



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

*Como estará a ingestão de sódio após uma sobrecarga de
volume combinada ao tratamento com paroxetina?*

Júlia Ávila de Oliveira

2013

BOTUCATU – SP

Júlia Ávila de Oliveira

Como estará a ingestão de sódio após uma sobrecarga de volume combinada ao tratamento com paroxetina?

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a Dra. Juliana Irani Fratucci de Gobbi

Botucatu – SP

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Oliveira, Julia Avila de.

Como estará a ingestão de sódio após uma sobrecarga de volume combinada ao tratamento com paroxetina? / Julia Avila de Oliveira. - Botucatu, 2013

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Juliana Irani Fratucci de Gobbi
Capes: 20702000

1.Sódio - Excreção. 2. Insuficiência aórtica. 3. Coração - Hipertrofia. 4.
Serotonina - Antagonistas.

Palavras-chave: Ingestão e excreção de sódio; Regurgitação aórtica; Vias
serotoninérgicas.

*Dedico esse trabalho ao meu avô que sempre me apoiou e agora vai iluminar meu
caminho de onde estiver.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais que se esforçaram ao máximo para tornar possível minha graduação longe de casa e à minha irmã, que do nosso jeito conturbado, sempre me apoiou e ajudou;

Ao meu namorado que esteve ao meu lado no dia a dia me aturando e tornando tudo mais fácil;

Aos meus amigos e colega de república que me forneceram ótimos momentos de muita diversão e aprendizado, tornando esses anos de faculdade inesquecíveis;

Agradeço principalmente à minha orientadora, colegas e técnicos do laboratório de regulação hidromineral e cardiovascular do departamento de fisiologia, que tornaram esse trabalho possível;

Todos contribuíram muito para minha aprendizagem e crescimento.

Muito obrigada a todos!

“Nunca tenha certeza de nada, porque a sabedoria começa com a dúvida.”

Sigmund Freud

Resumo

OLIVEIRA, J.A. **Como estará a ingestão de sódio após uma sobrecarga de volume combinada ao tratamento com paroxetina?** Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

A regurgitação aórtica (RA) ainda é frequente em países em desenvolvimento como secundária da febre reumática, e sua incidência vem aumentando na forma degenerativa senil. A RA desenvolve hipertrofia miocárdica acentuada. Uma co-morbidade comum associada à doenças cardiovasculares é a depressão. Entre os antidepressivos mais prescritos em todo o mundo encontram-se os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS). Vias centrais serotoninérgicas estão envolvidas com a inibição da ingestão de sódio, e podem modificar a excreção deste íon. Portanto, nós investigamos se o tratamento com um antidepressivo ISRS, a paroxetina, por quatro semanas pode modificar o comportamento de ingestão de água e NaCl 0,3M, a excreção de sódio e os parâmetros morfofuncionais de ratos que sofreram uma RA. Ratos Wistar (280 - 300g) foram submetidos ao procedimento cirúrgico para RA (n = 15) ou cirurgia controle (n = 14). A RA foi induzida por punção retrógrada dos folhetos valvares. Os animais foram divididos em 4 grupos: RA + paroxetina (n = 8), RA + controle (n = 7), controle + paroxetina (n = 7), ou controle + controle (n = 7). Da 4ª até a 8ª semana foi administrado paroxetina (10 mg/kg) diariamente e subcutaneamente. Na 4ª e 8ª semanas após indução da RA foram realizados ecocardiogramas para coleta de dados morfofuncionais. Durante as 4 semanas de tratamento foram analisadas a ingestão de água e salina diariamente e uma vez por semana amostras de urina foram coletadas para análise em fotômetro de chama da excreção de sódio e potássio. Na 10ª os animais foram submetidos a um desafio hidromineral pelo protocolo combinando furosemida (10 mg/kg pc) associado à baixa dose do captopril (5 mg/kg pc). Amostras de urina foram coletadas durante o desafio para análise da excreção de sódio e potássio, em fotômetro de chama, ao tempo zero e após 2 horas do tratamento. Como resultados obtivemos que o tratamento com paroxetina em ratos com RA determinou uma melhora na fração de encurtamento (fração de encurtamento: $52,7 \pm 2,2$ % vs. RA + controle: $40,4 \pm 3,5$ %, $P < 0,001$), que a ingestão diária de NaCl 0,3 M foi menor nos grupos que receberam a paroxetina em relação aos que receberam salina, teve um aumento na natriurese e caliurese dos animais RA + parox em relação aos animais controle + parox, e a insuficiência aórtica ou a paroxetina não modificaram estatisticamente a ingestão ou excreção de água, sódio ou potássio durante o desafio hidromineral em nenhum dos grupos experimentais. Nossos resultados sugerem que vias serotoninérgicas centrais estão envolvidas na remodelação do ventrículo esquerdo e interferem no comportamento de ingestão e excreção água, sódio e potássio.

Palavras - chaves: Regurgitação aórtica, ingestão e excreção de água e sódio, vias centrais serotoninérgicas

Abstract

OLIVEIRA, J.A. How is your sodium intake after a volume overload combined treatment with paroxetine? Institute of Biosciences, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

Aortic regurgitation (AR) is still common in developing countries as secondary of rheumatic fever, and its incidence have increased in senile degenerative form. The AR develops severe myocardial hypertrophy. A common comorbidity associated with cardiovascular disease is depression. Among the most prescribed antidepressants in the world are the serotonin selective reuptake inhibitors (SSRIs). Central serotonergic pathways are involved with the inhibition of sodium intake and can be modify the excretion of this íon. Therefore, we investigated whether treatment with an antidepressants SSRI, the paroxetine, for four weeks can modify the behavior of water and NaCl 0,3M intake, excretion of sodium and morphofunctional parameters of rats with AR induce. Wistar rats (280 – 300g) underwent surgery for AR (n=15) or control surgery (n=14). The AR was induced by retrograde puncture of valve leaflets. The animals were divided into 4 groups: AR + paroxetine (n=8), AR + control (n=7), control + paroxetine (n=7), control + control (n=7). From the 4th to the 8th week after inductuin of AR was administered paroxetine (10mg/kg pc) daily and subcutaneously. In the 4th and 8th week after induction of AR echocardiograms were performed to collect data morphofunctional. During the 4 weeks of treatment were analyzed intake of water and saline daily and once a week urine samples were collected for analysis by flame photometer of excretion of sodium and potassium. In the 10th week the animals were submitted to a challenge protocol hidromineral by combining furosemide (10 mg / kg bw) associated with the low dose of Captopril (5 mg / kg bw). During the challenged urine samples were collected for analysis by flame photometer of excretion of sodium and potassium at the time zero and after 2 hours of treatment. As a result we found that treatment with paroxetine in rats with AR determined an improvement in fractional shortening (shortening fraction: $52.7 \pm 2.2\%$ vs. RA + control: $40.4 \pm 3.5\%$, $P < 0.001$), the daily intake of 0.3 M NaCl was less in the groups receiving paroxetine compared to those who received saline, had an increase in natriuresis and kaliuresis in animals of the group AR + parox compared to the animals of the group control + parox, and aortic insufficiency or paroxetine did not change statistically intake or excretion of water, sodium or potassium during the hidromineral challenge in any of the experimental groups. Our results suggest that central serotonergic pathways are involved in the remodeling of the left ventricle and interfere with the behavior of ingestion and excretion of water, sodium and potassium.

Keywords: aortic regurgitation, intake and excretion of water and sodium, central serotonergic pathways.

