renina.

1.2.2. O papel da angiotensina II

A angiotensina II é um importante mediador de fenômenos fisiológicos indispensáveis para a regulação da pressão arterial e do balanço hidroeletrolítico.

Recentemente outros peptídeos da família das angiotensinas como a angiotensina III e o heptapeptídeo amino-terminal angiotensina 1-7, têm demonstrado ter importante participação em respostas fisiológicas antes atribuídas exclusivamente à angiotensina II. No entanto, a angiotensina II parece ainda ser a mais importante.

A potente ação vasoconstritora direta da angiotensina II permite ajustes da pressão arterial quando esta está alterada. Além disto, potencia a transmissão ganglionar, bem como a síntese e liberação de noradrenalina. Adicionalmente inibe a recaptação de noradrenalina pelo terminal sináptico. Simultaneamente, estes fatores disponibilizam mais noradrenalina para estimulação de seus receptores.

Na adrenal, a angiotensina II estimula a liberação de noradrenalina e adrenalina, potencializando a atividade simpática. A liberação de aldosterona pelo córtex da adrenal se dá principalmente por estimulação angiotensinérgica.

Diversas áreas cerebrais sofrem influência da angiotensina II gerada sistemicamente. Portanto, determina o aumento do tônus simpático ao coração, vasos e a medular da adrenal. A liberação de vasopressina e a expressão de componentes comportamentais de controle de volume e osmolaridade plasmáticas, como a ingestão de água e sódio, sofrem influência da angiotensina II.

A ação prolongada deste octapeptídeo na musculatura cardíaca pode determinar hipertrofia e crescimento da musculatura lisa vascular.

1.2.3. O papel da aldosterona

Os principais sinais para a liberação de aldosterona são a estimulação pelo hormônio adrecorticotrófico (ACTH), as variações dos níveis de sódio e potássio plasmáticos, além da estimulação direta da angiotensina II. Há evidências de que o peptídeo natriurético atrial (ANP) iniba esta liberação.

A aldosterona é um mineralocorticóide sintetizado na zona glomerulosa da adrenal que age nos rins estimulando a reabsorção de sódio e secreção de potássio e hidrogênio.

Por ser uma molécula lipossolúvel, penetra facilmente na membrana das células do ducto coletor onde interage com seus receptores citoplasmáticos e dirige-se para o núcleo onde o complexo hormônio-receptor interage com sítios de ligação específicos do DNA,

resultando a transcrição de RNAm para a síntese de proteínas regulatórias. Estas estimulam a secreção ativa primária de hidrogênio pela membrana luminal, além de potencializarem a permeabilidade ao sódio por estímulo à síntese e/ou à incorporação de canais de sódio na membrana, além do aumento no aporte energético por estimulação das mitocôndrias.

Com o aumento da reabsorção de sódio pela membrana luminal, as concentrações deste se elevam no interior da célula estimulando a atividade da bomba trocadora de sódio e potássio localizada na membrana basolateral. Assim, os níveis aumentados de potássio intracelular adicionalmente à diminuição da concentração de sódio no fluido luminal criam um gradiente eletrostático que favorece a saída do potássio para o lúmen tubular. Este fenômeno favorece o aumento da permeabilidade ao potássio que se inicia imediatamente após a entrada da aldosterona nas células do ducto coletor, independentemente da síntese de proteína regulatória.

Com a reabsorção do sódio, ocorre também a reabsorção de água. Desta forma, a aldosterona é primordial na restauração do volume hídrico corporal e osmolaridade plasmática.

1.3. Outras considerações

A regulação da pressão arterial (PA) a médio e longo prazo bem como a manutenção da homeostase dos líquidos corporais é em grande parte atribuída aos sistemas fisiológicos que interferem no equilíbrio hidroeletrolítico como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e outros sistemas peptidérgicos [Ex.: peptídeo natriurético atrial

(ANP), vasopressina]. O apetite por sódio é um importante componente comportamental responsável pela restauração da pressão arterial e manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico. Vias angiotensinérgicas cerebrais estão criticamente envolvidas na mediação do apetite por sódio. A hiponatremia, hipovolemia e a elevação dos níveis de angiotensina II circulantes constituem os principais sinais de erro detectados e aferidos por sistemas fisiológicos cerebrais.

Desta forma, quando da abordagem clínica de pacientes hipo ou hipertensos, faz-se-ia necessária em alguns casos a investigação do *status* tireoideano dos mesmos, para o estabelecimento de uma terapêutica adequada. Por outro lado, o paciente com disfunção tireoideana também poderia ter sua pressão arterial avaliada, bem como o seu comportamento apetitivo por sódio e a atividade excretória renal.

Neste trabalho buscamos avaliar a participação do SRAA no comportamento apetitivo por sódio em ratos hipotireóides.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Hormônios tireoideanos, neurogênese e neurotransmissão

É notável a influência dos hormônios tireoideanos nos mecanismos de neurotransmissão central e periférica bem como no controle da função hipofisária. Os hormônios tireoideanos são essenciais ao desenvolvimento do sistema nervoso de mamíferos. Em humanos e também em animais são frequentes as manifestações neuroendócrinas e comportamentais decorrentes das alterações da função tireoideana. Apesar da ampla faixa de variação existente, indivíduos com hipertireoidismo apresentam sintomas de ansiedade, labilidade emocional e hiperatividade. Fadiga, depressão, embotamento das funções intelectuais e da cognição e dificuldades de concentração também estão presentes. Em humanos, a apatia e a depressão, quando antecedem os sinais característicos do hipertireoidismo, dificultam o diagnóstico e retardam o início do tratamento (Lahey, 1931; McGee *et al*, 1959; Taylor, 1975; Wilson & Jefferson, 1985; Joffe, 1990; Ramalho, 1995).

Diminuição da capacidade intelectual, redução da atividade reflexa, déficit de aprendizado e condicionamento, apatia e depressão são frequentes no hipotireoidismo. Não obstante, os hormônios tireoideanos em excesso podem também provocar depressão. Quando associados a antidepressivos tricíclicos, potencializam os seus efeitos, acelerando o desaparecimento dos sintomas da depressão. Pacientes inicialmente refratários ao tratamento com antidepressivos clássicos podem tornar-se sensíveis aos mesmos quando tratados com baixas doses adicionais de hormônio tireoideano (Prange *et al*, 1969; Earle, 1970; Weeatley, 1972). Desta forma, o aumento ou a redução do *status* tireoideano não limita nem orienta em que sentido ocorrerá determinada alteração, se em direção à ansiedade, psicose e ativação da neurotransmissão, ou se em direção à apatia depressão e embotamento sensorial (Ramalho, 1995).

Em mamíferos, os hormônios tireoideanos são transportados eficazmente através da barreira hemato-encefálica, alcançando o SNC (Schreiber *et al*, 1990). No período neonatal, a exposição aos hormônios tireoideanos acelera o desenvolvimento bioquímico e fisiológico do sistema nervoso (Schapiro, 1966). Por outro lado, alterações anátomo-morfológicas decorrentes da indução experimental ao hipotireoidismo são em parte determinadas pela ausência da ação indireta reguladora dos hormônios tireoideanos na síntese do hormônio de crescimento (GH) e de diversos outros fatores de crescimento (somatomedinas, fator de crescimento epidermal, fator de crescimento neural). No entanto, os principais efeitos na diferenciação dos tecidos, na remodelação óssea e na maturação do SNC são diretamente dependentes dos hormônios tireoideanos (Green, 1989; Berne & Levy, 1993).

Em diversas espécies, verifica-se que o hipotireoidismo determina hipoplasia dos componentes axonal e dendrítico dos neurônios corticais com redução no número de terminações sinápticas e na densidade dos neurônios corticais. Reduz-se a probabilidade de interações axo-dendríticas (Eayrs, 1960; Balazs *et al*, 1968; Dussault & Ruel, 1987; Green, 1989; Berne & Levy, 1993).

Alterações no metabolismo dos oligodendrócitos, juntamente com redução da superfície neuronal disponível para a mielinização, reduzem a disponibilidade de mielina sobre os axônios de ratos hipotireóideos (Balzs *et al*, 1969). As modificações do processo de mielinização, contribuintes para a redução do diâmetro das fibras neurais, estão associadas á redução na velocidade de síntese de galactosil-sialil-transferase, enzima importante para a síntese de mielina. A diminuição da síntese de enzimas essenciais à geração de energia, como a succinato-desidrogenase torna mais lenta a velocidade de condução dos impulsos nervosos, comprometendo desta forma a sensibilidade e a atividade reflexa (Norton, 1975; Sidenius *et al*, 1987; Green, 1989; Berne & Levy, 1993). Conjuntamente, estas modificações influem na adaptabilidade do indivíduo às exigências do seu meio interno ou do meio ambiente, prejudicando sua homeostase e colocando em risco a sua sobrevivência em situações extremas.

A transdução do sinal dos hormônios tireoideanos é mediada por proteínas nucleares específicas que pertencem à superfamília de reguladores da transcrição. Além dos receptores específicos para tri-iodotironina (T3), são integrantes dessa superfamília os receptores para os hormônios esteróides (estrógeno, progesterona, mineralocorticóides, glicocorticóides), formas hormonais das vitaminas A e D, ativadores peroxissomais e vários

“receptores órfãos” cujos ligantes específicos ainda estão mal definidos (Timiras & Nzekwe, 1989; Glass & Holloway, 1990; Brinkmann, 1994; Jameson & Degroot, 1995).

A ligação do T3 a receptores nucleares inicia a sequência de eventos bioquímicos que resultam nas ações dos hormônios tireoideanos (Oppenheimer *et al*, 1987; Brent *et al*, 1991; Jameson & Degroot, 1995). Tecidos como fígado, rim, coração, hipófise e cérebro são altamente responsivos aos hormônios tireoideanos, e isto se corrobora com a riqueza de receptores nucleares específicos para T3 nestes órgãos.

Estudos conduzidos a partir da avaliação da concentração plasmática de T3 e T4, após a oferta dos dois hormônios marcados com isótopos diferentes, deram suporte à sugestão de que o *pool* de T4 circulante atuaria como um reservatório sujeito à regulação, cuja meta seria o fornecimento de substrato para a produção final de T3, o hormônio ativo (Larsen, 1989). Crantz & Larsen (1980) verificaram que no cérebro pelo menos 70% do T3 nuclear endógeno era proveniente da deiodinação local de T4, sendo irrelevante quanto do hormônio ativo (T3) tenha sido oferecido. Esta deiodinação é, portanto, essencial para garantir o aporte de T3 ao cérebro e à hipófise em situações de hipotireoidismo.

Muitas das informações obtidas sobre a atividade pré-sináptica de neurônios partiram de estudos que procuraram correlacionar as alterações da função tireoideana com a síntese, metabolismo ou com o *turnover* de neurotransmissores em homogeneizados de cérebro ou em núcleos específicos. São amplas as evidências de interação entre os hormônios tireoideanos e a transmissão monoaminérgica cerebral (Ito *et al*, 1977; Gross *et al*, 1980; Mason *et al*, 1987; Sandrini *et al*, 1991; Tejani-Butt *et al*, 1993; Tejani-Butt & Yang, 1994; Ramalho, 1995).

2.2. Tireóide, sistema renina-angiotensina-aldosterona e apetite por sódio

Estudos anteriores reportaram uma redução da aversão por NaCl em ratos hipotireóideos portadores de hipertensão e um aumento do apetite por sódio em diferentes modelos experimentais (Fregly e cols, 1961; Fregly, 1962; Fregly & Taylor, 1964; Taylor & Fregly, 1964; Fregly & Rowland, 1985; Belló & Covian, 1988; 1991). Entretanto, persistem as controvérsias relativas ao mecanismo fisiológico responsável pelo apetite por sódio considerando-se que no hipotireoidismo a expressão gênica, a síntese e liberação dos componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona (e.g. angiotensinogênio, renina, enzima conversora de angiotensina, angiotensina II e aldosterona) encontram-se deprimidas (Saruta e cols, 1980; Bouhnik e cols, 1981; Montiel *et al*, 1982; Fregly & Rowland, 1985; Arlot *et al*, 1988; Jiménez *et al*, 1988; 1991; Marchant *et al*, 1993; Costerousse *et al*, 1994; Asmah *et al*, 1997; Yegin *et al*, 1997). Ademais, a densidade de receptores de angiotensina II sofre alterações no hipotireoidismo. Um aumento da expressão de receptores AT2 foi registrado no coração, fígado, rim e adrenal. Por outro lado a densidade de receptores AT1 revelou-se inalterada (Marchant *et al*, 1993). Neste estudo não foi investigada a influência do hipotireoidismo na densidade de receptores cerebrais de angiotensina II. Estudos de vários autores têm implicado o envolvimento de receptores AT1 na expressão do comportamento apetitivo por sódio através da administração central de antagonistas específicos desses receptores (Beresford & Fitzsimons, 1992; Galaverna *et al*, 1996; Fitzsimons, 1998). Essas alterações têm sido relatadas concomitantemente à observação de

baixa expressão gênica e reduzida liberação basal e estimulada de peptídeo natriurético atrial (ANP) no hipotireoidismo (Kohn *et al*, 1986; Gardner *et al*, 1987; Ladenson *et al*, 1988; Vesely *et al*, 1989; Wong *et al*, 1989; Hwu *et al*, 1993; Zamir *et al*, 1993; Yegin *et al*, 1997) e paralelamente a uma menor capacidade de reabsorção tubular proximal de sódio (Vaamonde *et al*, 1975; Zimmerman *et al*, 1988). Embora ambos os sistemas homeostáticos de controle da excreção de sódio, reguladores em sentidos opostos, estejam afetados, conclui-se que se desenvolve uma prevalência do comprometimento do sistema renina-angiotensina-aldosterona no hipotireoidismo do rato e do homem. Similarmente, ratos adrenalectomizados também desenvolvem um balanço negativo de sódio. Assim, apesar de aspectos ambíguos estarem envolvidos na participação do sistema renina-angiotensina-aldosterona sobre o comportamento apetitivo por sódio em ratos adrenalectomizados, há evidências que indicam este envolvimento (Stockigt, 1993; Fitzsimons, 1986, 1998; Weisinger *et al*, 2000).

Alguns estudos sugerem o envolvimento de receptores AT1 localizados dentro da barreira hemato-encefálica na expressão do comportamento apetitivo por sódio, por intermédio da administração central de antagonistas específicos para estes receptores (Beresford & Fitzsimons, 1992; Galaverna *et al*, 1996; Fitzsimons, 1998).

Evidências de que a mediação central do apetite por sódio induzido pela angiotensina II é dependente de angiotensina II gerada centralmente foram obtidas por Sakai & Epstein (1990). Neste estudo demonstrou-se que a ingestão de NaCl em ratos adrenalectomizados é inibida pela injeção intracerebroventricular (icv) de antagonista da angiotensina II e não pela sua infusão intravenosa. Achados experimentais de Rowland *et al* (1996b) sugerem que losartan, um antagonista competitivo de receptores AT1, quando administrado

sistemicamente possui baixa capacidade de atingir áreas cerebrais localizadas dentro da barreira hemato-encefálica, e seu metabólito mais ativo, o EXP3174, por sua vez, é capaz de transpor mais facilmente esta barreira. Este trabalho sugere ainda a existência de vias não angiotensinérgicas neurais com aferência para os núcleos supra-óptico (SON) e paraventricular (PVN), provavelmente originados de barorreceptores. Contrariamente, recentes trabalhos relataram evidências funcionais de que antagonistas angiotensinérgicos AT1 permeiam a barreira hemato-encefálica em ratos. Assim, losartan e seu metabólito EXP3174, mais ativo, atravessam a barreira hemato-encefálica após administração *per os*, intra-gástrica ou sistêmica (Li *et al*, 1993; Zhuo *et al*, 1994; Polidori *et al*, 1996.; 1998; Weisinger *et al*, 1997) e bloqueiam os receptores AT1, antagonizando as ações da angiotensina II gerada em neurônios localizados dentro ou fora da barreira hemato-encefálica. Estudos paralelos evidenciaram que o órgão subfornicial (SFO) e o *organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT), localizados fora da barreira hemato-encefálica são as estruturas provavelmente envolvidas na mediação da ingestão hídrica e do apetite por sódio induzido pela depleção hidrossalina e em outros paradigmas indutores de perda renal de sódio ou de geração sistêmica de angiotensina II (Weisinger *et al*, 1990; Thunhorst & Fitts, 1994; Iyer *et al*, 1995; Thunhorst, 1996; Rowland *et al*, 1996a, Lane *et al*, 1997; McKinley *et al*, 1997; Fitzsimons, 1998; Thunhorst *et al*, 1998; Culman *et al*, 1999). Baixas doses de captopril, um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), administrado sistemicamente ou adicionado à ração, e ainda à água de beber estimulam o apetite por sódio. Neste paradigma experimental, um aumento da concentração de angiotensina I circulante e a atenuação do feed-back negativo determinado pela angiotensina II na produção de renina são observados. Adicionado a isto, captopril em

baixas doses não seria capaz de inibir a ECA cerebral, apenas a sistêmica. Esta condição induz um aumento da disponibilidade e captação de angiotensina I pelo cérebro, seguido de sua conversão a angiotensina II e aumento da expressão do apetite por sódio, sem alterar a ingestão de água (Fregly, 1980; Elfont *et al*, 1984; Fitzsimons, 1986, 1998).

O estudo do comportamento apetitivo por sódio é certamente um importante ponto a ser relevado no que concerne às alterações observadas no balanço hidro-eletrolítico e cardiovascular de ratos com hipotireoidismo. Não há atualmente relatos que tratem da avaliação da capacidade de resposta ao estímulo natriorexigênico de baixas doses de captopril em ratos hipotireóides.

