RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 21/12/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Mecanismo neuroquímico local envolvido no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição por diferentes regiões da porção posterior do córtex insular em ratos

Adrielly dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Luiz Nunes de Souza

Coorientador: Prof. Dra. Cristiane Busnardo Santiago

Araraquara - SP
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

Mecanismo neuroquímico local envolvido no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição por diferentes regiões da porção posterior do córtex insular em ratos

Adrielly dos Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Luiz Nunes de Souza

Coorientador: Prof. Dra. Cristiane Busnardo Santiago

Araraquara- SP

2023

Santos, Adrielly dos.
S237m Mecanismo neuroquímico local envolvido no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição por diferentes regiões da porção posterior do córtex insular em ratos / Adrielly dos Santos. – Araraquara, 2023.
74 f. : il.

Orientador: Ricardo Luiz Nunes de Souza.
Coorientadora: Cristiane Busnardo Santiago.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

1. Ínsula. 2. Estresse de restrição. 3. Topografia. 4. Glutamato. 5. GABA. I. Souza, Ricardo Luiz Nunes de, orient. II. Santiago, Cristiane Busnardo, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Mecanismo neuroquímico local envolvido no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição por diferentes regiões da porção posterior do córtex insular em ratos

AUTORA: ADRIELLY DOS SANTOS

ORIENTADOR: RICARDO LUIZ NUNES DE SOUZA

COORIENTADORA: CRISTIANE BUSNARDO SANTIAGO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Dra. CRISTIANE BUSNARDO SANTIAGO (Participaçao Virtual)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciencias Farmaceuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. GUILHERME FLEURY FINA SPERETTA (Participaçao Virtual)
Centro de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências Fisiológicas / Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr. DANIEL BRESEGHELLO ZOCCAL (Participaçao Virtual)
Departamento de Fisiologia e Patologia / Faculdade de Odontologia do Campus de Araraquara da Unesp

Araraquara, 21 de dezembro de 2023

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha mãe, que sempre compreendeu minhas escolhas com carinho e acolhimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, por ter me protegido, dirigido e corrigido em todos os dias da minha vida.

À **minha mãe Silvia e minha irmã Aline**, que me apoiaram durante todas as etapas dessa caminhada. Vocês são a coisa mais importante que eu tenho na vida.

Ao **Prof. Dr. Carlos C. Crestani** pela orientação e acima de tudo pela confiança e acolhimento em todos os momentos, com quem eu aprendi muito, inclusive farmacologia e neurociência. Ao **Prof. Dr. Ricardo Luiz Nunes de Sousa** pela disponibilidade e a gentileza que sempre demonstrou comigo nesse processo.

Aos professores **Dr.Marcelo Tadeu Marin e Dra.Cleopatra da Silva Planeta** que me receberam no Programa de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior (PAADES) e compartilharam suas experiencias de docência com ensinamentos que levarei para minha carreira.

À minha coorientadora **Profª. Dr. Cristiane Busnardo Santiago (Cris)**, por seus ensinamentos acadêmicos, sua paciência e carinho. Eu tive sorte de ter encontrado você nessa jornada.

A **Profª. Dra. Juliana Alvares Duarte Bonini Campos** e ao **Grupo de Pesquisa LEV**, por nunca deixarem de ser minha família acadêmica.

Aos integrantes do **laboratório de farmacologia da UNESP Araraquara** agradeço pela disposição do dia a dia em ajudar e contribuir para o meu crescimento. Em especial, agradeço aos integrantes onde a convivência diária me permitiu viver momentos felizes e construir amizades além do laboratório: Bianca Meneghetti, Gabriela Arruda, Higor Paz, Leandro Oliveira, Ligia Tavares, Lilian Reis, Luana Giatti, Lucas Gomes, Lucas Barretto, Sarah Zela e Vinicius Pelarin.

A minha psicóloga **Julia Muraro** pelo amparo psicológico. Obrigada por me orientar no processo de recolorir a minha vida.

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas** (FCFar/UNESP) pelo espaço físico e equipamentos oferecidos para o desenvolvimento do projeto e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade.

Agradeço a secretária do departamento **Tirene Pavanelli**, e aos secretários do programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas **Cláudia Molina, Victor Picchi Gandin, Denise Daré e Mariana Vicenzo** por todo profissionalismo e atenção.

Aos examinadores de qualificação e defesa, **Profª.Dra. Cleopatra da Silva Planeta, Prof. Dr**. **Daniel Breseghello Zoccal** e **Prof. Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta** por terem aceitado fazer parte desse momento muito importante na minha carreira e pelas contribuições nesse trabalho e na minha formação acadêmica.

A agência de fomento **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** (FAPESP – processo 2022/03070-9) pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Além disso, meu profundo agradecimento e respeito a todos os **animais** que foram utilizados nesta pesquisa.

EPÍGRAFE

희망이 있는 곳엔 반드시 시련이 있네

Onde há esperança, há dificuldades.