Sumário

I - Introdução	4
1.1 Regurgitação aórtica e insuficiência cardíaca	4
1.2 Comportamento de Ingestão de Água e Sódio	5
1.3 Insuficiência Aórtica x Depressão	6
II - Objetivo	7
III - Materiais e Métodos	8
3.1 Animais	8
3.2 Indução da Regurgitação Aórtica (RA)	8
3.3 Livre Ingestão de Água e NaCl	9
3.4 Administração do Antidepressivo	9
3.5 Ecocardiograma	9
3.6 Excreção de Sódio e Potássio	9
3.7 Desafio Hidromineral	10
3.8 Eutanásia	10
3.9 Análise de Resultados	10
3.10 Desenho Experimental	10
IV - Resultados	11
4.1 Ecocardiograma - Dados Morfofuncionais	11
4.2 Livre Ingestão de Água e NaCl	13
4.3 Excreção de Sódio e Potássio	13
4.4 Desafio Hidromineral - Depleção Aguda de Líquidos	15
4.5 Eutanásia	15
V - Discussão	17
VI - Referências Bibliográficas	21

I- Introdução

1.1 - Regurgitação Aórtica e Insuficiência Cardíaca

A regurgitação aórtica (RA) é uma doença valvar que faz com que ocorra um refluxo sanguíneo da aorta para o ventrículo esquerdo (VE) levando a uma sobrecarga hemodinâmica. Isso ocorre devido ao mal-fechamento das cúspides aórticas, caracterizando uma insuficiência aórtica. Em resposta a essa sobrecarga de volume da RA crônica, ocorre um processo de remodelação do VE na tentativa de diminuir o estresse causado pelo refluxo sanguíneo e manter o desempenho normal de ejeção. Isso resulta numa mudança de geometria da câmara cardíaca, pois ocorre uma hipertrofia miocárdica do tipo excêntrica da parede do VE, que se torna mais esférico. Sendo assim, a RA é considerada um modelo clássico de remodelação ventricular, pois desenvolve essa resposta hipertrófica observada nas doenças cardíacas. As causas dessa patologia são múltiplas, dentre elas, a endocardite, degeneração valvar, cardiopatia reumática crônica, anormalidades congênitas, dilatação aórtica idiopática e uso de drogas anoréticas (BORER et al., 1998; OLSON et al., 1984; WALLER et al., 1990; TARASOUTCHI et al., 2003).

Nos países em desenvolvimento como o Brasil a febre reumática é a principal causa da RA e a maioria dos pacientes são jovens (BONOW et al., 1998; TARASOUTCHI et al., 2003). Como ocorre a hipertrofia compensatória do VE, a RA crônica pode permanecer assintomática por anos e muitas vezes levar ao desenvolvimento da insuficiência cardíaca (IC), considerada um problema de saúde pública em todo o mundo. A IC é uma síndrome clínica complexa que pode resultar de qualquer desordem funcional ou estrutural cardíaca que prejudique a capacidade do ventrículo de preencher-se com sangue ou ejetar o mesmo. Podemos classificar a IC como qualquer anormalidade mecânica (sobrecarga de pressão/volume, doença pericárdica, doença restritiva), falência miocárdica ou arritmias (bradiarritmias ou taquiarritmias). Assim sendo, problemas valvares como a RA determinam uma sobrecarga de volume no coração, resultando na IC.

A sobrecarga de volume é uma consequência do próprio volume regurgitado e varia dependendo da severidade da regurgitação. A resposta do coração à essa sobrecarga hemodinâmica resultante da RA tem sido amplamente estudada em relação ao remodelamento cardíaco, mas não sobre outros aspectos como o comportamento de ingestão e excreção de água e sódio. É conhecido da literatura que pacientes com IC

apresentam alterações neuroendócrinas e uma piora da função renal (HAVRANEK et al., 2002; HUNT et al., 2001; STEVENSON et al., 2005). Sabe-se também que o consumo exagerado de sal e líquidos podem agravar os sintomas de IC e favorecer as hospitalizações (BENNETT et al., 1998; KUEHNEMAN et al., 2002). A principal alteração dos fatores neurohumorais na IC relacionada ao sistema renal é a maior ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (DiBONA et al., 1991; ZUCKER et al., 2004). Sendo esse sistema o principal alvo para tratamentos medicamentosos em pacientes com IC.

1.2 - Comportamento de Ingestão de Água e Sódio

Para manter-se vivo o corpo necessita de um equilíbrio entre as concentrações de água e sais minerais. O sistema nervoso central controla a ingestão e os rins são responsáveis pela excreção ou reabsorção dessas substâncias para manter a homeostase de fluido e eletrólitos através da regulação renal. O controle da ingestão de água e sódio é necessário para a manutenção de um volume de sangue suficiente para realizar a perfusão tecidual após bombeamento do coração (VERBALIS, 2003).

Como dito anteriormente, o sistema renina-angiotensina-aldosterona é o responsável por induzir o comportamento de ingestão hidromineral. A angiotensina II (ANG II) e a aldosterona atuam em mecanismos cerebrais que conduzem a ingestão de sódio e água, tanto em animais de laboratório quanto em humanos. A presença dessas substâncias em estruturas nervosas levanta a questão sobre suas possíveis funções e como elas podem interagir com outras substâncias produzidas ou que atuam no cérebro (FITZSIMONS, 1998; JOHNSON E THUNHORST, 1997; SAKAI et al., 1987; WEISINGER et al., 1996; TAKAMATA et al., 1994). A ANG II circulante atua principalmente nos órgãos circunventriculares, estruturas cerebrais que estão livres da barreira hemato-encefálica e são altamente vascularizadas (BUGGY E JOHNSON, 1978; FITZSIMONS, 1998; WEISINGER et al., 1996).

Os fluidos corporais são regulados dentro de limites estreitos e determinados pela osmolaridade extracelular e pelo volume sanguíneo. A insuficiência cardíaca leva a uma hipovolemia, que ativa o sistema renina-angiotensina-aldosterona, e a resposta comportamental a essa situação primeiramente é a sede seguida do aumento do apetite por sódio. Outros hormônios como os corticoesteróides, vasopressina, fatores natriuréticos, catecolaminas, ocitocina, e alguns neurotransmissores como a serotonina

também afetam o comportamento de ingestão de água e sódio, auxiliando o sistema renina-angiotensina-aldosterona no controle hipovolêmico e mantendo o equilíbrio hidromineral (FITZSIMONS, 1998; JOHNSON E THUNHORST, 1997).

Estudos anteriores do nosso laboratório mostram que a RA aguda aumenta a ingestão de água e a natriurese em animais submetidos a um desafio hidromineral, que se dá a partir de injeções combinadas do diurético furosemida e baixas doses de captopril, inibidor da enzima conversora de angiotensina II. Portanto do ponto de vista da saúde pública é importante se ter um maior entendimento sobre os determinantes neurobiológicos da ingestão de água e sódio.

1.3 - Insuficiência Cardíaca x Depressão

Uma das co-morbidades associadas às doenças cardiovasculares é a depressão, conjunto de transtornos do humor relacionado a estados de ansiedade, existindo assim uma relação bidirecional entre as duas patologias (GRIPPO E JOHNSON, 2009; PENNINX et al., 2001; VAN DER KOOY et al., 2007). A depressão pode aumentar o risco de mortalidade nas doenças cardiovasculares, porém os mecanismos patopsicológicos dessa associação ainda não estão totalmente claros. Sabemos que o sistema renina-angiotensina-aldosterona, ativado na IC, também é ativado em pacientes com depressão e que não possuem nenhuma doença cardiovascular. A literatura também mostra que o aparecimento de um quadro depressivo é frequente em pacientes com doenças cardiovasculares crônicas, como a IC (GRIPPO E JOHNSON, 2009) e o risco de mortalidade nas doenças cardíacas varia de acordo com o nível da depressão, pois esse estado emocional gera um desequilíbrio tanto no sistema nervoso autônomo quanto no sistema imunológico, que pode variar a frequência cardíaca, alterar a pressão arterial, promover lesões vasculares e gerar arritmias (GRIPPO e JOHNSON, 2009; PENNINX et al., 2001; VAN DER KOOY et al., 2007).

Tanto a depressão quanto as doenças cardiovasculares alteram o metabolismo dos neurotransmissores e de seus receptores, particularmente da serotonina (5-HT) e da noroepinefrina (BRUTON E PARKER, 2010). Essas alterações no sistema nervoso resultam em modificações comportamentais, levando a diferentes respostas fisiológicas.