Considerando que os dois sistemas hormonais que controlam opostamente o apetite por sódio encontram-se deprimidos no hipotireoidismo, objetivamos inicialmente estabelecer os níveis de ingestão espontânea de água e NaCl 1,8% em ratos eutireóides e tornados hipotireóides com metimazol. Em seguida investigamos a capacidade dos mesmos responderem ao tratamento com baixas doses de captopril. Adicionalmente avaliamos a influência da administração da aldosterona sobre o apetite por sódio antes e durante o tratamento com captopril. Em seguida investigamos a ingestão aguda provocada pela depleção de sódio e água através do tratamento com furosemida combinada à baixa dose de captopril. Numa investigação seguinte, o apetite por sódio foi avaliado em ratos hipotireóides submetidos à privação de água, sódio e alimento por período de 16 horas. Para aferir a participação dos receptores AT1 no apetite por sódio, losartan, um antagonista de receptores angiotensinérgicos AT1, foi administrado previamente à apresentação de água e NaCl 1,8%, através de administração *sc* nos estudos agudos ou adicionado à ração, simultaneamente à oferta de fluidos, nos estudos crônicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais utilizados e indução de hipotireoidismo

Foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 235 e 255 g, adquiridos da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro e criados em condições padronizadas com controle de ciclo claro-escuro de 11 horas de escuro por 13 de luz. O hipotireoidismo foi induzido através da adição de metimazol 0,05% (Eli Lilly do Brasil) na água de beber. Os animais foram utilizados nos estudos após 30 dias de iniciado o tratamento com metimazol, tempo mínimo necessário para indução ao hipotireoidismo através da metodologia utilizada. Para manutenção da condição de hipotireoidismo, aos animais era oferecido metimazol na água de beber, na mesma concentração durante todo o período do experimento.

3.2. Material utilizado

Ambos os grupos, eutireóideos e hipotireóideos, foram acondicionados em gaiolas coletivas para 3 animais cada e receberam ração, água e solução de NaCl 1,8% *ad libitum*, durante todo o tempo que antecedia a observação experimental.

Aproximadamente 10 dias antes de iniciar o experimento propriamente dito, os animais eram transferidos para gaiolas metabólicas individuais equipadas com dois bebedouros volumétricos onde recebiam água e solução de NaCl 1,8%, e ainda ração no comedouro (Fig. 1). Permaneciam nestas gaiolas durante todo o período de coleta dos dados. Os ratos hipotireóideos tinham metimazol a 0,05% acrescido ao bebedouro de água, o que não interferia no volume ingerido de água, visto que a droga não possui sabor aversivo para os ratos.

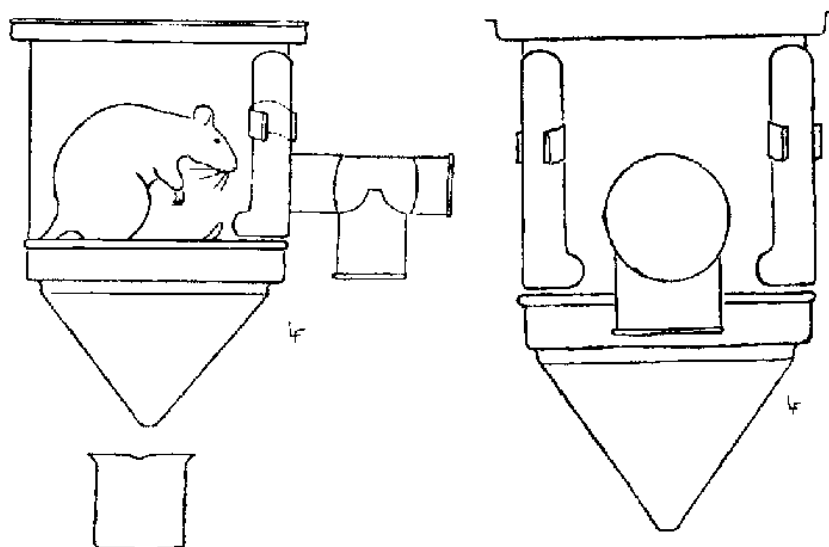


Figura 1. Gaiola metabólica utilizada no experimento. Visão lateral e posterior. (Figura gentilmente confeccionada por Luis Felipe Souza da Silva).

3.3. Procedimentos experimentais

3.3.1. Avaliação do apetite espontâneo por sódio em ratos hipotireóideos

Para atestar a manifestação espontânea do apetite por sódio (NaCl 1,8%), ratos hipotireóideos e eutireóideos ($n = 12$ para cada grupo) foram previamente adaptados a

gaiolas metabólicas e posteriormente submetidos à avaliação da ingestão diária de água e sódio por um período máximo de aproximadamente 60 dias.

3.3.2. Avaliação do apetite espontâneo por sódio em ratos hipotireóideos submetidos a baixas doses de captopril

Doze animais hipotireóideos e doze eutireóideos foram submetidos ao tratamento com captopril (Bristol-Myers Squibb do Brasil) 1,0 mg·g de ração⁻¹ durante 4 dias e avaliou-se a ingestão diária de água, sódio e produção diária de urina antes, durante e após o tratamento.

3.3.3. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóideos tratados com aldosterona antes e durante tratamento com captopril

Ratos hipotireóideos e eutireóideos foram tratados com o mineralocorticóide aldosterona (SIGMA) (100 µg·kg⁻¹, sc) durante 8 dias (dia 60 ao dia 67). A partir do dia 63 os grupos receberam concomitantemente captopril (1,0 mg·g de ração⁻¹) por período de 9 dias (dia 63 ao dia 72). Foi avaliado o comportamento ingestivo de água e sódio, além das flutuações de produção diária de urina, comparada com os parâmetros anteriores.

3.3.4. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóideos tratados com losartan seguido da administração de captopril

Para a avaliação crônica do envolvimento dos receptores angiotensinérgicos AT1 no apetite por sódio, ratos hipotireóideos (com 60 dias de tratamento com metimazol) ($n = 12$) receberam NaCl 1,8%, água e ração *ad libitum*, durante todo o tempo e a seguir foram tratados com losartan potássico (antagonista de receptores AT1, Merck Sharpe & Dohme) nas doses de 1,0, 2,0 e 4,0 mg·g de ração⁻¹, respectivamente nos dias 60, 63 e 66 dias após o iniciado o tratamento com metimazol. Para investigar a influência da resposta natriorexigênica induzida pelo aumento da disponibilidade cerebral de angiotensina I, baixa dose de captopril foi adicionada à ração na proporção de 1,0 mg·g de ração⁻¹, 9 dias após o início do tratamento com losartan.

3.3.5. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóideos tratados com captopril seguido da administração de losartan

Em outra série de estudos, ratos eutireóideos e hipotireóideos com 30 dias de tratamento com metimazol foram tratados com captopril e 4 dias após, losartan foi simultaneamente suplementado à ração na dose de 1,0 mg·g de ração⁻¹.

3.3.6. Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóideos previamente depletados de água e sódio pelo tratamento com furosemida associada a captopril

Para avaliar o apetite por sódio induzido agudamente foi utilizado paradigma experimental no qual ratos eutireóideos e hipotireóideos ($n = 12$ para cada grupo) foram tratados com furosemida (Lasix, Hoechst Marion Roussel) ($10,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, *sc*) e captopril ($5,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, *sc*) e mantidos sem água e NaCl 1,8% por 1 hora, segundo descrição feita por outros autores (Fitts & Masson, 1989; Menani *et al*, 1996). Outros dois grupos de 12 animais hipotireóideos e eutireóideos receberam administração subcutânea de losartan potássico ($20,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), dissolvido em solução salina fisiológica, trinta minutos antes da reapresentação dos líquidos aos animais. Decorrido este período, água e solução de NaCl 1,8% foram reapresentados aos animais e a ingestão avaliada por período de 120 minutos a intervalos de 30 minutos, para investigação do comportamento ingestivo agudamente.

Para a avaliação crônica, os mesmo animais foram mantidos nas gaiolas metabólicas por 24 horas após a reapresentação dos líquidos, recebendo alimento apenas às 17 horas, e sendo reavaliados às 9 horas do dia seguinte. Ao final das 24 horas os volumes de ingestão total no período foram comparados aos valores de ingestão de água e sódio obtidos em períodos de 24 horas anteriores ao tratamento com furosemida e captopril (Fig. 2).



Figura 2. Escala temporal das avaliações crônicas e aguda do efeito do losartan sobre o apetite por sódio e ingestão de água em ratos hipotireóides e eutireóides tratados com captopril ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) e furosemida ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc).

3.3.7. Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pela privação hidrossalina e alimentar prolongada

Em outro paradigma experimental, ratos eutireóides e hipotireóides ($n = 12$ para cada grupo) foram privados de água, NaCl 1,8% e ração por 16 horas (desde as 17 horas do dia anterior às 9 horas do dia do experimento). Passado este período, os animais receberam (às 9 horas da manhã) água e NaCl 1,8% e se iniciou a colheita dos dados para a avaliação aguda, a intervalos de 30 e 60 minutos, totalizando 300 minutos de observação. Os fluidos foram fornecidos simultaneamente em bebedouros graduados e a ingestão avaliada cumulativamente e expressa em $\text{mL} \cdot 100 \text{ g de peso corporal}^{-1}$. Trinta minutos antes da reapresentação de líquidos, dois outros grupos de 12 animais hipotireóides e eutireóides foram tratados com a administração subcutânea de losartan ($20,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Da mesma forma que no protocolo anterior, para a avaliação crônica, os mesmos animais foram mantidos nas gaiolas metabólicas por 24 horas após a reapresentação dos líquidos, recebendo alimento apenas às 17 horas, e sendo reavaliados às 9 horas do dia seguinte. Ao final das 24 horas os volumes de ingestão total no período foram comparados aos valores de ingestão de água e sódio obtidos nas 24 horas que antecederam o início da privação hidrossalina (Fig. 3).

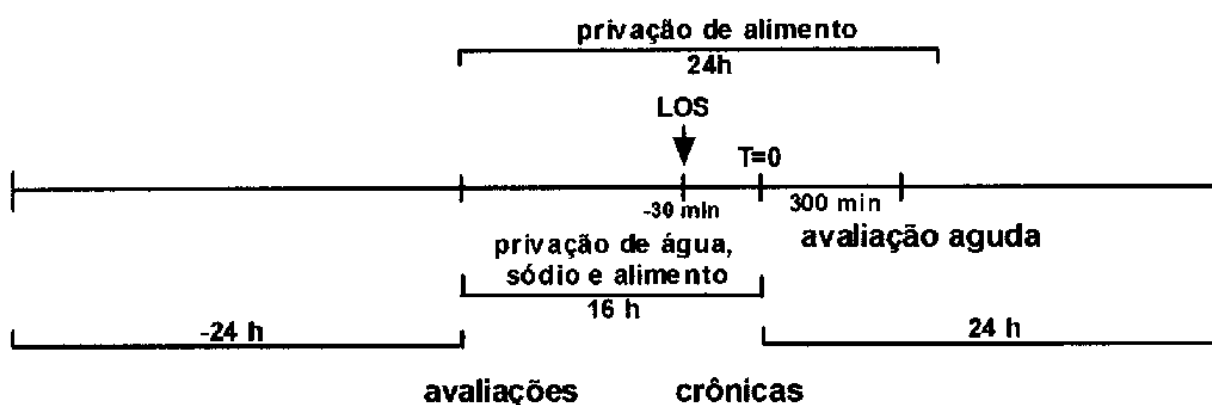


Figura 3. Escala temporal das avaliações crônicas e aguda do efeito do losartan sobre o apetite por sódio e ingestão de água em ratos hipotireóides e eutireóides privados de água, sódio e alimento por 16 horas.

3.3.8. Avaliação dos níveis de T4 total e TSH em animais tratados com metimazol

Previamente, um experimento piloto utilizando 12 ratos foi realizado a fim de atestar a eficácia da utilização de metimazol 0,05% na água de beber na indução experimental do hipotireoidismo. Ao final de 30 dias de indução, amostras de sangue foram colhidas da veia cava caudal após anestesia feita com éter etílico para determinação da concentração plasmática de T4 total e TSH.

Para atestar o hipotireoidismo induzido nos animais utilizados no experimento, ao final dos trabalhos, amostras de sangue foram colhidas aleatoriamente destes animais. Os níveis plasmáticos de T4 total e TSH foram determinados no plasma através da técnica de radioimunoensaio através da utilização de *kits* comerciais (Abbot do Brasil, Campinas-SP).

3.4. Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através de ANOVA e posteriormente pelo teste de *t* de Student. Os valores médios de volume de fluidos ingeridos foram comparados entre diferentes tratamentos e condições experimentais, sendo o nível de significância estabelecido em 5%.

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação dos níveis de T4 total e TSH em animais tratados com metimazol

O tratamento com metimazol por um período de indução mínimo de 30 dias determinou níveis plasmáticos de T4 total e TSH compatíveis com os resultados obtidos por Ramalho (1995), utilizando o método clássico de tireoidectomia para induzir hipotireoidismo. O Tabela 1 ilustra os resultados obtidos com a avaliação dos níveis plasmáticos dos hormônios em questão após 30 dias de iniciado o tratamento, comparado aos animais utilizados no grupo controle. Na amostra composta por animais utilizados no experimento, portanto com aproximadamente 60 dias de tratamento, os níveis plasmáticos mantiveram-se estatisticamente iguais aos do dia 30.

Após 30 dias de iniciado o tratamento com metimazol o ganho de peso corporal não ultrapassou 10% no grupo tratado, no entanto os animais do grupo controle apresentaram ganho de peso frequentemente superior a 30%, decorrido o mesmo período.

Tabela 1. Efeito do tratamento com metimazol a 0,05% na água de beber *ad libitum* sobre os níveis séricos de T4 total e TSH de ratos machos, após 30 dias de tratamento.

Grupo experimental	T4 total (µg/dL)	TSH (ng/mL)
Controle (n=12)	>4,0	<1,5
Tratado com metimazol (n=12)	<1,2	>25,0

4.2. Avaliação do apetite por sódio espontâneo em ratos hipotireóides

Os ratos hipotireóides exibiram um apetite por sódio espontâneo durante todo o período de avaliação, significativamente maior que o dos ratos eutireóides, enquanto que a ingestão hídrica foi sempre menor que a dos controles (Fig. 4.) (eutireóides, água, $10,3 \pm 0,5$ mL; NaCl, $0,4 \pm 0,3$ mL *versus* hipotireóides, água, $6,8 \pm 0,8$ mL; NaCl, $2,8 \pm 0,6$ mL, no 37º dia, pós-tratamento com metimazol). A ingestão de NaCl dos ratos tratados com metimazol intensificou-se gradualmente atingindo níveis superiores a $10,0 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g de peso corporal}^{-1}$ a partir do 45º dia de tratamento com metimazol (Fig. 9).

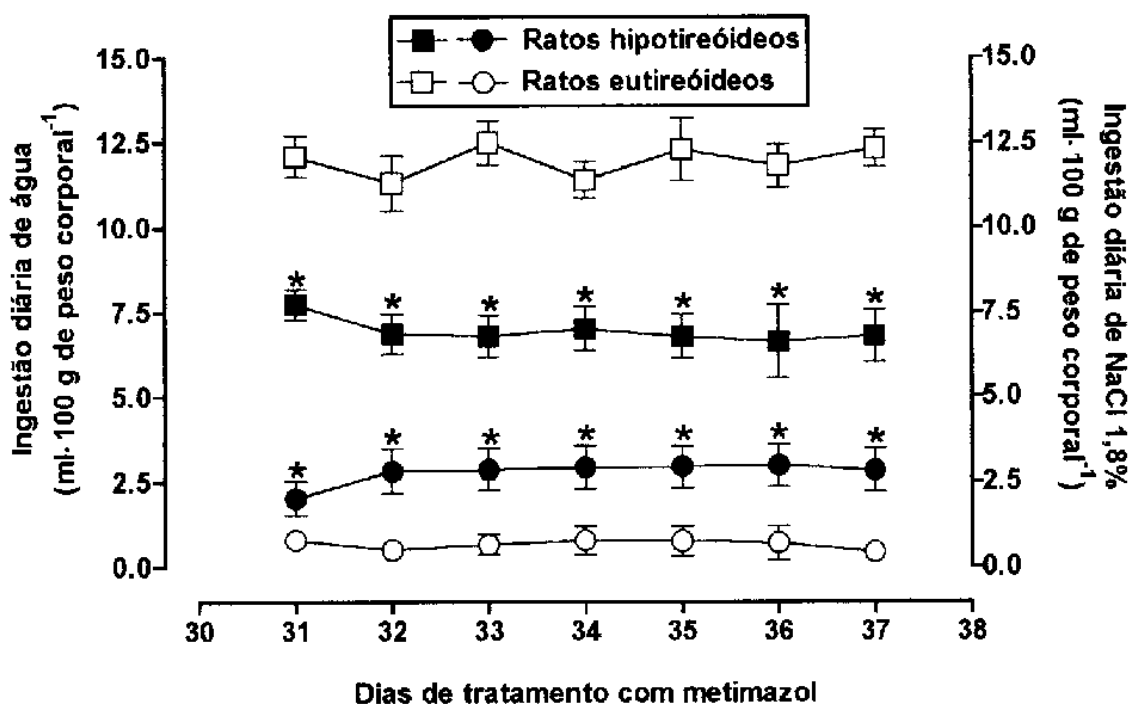


Figura 4. Volume de ingestão espontânea diária de água (quadrados) e sódio (círculos) em ratos eutireóideos e hipotireóideos com 30 dias de tratamento com metimazol 0,05% na água de beber. * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóideos.