RESUMO

A sobrevivência das espécies diante de eventos aversivos ou estressores depende de um coordenado conjunto de ajustes fisiológicos e comportamentais. O córtex insular [do inglês, *insular cortex* (IC)] é uma estrutura cortical que foi implicada na integração e processamento de informações límbicas em humanos e animais e, nesse sentido, foi reportado estar envolvido na geração de respostas fisiológicas e comportamentais durante situações de estresse. Um estudo recente explorou a participação de sítios específicos ao longo do eixo rostro-caudal do IC no controle da função cardiovascular em roedores no estresse de restrição. Foi evidenciado que o bloqueio sináptico não-seletivo na região anterior do IC não afetou as respostas cardiovasculares ao estresse de restrição, ao passo que bloqueios na porção posterior-rostral reduziu a resposta pressora e a inibição da sub-região posterior-caudal causou redução da resposta taquicárdica. Foi avaliada também a ativação neuronial ao longo do eixo rostro-caudal do IC e foi elucidado que o controle da resposta taquicárdica pela porção caudal foi associada com uma diminuição no número de células positivas para a proteína Fos, o que indica uma redução na ativação neuronial local; ao passo que o controle da resposta pressora pela porção rostral foi acompanhado de aumento de células positivas para Fos. Esses dados indicam que o controle das respostas cardiovasculares ao estresse pelas sub-regiões rostral e caudal da porção posterior do IC seja mediado por diferentes mecanismos neuroquímicos excitatórios ou inibitórios. Assim, o presente estudo visa testar a hipótese de que a resposta de aumento da pressão arterial pela sub-região posterior-rostral está relacionado principalmente com mecanismos glutamatérgicos locais enquanto o controle da resposta taquicárdica pela porção caudal do IC posterior é mediado predominantemente por mecanismos inibitórios. Nós identificamos que o tratamento do IC posterior-rostral com ácido quinurênico (antagonista não-seletivo de receptores gluatamatérgicos ionotrópicos) não afetou significativamente as respostas taquicárdicas e de queda da temperatura cutânea da cauda induzidas pelo estresse de restrição agudo, contudo houve uma tendência de diminuição da resposta pressora. Observamos também que a microinjeção bilateral de um coquetel de SR95531 (gabazina, antagonista do receptor $GABA_A$) e CGP35348 (antagonista do receptor $GABA_B$) facilitou a resposta de taquicardia causada pela restrição, porém sem alterar significativamente a resposta pressora e a queda da temperatura cutânea da cauda. Adicionalmente, o tratamento do IC posterior-caudal com ácido quinurênico (antagonista não-seletivo de receptores gluatamatérgicos ionotrópicos) não afetou significativamente as respostas, pressora, taquicárdicas e de queda da temperatura cutânea da cauda induzidas pelo estresse de restrição agudo ao passo que microinjeção bilateral de um coquetel de SR95531 (gabazina, antagonista do receptor $GABA_A$) e CGP35348 (antagonista do receptor $GABA_B$) reduziu significativamente a resposta de taquicardia causada pela restrição, porém sem alterar significativamente a resposta pressora e a queda da temperatura cutânea da cauda. Em conjunto, os resultados obtidos até o presente momento sugerem um envolvimento da neurotrasmissão GABAérgica nas respostas taquicárdicas ao estresse de restrição agudo ao longo do eixo rostrocaudal no IC posterior, e que na porção rostral essa influência é inibitória enquanto na porção caudal ela é facilitatória.

Palavras-chave: ínsula; estresse de restrição; topografia; glutamato; GABA

ABSTRACT

The survival of species in the face of aversive or stressful events depends on a coordinated set of physiological and behavioral adjustments. The insular cortex (IC) is a cortical structure that has been implicated in the integration and processing of limbic information in humans and animals. In fact, it has been reported to be involved in the generation of physiological and behavioral responses during stessful situations. A recent study explored the participation of specific sites along the rostrocaudal axis of the IC in the control of cardiovascular function in rodents subjected to restraint stress. It was observed that non-selective synaptic blockade in the anterior region of the IC did not affect cardiovascular responses to restraint stress, whereas inhibition in the posterior portion impaired the pressor response and inhibitors in the posterior-caudal portion caused a reduction of the tachycardic response. Neuronal activation along the rostrocaudal axis of the IC was also evaluated and it was elucidated that the control of the tachycardic response by the caudal function was associated with a decrease in the number of cells positive for the Fos protein, which indicates a reduction in neuronal activation local; whereas control of the pressor response by the rostral portion was accompanied by an increase in Fos-positive cells. These data indicate that the control of cardiovascular responses to stress by the rostral and caudal subregions of the posterior portion of the IC is mediated by different excitatory or inhibitory neurochemical mechanisms. Thus, the present study aims to test the hypothesis that the response to increased blood pressure by the posterior-rostral subregion is mainly related to local glutamatergic mechanisms, while the control of the tachycardic response by the caudal portion of the posterior IC is predominantly mediated by inhibitory mechanisms. We identified that treatment of the posterior-rostral IC with kynurenic acid (a non-selective antagonist of ionotropic glutatamatergic receptors) did not significantly affect the tachycardic responses and the drop in tail temperature observed induced by acute restraint stress, but there was a tendency for the pressor response to decrease. . We also observed that bilateral microinjection of a cocktail of SR95531 (gabazine, $GABA_A$ receptor antagonist) and CGP35348 ($GABA_B$ receptor antagonist) facilitated the tachycardia response caused by restriction, but without significantly altering the pressor response and the drop in the specific temperature of the tail. Furthermore, treatment of the posterior-caudal IC with kynurenic acid (non-selective antagonist of ionotropic glutatamatergic receptors) does not significantly affect the observed pressure, tachycardic and temperature drop responses of the tails caused by acute restraint stress, whereas microinjection bilateral combination of a cocktail of SR95531 (gabazine, $GABA_A$ receptor antagonist) and CGP35348 ($GABA_B$ receptor antagonist) significantly impairs the tachycardia response caused by restriction, but without significantly altering the pressor response and the drop in tail-specific temperature. Taken together, the results obtained suggest an involvement of GABAergic neurotransmission in tachycardic responses to acute restraint stress along the rostrocaudal axis in the posterior IC, and that in the rostral portion this influence is inhibitory while in the caudal position it is facilitatory.

Keywords: insula; restraint stress; topography; glutamate; GABA.