A deficiência na função serotoninérgica cerebral tem sido relacionada com a depressão e o envolvimento da 5-HT mediando o comportamento da ingestão e excreção de sódio já foi descrito na literatura. Neurônios serotoninérgicos envolvidos na

regulação do comportamento afetivo também influenciam o apetite de sódio (LIMA et al., 2004). Sabemos que a administração intracerebroventricular de agonistas serotoninérgicos subtipo 5-HT₂ em ratos aumenta a excreção renal de sódio (REIS et al., 1991). Também sabemos que uma diminuição de 5-HT cerebral causada pelo tratamento intraperitoneal de p-clorofenilalanina, um competidor do triptofano e inibidor competitivo do triptofano hidroxilase, aumenta as respostas natriorexigênicas e dipsogênicas em ratos com depleção de sódio e água, induzidas pela administração de furosemida associada a uma dieta pobre em sódio. Isso porque a depleção de 5-HT cerebral promove a regulação positiva dos receptores serotoninérgicos, levando a um consequente aumento da ativação pós-sináptica (LIMA et al., 2004).

Entre os antidepressivos mais prescritos em todo o mundo, encontram-se os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), que atuam inibindo a recaptação desse neurotransmissor e aumentando a sua atividade pós-sináptica (STAHL, 1997). Esse tipo de medicamento apresenta vantagem sobre os antidepressivos clássicos pela sua segurança na posologia e boa tolerabilidade, sendo muito mais seguros em pacientes com doença cardíaca por diminuir a probabilidade de arritmias (STAHL, 1997; BRUTON E PARKER, 2010). Embora todos os tipos ISRS compartilhem do mesmo mecanismo de ação, eles possuem estruturas distintas que levam a diferentes efeitos colaterais. A paroxetina é considerada uma das mais potentes inibidoras da recaptação e não está associada à perda de apetite (STAHL, 1997), justificando assim a escolha dela como tratamento no presente trabalho.

Considerando todas essas observações podemos questionar se um tratamento prévio com paroxetina (ISRS) pode alterar o comportamento de ingestão e excreção de sódio em ratos que apresentam uma injúria cardíaca, a RA.

II – OBJETIVO

Portanto, os objetivos do presente trabalho são verificar se o tratamento com um antidepressivo ISRS, a paroxetina, por quatro semanas pode modificar o comportamento de ingestão de água e NaCl 0,3M, a excreção de sódio e os parâmetros morfofuncionais de ratos que sofreram uma RA.

III - Materias e Métodos

3.1 - Animais

Para realizar esse trabalho foram utilizados ratos Wistar, com peso médio entre 280 e 300 gramas, fornecidos pelo Biotério Central da Unesp Campus de Botucatu. Esses animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro-escuro (12 -12h), com água e ração *ad libitum*. Além disso foram divididos em quatro grupos experimentais: RA + paroxetina (n=8), RA + salina (n=7), controle + paroxetina (n=7) e controle + salina (n=7). Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, protocolo número 2010/316.

3.2 - Indução da Regurgitação Aórtica (RA)

O modelo de regurgitação aórtica (RA) foi realizado por processo cirúrgico através de uma modificação da técnica descrita por Arsenault e colaboradores (ARSENAULT et al., 2002). Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (200 mg/kg, Dopalen®, Vetbrands), associada cloridrato de xilazina (100 mg/kg, Anasedan®, Vetbrands) e então um fio guia de aço (próprio do cateter de anestesia epidural - 0,34mm) foi introduzido através do cateter carotídeo de modo a lesar a valva aórtica, através de perfuração retrógrada dos folhetos valvares aórticos. O grupo controle também passou pelo processo cirúrgico, porém não ocorreu a lesão.

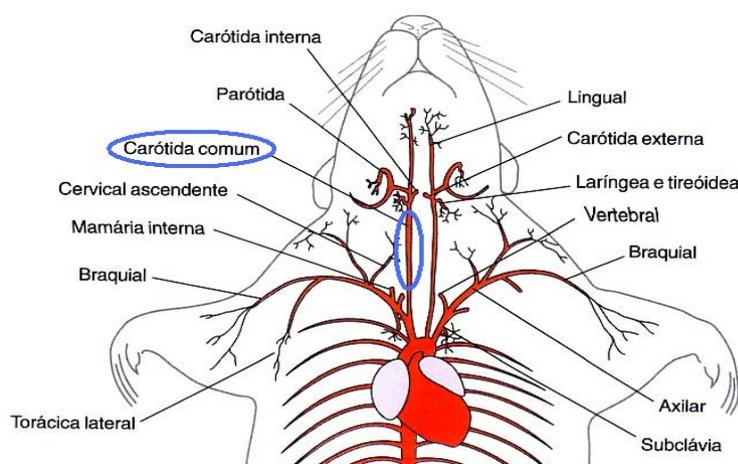


Figura: Ilustração do local onde foi realizada a cirurgia, mostrando a carótida comum por onde o fio guia foi introduzido. Figura modificada do livro: “Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação”, UNIFESP, departamento de Psicobiologia, 2004.

3.3 - Livre Ingestão de Água e NaCl

Todos os animais, tanto RA quanto controle, foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais (30x20x18) com ração, água e solução de NaCl 0,3M *ad libitum*. A quantidade ingerida tanto de água quanto de solução salina foi anotada diariamente para análise.

3.4 - Administração do Antidepressivo

Como dito anteriormente o antidepressivo escolhido para esse trabalho foi a paroxetina. Portanto cloridrato de paroxetina hemihidratado (parox, revendedora PharmaNostra, Rio de Janeiro) foi dissolvida em salina imediatamente antes do uso na dose de 10mg/kg e foi injetada subcutaneamente diariamente durante as quatro semanas de tratamento que começou na quarta semana após a cirurgia de indução da IAo. No grupo controle foi injetada salina em vez de antidepressivo.

3.5 - Ecocardiograma

Para podermos analisar os parâmetros morfofuncionais do coração foram realizados ecocardiogramas. O primeiro foi na quarta semana após a cirurgia, antes do início da aplicação do antidepressivo, e o segundo foi realizado depois do tratamento. Esses exames foram efetuados por meio de Doppler-ecocardiografia transtorácica convencional, transdutor eletrônico setorial multifrequêncial (7,5 a 12 MHz) por uma médica experiente na área e colaboradora do projeto. Foram realizadas anotações dos parâmetros necessários para os cálculos de débito cardíaco e fração de encurtamento destes animais.

3.6 - Excreção de Sódio e Potássio

Uma vez por semana durante o tratamento com antidepressivo os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais no período noturno para coleta da urina no dia seguinte. Então o volume excretado por cada animal foi medido e amostras foram guardadas. Posteriormente foram analisadas em fotômetro de chama para quantificar o sódio e potássio em miliequivalentes (mEq). O valor obtido foi multiplicado pelo volume urinário.

3.7 - Desafio Hidromineral - Depleção Aguda de Líquidos

Após o tratamento com antidepressivo os animais foram submetidos a um teste de depleção aguda de líquidos. Para tanto foram utilizadas injeções combinadas do diurético furosemida (Furo 10mg/kg) associado à baixas doses do inibidor da enzima conversora de angiotensina, o captopril (Cap 5mg/kg), aplicadas subcutaneamente, induzindo assim a ingestão de água e NaCl 0,3M. Imediatamente após o tratamento combinado de Furo/Cap, os animais dos quatro grupos experimentais foram mantidos sem ração, água ou solução salina por uma hora e o volume urinário excretado de cada rato nesse período foi medido e amostras da urina foram guardadas para análise. Após isso foi oferecida aos animais água e solução salina em buretas graduadas (0,1 ml de divisão) para registro da ingestão a cada 30 minutos num período de duas horas. Então novamente o volume urinário excretado nesse período foi medido e amostras foram guardadas. Essas amostras de urinas foram analisadas em fotômetro de chama para quantificar o sódio e potássio em miliequivalentes (mEq). Finalizado o experimento, os animais foram devolvidos às suas gaiolas com água, solução salina e ração *ad libitum*.

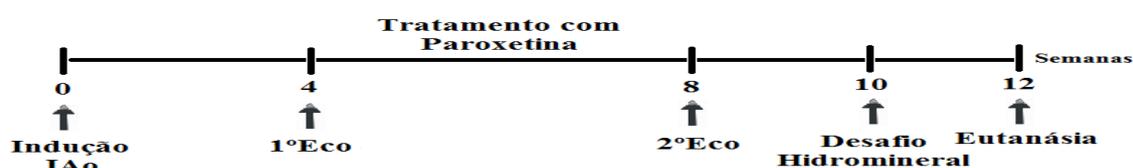
3.8 – Eutanásia

Após todos os experimentos os animais foram eutanasiados com doses excessivas de pentobarbital sódico (75-100mg/rato), então os corações foram retirados para pesagem e os valores foram corrigidos para 100g de peso corporal dos animais.