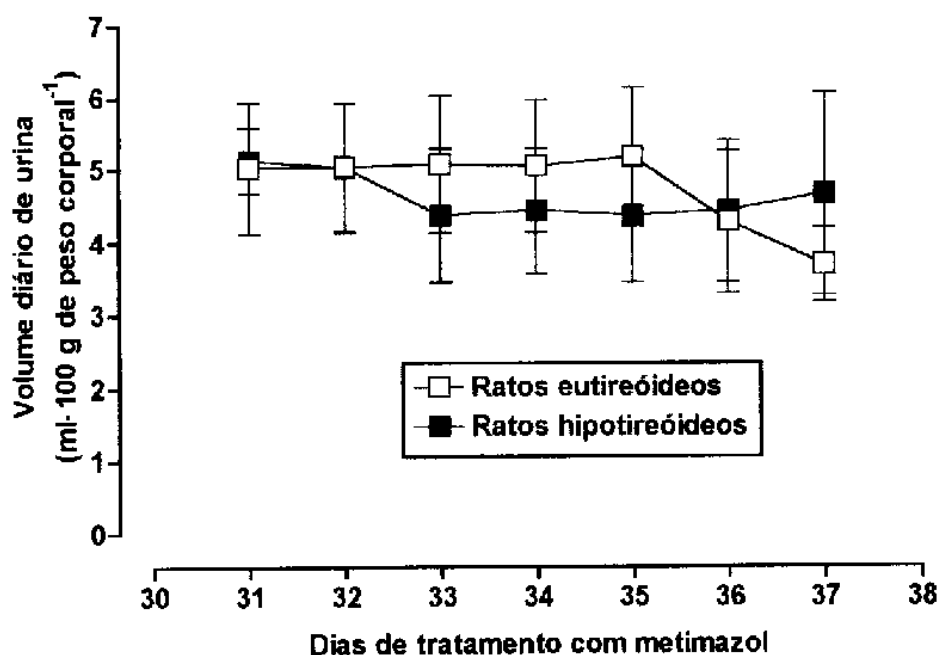


Figura 5. Produção espontânea diária de urina em ratos eutireóideos e hipotireóideos com 30 dias de tratamento com metimazol 0,05% na água de beber.

No mesmo período, o volume de urina produzido diariamente não diferiu significativamente entre os grupos (Fig. 5). Com o decorrer do experimento, por volta de 45 a 50 dias do início do tratamento com metimazol o volume diário de urina produzido pelos animais hipotireóides acompanhou as variações decorrentes do aumento da ingestão de sódio.

4.3. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides submetidos a baixas doses de captopril

Ratos eutireóides tratados com captopril em baixas doses apresentaram um aumento da ingestão de NaCl 1,8% (Fig. 6) que alcançou pico de $11,9 \pm 1,1$ mL no quarto dia de tratamento com captopril (dia 30, $0,5 \pm 0,2$ mL).

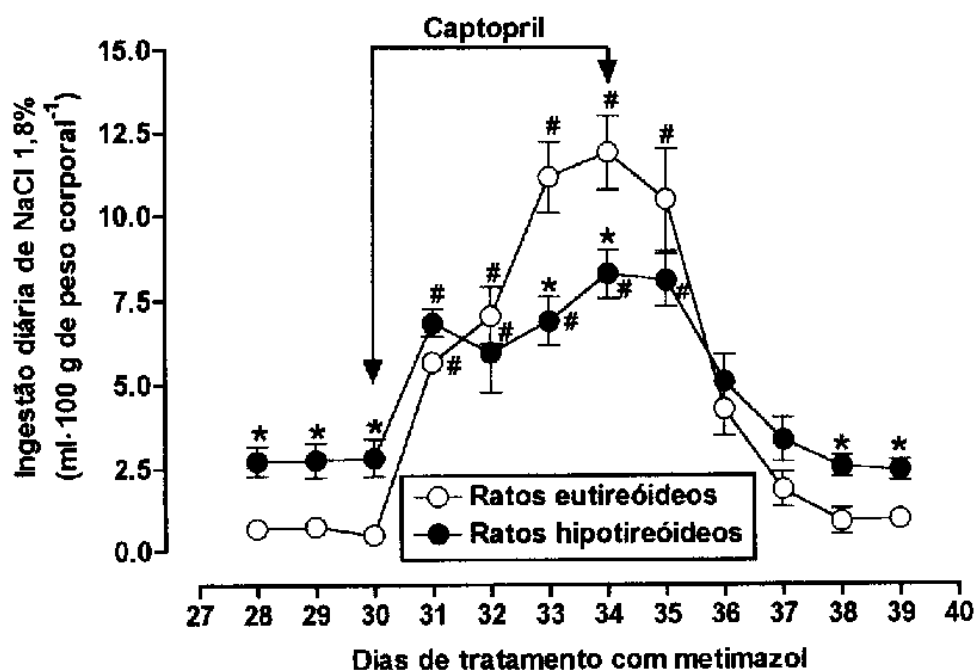


Figura 6. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril ($1\text{mg}\cdot\text{g}$ de ração⁻¹ do dia 30 ao dia 34). * $P < 0,05$ comparado com ratos eutireóides. # $P < 0,05$ comparado ao dia 30.

A Figura 6 mostra que ratos hipotireóides submetidos ao mesmo protocolo apresentaram um significativo aumento na ingestão de NaCl 1,8% no dia seguinte ao início do tratamento com captopril. A ingestão de NaCl 1,8% pelo animais eutireóides ultrapassou os valores referentes aos animais hipotireóides a partir do dia 32 até o término do tratamento, quando os valores retornaram aos níveis basais.

Captopril em baixas doses aproximou os níveis de ingestão de água dos animais hipotireóides aos valores dos eutireóides a partir do dia 31, mantendo esta semelhança estatística por até dois dias após a interrupção da administração de captopril, quando a ingestão de água voltou aos valores anteriores. A ingestão hídrica dos animais eutireóides não foi afetada significativamente (Fig. 7).

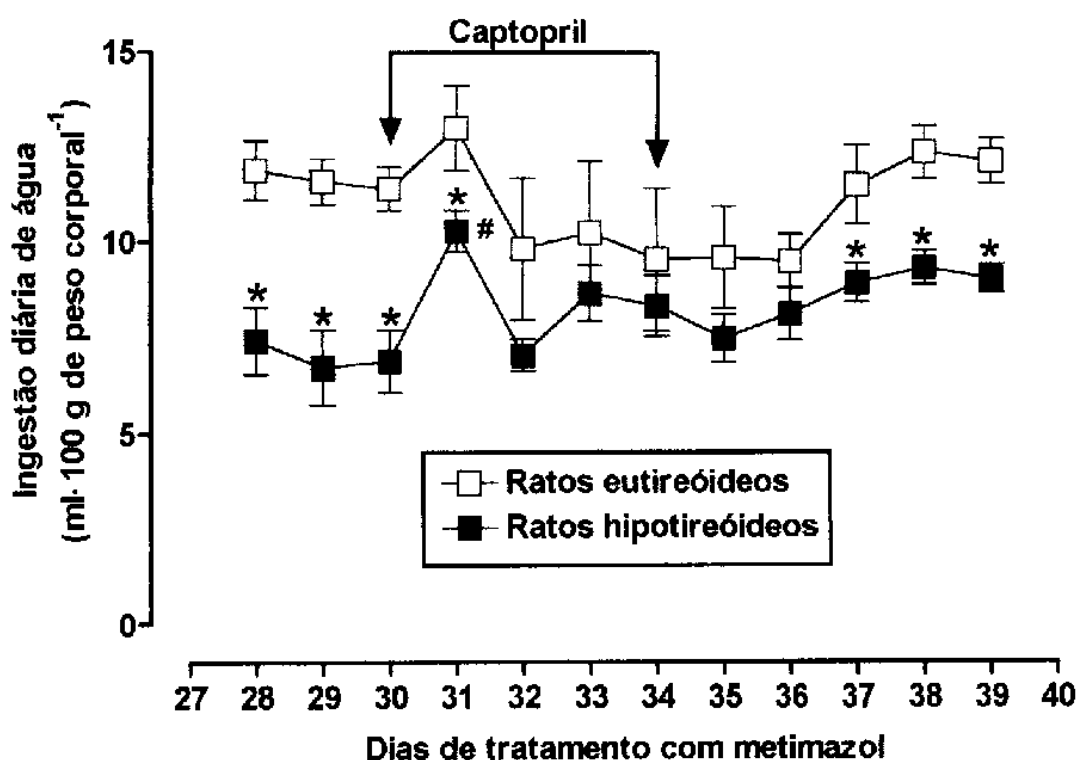


Figura 7. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril ($1\text{mg}\cdot\text{g de ração}^{-1}$ do dia 30 ao dia 34). * $P<0,05$ comparado com ratos eutireóides. # $P<0,05$ comparado ao dia 30.

A produção diária de urina se elevou em ambos os grupos, acompanhando as variações na ingestão de NaCl 1,8% dos grupos correspondentes. Diferenças entre os grupos não foram observadas. Após a interrupção houve retorno aos valores basais (Fig. 8).

Numa avaliação dos efeitos do tratamento com captopril em animais hipotireóides nos dias subsequentes à interrupção do tratamento, comparativamente a animais hipotireóides não tratados, observamos que o tratamento com captopril antecipou significativamente o estabelecimento dos níveis elevados de ingestão diária de NaCl 1,8% (Fig. 9).

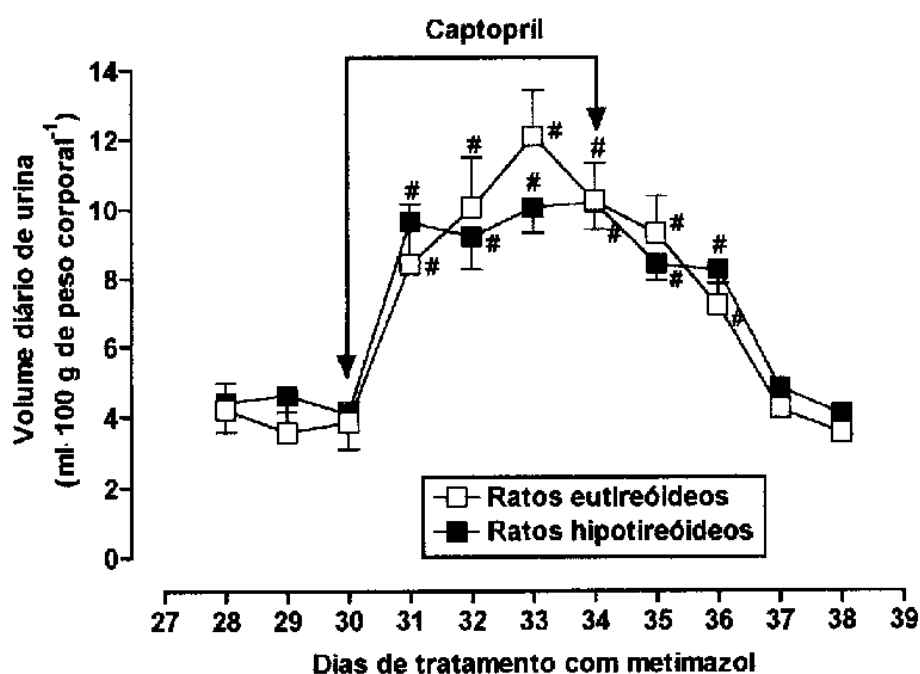


Figura 8. Produção diária de urina em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril (1mg/g de ração⁻¹ do dia 30 ao dia 34). #P<0,05 comparado ao dia 30.

A Figura 9 ilustra ainda que, após a interrupção do tratamento com captopril a ingestão diária de NaCl 1,8% decaiu gradualmente até o dia 42 e a partir daí começou a

aumentar atingindo valores médios de $10,0 \pm 0,9$ a $13,9 \pm 1,0$ mL entre 48 e 60 dias pós-tratamento com metimazol.

O tratamento com captopril elevou de forma mais discreta, porém significativa a ingestão hídrica (dia 36, $9,3 \pm 0,6$ mL vs dia 32, $6,9 \pm 0,6$ mL) (Fig. 9).

Os ratos hipotireóideos não tratados com captopril também alcançaram patamares de ingesta de NaCl 1,8% acima de 10,0 mL mas apenas a partir do dia 56 e numa curva ascendente menos pronunciada que aquela exibida pelos hipotireóideos tratados com captopril. A aferição diária do apetite por sódio em ambos os grupos foi feita até o dia 60 pós-tratamento com metimazol (Fig. 9).

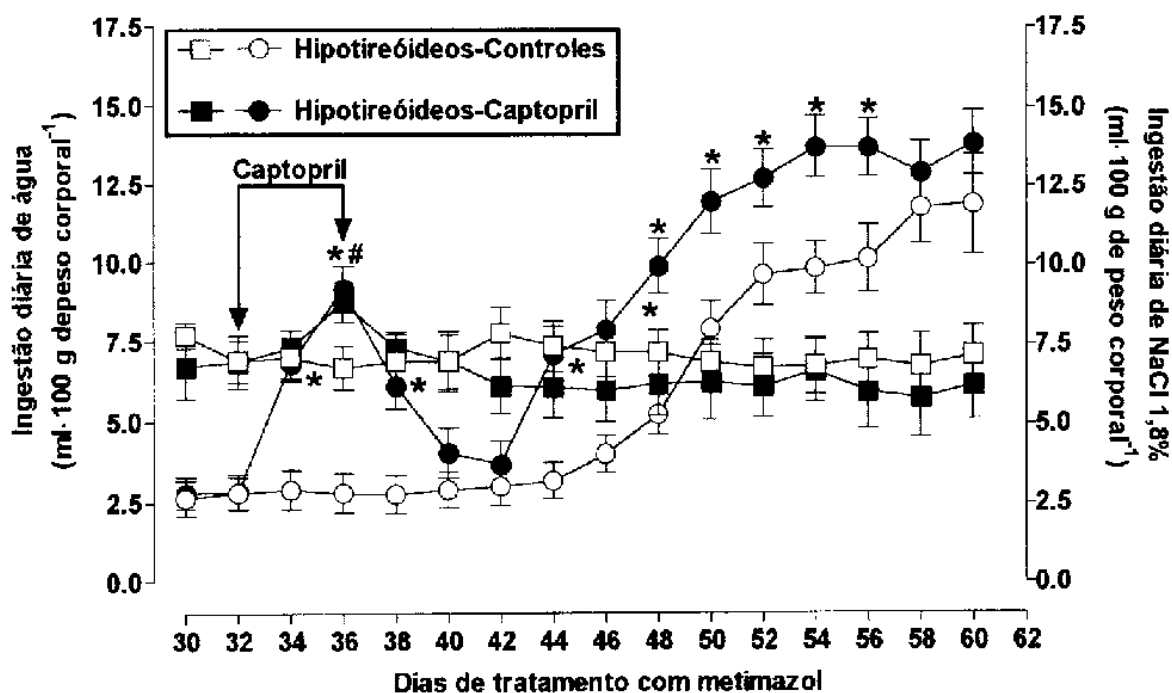


Figura 9. Ingestão diária de água (quadrados) e sódio (círculos) em ratos hipotireóideos tratados com captopril ($1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de ração⁻¹ do dia 32 ao dia 36). * $P < 0,05$ comparado aos controles. # $P < 0,05$ comparado ao dia 34.

4.4. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com aldosterona antes e durante tratamento com captopril

A figura 10 mostra que nos animais hipotireóides a administração de aldosterona reduziu drasticamente a ingestão de NaCl 1,8%, (dia 61, $7,3 \pm 1,6$ mL vs dia 60, $14,4 \pm 1,3$ mL) e atenuou a resposta natriorexigênica induzida pela administração concomitante de baixa dose de captopril. A interrupção do tratamento com aldosterona provocou uma elevação da ingestão de sal, que atingiu valores de $20,2 \pm 1,9$ mL, 5 dias após e retornou gradualmente aos níveis anteriores após a remoção do captopril. A administração de aldosterona a ratos eutireóides não afetou a expressão dos baixos índices de ingestão de sal, mas atenuou a resposta natriorexigênica ao captopril. Por outro lado, a interrupção da administração de aldosterona induziu uma resposta ingestiva de sal que alcançou pico de $10,7 \pm 0,95$ mL, 4 dias após, enquanto que nas mesmas condições os ratos hipotireóides atingiram $18,7 \pm 1,8$ mL.

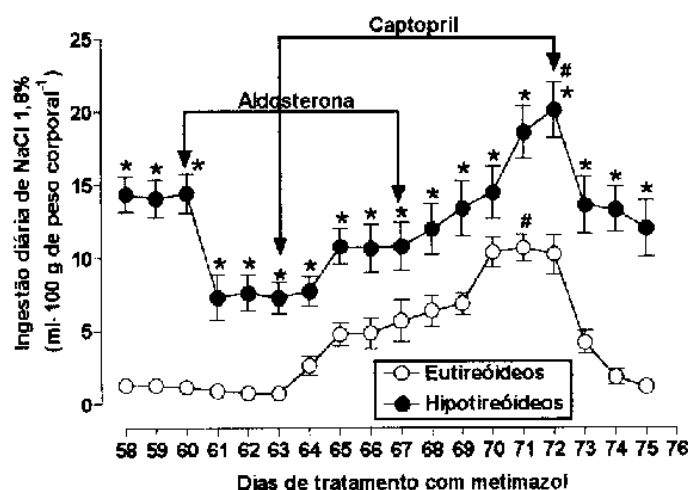


Figura 10. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com aldosterona ($100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, sc, do dia 60 ao dia 67) combinado posteriormente à administração de captopril ($1 \text{ mg}\cdot\text{g}$ de ração $^{-1}$ do dia 63 ao dia 72). * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides. # $P < 0,05$ comparado ao dia 60.