SUMÁRIO

2. REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 Estresse 18
2.2 Respostas cardiovasculares ao estresse 21
2.3 Córtex Insular 22
3. OBJETIVOS 29
8. CONCLUSÃO 30
9. REFERÊNCIAS 31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA)..... 20
Figura 2 - Localização do córtex insular (IC) no encéfalo humano e do camundongo..... 23

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - hormônio adrenocorticotrófico

AMPA - α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-ácido propiônico

AVP - arginina vasopressina

CRH - hormônio liberador de corticotropina

FC - frequência cardíaca

GAD - enzima glutamato descarboxilase

GABA- ácido gama-aminobutírico

HPA - hipotálamo-hipófise-adrenocortical

IC – córtex insular

KA - cainato

L-Glu – Glutamato

LH - hipotálamo lateral

mPFC -córtex pré-frontal medial

NMDA - N-metil-D-aspartato

NLET- núcleo leito da estria terminal

NTS - núcleo do trato solitário

PA - pressão arterial

PAM - pressão arterial média

PAG - substância cinzenta periarquedutal

PVN - núcleo paraventricular do hipotálamo

RVLM - bulbo ventrolateral rostral

SNC - sistema nervoso central

1. INTRODUÇÃO

Diante da exposição a eventos estressantes e aversivos todas as espécies desencadeiam um conjunto coordenado de respostas adaptativas fisiológicas e comportamentais que visam a manutenção da homeostasia e a preservação da vida (CRESTANI, 2016; STERLING, 2012; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). Esses ajustes fisiológicos ao estresse são promovidos por alterações no sistema nervoso central (SNC) e incluem alterações autônomas, cardiovasculares, neuroendócrinas, metabólicas e imunológicas (CRESTANI, 2016; DAMPNEY, 2015; HERMAN, 2022; ZEFFERINO *et al*., 2021). As alterações autônomas são imediatas e se caracterizam principalmente pelo aumento da atividade nervosa simpática e das catecolaminas circulantes, e também por alterações na atividade do barorreflexo, esse conjunto de alterações resulta em respostas cardiovasculares induzidas pelo estresse que incluem aumento na pressão arterial (PA) e na frequência cardíaca (FC) e alterações na temperatura da cauda, que é resultado da redistribuição do fluxo sanguíneo, caracterizado por uma redução na perfusão cutânea e visceral e aumento na musculatura esquelética (CRESTANI, 2016; DAMPNEY, 2015; DAMPNEY *et al*., 2008).

As respostas fisiológicas ao estresse são mediadas por estruturas límbicas no SNC, e através da ação de diferentes neurotransmissores (DAMPNEY, 2015; FONTES *et al*., 2011; JOËLS; BARAM, 2009; MYERS, 2017; NAKAMURA; MORRISON, 2022; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). Entre as estruturas responsáveis pela integração e processamento de informações límbicas podemos destacar uma estrutura cortical denominada córtex insular [do inglês, insular cortex (IC)], cuja ativação diante de situações aversivas foi reportada em humanos e roedores (AUGUSTINE, 1996; CECHETTO, 1994; CULLINAN *et al*., 1995; GIANAROS *et al*., 2007; GOGOLLA, 2017; NIEUWENHUYS, 2012; UDDIN, 2015; YOKOYAMA; SASAKI, 1999). A

localização dessa estrutura difere entre humanos e roedores. Enquanto nos primatas, incluindo humanos, o IC localiza-se profundamente na altura do sulco lateral de cada hemisfério, abaixo de partes dos lobos frontal, parietal e temporal; nos roedores o IC encontra-se exposto na superfície lateral dos hemisférios, e localiza-se acima da metade rostral do sulco rinal (GOGOLLA, 2017; OPPENHEIMER; CECHETTO, 2016). Contudo, apesar da diferença na localização, observa-se vasta homologia na citoarquitetura, conexões e funções do IC em ambas as espécies (GOGOLLA, 2017; MORAGA-AMARO; STEHBERG, 2012; NAMKUNG *et al*., 2017).

O envolvimento do IC na geração de respostas aos estímulos aversivos se relaciona com suas conexões com um extensivo conjunto de estruturas corticais e subcorticais, o que permite a integração de informações sensoriais, emocionais, motivacionais e cognitivas (GOGOLLA, 2017; MORAGA-AMARO; STEHBERG, 2012; NIEUWENHUYS, 2012; SCHAEUBLE; MYERS, 2022; UDDIN, 2015). Por exemplo, o IC é conectado com vários núcleos amigdaloides, bem como com o córtex pré-frontal medial (mPFC), o núcleo leito da estria terminal (NLET), o hipotálamo lateral (LH), a substância cinzenta periaqueductal (PAG), entre outras áreas límbicas (ALLEN *et al*., 1991; AUGUSTINE, 1996; NOMI *et al*., 2018; SAPER, 1982; SHI; CASSELL, 1998). Nesse sentido, o IC integra informações límbicas diversas e através de conexões com estruturas hipotalâmicas e do tronco cerebral está envolvido na geração de respostas fisiológicas e comportamentais durante situações de estresse.