3.9 - Análise de Resultados

Os dados obtidos no projeto estão apresentados como média \pm desvio padrão da média (EPM). Para realizar comparações entre os resultados do ecocardiograma utilizamos teste-t e análise de variância com duas vias seguidas do teste de Newman Keuls foi utilizado para análise da ingestão e excreção. As diferenças foram consideradas significantes para $p < 0,05$

3.10 - Desenho Experimental



IV - Resultados

4.1 - Ecocardiograma - Dados Morfofuncionais

O primeiro exame realizado quatro semanas após a cirurgia de indução da IAo mostrou semelhanças entre os grupos RA + parox e RA + controle, bem como nos grupos controle + parox e controle + controle (tabela 1), validando assim a cirurgia e a divisão dos grupos experimentais antes do início do tratamento com o antidepressivo. Após as quatro semanas de tratamento outro exame foi realizado e nele foi observado que houve uma melhora da função cardíaca dos animais do grupo RA + parox em relação aos RA + controle, isso porque podemos observar que a fração de encurtamento do ventrículo esquerdo foi preservada nos animais RA + parox em relação aos animais RA + controle, estando mais próxima dos animais controle + controle (Gráfico 1). Além disso podemos observar que o formato elíptico do coração foi também um pouco preservado nos animais RA + parox em relação aos animais RA + controle (Gráfico 2 e figura 2).

Tabela 1. Variáveis morfofuncionais dos grupos estudados na 4ª semana após a indução da IAo, antes do início do tratamento com parox.

Variáveis - 4 semanas	IAo + parox	IAo + controle	contr + parox	contr + contr
	n = 9	n = 8	n = 9	n = 8
DDVE (mm)	8.74 ± 0.31	9.07 ± 0.39	7.01 ± 0.35*	5.85 ± 0.28*
Fração de encurtamento %	41.46 ± 3.55	44.38 ± 4.36	50.90 ± 4.27	55.71 ± 2.82
VAE (cm ³)	0.180 ± 0.020	0.189 ± 0.033	0.075 ± 0.009*	0.080 ± 0.019*
Índice de esfericidade	0.81 ± 0.01	0.87 ± 0.02	0.66 ± 0.02*	0.63 ± 0.01*
Espessura relativa da parede posterior	0.39 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.48 ± 0.01
DC (ml/min)	153.29 ± 11.79	163.54 ± 15.77	99.69 ± 3.87*	93.86 ± 12.01*
Peso corporal (g)	378.4 ± 12.9	369.3 ± 6.2	371.3 ± 14.3	362.8 ± 9.9

DDVE = diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (mm); fração de encurtamento % = DDVE - diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo/ DDVEx100; VAE = volume do átrio esquerdo (cm³); índice de esfericidade = comprimento do eixo menor/comprimento do eixo maior do ventrículo esquerdo; espessura relativa da parede posterior; DC = débito cardíaco (ml/min); e peso corporal (g). * diferente de IAo, p < 0.05, teste - t.

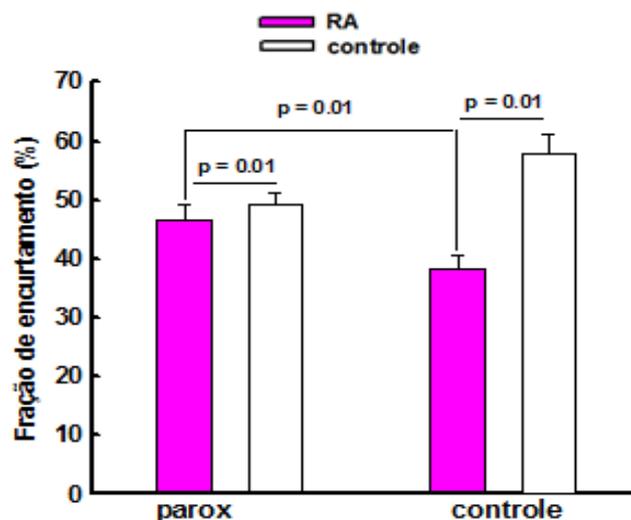


Gráfico 1: Fração de encurtamento (%) = porcentagem de encurtamento do VE, dado pela diferença entre o DDVE e o DSVE. Variáveis morfofuncionais do coração obtidas através do ecocardiograma realizado na quarta semana de tratamento com antidepressivo.

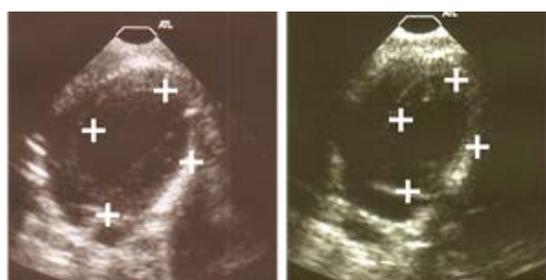


Figura 2: Imagens representativas obtidas no ecocardiograma de animais com insuficiência aórtica (à esquerda) e saudáveis (à direita). Por causa do refluxo sanguíneo o coração doente acaba obtendo um formato mais arredondado diferente do formato elíptico do coração saudável

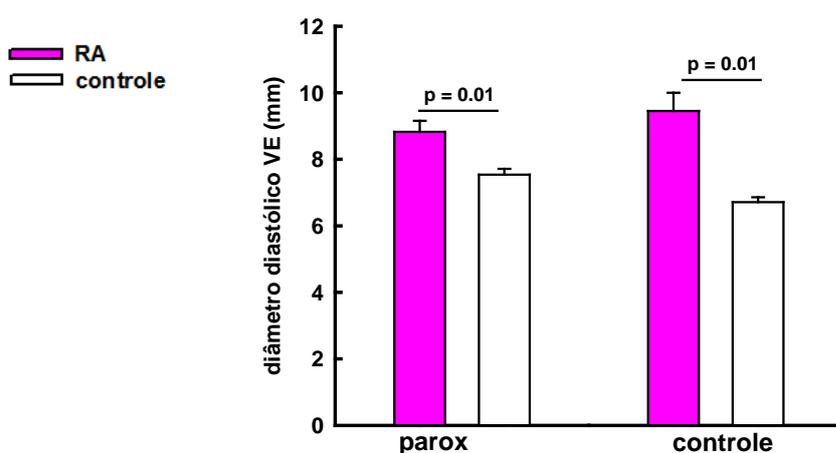


Gráfico 2: Diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo (mm). Variável morfofuncional do coração obtida através do ecocardiograma realizado na quarta semana de tratamento com antidepressivo.

4.2 - Livre Ingestão de Água e NaCl

A ingestão diária de NaCl 0,3M foi menor nos grupos que receberam a paroxetina (triângulo azul e círculo amarelo) em relação aos grupos que receberam a salina (gráfico 3). Não houve alteração estatística na ingestão de água (gráfico 4).