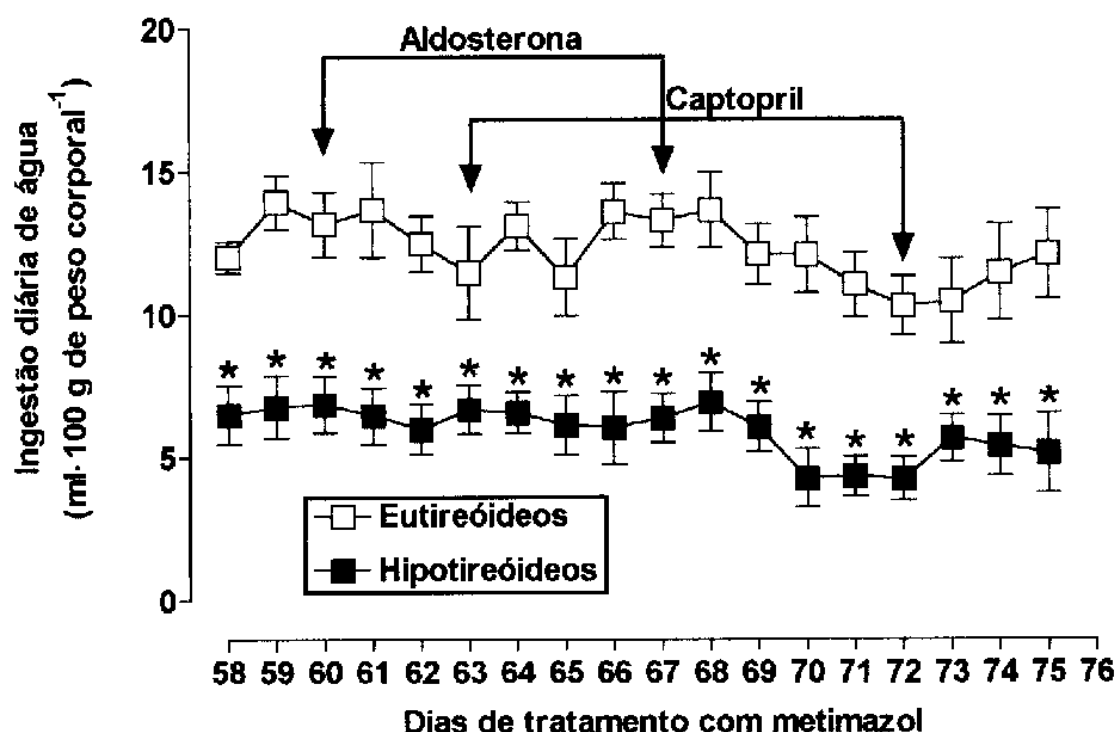


Figura 11. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com aldosterona ($100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, sc, do dia 60 ao dia 67) combinada posteriormente à administração de captopril ($1 \text{ mg}\cdot\text{g}$ de ração⁻¹ do dia 63 ao dia 72). * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides.

A ingestão de água não foi alterada, mantendo-se estatisticamente semelhante durante todo o protocolo, preservando apenas as diferenças entre os grupos (Fig. 11).

4.5. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com losartan seguido da administração de captopril

A adição de losartan à ração na dose de $1,0 \text{ mg}\cdot\text{g}$ de ração⁻¹ reduziu a ingestão de NaCl 1,8% em ratos hipotireóides, com 60 dias de tratamento com metimazol (dia 60, $11,9 \pm 1,9 \text{ mL}$ vs $6,1 \pm 1,1 \text{ mL}$, 3 dias após adição de losartan, $P < 0,02$). Mesmo após

aumentos da dose de losartan para 2,0 e 4,0 mg·g de ração⁻¹ não se verificou redução da ingestão de salina hipertônica, ao contrário, a intensidade do apetite por sódio foi retornando gradualmente aos níveis anteriores. A administração simultânea de captopril e losartan elevou a ingestão de sódio, e após a remoção do captopril a ingestão de sódio reduziu para valores estatisticamente não diferentes das médias pré-tratamento (Fig. 12).

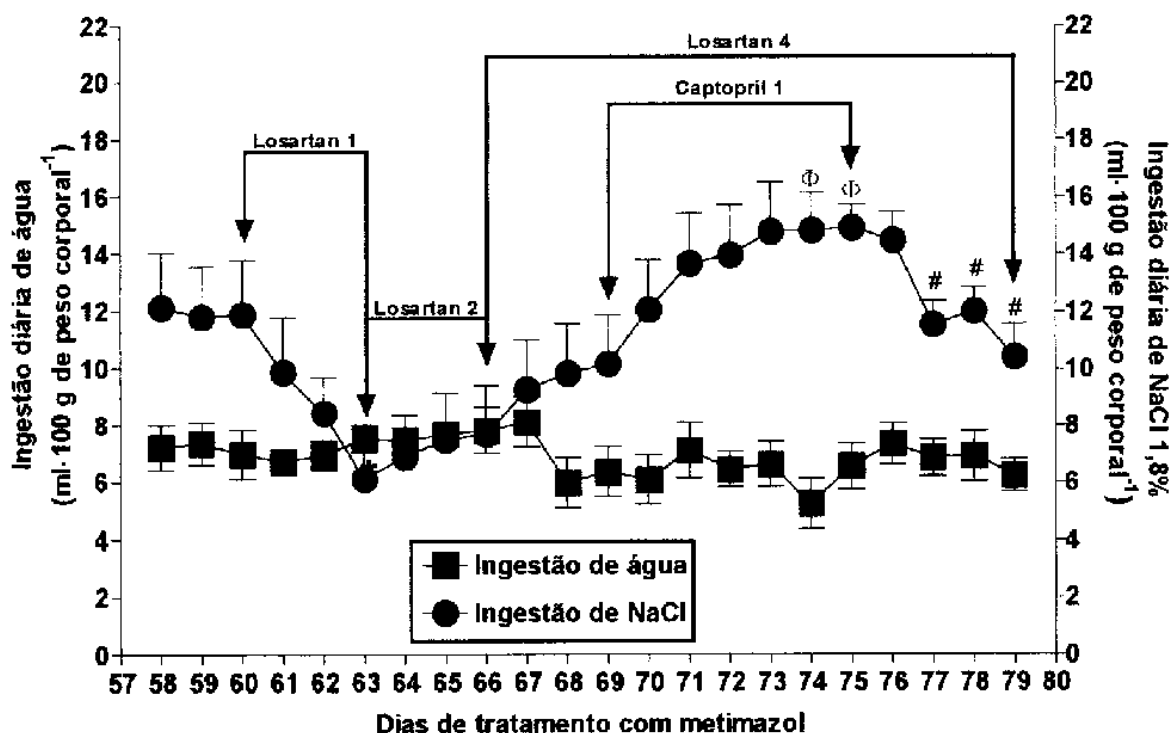


Figura 12. Ingestão diária de água (quadrados) e sódio (círculos) em ratos hipotireóides tratados com losartan (1, 2 e 4 mg·g de ração⁻¹ dos dias 60-63, 63-66 e 66-79, respectivamente) e captopril (1 mg·g de ração⁻¹ do dia 69 ao dia 75). *P<0,05 comparado ao dia 60. #P<0,05 comparado ao dia 75. ΦP<0,05 comparado ao dia 69.

4.6. Avaliação do apetite por sódio em ratos hipotireóides tratados com captopril seguido da administração de losartan

A figura 13 mostra que ratos eutireóides e hipotireóides com 30 dias de tratamento com metimazol receberam captopril ($1,0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de ração⁻¹) e apresentaram significativa resposta natriorexigênica, alcançando o pico aos 4 dias de iniciado o tratamento. Neste momento os animais receberam losartan adicionado à ração ($1,0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de ração⁻¹). Em ambos os grupos, losartan, ainda que associado a captopril, bloqueou o efeito deste, fazendo os valores de ingestão de NaCl 1,8% retornarem aos níveis anteriores ao início do tratamento (dia 30).

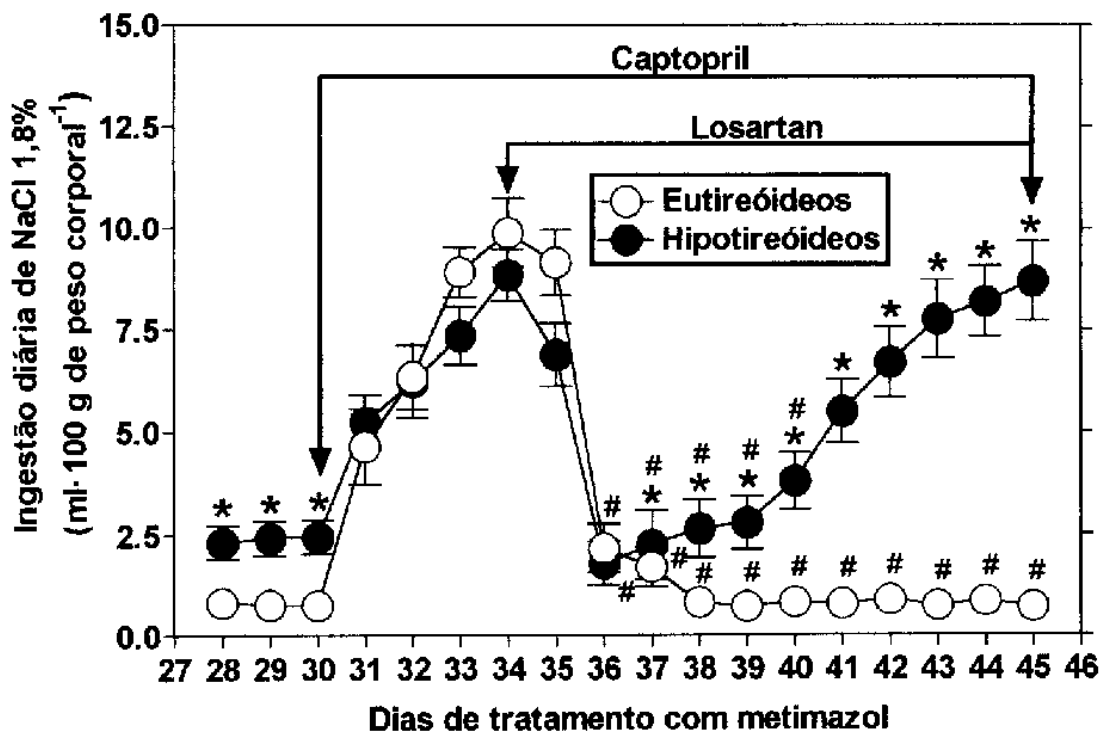


Figura 13. Ingestão diária de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril ($1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de ração⁻¹ do dia 30 ao dia 45) associado à administração de losartan ($1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ de ração⁻¹ do dia 34 ao dia 45). * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides. # $P < 0,05$ comparado ao dia 34.

Observamos ainda nesta figura que a partir do dia 39 os animais hipotireóides intensificaram sua resposta natriorexigênica, com estes valores aproximando-se dos patamares alcançados por ratos hipotireóides aos 45 a 50 dias de tratamento com metimazol, conforme observado na Figura 9.

No dia imediatamente após o início do tratamento com captopril, a ingestão hídrica se elevou suavemente, mas de forma estatisticamente significativa. A adição de losartan à ração não interferiu na ingestão de água, apenas intensificou as diferenças entre os grupos (Fig. 14).

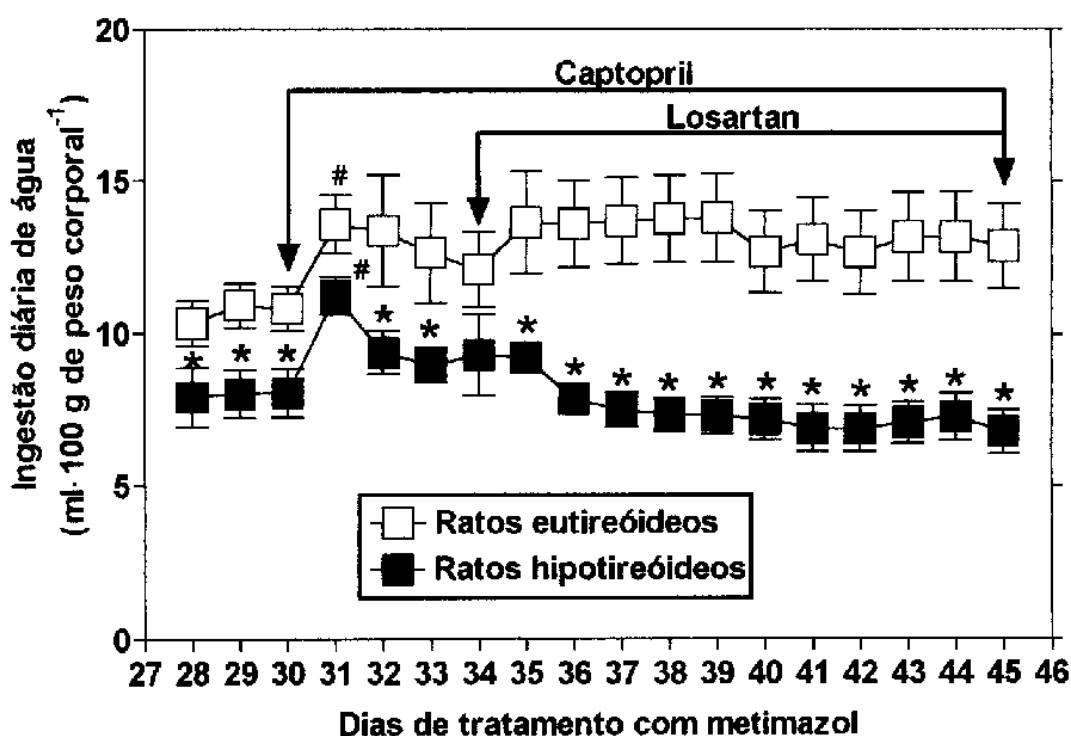


Figura 14. Ingestão diária de água em ratos eutireóides e hipotireóides tratados com captopril (1 mg·g de ração⁻¹ do dia 30 ao dia 45) associado à administração de losartan (1 mg·g de ração⁻¹ do dia 34 ao dia 45). *P<0,05 comparado aos ratos eutireóides. #P<0,05 comparado ao dia 30.

A produção diária de urina também se elevou com o tratamento com captopril e reduziu após o início do tratamento com losartan, acompanhando não estreitamente os volumes de ingestão da NaCl 1,8% (Fig. 15).

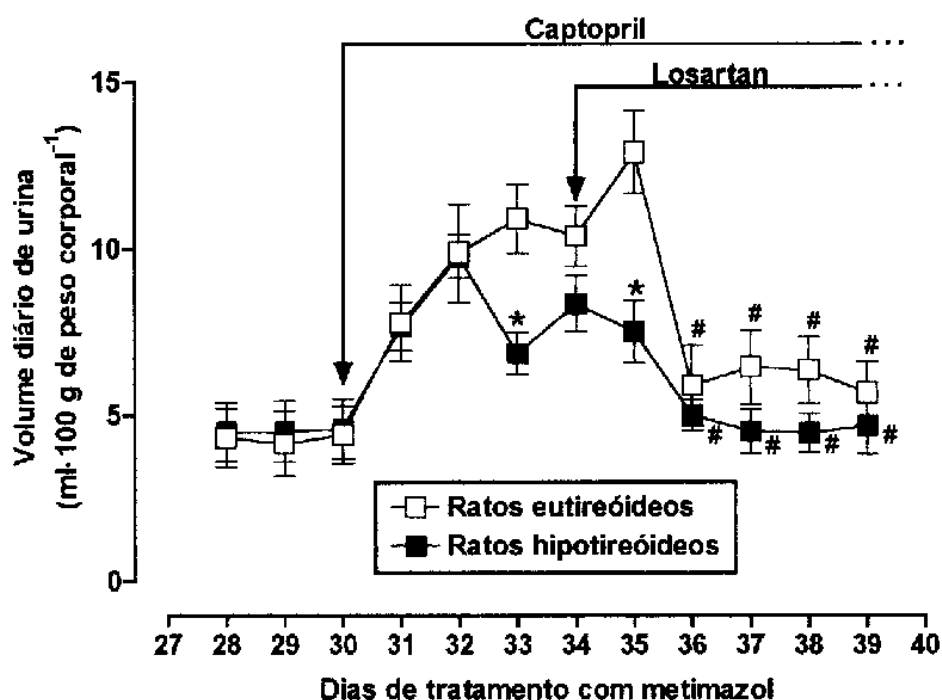


Figura 15. Produção diária de urina em ratos eutireóideos e hipotireóideos tratados com captopril ($1\text{ mg}\cdot\text{g de ração}^{-1}$ do dia 30 ao dia 45) associado a administração de losartan ($1\text{ mg}\cdot\text{g de ração}^{-1}$ do dia 34 ao dia 45). * $P<0,05$ comparado com ratos eutireóideos. # $P<0,05$ comparado ao dia 30.