Uma participação do IC na rede neural envolvida na função cardiovascular já foi evidenciada na literatura. Contudo, vale ponderar que as respostas cardiovasculares observadas após a estimulação do IC em animais em repouso (isto é, não-estressados) apresentaram um perfil sítio-específico. Por exemplo, a estimulação da porção anterior causou diminuição da PA (HARDY; HOLMES, 1988; HARDY; MACK, 1990; SUN,

1992) enquanto a estimulação de sítios na porção posterior causou redução na resposta pressora acompanhada de taquicardia ou uma redução tanto da PA quanto da FC (VERBERNE; OWENS, 1998). Vale destacar que as respostas cardiovasculares variadas decorrentes da estimulação da porção posterior foram dependentes da região estimulada, de modo que as respostas pressora e taquicárdica foram mediadas por regiões localizadas em sítios mais rostrais do que as regiões em que a estimulação gerou respostas de queda de PA e FC (SCHAEUBLE; MYERS, 2022; VERBERNE; OWENS, 1998). Estudos mais recentes confirmaram um controle sítio-específico da função cardiovascular em condições de repouso pela porção posterior do IC (MARINS *et al*., 2016, 2021). No contexto do estresse também foi observado um envolvimento do IC na expressão das respostas cardiovasculares. O bloqueio sináptico não-seletivo na porção anterior do IC em ratos causado pelo tratamento local com $CoCl_2$ reduziu as respostas cardiovasculares induzidas tanto por estímulos aversivos condicionado (medo condicionado ao contexto) quanto não-condicionado (estresse de restrição) (ALVES *et al*., 2010, 2013), o que evidenciou um envolvimento do IC no controle das respostas cardiovasculares induzidas durante ameaças aversivas. Foi observado também que o antagonismo da neurotransmissão glutamatégica (NMDA) no IC de maneira não sítio-específica facilitou o aumento da resposta pressora e a taquicardia induzidas pelo estresse de restrição (GOULART *et al*., 2022).

Apesar das evidências de um controle sítio-específico da função cardiovascular pelo IC em condições de repouso, bem como da ativação dessa estrutura cortical por estímulos estressores, o papel de regiões específicas ao longo do eixo rostro-caudal do IC no controle das respostas cardiovasculares ao estresse ainda é pouco compreendido. Nesse sentido, um estudo recente explorou o papel das porções anterior e posterior do IC no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição agudo em ratos

(TOMEO *et al*., 2022). Foi observado nesse estudo que o bloqueio sináptico não-seletivo causado pela microinjeção de $CoCl_2$ na região anterior do IC não afetou as respostas de aumento da PA e FC e queda da temperatura cutânea da cauda (*medida indireta da resposta de vasoconstrição cutânea mediada pela ativação vasomotora simpática*) observadas durante uma sessão aguda de estresse de restrição (TOMEO *et al.,* 2022). Por outro lado, o bloqueio sináptico de diferentes sub-regiões da porção posterior do IC causou efeitos sítio-específicos. O bloqueio de sítios rostrais da porção posterior do IC reduziu exclusivamente a resposta de aumento da PA, ao passo que a microinjeção de $CoCl_2$ em regiões caudais do IC posterior reduziu a resposta de taquicardia (TOMEO *et al*., 2022). Esses dados indicaram que a região posterior do IC está envolvida na expressão das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição, porém esse controle é sítio-específico (TOMEO *et al*., 2022).

Destaca-se que no mesmo estudo também foi avaliado o perfil de ativação neuronial induzida pelo estresse de restrição ao longo do eixo rostro-caudal do IC (TOMEO *et al*., 2022). É sabido que a exposição a eventos estressores pode alterar características das estruturas encefálicas e a investigação dessas alterações contribui para a elucidação dos mecanismos envolvidos nas respostas observadas. Nesse sentido, foi evidenciado que as situações aversivas podem levar a um aumento no número de células positivas para a proteína Fos em estruturas encefálicas, o que indica ativação neuronial induzida pelo estresse. Contudo, o perfil de ativação neuronial causado pelo estresse ao longo do eixo rostro-caudal do IC foi pouco explorado (CULLINAN *et al*., 1995; DAMPNEY, 2015). Nesse trabalho foi evidenciado que o controle da resposta pressora ao estresse de restrição por sítios na região posterior-rostral do IC foi acompanhado de aumento no número de células marcadas com a proteína Fos. Por outro lado, de maneira inesperada, o controle da resposta de FC pela região posterior-caudal foi associada com

uma diminuição no número de células positivas para proteína Fos após a exposição ao estresse de restrição, o que indica redução na ativação neuronial. Desse modo, o controle da resposta pressora ao estresse pela região rostral do IC posterior parece ser mediado pela ativação de mecanismos neuroquímicos excitatórios e/ou inibição de mecanismos inibitórios locais, enquanto o envolvimento da região caudal do IC posterior na resposta taquicardia parece ocorrer via ativação de mecanismos inibitórios e/ou inibição de mecanismos neuroquímicos excitatórios locais (TOMEO *et al*., 2022).

A literatura destaca que o glutamato (L-Glu) é o principal e mais abundante neurotransmissor excitatório do SNC, sendo considerado um importante mediador no controle da função cardiovascular em múltiplas regiões do SNC (BUSNARDO *et al*., 2009; DANBOLT, 2001; PELOSI *et al*., 2015). Alterações nas respostas pressoras e na FC provenientes da microinjeção de L-Glu já foram relatadas em diferentes regiões cerebrais, entre elas, no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) (BUSNARDO *et al*., 2009), na área cinzenta periarquedutal (PAG) (PELOSI *et al*., 2015) e no hipotálamo lateral (LH) (PUGLIESI PAJOLLA *et al*., 2005).As respostas glutamatérgicas ocorrem a partir da interação do L-glu com os seus receptores, que estão distribuídos ao longo de todo o SNC. Nesse sentido, dados prévios confirmaram a presença desses receptores em todas as regiões da porção posterior do IC (MARINS *et al*., 2016). Além disso, foi documentado a participação desse mecanismo neuroquímico no controle da função cardiovascular em condição de repouso em diferentes sítios da região posterior do IC (MARINS *et al*., 2016; RANJBAR *et al*., 2015) e na condição de estresse de maneira não sítio-específica (GOULART *et al*., 2022). *Contudo, apesar dessas evidências, o papel de mecanismos glutamatérgicos local no controle das respostas cardiovasculares ao estresse pelo IC foi pouco estudado.*