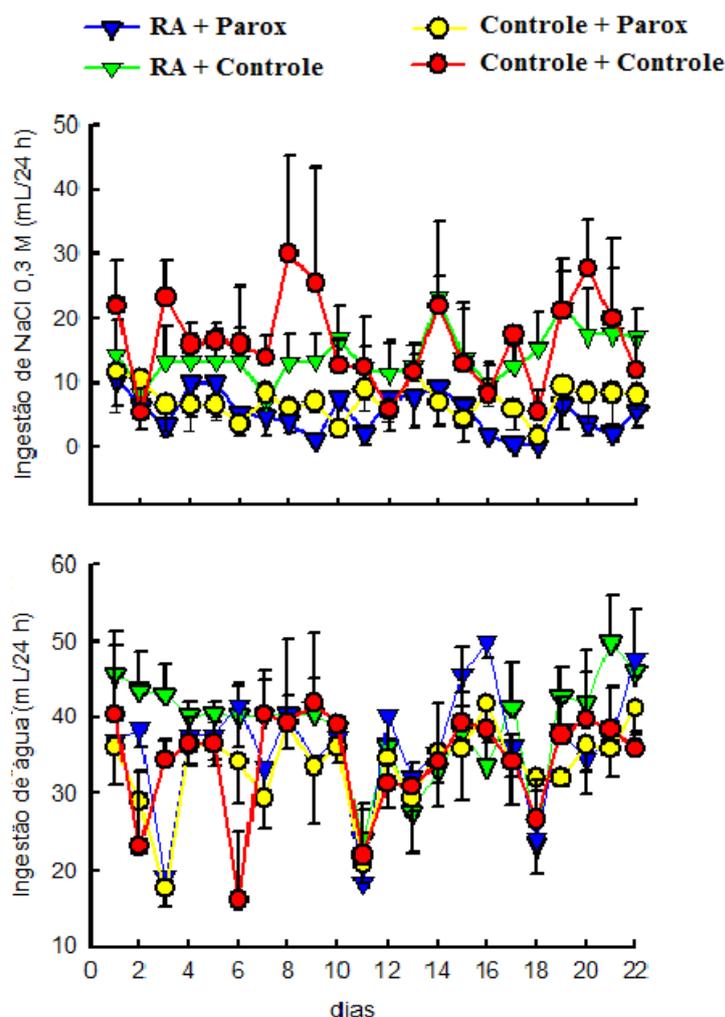


Gráfico 3 e 4: Ingestão diária de NaCl 0,3M e água, respectivamente, dos quatro grupos experimentais. Os dados estão expressos em média \pm EPM.

4.3 - Excreção de Sódio e Potássio

Durante o tratamento ocorreu um aumento da diurese nos grupos RA + parox e controle + parox, em relação aos outros dois grupos que não receberam a paroxetina (gráfico 5). Também ocorreu um aumento da natriurese e caliurese nos animais do grupo RA + parox em relação aos animais RA + controle (gráfico 6).

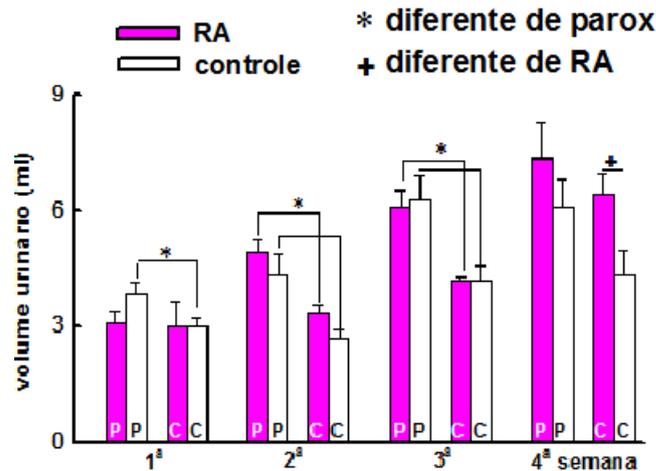


Gráfico 5: Volume urinário excretado colhido de cada animal uma vez por semana no período noturno durante as quatro semanas de tratamento. Os dados de cada grupo experimental estão expressos em média \pm EPM. As barras em rosa representam os animais com RA e as em branco os animais sem RA, as barras da esquerda de cada semana representam os animais que receberam paroxetina e as da direita os animais que receberam salina.

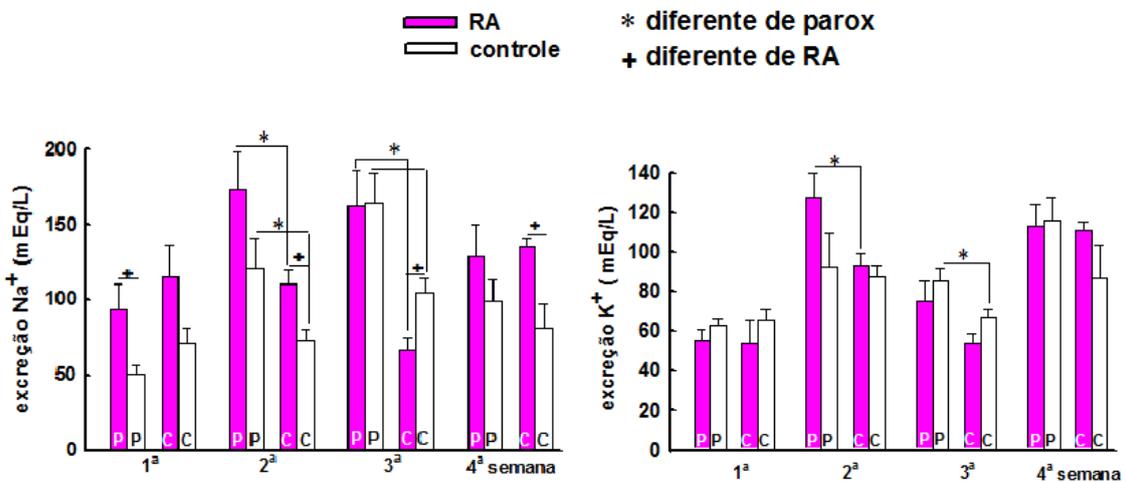


Gráfico 6: Excreção de sódio (à esquerda) e potássio (à direita). As amostras foram colhidas uma vez por semana no período noturno durante as quatro semanas de tratamento e seus valores são expressos em mEq. Os dados de cada grupo experimental estão expressos em média \pm EPM. As barras em rosa representam os animais com RA e as em branco os animais sem RA, as barras da esquerda de cada semana representam os animais que receberam paroxetina e as da direita os animais que receberam salina.

4.4 - Desafio Hidromineral - Depleção Aguda de Líquidos

A insuficiência aórtica ou o tratamento com paroxetina não modificaram estatisticamente a ingestão de água ou NaCl 0,3M após uma depleção aguda de líquidos, desafio produzido pelo tratamento combinado Furo/Cap, e também não modificou estatisticamente a excreção tanto de sódio quanto de potássio (gráfico 5).

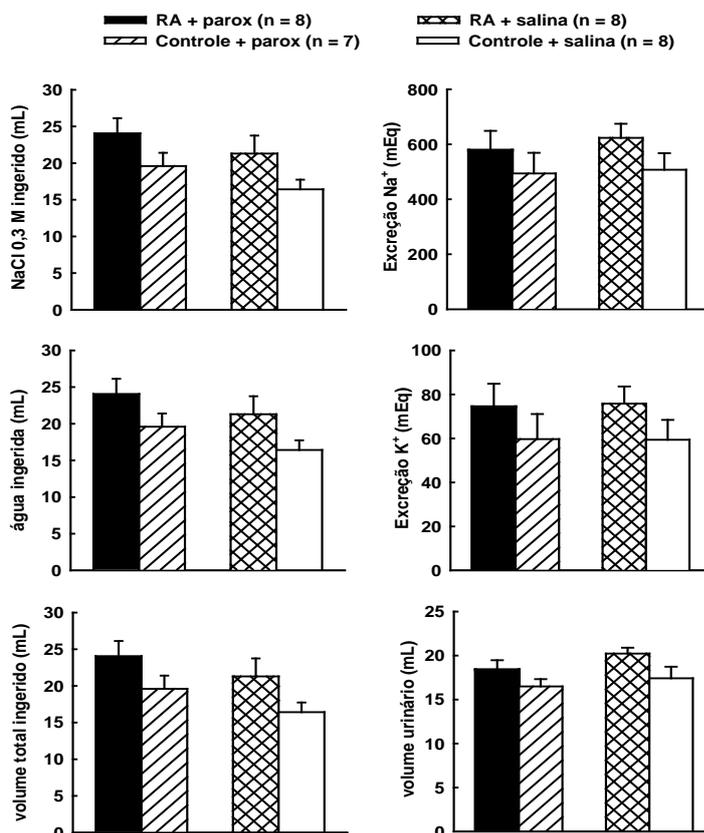


Gráfico 5: Lado esquerdo: volume ingerido de NaCl 0.3M, de água e total (mL) após o tratamento combinando Furo/Cap em ratos com RA e que receberam ou não tratamento com paroxetina. Lado direito: excreção de Na⁺, K⁺ (mEq) e volume urinário nessa mesma condição. Não houve diferenças estatísticas.