4.7. Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóideos previamente depletados de água e sódio pelo tratamento com furosemida associada a captopril

Agudamente, a ingestão de água induzida pela depleção hidrossalina foi significativamente maior entre os ratos eutireóideos durante todo o tempo,

comparativamente aos hipotireóides (eutireóides, $2,8 \pm 0,2$ mL *versus* hipotireóides, $2,0 \pm 0,1$ mL, $P < 0,01$, aos 120 minutos). Ao contrário, a ingestão de NaCl foi significativamente maior, durante todo o tempo entre os ratos hipotireóides (eutireóides, $1,7 \pm 0,2$ mL *versus* hipotireóides, $3,3 \pm 0,2$ mL, $P < 0,001$, aos 120 minutos) (Fig. 16). Os ratos hipotireóides manifestaram preferência inicial por salina hipertônica e durante todo o tempo exibiram maior ingesta de sal comparativamente ao volume de ingesta hídrica.

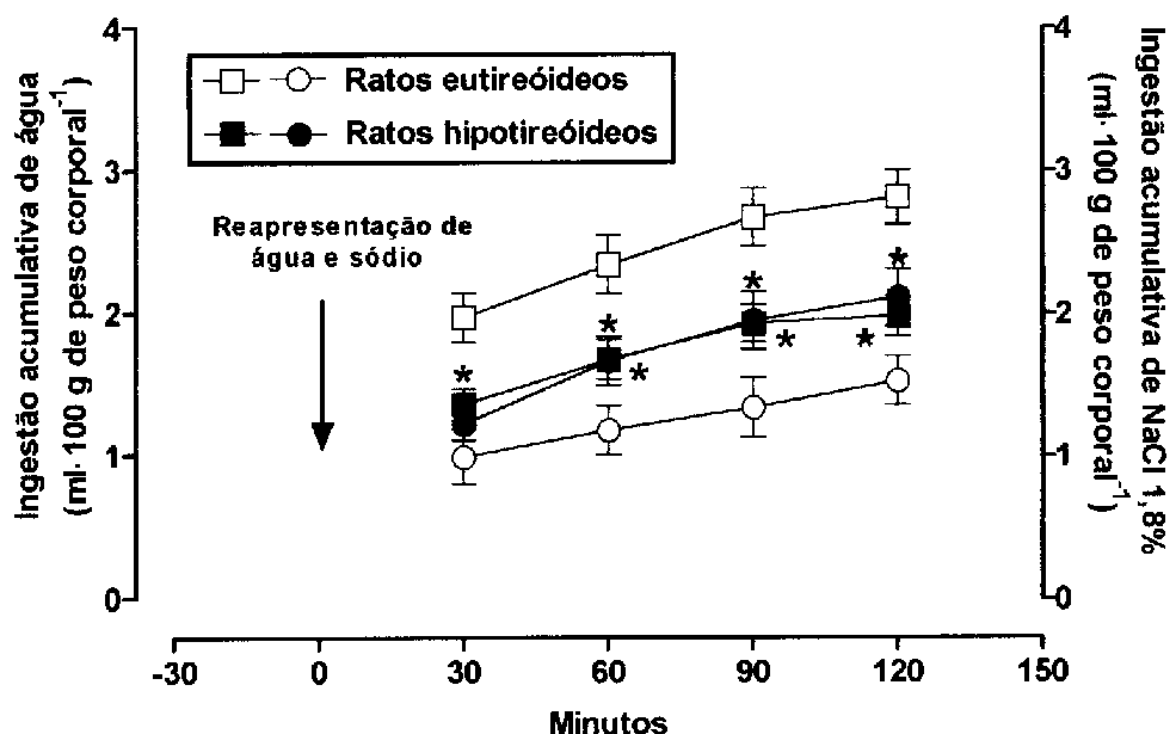


Figura 16. Ingestão acumulativa de água (quadrados) e sódio (círculos), em ratos eutireóides e hipotireóides depletados de água e sódio através da administração de captopril ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) e furosemida ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) 60 minutos antes da rerepresentação de água e salina 1,8%. * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides.

A administração de losartan em ratos eutireóides, como esperado, reduziu significativamente a ingestão de água (Fig. 17) (eutireóides depletados controles, $2,8 \pm 0,2$

mL, *versus* eutireóideos depletados tratados, $0,6 \pm 0,06$ mL, $P < 0,0001$) e NaCl (Fig. 16) (eutireóideos depletados controles, $1,7 \pm 0,2$ mL, *versus* eutireóideos depletados tratados, $0,4 \pm 0,07$ mL, $P < 0,0001$) aos 120 minutos. Da mesma forma, a administração de losartan reduziu drasticamente (níveis de significância variaram de $P < 0,01$ a $P < 0,001$) a ingestão de água (Fig. 17) e NaCl (Fig. 18) em ratos hipotireóideos durante os 120 minutos de observação.

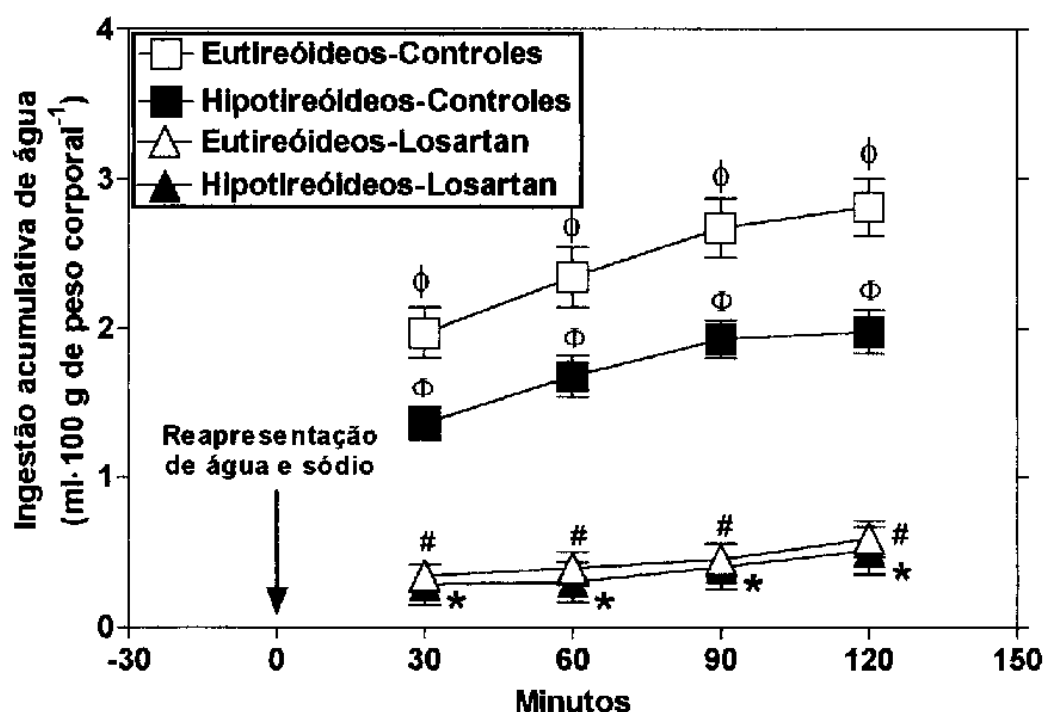


Figura 17. Efeito do tratamento com losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc, 30 minutos antes da reapresentação de água e salina 1,8%) sobre a ingestão acumulativa de água em ratos eutireóideos e hipotireóideos depletados de água e sódio pela administração de captopril ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) + furosemida ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) 60 minutos antes da reapresentação de líquidos. *# $P < 0,05$ comparado aos grupos controles correspondentes, eutireóideos e hipotireóideos. Φ $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóideos controles. φ $P < 0,05$ comparado aos demais grupos.

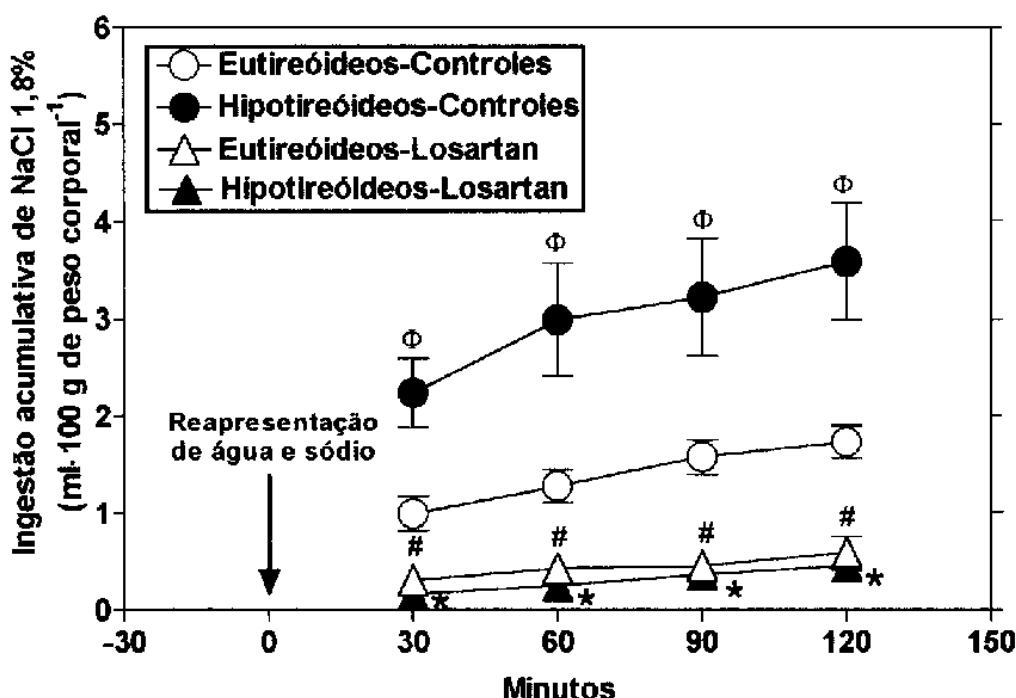


Figura 18. Efeito do tratamento com losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc, 30 minutos antes da reapresentação de água e salina 1,8%) sobre a ingestão acumulativa de sódio em ratos eutireóides e hipotireóides depletados de água e sódio pela administração de captopril ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) + furosemida ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) 60 minutos antes da reapresentação de líquidos. *# $P < 0,05$ comparado aos grupos controles correspondentes, eutireóides e hipotireóides. $\Phi P < 0,05$ comparado aos demais grupos.

Cronicamente, a depleção hidrossalina provocou uma ingestão cumulativa de NaCl superior em ambos os grupos ao final de 24 h (eutireóides 24 h antes da depleção, $1,9 \pm 0,4 \text{ mL}$ versus eutireóides 24 h após, $9,0 \pm 0,9 \text{ mL}$, $P < 0,0001$; hipotireóides 24 h antes, $14,2 \pm 1,2 \text{ mL}$ versus hipotireóides 24 h após, $21,2 \pm 1,9 \text{ mL}$, $P < 0,01$) e ingestão de água significativamente maior entre os eutireóides (eutireóides 24 h antes da depleção, $12,3 \pm 1,2 \text{ mL}$ versus eutireóides 24 h após, $16,6 \pm 1,6 \text{ mL}$, $P < 0,05$). Por outro lado, 24 h após a administração de losartan a ingestão de NaCl não diferiu, tanto entre os eutireóides quanto entre os hipotireóides comparativamente aos ratos depletados não tratados com o

antagonista AT1 (Fig. 19; Tabela 2). Nesta mesma condição, os ratos tratados com losartan, em ambos os grupos, exibiram uma significativa redução da ingestão de água.

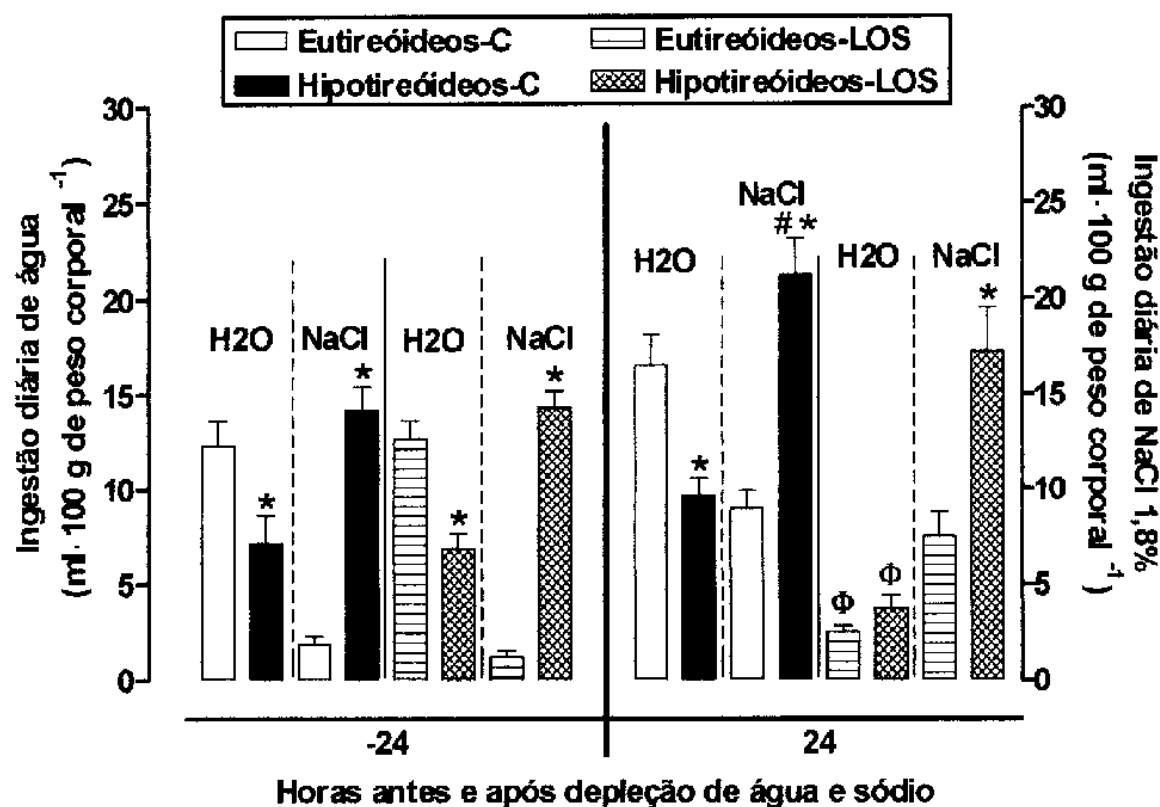


Figura 19. Influência do losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de peso corporal⁻¹, sc) sobre a ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóideos e eutireóideos previamente tratados com captopril ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc) e furosemida ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc). * $P < 0,001$ comparado com ratos eutireóideos. # $P < 0,05$ comparado as primeiras 24 horas. Φ $P < 0,05$ comparado a eutireóideos e hipotireóideos não tratados com losartan após a depleção.

Tabela 2. Ingestão de água e NaCl (mL/100 g de peso corporal⁻¹) em ratos eutireóides e hipotireóides, depletados de água e sódio, 24 horas após tratamento com losartan (20,0 mg·kg⁻¹, sc).

Grupo experimental	Tempo do tratamento			
	24 horas antes		24 horas depois	
	Ingestão (mL/100 g)		Ingestão (mL/100 g)	
	Água	NaCl	água	NaCl
Eutireóides - controles	12.3 ± 1.2	1.9 ± 0.4	16.6 ± 1.6	9.0 ± 0.9
Hipotireóides - controles	7.2 ± 1.4	14.2 ± 1.2	9.7 ± 0.9	21.2 ± 1.9
Eutireóides - LOS	12.7 ± 1.0	1.2 ± 0.3	2.5 ± 0.3 ^{#Ψ}	7.5 ± 1.3
Hipotireóides - LOS	6.7 ± 0.8	14.3 ± 0.9	3.7 ± 0.7 ^{*†}	17.2 ± 2.3

* $P < 0.001$ comparado a hipotireóides-controles 24 h após depleção. [†] $P < 0.02$ comparado a hipotireóides-LOS 24 h antes da depleção. [#] $P < 0.0001$ comparado a eutireóides-controles 24 h após depleção. ^Ψ $P < 0.0001$ comparado a eutireóides-LOS 24 h antes da depleção.

4.8. Avaliação aguda e crônica do efeito do losartan sobre o apetite por sódio em ratos hipotireóides previamente depletados de água e sódio pela privação hidrossalina e alimentar prolongada

A privação de água, NaCl e alimento em ratos hipotireóides foi uma paradigma experimental que induziu uma intensa resposta natriorexigênica. A figura 19 mostra a nítida aguda preferência por NaCl exibida pelos ratos hipotireóides comparativamente aos eutireóides. A ingestão de NaCl em ratos hipotireóides foi significativamente maior ($P < 0.0001$) que nos eutireóides (eutireóides, $1,6 \pm 0,3$ mL; hipotireóides, $5,4 \pm 0,5$ mL, aos 120 minutos).