Outro neurotransmissor envolvido no controle da função cardiovascular é o GABA, que se trata do principal neurotransmissor inibitório do SNC (BOWERY; SMART, 2006; GORDON; SVED, 2002; JORGENSEN, 2005). Respostas moduladoras da atividade cardiovascular mediadas por receptores GABAérgicos já foram relatadas no bulbo ventrolateral rostral (RVLM) (SCHREIHOFER; GUYENET, 2002), no núcleo do trato solitário (NTS) (GORDON; SVED, 2002), no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) (DUPONT; LÉGAT, 2020) e também no IC. De fato, dados prévios indicaram um papel tônico inibitório do receptor $GABA_A$ (sem influência do receptor $GABA_B$) em sítios rostrais da porção posterior do IC na manutenção da PA e da atividade simpática em ratos em repouso (SALEH *et al*., 2005). Como detalhado acima, achados recentes sugerem que mecanismos inibitórios no IC podem desempenhar um papel relevante no controle das respostas cardiovasculares ao estresse. *Vale ponderar, no entanto, que um envolvimento de mecanismos GABAérgicos do IC no controle das respostas cardiovasculares ao estresse nunca foi avaliado.*

Diante do exposto, foi proposta realização desse estudo que visou testar as hipóteses de que o controle da resposta taquicárdica ao estresse de restrição agudo pela região caudal do IC posterior é mediado predominantemente por mecanismos inibitórios GABAérgicos, ao passo que o envolvimento da região rostral na resposta pressora a esse estressor está relacionado principalmente com mecanismos excitatórios glutamatérgicos locais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estresse

O pesquisador Hans Seyle definiu nos anos 50 o estresse como *uma resposta não-específica do organismo a um agente estressor* (MYERS *et al*., 2014; ROM; REZNICK, 2015) e nomeou essa resposta como Síndrome Geral de Adaptação, classificando-a em três estágios progressivos (SELYE, 1946) :

1. Reação de Alarme na qual o organismo reage produzindo e liberando adrenalina, noradrenalina e glicocorticóides;

2. Resistência, caracterizada pela adaptação, o corpo aprende a lidar eficientemente com o agente estressor e

3. Exaustão caracterizado por um esgotamento das reservas de energia e a perda da capacidade adaptativa, levando a fadiga ou doenças relacionadas ao estresse.

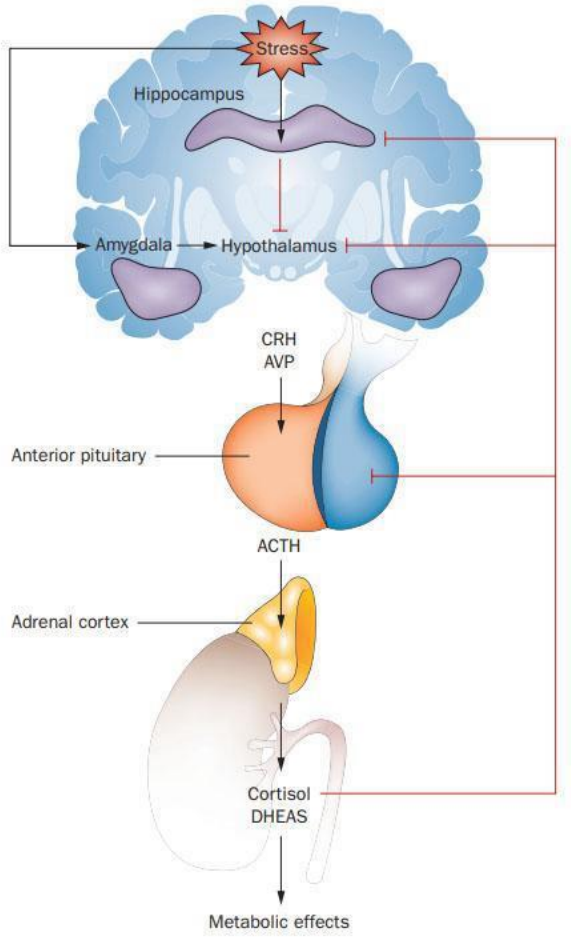
Contudo, a discussão acerca da definição e dos aspectos relacionados ao estresse, bem como de seu conceito continuou presente na literatura, e outros conceitos foram propostos, como aquele proposto por McEwen, que definiu o estresse como *uma ameaça real ou implícita a integridade fisiológica ou psicológica do indivíduo* (MCEWEN; AKIL, 2020). Atualmente o termo estresse é entendido como um conjunto de eventos que se inicia com um estímulo estressor, que é percebido pelo cérebro e resulta na ativação de sistemas fisiológicos no organismo, isto é, uma resposta aguda e adaptativa a um estímulo (DHABHAR, 2019; DHABHAR; MCEWEN, 1997; MCEWEN; AKIL, 2020).

Os estímulos estressores (internos ou externos) acarretam um desafio para a manutenção das condições fisiológicas do organismo, de modo que diante de situações aversivas repostas autônomas, endócrinas e comportamentais são desencadeadas com o objetivo de manutenção da homeostasia e garantia da sobrevivência (CRESTANI, 2016; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). Esse conjunto coordenado de respostas ao estresse é

gerado e controlado pela atuação integrada de diferentes circuitos cerebrais e sistemas neuroquímicos (CRESTANI, 2016; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009), sendo as ativações do eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical (HPA) e do sistema nervoso autônomo simpático as principais respostas adaptativas ao estresse.