4.5 - Eutanásia

Ao final do experimento, na 12^a semana, os animais foram eutanasiados e seus corações foram retirados para pesagem das câmaras cardíacas, podendo assim compará-las entre os grupos, esses valores estão expressos na tabela 2. Podemos observar que não ocorreram diferenças significativas do peso corporal entre os grupos. Já o VE dos ratos do grupo RA + parox apresentou peso menor que dos ratos do grupo RA + controle, o que pode ajudar a explicar a melhora na função sistólica.

Tabela 2. Peso corporal, peso do ventrículo esquerdo (VE) e peso do ventrículo esquerdo corrigido para cada 100 g de peso corporal (VE/100 g pc) entre os 4 grupos estudados.

Grupos	Peso corporal (pc, g)	átrios/ 100 g pc	VD/100 g pc	VE/100 g pc
RA + parox (n =8)	438.5 ± 16.0	0.027 ± 0.002	0.071 ± 0.005	0.279 ± 0.014 ⁺
RA + contr (n =7)	413.0 ± 8.24	0.032 ± 0.002	0.071 ± 0.004	0.330 ± 0.014
Contr + parox (n =7)	453.7 ± 12.0	0.025 ± 0.003	0.066 ± 0.004	0.210 ± 0.004*
Contr + contr (n = 7)	418.3 ± 13.5	0.025 ± 0.001*	0.059 ± 0.004	0.206 ± 0.006*

Teste-t foi utilizado para comparações. *diferente de RA, ⁺ diferente da RA + contr.

V - Discussão

Os resultados desse trabalho mostram que o tratamento com paroxetina preservou os parâmetros morfofisiológicos do coração com regurgitação aórtica. Além disso o tratamento com ISRS também reduziu a ingestão diária de NaCl 0,3M e levou a um aumento da diurese, da excreção de sódio e potássio, sem modificar a ingestão diária de água. Na situação de depleção aguda de líquidos não ocorreu uma diferença estatística tanto na ingestão de água e solução salina, quanto na excreção de sódio e potássio.

Como dito antes, os ISRS atuam nas vias serotoninérgicas e já foi amplamente demonstrado na literatura que a 5-HT é responsável por modular o comportamento de ingestão de água e sais para manter a homeostase eletrolítica. O estudo de Cavalcante-Lima e colaboradores mostram que lesões nos núcleos da rafe, região mesencefálica rica em neurônios serotoninérgicos, aumentam a ingestão de sódio, corroborando com a ideia de que o controle da saciedade de sódio é regulado por vias serotoninérgicas oriundas dessa região cerebral (CAVALCANTE-LIMA et al., 2005).

Já Franchini e colaboradores, utilizando marcadores imuno-histoquímicos, mostraram que a modulação do apetite por sódio é determinada por uma rede neural da onde saem projeções serotoninérgicas dos núcleos da rafe e passam pela área postrema (AP), núcleos do trato solitário (NTS) e núcleo parabraquial lateral (NPBL), em concordância com estudos que mostram que estímulos serotoninérgicos sobre o NPBL exercem uma função inibitória no apetite de sódio, sendo então essas vias utilizadas para diferentes protocolos experimentais (FRANCHINI et al., 2002; DE GOBBI et al., 2000; DE GOBBI et al., 2007; DE LUCA et al., 2003; MENANI E JOHNSON, 1995; MENANI et al., 2002). O circuito neural AP/NTS e NPBL pode receber e transmitir informações viscerossensoriais sobre a pressão arterial e volume sanguíneo, contribuindo assim para a modulação do apetite de sódio (FRANCHINI et al., 2002; MENANI et al., 1996).

Portando há uma diminuição da ingestão de sódio causada pelas vias serotoninérgicas do núcleo da rafe, confirmando nossos resultados de ingestão diária de NaCl 0,3M. Sendo assim esse sistema é um dos responsáveis por evitar o excesso de sódio, impedindo uma conseqüente expansão da volemia.

Nossos resultados também mostram que o tratamento com paroxetina causou natriurese nos animais, em concordância com o estudo de Reis e colaboradores onde é

relatado que a administração intracerebroventricular de agonistas do receptor serotoninérgico do subtipo 5-HT₂ em ratos aumenta a excreção de sódio (REIS et al., 1991). Provavelmente a natriurese ocorra por causa do aumento da secreção de ocitocina (OT). Estudos mostram que a liberação de 5-HT, injeções periféricas de agonistas serotoninérgicos, ou ativação de seus receptores do subtipo 5-HT₂ e 5-HT_{1A} resulta em um aumento da concentração plasmática de OT (SAYDOFF et al., 1991; BAGDY E KALOGERAS, 1993; DE MAGALHÃES-NUNES et al., 2007). A secreção de OT pode se dar através de um efeito direto causado pelos estímulos serotoninérgicos nos corpos celulares dos núcleos supra-óticos e paraventricular do hipotálamo, ou nos terminais nervosos do lobo neural que contém OT, ou então a 5-HT pode ter um efeito periférico na secreção de OT atuando nos sítios cerebrais fora da barreira hematoencefálica (SAYDOFF et al., 1991). Um estudo feito com sertralina, um outro ISRS mostrou que esse antidepressivo aumentou os níveis plasmáticos de vasopressina (AVP) e OT (DE MAGALHÃES-NUNES et al., 2007), nos levando a acreditar que a paroxetina exerça a mesma influência.

Tanto machos quanto fêmeas têm quantidades similares de OT plasmático, então a presença de OT na circulação vem sendo relacionada na literatura não apenas com lactação, mas também com outras atividades fisiológicas. Vários estudos mostram que a ocitocina tem papel importante no sistema cardiovascular, pois está presente na transformação de células fetais em cardiomiócitos (JANKOWSKY et al., 2010) e também modula o controle barorreflexo do coração através do complexo vagal solitário, melhorando a resposta bradycárdica (HIGA et al., 2002). O estudo de Cavalleri e colaboradores mostrou que o treinamento aeróbio além de promover a remodelação cardíaca, também aumenta a atividade de neurônios contendo OT no núcleo paraventricular do hipotálamo e a liberação desse hormônio diminui a frequência cardíaca nos indivíduos em repouso e melhora a resposta taquicárdica durante o exercício (CAVALLERI et al., 2011). Assim sendo postulamos que a ocitocina, liberada pelas vias centrais serotoninérgicas, está envolvida na remodelação do ventrículo esquerdo dos ratos com RA, melhorando também seus parâmetros funcionais.

Além disso, estudos mostram que a OT também atua no balanço hidromineral, pois está associada com a secreção do peptídeo natriurético atrial (ANP) pelos átrios. Esse peptídeo atua na homeostase dos fluidos corporais aumentando a excreção de água e sais e diminuindo a ingestão dos mesmos. O ANP é normalmente liberado na circulação após uma expansão de volume sanguíneo, seguindo para o rim e atuando de

forma inibitória na liberação de renina, diminuindo assim a ação da ANG II e aumentando a diurese, natriurese e caliurese.

Um estudo realizado por Antunes-Rodrigues e colaboradores relata que o sistema nervoso central está envolvido no controle da liberação do ANP, onde a região anteroventral do 3º ventrículo (AV3V), que possui corpos celulares contendo ANP, projeta seus axônios para a eminência mediana (ME) e para o lóbulo neural da hipófise, e seus resultados mostram que lesões na ME que bloqueiam a liberação de OT também abolem o efeito natriurético da solução hipertônica injetada na região AV3V e a liberação de ANP pelos átrios (ANTUNES-RODRIGUES et al., 1991). A partir da informação de que há maior quantidade de ANP nos átrios do que nos neurônios, Haanwinckel e colaboradores testaram a hipótese de que os neurônios de ANP atuam na neurohipófise liberando OT e essa por sua vez modularia a secreção de ANP pelos átrios. Seus resultados mostram que há um aumento nos níveis plasmáticos de OT após uma expansão de volume e que injeções de ocitocina causam uma elevação concomitante da concentração plasmática de ANP, resultando em uma maior excreção de sódio e potássio (HAANWINCKEL et al., 1995). O aumento da caliurese indica que a função fisiológica de OT e ANP na regulação do fluido extracelular seja acompanhada paralelamente de uma redução menos expressiva do fluido intracelular pela excreção de potássio, já que esse é o principal íon intracelular.