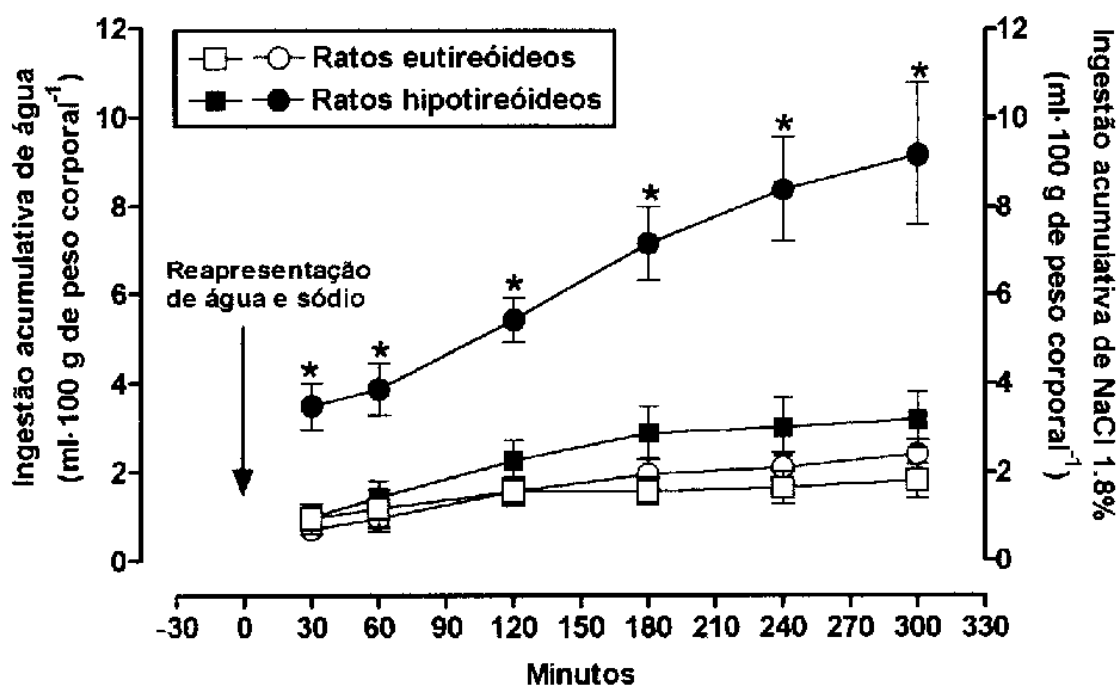


Figura 20. Ingestão acumulativa de água (quadrados) e sódio (círculos) em ratos eutireóides e hipotireóides privados de água, sódio e alimento. * $P < 0,001$ comparado aos ratos eutireóides.

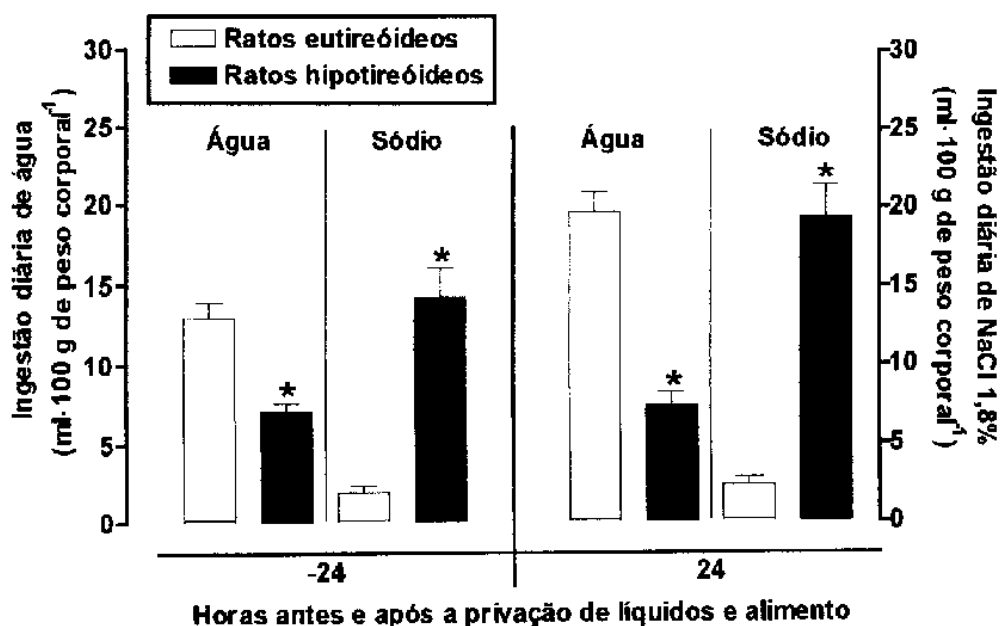


Figura 21. Ingestão diária de água e sódio em ratos eutireóides e hipotireóides previamente depletados de água e sódio através da privação de água, sódio e alimento por 16 horas. * $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides.

Neste comportamento motivado, ao final de 24 horas da reapresentação de água e NaCl 1,8%, os ratos eutireóides preferencialmente repuseram volume hídrico e mais tarde a concentração de sódio nos líquidos corporais. Contrariamente, ratos hipotireóides expressaram maior ingesta de NaCl que de água durante todo o período de observação (Fig. 21).

Agudamente, a administração de losartan reduziu significativamente ($P < 0,05$) a ingestão hídrica (Fig. 22), igualmente, em ratos eutireóides e hipotireóides (eutireóides, $1,7 \pm 0,3$ mL vs $0,8 \pm 0,3$ mL; hipotireóides, $2,2 \pm 0,5$ mL vs $0,1 \pm 0,09$ mL, aos 120 minutos).

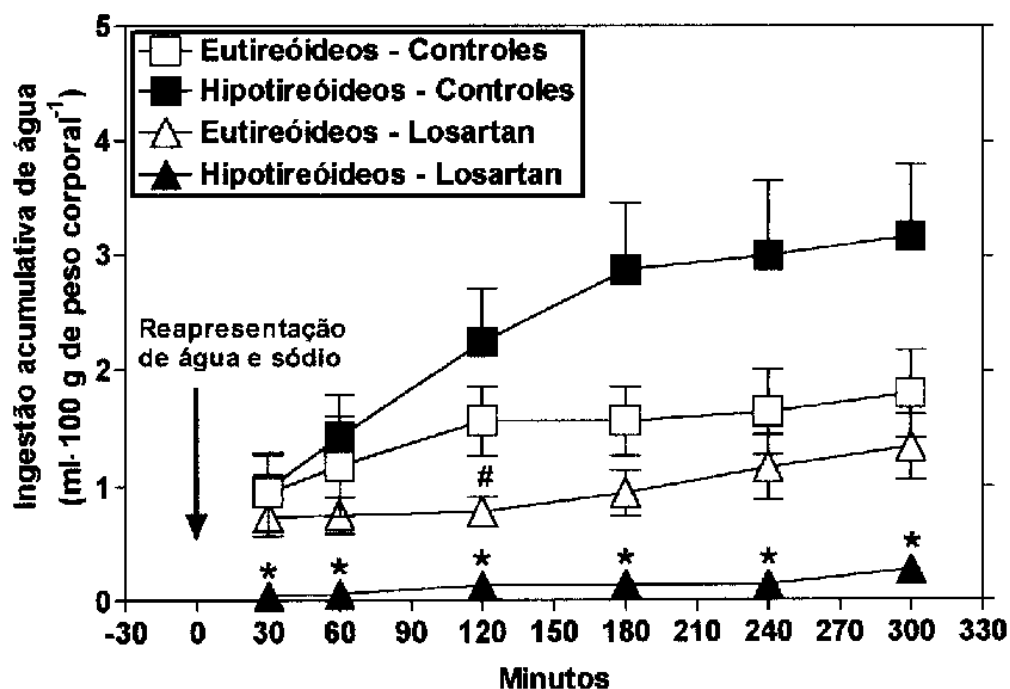


Figura 22. Influência do tratamento com losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc, 30 minutos antes da reapresentação de água e salina 1,8%) sobre a ingestão de água em ratos eutireóides e hipotireóides previamente privados de água, sódio e alimento por 16 horas. * $P < 0,05$ comparado aos demais grupos. # $P < 0,05$ comparado aos ratos eutireóides controles.

Os ratos hipotireóideos foram particularmente muito sensíveis ao antagonista AT1 (eutireóideos, $2,5 \pm 0,3$ mL vs $1,3 \pm 0,5$ mL, $P < 0,05$; hipotireóideos, $9,2 \pm 1,6$ mL vs $1,6 \pm 0,4$ mL, $P < 0,001$, aos 300 minutos) (Fig. 23).

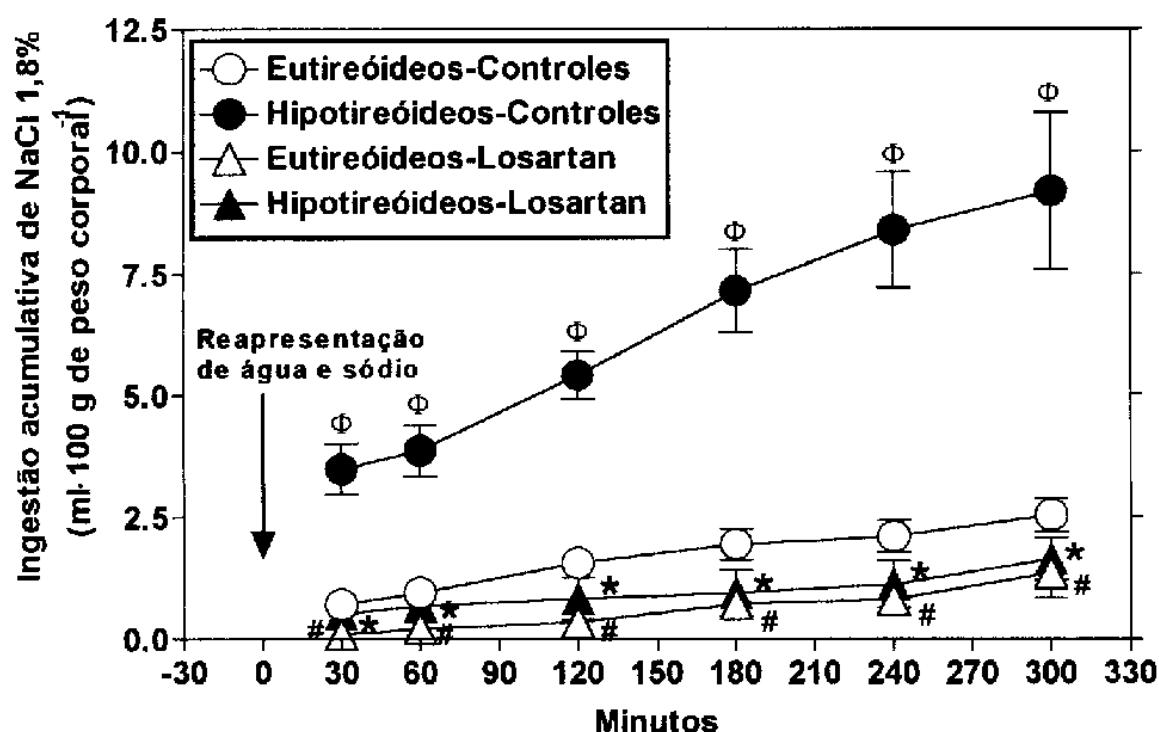


Figura 23. Influência do tratamento com losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, sc, 30 minutos antes da reapresentação água e salina 1,8%) sobre a ingestão de sódio em ratos eutireóideos e hipotireóideos previamente privados de água, sódio e alimento por 16 horas. * $P < 0,05$ comparado aos hipotireóideos controles. # $P < 0,05$ comparado aos eutireóideos controles. $\Phi P < 0,05$ comparado aos demais grupos.

A administração de losartan reduziu drasticamente a ingestão de NaCl aguda (ao final de 300 minutos) e cronicamente (ao final de 24 horas).

Ao final de 24 horas, os ratos eutireóideos tratados com losartan ainda apresentavam redução significativa da ingestão hídrica comparativamente aos ratos privados não tratados (eutireóideos não tratados, $19,6 \pm 1,2$ mL vs eutireóideos tratados com losartan, $13,9 \pm 0,9$ mL, $P < 0,001$), mas inalterada ingestão de NaCl. Por sua vez, os ratos hipotireóideos

tratados com losartan não alteraram a ingestão de água, mas exibiam ainda reduzida ingestão de NaCl (hipotireóides não tratados, $19,3 \pm 1,6$ mL vs hipotireóides tratados com losartan, $12,9 \pm 1,0$ mL, $P < 0,01$). Percebe-se que neste período, a ingestão de sal dos ratos hipotireóides tratados com losartan encontrava-se ainda, em valores muito superiores aos dos eutireóides (Fig. 24; Tabela 3).

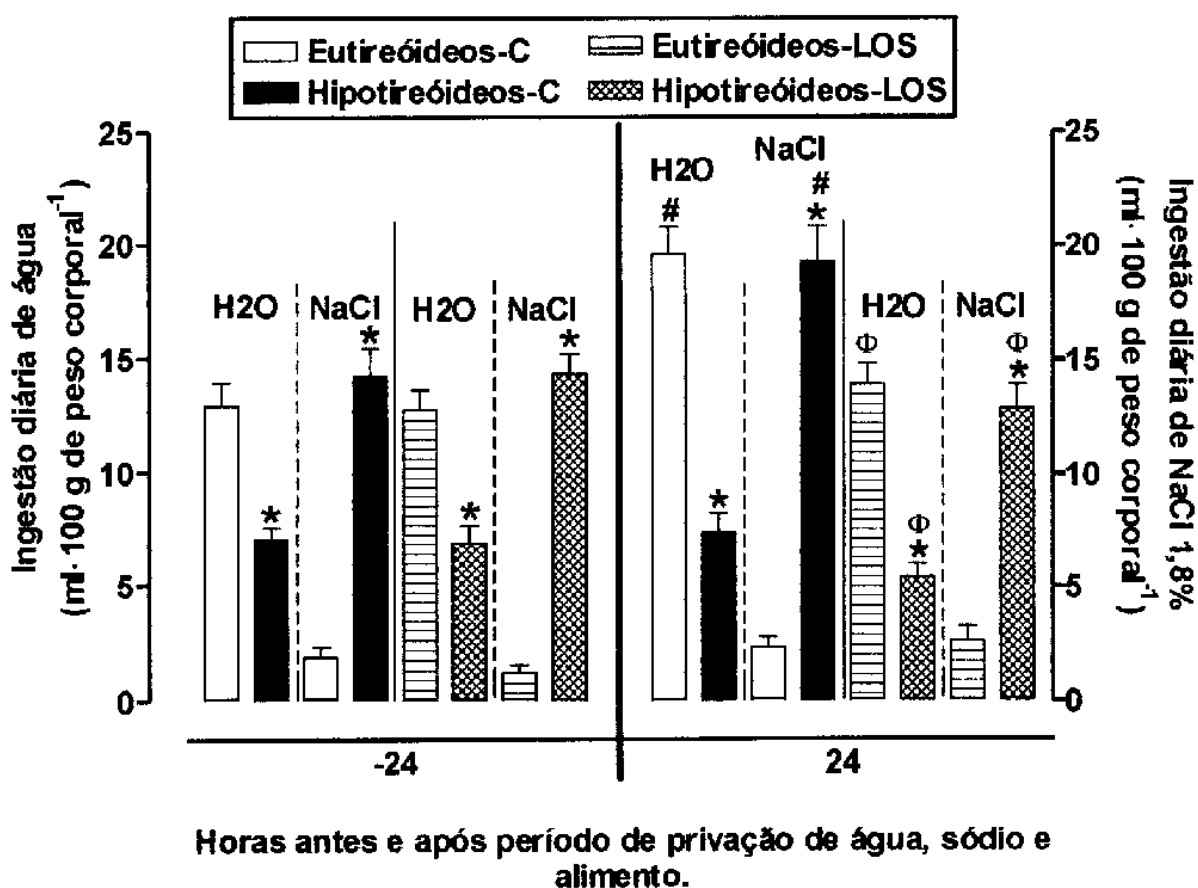


Figura 24. Influência do losartan ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg de peso corporal}^{-1}$, sc) sobre a ingestão diária de água e sódio em ratos hipotireóides e eutireóides previamente depletados de água e sódio por privação hidroeletrólítica e alimentar de 16 horas. * $P < 0,001$ comparado com ratos eutireóides. # $P < 0,05$ comparado as primeiras 24 horas. Φ $P < 0,05$ comparado ao grupo correspondente não tratados com losartan após a depleção.

Tabela 3. Ingestão de água e NaCl em ratos eutireóides e hipotireóides (mL·100 g de peso corporal⁻¹) privados de água, NaCl e alimento, 24 horas após tratamento com losartan (20,0 mg/kg, sc).

Grupos	Tempo do tratamento			
	24 horas antes		24 horas depois	
	Ingestão (mL/100 g)		Ingestão (mL/100 g)	
	água	NaCl	água	NaCl
Eutireóides - controles	13.3 ± 1.0	1.9 ± 0.3	19.6 ± 1.2*	2.3 ± 0.4
Hipotireóides - controles	7.0 ± 0.6	14.3 ± 1.2	7.4 ± 0.9	19.3 ± 1.6*
Eutireóides - LOS	12.8 ± 0.9	1.2 ± 0.3	13.9 ± 0.9 [#]	2.6 ± 0.6
Hipotireóides - LOS	6.9 ± 0.8	14.4 ± 0.9	5.4 ± 0.6	12.9 ± 1.0 [#]

* $P < 0.05$ comparado às 24 h anteriores à depleção. [#] $P < 0.01$ comparado aos respectivos controles, 24 h após depleção.

5. DISCUSSÃO

O tratamento com metimazol fornecido *ad libitum* na água de beber, na concentração de 0,05% por um período mínimo de 30 dias, se mostrou eficaz na indução experimental ao hipotireoidismo.

Os resultados do presente trabalho atestam o modelo experimental de adição de baixa dose de captopril à ração em ratos eutireóides como paradigma de indução do comportamento natriorexigênico (Elfont *et al*, 1984; Fitzsimons, 1986; 1998). Por outro lado, nossos dados concordam com observações feitas por outros autores (Fregly *et al*, 1961; Fregly, 1962; Fregly & Taylor, 1964; Taylor & Fregly, 1964; Fregly & Rowland, 1985; Belló & Covian, 1988; 1991), utilizando diferentes paradigmas experimentais, de que o hipotireoidismo em ratos provoca um exagerado apetite por sódio. Todavia, controvérsias poderiam ser levantadas, uma vez que alguns destes autores utilizaram salina isotônica em seus experimentos, o que poderia induzir a interpretação de que o componente palatabilidade, constitua um fator mais preponderante na ingesta por sal entre os ratos hipotireóides.