A ativação do eixo HPA (Figura 1) é um dos principais mecanismos endócrinos desencadeados pelo estresse. Diante de um estímulo estressor, ocorre a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH) e da arginina vasopressina (AVP) pelos neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) na hipófise anterior do hipotálamo, e esses neuropeptídeos estimulam a hipófise anterior a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação, que por sua vez estimula a produção e liberação de glicocorticóides (cortisol em humanos e corticosterona em roedores) a partir do córtex das glândulas adrenais (BORNSTEIN *et al*., 1999; MCEWEN ; AKIL, 2020). A literatura tem sugerido que os glicocorticóides desempenham um papel fundamental na resposta ao estresse, e evidenciado que quando há uma exposição persistente ao estresse pode ocorrer uma desregulação no eixo HPA, que leva a um aumento nas concentrações do cortisol plasmático. Essas alterações, em longo prazo, podem impactar na fisiologia dos terminais sinápticos, reduzir o número de ramos dendríticos e de neurônios, assim interferindo nos mecanismos nervosos envolvidos na resposta ao estresse e podendo desencadear doenças (SAPOLSKY *et al*., 2000).

Figura 1 - Representação esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA).



A ativação dos neurônios parvocelulares no núcleo paraventricular do hipotálamo leva à síntese de CRH e AVP. Ambos são secretados no sistema porta hipofisário que transporta esses hormônios para a hipófise anterior. CRH e AVP atuam sinergicamente na hipófise para estimular a liberação de ACTH, que por sua vez atua nas suprarrenais para estimular a síntese e liberação de corticosteróides. Os corticosteróides regulam sua própria secreção por meio de um mecanismo de controle de feedback negativo, que é exercido através de receptores mineralocorticóides e glicocorticóides no nível do hipocampo, hipotálamo e glândula pituitária. ACTH, hormônio adrenocorticotrófico; AVP, arginina vasopressina; CRH, hormônio liberador de corticotropina; DHEAS, sulfato de dehidroepiandrosterona. Permissão obtida da Macmillan Publishers © Sandi, C. Nat. Rev. Neurosci. 5, 917-930 (2004). **Fonte:** Papadopoulos; Cleare, 2012.

As respostas autonômicas promovidas pelo estresse desencadeiam majoritariamente alteração cardiovasculares, que são caracterizadas principalmente por aumento na PA e FC (CRESTANI, 2016). Além disso, é observado queda da temperatura cutânea como resultado de uma redistribuição do fluxo sanguíneo durante situações aversivas dos leitos cutâneos para a musculatura esquelética, coração e cérebro (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). A atividade do barorreflexo também é alterada durante o estresse. Os barorreceptores compõem um mecanismo de controle da pressão arterial

“momento-a-momento”, eles se localizam no arco aórtico e no seio carotídeo e possuem canais mecano-sensíveis que são acionados quando ocorrem alterações na distensão dos vasos arteriais, e através de uma ação conjunta com outros núcleos centrais busca restabelecer a pressão arterial. Durante o estresse ocorre um deslocamento da curva do barorreflexa para a direita e essa alteração de “set-point” permite um aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca simultaneamente durante o estresse (CRESTANI, 2016; DAMPNEY, 2015; DAMPNEY *et al*., 2008).

2.2 Respostas cardiovasculares ao estresse

Dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no ano de 2019 (período pré-pandemia da Covid-19) apresentaram que no período entre os anos 2000-2019 as doenças cardiovasculares (isquemia cardíaca e acidente vascular encefálico) ocupavam as primeiras posições do ranking das dez principais causas de morte no mundo (OMS, 2019). O estresse tem sido ostensivamente atribuído como um fator de risco para o desencadeamento de doenças cardiovasculares (KIVIMÄKI; STEPTOE, 2018; SGOIFO *et al*., 2014; WIRTZ; VON KÄNEL, 2017). Vale salientar que, as alterações cardiovasculares induzidas pelo estresse podem ser consideradas adaptativas a curto prazo sendo necessárias para a sobrevivência e a adaptação das espécies (luta ou fuga) (STERLING, 2012), nesse sentido os danos cardiovasculares associados ao estresse agudo estão mais fortemente relacionados a condições pré-existentes (OSBORNE *et al*., 2020), porém é majoritariamente na situação de estresse prolongado e/ou repetido (estresse crônico) que pode resultar em alterações morfofuncionais que irão comprometer a função cardiovascular, resultando em respostas inadequadas ou insuficientes, favorecendo o aparecimento de doenças (CRESTANI, 2016; DHABHAR, 2019; MCEWEN, 2007, 2017). Estudos recentes têm demonstrado que a exposição a protocolos crônicos de estresse causa diversas alterações na atividade autônoma e na função

cardiovascular, incluindo: desbalanço na atividade autônoma cardíaca no sentido de aumento da contribuição simpática, aumento nos valores basais de PA e FC, comprometimento na função barorreflexa, disfunção vascular e cardiomiopatias (DUARTE *et al*., 2015).

Como apresentado acima, a cronicidade do estresse é um fator importante no comprometimento cardiovascular, contudo diante de uma situação aversiva aguda o sistema nervoso autônomo promove as respostas imediatas ao estresse que podem ser observadas em modelos experimentais, como é o caso do estresse agudo de restrição.