Mais estudos são necessários para testar se OT atua diretamente na liberação de ANP pelos átrios ou se essas duas substâncias tem efeito sinérgico no aumento da natriurese. Contudo, os resultados desse trabalho estão de acordo com a hipótese de que a serotonina favoreça a liberação de OT, uma vez que a paroxetina exerceu um efeito natriurético nos ratos que receberam o tratamento, e também levando a crer que esses peptídeos estão relacionados com a melhora da função sistólica dos animais com regurgitação aórtica tratados com paroxetina.

Não podemos desconsiderar que pacientes idosos tratados com ISRS apresentam hiponatremia sendo que, numa revisão bibliográfica feita por Liu e colaboradores, a paroxetina foi responsável por 12,4% dos casos de hiponatremia associada ao uso dessa classe de antidepressivos (JACOB E SPINLER, 2006; LIU et al., 1996; ROMERO et al., 2007). A hiponatremia é caracterizada pela rápida diminuição do sódio sérico sua principal causa é a síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético (ROMERO et al., 2007). Já a hiponatremia causada pelo uso de um ISRS pode se dar pela associação do efeito da OT em promover a natriurese e inibir a ingestão de sal,

junto do efeito da AVN em reabsorver água, lembrando que a ativação das vias centrais serotoninérgicas pelo ISRS resulta no aumento da secreção desses hormônios. Em contrapartida, devemos ressaltar que pacientes com problemas cardíacos têm dificuldade em aderir a dietas pobres em sal. Considerando isso é possível que esses pacientes possam se beneficiar da hiponatremia causada pelo ISRS, sendo que esses antidepressivos se mostraram benéficos ao coração. Mas a dose deve ser muito bem calculada levando em conta a administração concomitante dos diuréticos utilizados nessa situação de hiponatremia.

Em conclusão nossos resultados até o momento sugerem que o aumento dos níveis de serotonina central, causado pela administração da paroxetina, alteram fatores neuroendócrinos como a OT e a VNP resultando em benefícios ao sistema cardiovascular exposto a uma situação de sobrecarga induzida pela RA, tanto de forma direta ao melhorar a função sistólica, quanto de forma indireta por diminuir a ingestão de sódio e aumentar a excreção renal impedindo a expansão de volume.

VI – Referências Bibliográficas

- ANTUNES-RODRIGUES J, RAMALHO MJP, REIS LC, MENANI JV, TURRIN MQA, GUTKOWSKA J, McCANN SM. Lesions of the hypothalamus and pituitary inhibit volume expansion-induced release of atrial natriuretic peptide (ANP). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:2956–2960; 1991.
- ARSENAULT M, PLANTE E, DROLET MC, COUET J. Experimental aortic regurgitation in rats under echocardiographic guidance. *J Heart Valve Dis.*, 11(1):128-34, 2002.
- BAGDY G, KALOGERAS KT. Stimulation of 5-HT₁ and 5-HT₂/5-HT_{2c} receptors induces oxytocin release in the male rat. *Brain Res.* 611:330-332; 1993.
- BENNETT SJ, HUSTER GA, BAKER SL, MILGROM LB, KIRCHGASSNER A, BIRT J, PRESSLER ML. Characterization of the precipitants of hospitalization for heart failure decompensation. *Am J Crit Care.*, 7:168-174, 1998.
- BORER JS, HOCHREITER C, HERROLD EM, SUPINO P, ASCHERMANN M, WENCKER D, DEVEREUX RB, ROMAN MJ, SZULC M, KLIGFIELD P, ISOM OW. Prediction of indications for valve replacement among asymptomatic or minimally symptomatic patients with chronic aortic regurgitation and normal left ventricular performance. *Circulation.*; 97:525–534, 1998.
- BONOW RO, CARABELLO B, DE LEON AC JR, EDMUNDS LH JR, FEDDERLY BJ, FREED MD, GAASH WH, McCAY CR, NISHIMURA RA, O’GARA PT, O’ROURKE RA, RASHMTOOLA SH, RITCHIE JL, CHEITLIN MD, EAGLE KA, GARDNER TJ, GARSON A JR, GIBBONS RH, RUSSEL RO, RYAN TH, SMITH SC JR. Guidelines for the management of patients with valvular heart disease: executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Patients with Valvular Heart Disease). *Circulation.* Nov 3;98(18):1949-84, 1998.
- BUGGY J, JOHNSON AK. Angiotensin-induced thirst: effects of third ventricle obstruction and periventricular ablation. *Brain Res.*, 149(1):117-28, 1978.
- BRUTON, L L; PARKER, K L (Eds). *Goodman e Gilman Manual de farmacologia e terapêutica*, p.1219, Porto Alegre: AMGH, 2010.
- CAVALCANTE-LIMA HR, BADAUÊ-PASSOS D JR, DE-LUCA W JR, LIMA HR, COSTA-E-SOUSA RH, OLIVARES EL, CEDRAZ-MERCEZ PL, REIS RO, MEDEIROS MA, CÔRTEZ WS, REIS LC. Chronic excitotoxic lesion of the dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. *Braz J Med Biol Res.*;38(11):1669-75, 2005.
- CAVALLERI MT, BURGI K, CRUZ JC, JORDÃO MT, CERONI A, MICHELINI LC. Afferent signaling drives oxytocinergic preautonomic neurons and mediates training-induced plasticity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301(4):R958-66, 2011.
- DE GOBBI JI, MARTINEZ G, BARBOSA SP, BELZ TG, DE LUCA LA JR, THUNHORST RL, JOHNSON AK, MENANI JV. 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the lateral parabrachial nucleus mediate opposite effects on sodium intake. *Neuroscience*; 146(4):1453-61, 2007.

DE GOBBI JI, DE LUCA LA JR, MENANI JV. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium intake. *Brain Res*; 880(1-2):131-8, 2000.

DE LUCA, LA JR; BARBOSA, SP; MENANI, JV. Brain serotonin blockade and paradoxical salt intake in rats. *Neuroscience*; v.121. p.1055-61, 2003.

DiBONA GF, SAWIN L. Role of renal nerves in sodium retention of cirrhosis and congestive heart failure. *Am J Physiol.*;260:R298–R305, 1991.

FRANCHINI LF, JOHNSON AK, DE OLMOS J, VIVAS L. Sodium appetite and Fos activation in serotonergic neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* ;282(1):R235-43, 2002.

FITZSIMONS, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev.*, 78(3):583-686, 1998.

GOLDING M, KOTLYAR M, CARSON SW, HOYLER S, LAZARUS C, DAVIDSON C, GUZZO J, SONTZ E, GARBUTT JC. Effects of paroxetine on cardiovascular response to mental stress in subjects with a history of coronary artery disease and no psychiatric diagnoses. *Psychopharmacology*;182(3):321-6, 2005.

GRIPPO AJ, BELTZ TG, WISS RM, JOHNSON AK. The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Biol Psychiatr*;59(4):309-16, 2006.

GRIPPO AJ, JOHNSON AK. Stress, depression and cardiovascular dysregulation: a review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models. *Stress*. 2009; 12: 1-21, 2009.

HANNWINCKEL MA, ELIAS LK, FAVARETTO ALV, GUTKOWSKA J, McCANN SM, ANTUNES-RODRIGUES J. Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92:7902–7906; 1995.

HAVRANEK, E.P.; MASOUDI, F.A.; WESTFALL, K.A.; WOLFE, P.; ORDIN, D.L.; KRUMHOLZ, H.M. Spectrum of heart failure in older patients: results from the National Heart Failure project. *Am Heart J*, 143:412-417, 2002.

HASENFUSS G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovasc Res.* Jul;39(1):60-76,1998.

HIGA KT, MORI E, VIANA FF, MORRIS M, MICHELINI LC. Baroreflex control of heart rate by oxytocin in the solitary-vagal complex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 282(2):R537-45, 2002.

HUNT SA, BAKER DW, CHIN MH, CINQUEGRANI MP, FELDMANMD AM, FRANCIS GS, GANIATS TG, GOLDSTEIN S, GREGORATOS G, JESSUP ML, NOBLE J, PACKER M, SILVER MA, STEVENSON LW, GIBBONS RJ, ANTMAN EM, ALPERT JS, FAXON DP, FUSTER V, JACOBS AK, HIRATZKA LF, RUSSEL RO, SMITH SC JR. American College of Cardiology/American Heart Association.

ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J Am Coll Cardiol*, 38:2101-2113, 2001.

LIMA HR, CAVALCANTE-LIMA HR, CEDRAZ-MERCEZ PL, COSTA-E-SOUSA RH, OLIVARES EL, BADAUÊ-PASSOS D JR, MEDEIROS MA, CÔRTEZ WS, REIS LC. Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or beta-adrenergic stimulation. *An Acad Bras Cienc.*; 76(1): 85-92, 2004.

JACOB S, SPINLER SA. Hyponatremia associated with selective serotonin-reuptake inhibitors in older adults. *Ann Pharmacother*, 40(9):1618-22, 2006.

JANKOWSKI M, BOSSONAUTH V, GAO L, GANGAL M, WANG D, DENALACHE B, WANG Y, STOYANOVA E, CLOUTHIER G, BLAISE G, GUTKOWSKA J. Anti-inflammatory effect of oxytocin in rat myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*, 105: 205–218, 2010.

JANKOWSKI M, DENALACHE B, WANG D, BHAT P, HAJJAR F, MARCINKIEWICZ M, PAQUIN J, McCANN SM, GUTKOWSKA J. Oxytocin in cardiac ontogeny. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101:13074 –79, 2004.

JOHNSON AK, THUNHORST RL. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. *Front Neuroendocrinol.*, 18(3):292-353, 1997.

KUEHNEMAN T, SAULSBURY D, SPLETT P, CHAPMAN DB. Demonstrating the impact of nutrition intervention in a heart failure program. *J Am Diet Assoc*, 102: 1790 – 1794, 2002.

KOBAYASHI H, YASUDA S, BAO N, IWASAM, KAWAMURA I, YAMADA Y, YAMAKI T, SUMI S, USHIKOSHI H, NIISHIGAKI K, TAKEMURA G, FUJIWARA T, FUJIWARA H, MINATOBUCHI S. Post-infarct treatment with oxytocin improves cardiac function and remodeling via activating cell-survival signals and angiogenesis. *J Cardiovasc Pharmacol*, 54: 510–519, 2009.

LIU BA, MITTMANN N, KNOWLES RS, SHEAR NH. Hyponatremia and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone associated with the use of selective serotonin reuptake inhibitors: a review of spontaneous report. *Can Med Assoc J*, 155:519 – 527, 1996.

DE MAGALHÃES-NUNES AP, BADAUÊ-PASSOS D JR, VENTURA RR, GUEDES DAS JR, ARAÚJO JP, GRANADEIRO PC, MILANEZ-BARBOSA HK, DA COSTA-E-SOUSA RH, DE MEDEIROS MA, ANTUNES-RODRIGUES J, REIS LC. Sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor, affects thirst, salt appetite and plasma levels of oxytocin and vasopressin in rats. *Exp Physiol*, 92(5):913-22, 2007.

MENANI JV, BARBOSA SP, DE LUCA LA JR, DE GOBBI JI, JOHNSON AK. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus and cholinergic-induced sodium appetite. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*; 282(3):R837-41, 2002.

MENANI JV, JOHNSON AK. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. *Am J Physiol*;269:R1044-9, 1995.

MENANI JV, THUNHORST RL, JOHNSON AK. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rat. *Am J Physiol*, 270: 162-168, 1996.

NOISEUX N, BORIE M, DESNOYERS A, MENAOUAR A, STEVENS LM, MANSOUR S, DANALACHE BA, ROY DC, JANKOWSKI M, GUTKOWSKA J. Preconditioning of stem cells by oxytocin to improve their therapeutic potential. *Endocrinology*, 153(11):5361-72, 2012.

OLSON LJ, SUBRAMANIAN R, EDWARDS WD. Surgical pathology of pure aortic insufficiency: a study of 225 cases. *Mayo Clin Proc.*; 59: 835–841, 1984.

PAQUIN J, DANALACHE BA, JANKOWSKI M, McCANN SM, GUTKOWSKA J. Oxytocin induces differentiation of P19 embryonic stem cells to cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99:9550 –55, 2002.

PENNINX BW, BEEKMAN AT, HONIG A, DEEG DJ, SCHOVERS RA, VAN EIJK JT, VANT TIBURG W. Depression and cardiac mortality: results from a community-based longitudinal study. *Arch Gen Psychiatry*. Mar;58(3):221-7, 2001.

REIS LC, RAMALHO MJ, ANTUNES-RODRIGUES. Effect of central administration of serotonergic agonists on electrolyte excretion control. *Braz J Med Biol Res*. 24(6): 633-41, 1991.

ROMERO S, PINTOR L, SERRA M, PLANA T, NAVARRO V, GASTÓ C, GOLDSTEIN B. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone due to citalopram and venlafaxine. *Gen Hosp Psychiatry*, 29(1):81-4, 2007.

SAKAI RR, FINE WB, EPSTEIN AN, FRANKMANN SP. Salt appetite is enhanced by one prior episode of sodium depletion in the rat. *Behav Neurosci*, 101:724-731, 1987.

SAYDOFF JA, RITTENHOUSE PA, VAN DE KAR LD, BROWNHELD MS. Enhanced serotonergic transmission stimulates oxytocin secretion in conscious male rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257:95-99: 1991.

STAHL SM. *Psicofarmacologia dos antidepressivos*. s.l.: Martin Dunitz, 1997. 114p.

STEVENSON LW, NOHRIA A, MIELNICZUK L. Torrent or Torment From the Tubules? Challenge of the Cardiorenal Connections. *J Am Coll Cardiol*, 45:2004-2007, 2005.

TAKAMATA A, MACK GW, GILLEN CM, NADEL ER. Sodium appetite, thirst, and body fluid regulation in humans during rehydration without sodium replacement. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 266:R1493-R1502, 1994.

TARASOUTCHI F, GINBERG M, SPINA GS, SAMPAIO RO, CARDOSO LF, ROSSI EG, POMERANTZEFF P, LAURINDO F, DA LUZ PL, RAMIRES JA. Ten-year clinical laboratory follow-up after application of a symptom-based therapeutic strategy to patients with severe chronic aortic regurgitation of predominant rheumatic

etiology. *J Am Coll Cardiol.*;41(8):1316-24, 2003.

THIBONNIER M, CONARTY DM, PRESTON JA, PLESNICHER CL, DWEIK RA, ERZURUM S. Human vascular endothelial cells express oxytocin receptors. *Endocrinology*, 140:1301-9, 1999.

TUCKER P, ADAMSON P, MIRANDA R JR, SCARBOROUGH A, WILLIAMS D, GROFF J, McLEAN H. Paroxetine increases heart rate variability in panic disorder. *J Clin Psychopharmacol*; 17(5):370-6, 1997.

URZEDO-RODRIGUES LS, FERREIRA HS, ALMEIDA DO, MEDEIROS JP, BATISTA A, DE CASTRO E SILVA E, FREGONEZE JB. Blockade of 5-HT₃ receptors at septal area increase blood pressure in unanaesthetized rats. *Auton Neurosci*;159(1-2):51-61, 2011.

VAN DER KOOY K, VAN HOUT H, MARWIJK H, MARTEN H, STEHOUWER C, BEEKMAN A. Depression and the risk for cardiovascular diseases: systematic review and meta analysis. *Int J Geriatr Psychiatry*; 22(7):613-26, 2007.

VERBALIS JG. Disorders of body water homeostasis. *Endocrinol & Metabolism*; 17: 471-503, 2003.

WALLER BF, TALIERCIO CP, DICKOS DK, HOWARD J, ADLAM JH, JOLLY W. Rare or unusual causes of chronic, isolated, pure aortic regurgitation. *Clin Cardiol*. 1990;13:577-581, 1990.

WEISINGER RS, BLAIR-WEST JR, BURNS P, DENTON DA, MCKINLEY MJ, TARJAN E. The role of angiotensin II in ingestive behaviour: a brief review of angiotensin II, thirst and Na appetite. *Reg. Peptides*, 66:73-81, 1996.

ZUCKER IH, SCHULTZ HD, LI Y, WANG Y, WANG W, PATEL KP. The origin of sympathetic outflow in heart failure: the roles angiotensin II and nitric oxide. *Progress in biophysics and molecularbiology*; 84: 217-232, 2004.