Nossos resultados demonstram que ratos hipotireóideos respondem ao estímulo natriorexigênico de baixa dose de captopril suplementado à ração. Considerando que no hipotireoidismo a síntese dos componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona está deprimida é de se especular que os níveis plasmáticos de angiotensina I produzidos em nosso modelo experimental, ainda que baixos, tenham representado um estímulo suficientemente potente para indução da resposta natriorexigênica e mais discretamente um aumento da ingestão hídrica. Estas observações compelem-nos à admissão da hipótese de que no modelo de hipotireoidismo utilizado aqui o sistema angiotensinérgico cerebral envolvido na mediação do apetite por sódio possui um componente altamente sensível aos baixos níveis circulantes de angiotensina I.

A capacidade de conversão da angiotensina I em angiotensina II para a expressão do apetite por sódio após tratamento com baixas doses de captopril é possivelmente expressa no órgão subfornicial (SFO) e no *organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT), locais onde se identificou a presença da enzima conversora de angiotensina (van Houten *et al*, 1984; Mendelsohn *et al*, 1984; Rauch & Schmid, 1999). Em nosso estudo assumimos a hipótese, adicionalmente, de que ratos hipotireóideos preservam esta propriedade em elevada sensibilidade central, considerando que o aporte de angiotensina I circulante nesta condição experimental é inferior ao dos animais eutireóideos.

A acentuação do apetite por sódio em animais hipotireóideos para valores superiores a $10,0 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}$ de peso corporal⁻¹, somente a partir do 45º dia de tratamento com metimazol, pode estar relacionado com a redução e/ou aumento da expressão gênica de mediadores que possivelmente modulam a resposta natriorexigênica nestes animais. A administração de captopril aos 30 dias de tratamento com metimazol antecipou o

estabelecimento de níveis de ingestão de NaCl 1,8% para valores acima de 10,0 mL·100 g de peso corporal⁻¹ em relação aos ratos hipotireóideos não tratados. Possivelmente, essa resposta se deva a sensibilização direta e/ou indireta do captopril a algum sistema regulador do apetite por sódio, que predispõe o animal hipotireóideo, submetido ao tratamento prévio com captopril, a desenvolver uma antecipação deste componente comportamental.

A atenuação da intensidade do apetite por sódio espontâneo e a reversão parcial da resposta natriorexigênica do captopril observada após o tratamento com aldosterona possivelmente significam que a elevação da concentração de sódio nos líquidos corporais deprime a conversão de angiotensina I em angiotensina II e/ou a expressão de receptores AT1 e a atividade angiotensinérgica cerebrais no hipotireoidismo.

A administração de losartan em doses crescentes determinou respostas completamente distintas do comportamento apetitivo por sódio. O tratamento com losartan na dose de 1,0 mg·g de ração⁻¹ bloqueou acentuadamente o apetite por sódio espontâneo ou induzido por baixas doses de captopril. Por outro lado, a duplicação e quadruplicação desta dose intensificaram a resposta natriorexigênica nestes animais. Possivelmente esta resposta esteja relacionada a participação de diferentes subtipos de receptores AT1 com atividades distintas, conforme sugerido por Liénard *et al* (1996), quando observaram que baixas doses de losartan via intracerebroventricular (i.c.v.) é capaz de induzir respostas contrárias no apetite por sódio de ratos submetidos a diferentes condições de déficit no balanço do sódio corporal. Outra hipótese seria a possibilidade destes animais tornarem-se resistentes ao bloqueio dos receptores AT1. Esta hipótese poderia sugerir que ratos hipotireóideos desenvolvem mecanismo alternativo de preservação da homeostase do sódio corporal. Curiosamente, a adição de captopril três dias após iniciado o tratamento com losartan na

dose de 4,0 mg·g de ração⁻¹ incrementou a resposta natriorexigênica obtida com o tratamento anterior. A suspensão do tratamento com captopril reduziu os valores de ingestão de sódio para níveis estatisticamente semelhantes aos observados anteriormente ao início do experimento. Isto reforça a hipótese da manifestação de resistência ao bloqueio dos receptores AT1.

Por outro lado, o efeito natriorexigênico do captopril foi reduzido pela administração concomitante de losartan, o que sugere que no hipotireoidismo a angiotensina II gerada centralmente participa da expressão do apetite por sódio. Como antes mencionado, esta resposta é possivelmente dependente de mediação no SFO e OVLT. Em dois estudos representativos desta hipótese, demonstra-se que o apetite por sódio induzido por múltiplos paradigmas experimentais ou a administração sistêmica de captopril em baixas doses aumentavam a imuno-reatividade para c-fos no OVLT e SFO, e que o pré-tratamento com um antagonista AT1 suprimia a expressão de c-fos (McKinley *et al*, 1997; Lane *et al*, 1997). Por outro lado, altas doses de captopril intra-venosas inibem a expressão de c-fos no SFO e OVLT (Pastuskovas & Vivas, 1997).

Por outro lado, em protocolos experimentais agudos, demonstramos no presente estudo que tanto a depleção hidrossalina quanto a privação de água, sódio e alimento em ratos hipotireóides induzem a um aumento do apetite por sódio dependente de atividade angiotensinérgica cerebral mediada pela ativação de receptores AT1.

A depleção de água e sódio induzida pela furosemida associada ao aumento da oferta de angiotensina I (ainda que seus níveis plasmáticos sejam mais baixos no hipotireoidismo) ao cérebro, proporcionado pela administração de baixa dose de captopril, propiciou um aumento da ingestão de NaCl 1,8% pelos ratos hipotireóides.

Na privação global de água, sódio e alimento os ratos hipotireóideos exibiram um padrão comportamental similar, todavia o volume de ingesta de NaCl 1,8% foi extraordinariamente maior, quando comparado aos resultados da depleção hidrossalina.

Após 24 horas a ação do losartan ainda se manifestava nos ratos privados de água, sódio e alimento enquanto que os tratados com furosemida e captopril os níveis normais de ingestão de sódio já tinham sido recuperados. Estes resultados sugerem que as ações do losartan e posteriormente de seu metabólito mais ativo, o EXP3174 persistem por várias horas afetando sinapses angiotensinérgicas cerebrais envolvidas na mediação da resposta de ingestão de NaCl 1,8%.

No hipotireoidismo, não obstante a expressão gênica e a liberação provocada de ANP estarem reduzidas, a tendência a hiponatremia reflete a depressão global dos componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona associada a uma queda da taxa de reabsorção tubular de sódio, o que leva a uma perda urinária de sódio. É surpreendente, que mesmo nessa condição (de baixos níveis plasmáticos de angiotensina II) os ratos hipotireóideos tenham elevado a ingestão de NaCl 1,8% acima dos níveis alcançados pelos eutireóideos quando depletados ou privados. O balanço negativo de sódio no hipotireoidismo é uma condição análoga àquela desenvolvida em ratos adrenalectomizados (Richter, 1936; Fitzsimons, 1998). Há similaridades entre os dois modelos experimentais quanto à origem da depleção de sódio, especialmente relacionada ao hipoaldosteronismo. Entretanto, embora haja controvérsias quanto à participação da angiotensina II cíclica no apetite por sódio de ratos adrenalectomizados, estes são capazes de responder ao estímulo natriorexigênico de baixas doses de captopril. Isto provavelmente se deve ao fato de nesta condição o cérebro preservar ou expressar uma mais intensa conversão de angiotensina I

em angiotensina II. Recentemente demonstrou-se que ratos adrenalectomizados aumentam a expressão de c-fos no SFO, OVLT e núcleo pré-óptico mediano, neste apenas quando os animais eram impedidos de acessar a salina hipertônica (Weisinger *et al*, 2000). Neste estudo, evidenciou-se ademais que o tratamento prévio de ratos adrenalectomizados com um mineralocorticóide reduzia a expressão de c-fos no SFO e OVLT apenas quando NaCl estava disponível, e que a administração do antagonista AT1, ZD7155, reduzia a expressão desta proteína apenas no SFO.

Assim como no hipotireoidismo, na insuficiência adrenal, desenvolve-se uma redução na expressão gênica de angiotensinogênio relacionada à supressão da produção de glicocorticóides. Todavia, mesmo com a corticoterapia, ratos adrenalectomizados preservam a resposta natriorexigênica do captopril. Adicionalmente, o aumentado apetite por sódio de ratos adrenalectomizados mostra-se resistente à administração do antagonista sarile (Fitzsimons, 1998). Em nosso trabalho a resistência ao tratamento crônico com losartan em ratos hipotireóides constitui paralelismo com esta observação.

A administração sistêmica de angiotensina II representaria um fraco estímulo ao aumento do apetite por sódio em ratos e, portanto o sarile não ter atenuado o aumentado apetite por sódio de ratos adrenalectomizados significaria que a angiotensina II circulante não desempenha um papel crítico nesta resposta.

Segundo Fitzsimons (1998) esta observação constitui evidência em favor da hipótese de que a angiotensina II gerada centralmente a partir de precursores cerebrais é estímulo mais importante que a angiotensina II gerada sistemicamente. Reforçando esta argumentação estudo recente de Galaverna *et al* (1996) demonstrou que a administração intracerebroventricular do antagonista AT1, losartan suprimia o apetite por sódio de ratos

adrenalectomizados enquanto que a injeção do antagonista AT₂ PD123319 não surtiu efeito. Por outro lado doses sublimiares dos dois antagonistas combinados resultaram em bloqueio da resposta ingestiva. Contrastando com estas observações Weisinger *et al* (2000), como assinalado anteriormente, demonstraram que a angiotensina II circulante está envolvida na manifestação do apetite por sódio uma vez que a administração de antagonista AT₁, ZD7155 em ratos intactos, depletados de sódio ou adrenalectomizados reduziu a ingestão de NaCl e a expressão de c-fos no SFO, estrutura destituída de barreira hematoencefálica e permeada por angiotensina II de origem sistêmica. No hipotireoidismo a participação da angiotensina II circulante na expressão do apetite por sódio estaria de certa forma comprometida uma vez que todos os componentes da sua geração sistêmica encontram-se reduzidos, embora não abolidos. O mesmo não pode ser ainda afirmado para a participação de angiotensina II sintetizada a nível cerebral e o envolvimento de outros receptores angiotensinérgicos em regiões localizadas dentro ou fora da barreira hematoencefálica de ratos hipotireóides. O que levaria então os ratos hipotireóides a desenvolverem um apetite por sódio ainda mais intenso quando depletados de água e sódio ou privados de água, NaCl e alimento, comparativamente aos eutireóides? Uma maior expressão de receptores AT₁ cerebrais, poderia ser a resposta considerando que a administração sistêmica aguda de losartan bloqueou drasticamente a vigorosa ingestão de NaCl principalmente nos ratos sob privação global de água, NaCl e alimento. Poderíamos especular um reforço a esta hipótese no estudo de Weisinger *et al* (2000) que reportaram uma população maior de neurônios expressando c-fos no OVLT em ratos adrenalectomizados depletados comparativamente aos ratos intactos depletados de sódio.

Considerando que no hipotireoidismo a atividade do sistema renina-angiotensina sistêmico está diminuída, e possivelmente os ratos sob privação global desenvolvem uma maior perda urinária de sódio durante o período noturno de atividade daí a expressão do apetite por sódio ter-se desenvolvido de forma mais intensa quando comparado com os dados dos ratos sob depleção hidrossalina aguda. Provavelmente esta mais exagerada resposta natriorexigênica dos ratos hipotireóides sob privação global reflete a síntese de componentes da mediação comportamental em regiões do cérebro cuja expressão gênica para a resposta adaptativa demandaria um período mais prolongado de exposição à hiponatremia. Em ambas as condições a rápida ação do losartan administrada sistemicamente em experimentos agudos pode significar que o seu acesso ao cérebro esteja preservado ou aumentado no hipotireoidismo.

6. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos neste trabalho, sempre considerando achados de outros autores, podemos concluir em nossos experimentos que:

- Ratos hipotireóideos desenvolvem um apetite por sódio mais intenso após tratamento oral com captopril.
- Para o estudo de fenômenos fisiológicos quaisquer que utilizem como modelo experimental animais hipotireóideos, se faz necessário o fornecimento de NaCl *ad libitum* aos mesmos devido a baixa capacidade destes de reterem sódio.
- A administração de captopril antecipou o estabelecimento de níveis de ingestão de NaCl 1,8% para valores acima de 10,0 mL·100 g de peso corporal⁻¹ em relação aos ratos hipotireóideos não tratados, provavelmente por sensibilizar o sistema.

- A expressão do apetite por sódio espontâneo e a resposta natriorexigênica induzida pela administração de captopril em ratos hipotireóideos são atenuadas após tratamento com aldosterona.
- A administração sistêmica aguda ou crônica de losartan bloqueia o apetite por sódio em ratos hipotireóideos, o que significa que possivelmente a expressão deste comportamento em ratos hipotireóideos sob depleção hidrossalina ou sob privação de água, sódio e alimento depende de mediação angiotensinérgica desencadeada pela geração de angiotensina II em nível cerebral.
- E por fim, a refratariedade do apetite por sódio ao tratamento crônico com losartan possivelmente reflete mecanismos cerebrais alternativos resistentes ao bloqueio central de receptores angiotensinérgicos AT1 e/ou a participação de diferentes subtipos destes receptores angiotensinérgicos AT1.

Nossos resultados não permitem conclusões específicas acerca do envolvimento de outras vias neurais na resposta apetitiva por sódio, todavia podemos especular a possibilidade dos dois modelos de indução comportamental, em diferentes magnitudes, afetar a expressão de mecanismos regulatórios pré e pós-angiotensinérgicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARLOT, S.; MESMACQUE, A.; LALAU, J. D.; TOLANI, M.; DEBUSSCHE, X.; WESTEEL, P. F. & QUICHAUD, J. Plasma renin activity and aldosterone in untreated hypothyroidism. **Hormone and Metabolic Research**, v. 20, p. 720-721, 1988.

ASMAH, B. J.; WAN-NAZAIMOON, W. M.; NORAZMI, K.; TAN, T. T. & KHALID, B. A. Plasma renin and aldosterone in thyroid diseases. **Hormone and Metabolic Research**, v. 29, p. 580-583, 1997.

BALAZS, R.; BROOKSBANK, B. W. L.; DAVISON, A. N.; EAYRS, J. T. & WILSON, D. A. The effect of neonatal thyroidectomy on myelination in the rat brain. **Brain Research**, v. 15, p. 219-232, 1969.

BALAZS, R.; KOVACS, S.; TEICHGRABER, P.; COCKS, W. A. & EAYRS, J. T. Biochemical effects of thyroid deficiency on the developing brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 15, p. 1335-1349, 1968.

BELLÓ, A. A. & COVIAN, M. R. Effect of the excess of thyroid hormone administration on water and sodium chloride intake in the rat. **Physiology and Behavior**, v. 43, p. 155-157, 1988.

BELLÓ, A. A. & COVIAN, M. R. Rats with spontaneous high level of NaCl intake have hypothyroidism. **Physiology and Behavior**, v. 50, p. 1071-1073, 1991.

BERESFORD, M. J. & FITZSIMONS, J. T. Intracerebroventricular angiotensin II-induced thirst and sodium appetite in rat are blocked by the AT1 receptor antagonist, losartan (DuP 753), but not by the AT2 antagonist, CGP 42112B. **Experimental Physiology**, v. 77, p. 761-764, 1992.

BERNE, R. M. & LEVY, M. N. The thyroid gland. In: **Physiology**. (Eds.: Berne, R. M. & Levy, M. N.) Mosby Year Book, Saint Louis, p.932-948, 1993.

BOUHNİK, J.; GALEN, F. X.; CLAUSER, E.; MENARD, J. & CORVOL, J. The renin-angiotensin system in thyroidectomized rats. **Endocrinology**, v. 108, p. 647-650, 1981.

BRENT, G. A.; MOORE, D. D., & LARSEN, P. R. Thyroid hormone regulation of gene expression. **Annual Review of Physiology**, v. 53, p. 17-35, 1991.

BRINKMANN, A. O. (1994). Steroid hormone receptors: Activators of gene expression. **Journal of Pediatric Endocrinology**, v. 7, p. 1-8, 1994.

COSTEROUSSE, O.; ALLEGRI, J.; HUANG, H.; BOUHNİK, J. & ALHENC-GELAS, F. Regulation of ACE gene expression and plasma levels during rat postnatal development. **American Journal of Physiology**, v. 267, p. E745-E753, 1994.

CRANTZ, F. R. & LARSEN, P. R. Rapid thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion and nuclear 3,5,3'-triiodothyronine T₄ binding in rat cerebral cortex and cerebellum. **Journal of Clinical Investigation**, v. 65, p. 935-938, 1980.

CULMAN, J.; von HEYER, C.; PIEPENBURG, B.; RASCHER, W. & UNGER, T. Effects of systemic treatment with irbesartan and losartan on central responses to angiotensin II in conscious, normotensive rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 367, p. 255-265, 1999.

DUSSAULT, J. H. & RUEL, J. Thyroid hormones and brain development. **Annual Review of Physiology**, v. 49, p. 321-334, 1987.

EARLE, B. V. Thyroid hormone and antidepressants in resistant depressions. **American Journal of Psychiatry**, v. 126, p. 143-145, 1970.