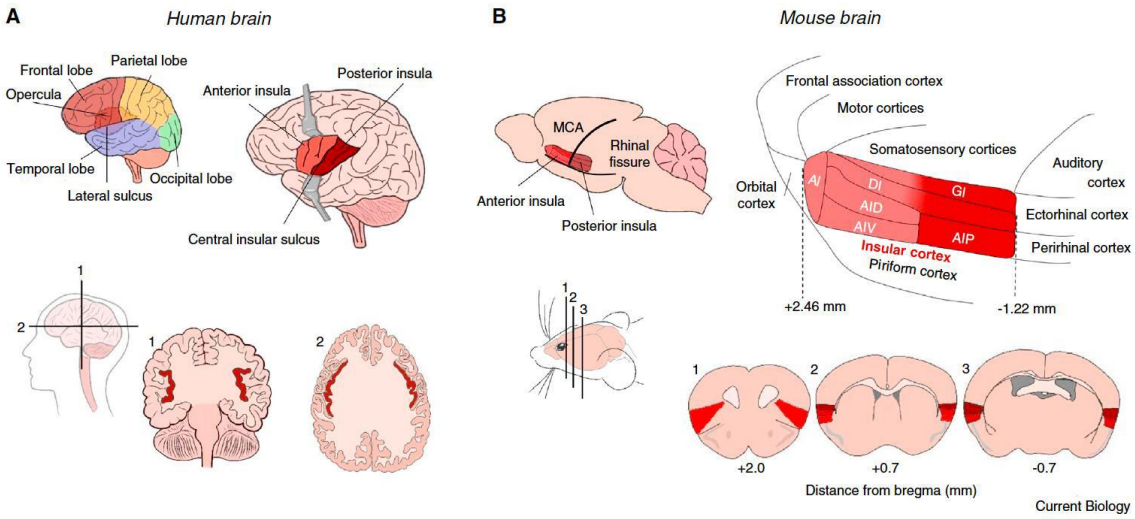
O estresse agudo de restrição é um modelo de estresse psicológico (CRESTANI, 2016) combinado com confinamento físico (HARRIS, 2015; JAGGI *et al*., 2011) capaz de causar respostas neuroendócrinas, como elevação nos níveis plasmáticos de glicocorticoides e autônomas como aumento da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), modulação da atividade do barorreflexo e redução da temperatura cutânea, as quais são mantidas durante todo o período de estresse (ALVES *et al*., 2010; BARRON ; VAN LOON, 1989; MATSUHISA *et al*., 2014). Adicionalmente, estudos recentes têm evidenciado alterações comportamentais do tipo ansiogênicas decorrentes do estresse agudo de restrição (BUSNARDO *et al*., 2019; HARTMANN *et al*., 2019; VITORIO *et al*., 2023).

2.3 Córtex Insular

O IC é uma estrutura cortical descrita pela primeira vez pelo neurologista alemão Johann-Christian Reil, no século 19 (GOGOLLA, 2017). O nome ínsula (latim de ilha) faz referência a sua localização em primatas, incluindo humanos, uma vez que, ela se encontra “escondida” abaixo lobos frontal, parietal e temporal; de modo que a ínsula também pode ser designada como “ilha de Reil” e “quinto lóbulo oculto” (GOGOLLA, 2017; NIEUWENHUYS, 2012). Como mencionado na seção “Introdução”, o IC de

humanos e roedores apresenta uma diferença exclusivamente restrita a localização (Figura 2), porém resultados clínicos e pré-clínicos em estudos comportamentais e de neuroimagem tem evidenciado uma equivalência funcional entre as espécies e um perfil análogo no que diz respeito a organização celular e projeções (aferências e eferências) (GOGOLLA, 2017).

Figura 2 - Localização do córtex insular (IC) no encéfalo humano e do camundongo.



(A) Anatomia do cerebro humano. Superior esquerdo: o IC e localizado abaixo do sulco lateral e e ocultado pelos lobos frontal, parietal e temporal. Acima a direita: quando os lobos temporais e parietais sao empurrados para o lado, o IC pode ser visto; e separado em uma parte anterior e posterior pelo sulco insular central. Parte inferior: seccoes coronais (1) e horizontal (2) do cerebro humano indicam a posicao do IC (vermelho). **(B)** Anatomia do cerebro do camundongo.* Superior esquerdo: o IC fica exposto na superficie lateral do cerebro acima da fissura rinal. A arteria cerebral medial (do ingles, MCA) atravessa o IC. Superior direito: subdivisoes e regioes corticais vizinhas do IC no encefalo do camundongo. AI, cortex insular agranular; AID, cortex insular agranular, parte dorsal; AIV, cortex insular agranular, parte ventral; AIP, cortex insular agranular, parte posterior; DI, cortex insular disgranular; GI, cortex insular granular. Inferior: cortes transversais coronais em diferentes niveis revelam a localizacao e as camadas do IC no camundongo. Adaptado de Gogolla (2017). *A anatomia do IC em ratos é similar àquela apresentada em camundongos.

A insula é dividida anatomicamente em duas porções no sentido rostrocaudal: anterior e posterior. As regiões anterior e posterior podem variar morfologicamente e em suas conexões com estruturas encefálicas. O IC é também dividido em três sub-regiões no sentido dorso-ventral: granular, disgranular e agranular; e essas regiões diferenciam-se pela presença ou ausência da camada granular interna (IV). A camada granular é estruturada em seis camadas de células granulares, na região disgranular ocorre uma

diminuição das células granulares na camada IV, e por fim, a camada IV é completamente ausente na porção agranular. Apesar dessas regiões serem interconectadas de maneira robusta, a atividade funcional parece ser sítio-específica, onde a camada agranular medeia funções afetivas, a camada disgranular desempenha um papel majoritariamente cognitivo e a camada granular atua no contexto somatossensorial (UDDIN, 2015).