EAYRS, J. T. Influence of the thyroid on the central nervous system. **British Medical Bulletin**, v. 16, p. 122-127, 1960.

ELFONT, R.M.; EPSTEIN, N.A. & FITZSIMONS, J.T. Involvement of renin-angiotensin system in captopril-induced sodium appetite in the rat. **Journal of Physiology (London)**, v. 354, p. 11-27, 1984.

FITTS, D. A. & MASSON, D. B. Forebrain sites of action for drinking and salt appetite to angiotensin or captopril. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, p. 865-872, 1989.

FITZSIMONS, J. T. Endogenous angiotensin and sodium appetite. In: **The physiology of thirst and sodium appetite** (Eds.: de Caro G, Epstein NA & Masso M). Plenum Press, New York, p. 383-394, 1986.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiological Reviews**, v. 78, p. 583-686, 1998.

FREGLY, M.J. The effect of hypothyroidism on sodium chloride aversion of renal hypertensive rats. **Endocrinology**, v. 71, p. 683-692, 1962.

FREGLY, M.J. Effect of the angiotensin converting enzyme inhibitor, captopril on NaCl appetite of rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 215, p. 383-394, 1980.

FREGLY, M. J.; GALINDO, O. & COOK, K. M. Spontaneous sodium chloride appetite of goitrogen-treated rats: effect of hypophysectomy and adrenalectomy. **Endocrinology**, v. 69, p. 1060-1067, 1961.

FREGLY, M. J. & ROWLAND, N. E. Role of renin-angiotensin-aldosterone system in NaCl appetite of rats. **American Journal of Physiology**, v. 248, p. R1-R11, 1985.

FREGLY, M. J. & TAYLOR, Jr, R. E. Effect of thyroxine on intake and loss of sodium by propylthiouracil-treated rats. **Endocrinology**, v. 75, p. 27-32, 1964.

GALAVARNA, O.; POLIDORI, C.; SAKAI, R. R.; LIÉNARD, F.; CHOW, S.Y. & FLUHARTY, S. J. Blockade of central angiotensin II type 1 and type 2 receptors suppresses adrenalectomy-induced NaCl intake in rats. **Regulatory Peptides**, v. 66, p. 47-50, 1996.

GARDNER, D. G.; GERTZ, B. J. & HANE, S. Thyroid hormone increases rat atrial natriuretic peptide messenger ribonucleic acid accumulation in vivo and in vitro. **Molecular Endocrinology**, v. 1, p. 260-265, 1987.

GLASS, C. K. & HOLLOWAY, J. M. Regulation of gene expression by the thyroid hormone receptor. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1032, p. 157-176, 1990.

GREEN, W. L. The thyroid gland. In: **Textbook of physiology**. (Eds.: Patton, H. D., Fuchs, A. F., Hille, B., Scher, A. M. & Steiner, R.) London, W. B. Saunders Company, p.1480-1500, 1989.

GROSS, G.; BRODDE, O. E. & SCHUMANN, H. J. Decreased number of beta-adrenoceptors in cerebral cortex of hypothyroid rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 61, p. 191-194, 1980.

HOURLY, J. Passage of the terrestrial life in amphibians. II. Endocrine determinism. **Zoology Science**, v. 10, p. 887-902, 1993.

HWU, C. M.; LAU, C. P.; TSAI, S. C.; HWANG, C. Y.; CHIANG, S. T. & WANG, P. S. Effect of hypothyroidism on the in vitro release of atrial natriuretic peptide in response to sodium challenge in rats. **Chinese Journal of Physiology**, v. 36, p. 65-69, 1993.

ITO, J. M.; VALCANA, T. & TIMIRAS, T. S. Effect of hypo-and hyperthyroidism on regional monoamine metabolism in the adult rat brain. **Neuroendocrinology**, v. 24, p. 56-64, 1977.

IYER, S.N.; WRIGHT, B.E.; STRUBBE, G.; HANLEY, K. & KATOVICH, M.J. Chronic losartan treatment blocks isoproterenol-induced dipsogenesis. **Physiology & Behavior**, v. 58, p. 283-286, 1995.

JAMESON, J. L. & DEGROOT, L. J. Mechanisms of thyroid hormone action. In: **Endocrinology** (Eds.: DeGroot, L. J.) Philadelphia, H. B. Saunders Company, p. 583-601, 1995.

JIMÉNEZ, E.; RUIZ, M.; MONTIEL, M.; NARVAEZ, J. A.; DIEGUEZ, J. L. & MORELLI, M. Renin-angiotensin system in thyroidectomized rats at different periods of development. **Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique**, v. 99, p. 401-403, 1991.

JIMÉNEZ, E.; RUIZ, M.; MONTIEL, M.; REYES, A. & MORELL, M. (1988). Postnatal development of the renin-angiotensin system in thyroidectomized rats. **Journal of Endocrinology Investigation**, v. 11, p. 567-570, 1988.

JOFFE, R. T. A perspective on the thyroid and depression. **Canadian Journal of Psychiatry**, v. 35, p. 754-758, 1990.

KOHNO, M.; TAKAORI, K.; MATSUURA, T.; MURAKAWA, K.; KANAYAMA, Y. & TAKEDA, T. Atrial natriuretic polypeptide in atria and plasma in experimental hyperthyroidism and hypothyroidism. **Biochemistry and Biophysics Research Communication**, v. 134, p. 178-183, 1986.

LADENSON, P. W.; BLOCH, K. D. & SEIDMAN, J. G. Modulation of atrial natriuretic peptide factor by thyroid hormone: Messenger ribonucleic acid and peptide levels in hypothyroid, and hyperthyroid rat atria and ventricles. **Endocrinology**, v. 123, p. 652-657, 1988.

LAHEY, F. H. Non-activated (apathetic) type of hyperthyroidism. **New England Journal of Medicine**, v. 204, p. 747-748, 1931.

LANE, J.M.; HERBERT, J. & FITZSIMONS, J.T. Increased sodium appetite stimulates c-fos expression in the organum vasculosum of the lamina terminalis. **Neuroscience**, v. 78, p. 1167-1176, 1997.

LARSEN, P. R. The pituitary-thyroid regulatory system. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 261, p. 11-26, 1989.

LI, Z.; BAINS, J.S. & FERGUSON, A.V. Functional evidence that the angiotensin antagonist losartan crosses the blood-brain barrier in the rat. **Brain Research Bulletin**, v. 30, p. 33-39, 1993.

LIENARD, F.; THORNTON, S. N.; MARTIAL, F. P.; MOUSSEAU, M. C. & NICOLAIDIS, S. Angiotensin II receptor subtype can both stimulate or inhibit salt appetite in rats. **Regulatory Peptides**, v. 66, p. 87-94, 1996.

MARCHANT, C.; BROWN, L. & SERNIA, C. Renin-angiotensin system in thyroid dysfunction in rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 22, p. 449-455, 1993.

MASON, G. A., BONDY, H. S. C., NEMEROFF, C. B., WALKER, C. E. & PRANGE, A. J., Jr. The effects of thyroid state on beta-adrenergic and serotonergic receptors in rat brain. **Psychoneuroendocrinology**, v. 12, p. 261-270, 1987.

McGEE, R. R.; WHITAKER, R. L. & TULLIS, I. F. Apathetic thyroidism: a review of the literature and report of four cases. **Annals of Internal Medicine**, v. 50, p. 1418-1432, 1959.

McKINLEY, M.J.; COLVILL, L.M.; GILES, M.E. & OLDFIELD, B.J. Distribution of Fos-immunoreactivity in rat brain following a dipsogenic dose of captopril and effects of angiotensin receptor blockade. **Brain Research**, v. 747, p. 43-51, 1997.

MENANI, J. V.; THUNORST, R. L. & JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, v. 270, p. R162-R168, 1996.

MENDELSON, F.A.O.; QUIRION, R.; SAAVEDRA, J.M.; AGUILERA, G. & CATT, K.J. Autoradiographic localization of angiotensin II receptor in rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.**, v. 81, p. 1575-1579, 1984.

MONTIEL, M.; JIMÉNEZ, E.; NARVAEZ, J. A. & MORELL, M. Renin-angiotensin-aldosterone system in hyper- and hypothyroid rats during sodium depletion. **Endocrine Research Communication**, v. 9, p. 249-260, 1982.

NORTON, W. T. Myelin: structure and biochemistry. In: **The Basic Neurosciences** (Ed.: Tower, D. B.). Raven Press, New York, p. 467-481, 1975.

OPPENHEIMER, J. H.; SCHWARTZ, H. L.; MARIASH, C. N.; KINLAW, W. B. & WONG, N. C. W. Advances in our understanding of thyroid hormone action at cellular level. **Endocrine Review**, v. 8, p. 288-308, 1987.

PASTUSKOVAS, C. & VIVAS, L. Effect of intravenous captopril on c-fos expression induced by sodium depletion in neurons of the lamina terminalis. **Brain Research Bulletin**, v. 44, p. 233-236, 1997.

POLIDORI, C.; CICCOCIOPO, R.; NISATO, D.; CAZAUBON, C. & MASSI, M. Evaluation of the ability of irbesartan to cross the blood-brain barrier following acute intragastric treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 352, p. 15-21, 1998.

POLIDORI, C.; CICCOCIOPO, R.; POMPEI, P.; CIRILLO, R. & MASSI, M. Functional evidence for the ability of several angiotensin AT1 receptor antagonists to cross the blood-brain barrier in conscious rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 307, p. 259-267, 1996.

PRANGE, A. J. Jr.; WILSON, J. C.; RABON, A. M. & LIPTON, H. A. Enhancement of imipramine antidepressant activity by thyroid hormones. **American Journal of Psychiatry**, v. 126, p. 457-469, 1969.

RAMALHO, M. J. P. **Interação dos hormônios tireoideanos com o sistema serotoninérgico central na liberação de prolactina induzida por estresse em ratos**. 1995. 214 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

RAUCH, M. & SCHMID, H.A. Functional evidence for subfornical organ intrinsic conversion of angiotensin I to angiotensin II. **American Journal of Physiology**, v. 276, p. R1630-R1638, 1999.

RICHTER, C.P. Increased sodium appetite in adrenalectomised rats. **American Journal of Physiology**, v. 115, p. 155-161, 1936.

ROWLAND, N.E.; FREGLY, M.J.; HANS, L. & SMITH, G. Expression of Fos in rat brain in relation to sodium appetite: Furosemide and cerebroventricular renin. **Brain Research**, v. 728, p. 90-96, 1996a.

ROWLAND, N.E., MORIEN, A. & FREGLY, M.J. Losartan inhibition of angiotensin-related drinking and Fos immunoreactivity in hypertensive and hypotensive contexts. **Brain Research**, v. 742, p. 253-259, 1996b.

SAKAI, R.R. & EPSTEIN, A.N. Dependence of adrenalectomy-induced sodium appetite on the action of angiotensin II in the brain of the rat. **Behavioral Neuroscience**, v. 104, p. 167-176, 1990.

SANDRINI, M.; MARRAMA, D.; VERGONI, A. V. & BERTOLONI, A. Effects of thyroid status on the characteristics of alpha-1, alpha-2, beta, imipramine and gaba receptors in the rat brain. **Life Science**, v. 48, p. 659-666, 1991.

SARUTA, T.; KITAJIMA, W.; HAYASHI, M.; KATO, E. & MATSUKI, S. Renin and aldosterone in hypothyroidism: relation to excretion of sodium and potassium. **Clinical Endocrinology (Oxf)**, v. 12, p. 483-489, 1980.

SCHAPIRO, S. Metabolic and maturational effects of thyroxin on the infant rat. **Endocrinology**, v. 78, p. 527-532, 1966.

SCHREIBER, G.; ALFRED, A. R.; JAWOROWSKI, A.; NILSSON, C.; ACHEN, M. G. & SEGAL, M. B. Thyroxin transport from blood to brain via transthyretin synthesis in choroid plexus. **American Journal of Physiology**, v. 258, p. R338-R345, 1990.

SIDENIUS, P.; NAGEL, P.; LARSEN, J. R.; BOYE, N. & LAUBERG, P. Axonal transport of slow component a in sciatic nerves of hypo- and hyperthyroid rats. **Journal of Neurochemistry**, v. 49, p. 1790-1795, 1987.

STOCKIGT, J.R. The renin-angiotensin system in adrenal insufficiency. In: **The renin-angiotensin system** (Eds. Robertson J.I.S. and Nicholls M.G.). London, Grower, 68 p., 1993.

TAYLOR, J. W. Depression in thyrotoxicosis. **American Journal of Psychiatry**, v. 132, p. 552-553, 1975.

TAYLOR, R. E. & FREGLY, M. J. Renal response of propylthiouracil-treated rats to injected to injected mineralocorticoids. **Endocrinology**, v. 75, p. 33-41, 1964.

TEJANI-BUTT, S. M., & YANG, J. A time course of altered thyroid states on the noradrenergic system in rat brain by quantitative autoradiography. **Neuroendocrinology**, v. 59, p. 235-244, 1994.

TEJANI-BUTT, S. M.; YANG, J. & KAVIANI, A. Time course of altered thyroid states on 5HT1A receptors and 5HT uptake sites in rat brain: an autoradiography analysis. **Neuroendocrinology**, v. 57, p. 1011-1018, 1993.

THUNHORST, R.L. Role of peripheral angiotensin in salt appetite of the sodium-deplete rat. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v. 20, p. 101-106, 1996.

THUNHORST, R.L. & FITTS, D.A. Peripheral angiotensin causes salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, v. 267, p. R171-R177, 1994.

THUNHORST, R.L.; XU, Z.; CICHA, M.Z.; ZARDETTO-SMITH, A.M. & JOHNSON, A.K. Fos expression in the rat brain during depletion-induced thirst and salt appetite. **American Journal of Physiology**, v. 274, p. R1807-R1814, 1998.

TIMIRAS, P. S. & NZEKWE, E. U. Thyroid hormones and nervous system development. **Biology of the Neonate**, v. 55, p. 376-385, 1989.

VAAMONDE, C. A.; SEBASTIANELLI, M. J.; VAAMONDE, L. S.; PELLEGRINI, E. L.; WATTS, R. S.; KLINGER Jr., E. L. & PAPPER, S. Impaired renal tubular reabsorption in hypothyroid man. **Journal of Laboratory of Clinical Medicine**, v. 85, p. 451-466, 1975.

van HOUTEN, M.; SCHIFFRIN, E.L.; MANN, J.F.E.; POSNER, B.I. & BOUCHER, R. Radioautographic localization of specific binding sites for blood-borne angiotensin II in the rat brain. **Brain Research**, v. 186, p.480-485, 1980.

VESELY, D. L.; WINTERS, C. J. & SALLMAN, A. L. Prohormone atrial natriuretic peptide 1-30 and 31-67 increase in hyperthyroidism and decrease in hypothyroidism. **American Journal of Medical Sciences**, v. 297, p. 209-215, 1989.

WEEATLEY, D. Potentiation of amitriptyline by thyroid hormones. **Archives of General Psychiatry**, v. 26, p. 229-245, 1972.

WEISINGER, R.S.; BLAIR-WEST, J.R.; BURNS, P.; DENTON, D.A. & TARJAN, E. Role of brain angiotensin in thirst and sodium appetite of rats. **Peptides**, v. 18, p. 977-984, 1997.

WEISINGER, R.S.; BURNS, P.; COLVILL, L.M.; DAVERN, P.; GILES, M.E.; OLDFIELD, B. J. & McKINLEY, M.J. Fos-immunoreactivity in the lamina terminalis of adrenalectomized rats and the effects of angiotensin II type 1 receptor blocked or deoxycorticosterona. **Neuroscience**, v. 98, p. 167-180, 2000.

WEISINGER, R.S.; DENTON, D.A.; Di NICOLANTONIO, D.K.; HARDS, D.K.; McKINLEY, M.J.; OLDFIELD, B. & OSBORNE, P.G. Subfornical organ lesion decreases sodium appetite in the sodium-depleted rat. **Brain Research**, v. 526, p. 23-30, 1990.

WILSON, W. H. & JEFFERSON, J. W. Thyroid disease, behavior and psychopharmacology. **Psychosomatics**, v. 26, p. 481-492, 1985.

WONG, N. L.; HUANG, D.; GUO, N. S.; WONG, E. F. & HU, D. C. Effects of thyroid status on atrial natriuretic peptide release from isolated rat atria. **American Journal of Physiology**, v. 256, p. E64-E67, 1989.

YEGIN, E.; YIGITOGU, R.; ARI, Z.; CELIK, I.; AKACAY, F. & SUSEK, H. Serum angiotensin-converting enzyme and plasma atrial natriuretic peptide levels in hyperthyroid and hypothyroid rabbits. **Japanese Heart Journal**, v. 38, p. 273-279, 1997.

ZAMIR, N.; SLOVER, M. & OHMAN, K. P. Thyroid hormone restores atrial stretch-induced secretion of atrial natriuretic peptide in hypophysectomized rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 25, p. 152-155, 1993.

ZHUO, J.; SONG, K.; ABDELRAHMAN, A. & MENDELSON, F.A. Blockade by intravenous losartan of AT1 angiotensin receptors in rat brain, kidney and adrenals demonstrated by in vitro autoradiography. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 21, p. 557-567, 1994.

ZIMMERMAN, R. S.; RYAN, J.; EDWARDS, B. S.; KLEE, G.; ZIMMERMAN, D.; SCOTT, N. & BURNETT Jr., J. C. Cardiorenal endocrine dynamics during volume expansion in hypothyroid dogs. **American Journal of Physiology**, v. 255, p. R61-R66, 1988.