A participação do IC no controle das emoções e dos sentimentos foi negligenciada por muito tempo (NAMKUNG *et al*., 2017). Entretanto, uma participação do IC na integração de informações límbicas foi sugerida a partir da observação da vasta rede de conexões entre o IC e estruturas do sistema límbico como os núcleos amigdaloides, o córtex pré-frontal medial, o núcleo leito da estria terminal, o hipotálamo lateral, a substância cinzenta periaqueductal, entre outras áreas (ALLEN *et al*., 1991; AUGUSTINE, 1996; NOMI *et al*., 2018; SAPER, 1982; SHI; CASSELL, 1998). Desde então estudos tem sugerido a participação do IC como mediador de diversas funções cerebrais, como o processamento de informações sensoriais externas e corporais, autoconsciência, regulação emocional, sentimentos e funções socioafetivas complexas como a empatia, alternância entre redes cerebrais de larga escala e na geração de respostas fisiológicas e comportamentais durante situações aversivas (GEHRLACH *et al*., 2020).

De fato, tem sido amplamente evidenciado o envolvimento do IC no controle das respostas cardiovasculares induzidas durante ameaças aversivas. Foi identificado que o bloqueio sináptico não-seletivo no IC em ratos causado pelo tratamento local com $CoCl_2$ reduziu as respostas cardiovasculares induzidas tanto por estímulos aversivos condicionados (medo condicionado ao contexto) quanto não-condicionados (estresse por restrição) (ALVES *et al*., 2010, 2013). Com relação as respostas comportamentais ao estresse, foi relatado um envolvimento do IC na resposta comportamental de congelamento no modelo de medo condicionado ao contexto (ALVES *et al*., 2013) e no

efeito ansiogênico no estresse de restrição, nesse último a resposta foi sítio-específica, indicando um papel proeminente da porção intermediária nessa resposta (VITORIO *et al*., 2023)

No que diz respeito ao impacto da organização topográfica do IC nas respostas cardiovasculares, estudos anteriores reportaram em animais não-estressados alterações na PA e FC que foram dependentes da região do IC estimulada (HARDY; HOLMES, 1988; HARDY; MACK, 1990; RUGGIERO *et al*., 1987; YASUI *et al*., 1991). A estimulação de regiões anteriores do IC promoveu predominantemente quedas na PA (HARDY; HOLMES, 1988; HARDY; MACK, 1990), enquanto a estimulação da porção posterior causou tanto resposta pressora quando depressora, que foram acompanhadas de alterações na FC. Nesse sentido, foi identificado que os sítios envolvidos no aumento da PA e FC estavam localizados mais rostralmente do que os envolvidos na geração de respostas depressora e bradicárdica (VERBERNE; OWENS, 1998). O componente sítio-específico das respostas pressora na porção posterior do IC também foi observado em estudos recentes (MARINS *et al*., 2016; MARINS, OLIVEIRA, *et al*., 2021).

Foi documentado recentemente que diante de situações aversivas apenas os sítios posteriores do IC estavam envolvidos nas respostas cardiovasculares, e esse controle pela sub-região posterior ocorreu de uma maneira sítio-específica (TOMEO *et al*., 2022). Uma topografia funcional ao longo do eixo rostrocaudal do IC também foi relatada no controle da expressão e extinção do medo condicionado (DE PAIVA *et al*., 2021; SHI; CASSELL, 1998). Em conjunto, esses dados indicaram que os sítios ao longo do eixo rostrocaudal do IC regulam de maneira diferente as respostas ao estresse.

Tipicamente, a exposição a eventos estressores causa aumento no número de células positivas para a proteína Fos em estruturas encefálicas, o que indica ativação neuronial. Entretanto, apesar de em estudo do nosso grupo nós encontramos que na porção

posterior-rostral do IC o controle da resposta pressora ao estresse de restrição foi acompanhado de aumento no número de células marcadas com a proteína Fos, de maneira inesperada nós observamos que o controle da resposta de FC pela porção caudal do IC posterior foi associada com uma diminuição no número de células positivas para a proteína Fos nessa área, o que indica uma redução na ativação neuronial local (TOMEO *et al*., 2022).Esses dados indicam que o controle das respostas cardiovasculares pelas porções rostral e caudal do IC posterior seja mediado por diferentes mecanismos neuroquímicos. O controle pela porção caudal parece ser mediado predominantemente por mecanismos inibitórios, ao passo que mecanismos excitatórios locais estão envolvidos no controle pelo IC posterior rostral.

O principal neurotransmissor excitatório do SNC é o glutamato. A síntese desse neurotransmissor envolve a hidrolise da glutamina em glutamato pela enzima mitocondrial glutaminase (BAK *et al*., 2006), e uma vez sintetizado o glutamato permanece armazenado em vesículas nos terminais pré-sinápticos, pois sua liberação é dependente da ativação de um mecanismo cálcio (Ca^{2+}) dependente (MELDRUM, 2000). Uma vez que esteja presente na fenda sináptica este neurotransmissor pode interagir com dois grandes grupos de receptores: metabotrópicos (mGlu), que podem ser divididos em oito subgrupos (mGlut1-8) e cujas ações são mediadas pela proteína G; e/ou receptores ionotrópicos (iGlu), um grupo de receptores permeáveis aos íons sódio (Na^{+}) e Ca^{2+}, que podem ser do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-ácido propiônico (AMPA) e cainato (KA) (ZHOU *et al*., 2014).

A participação das neurotransmissões glutamatérgica tem sido proposta em inúmeros processos fisiológicos e comportamentais, bem como a sua participação no desenvolvimento de patologias neurodegenerativas (MELDRUM, 2000; PETROFF, 2002). No IC, um envolvimento da neurotransmissão glutamatérgica nas respostas

cardiovasculares em animais não-estressados foi relatada na literatura (BUTCHER; CECHETTO, 1995; RANJBAR *et al*., 2015; RUGGIERO *et al*., 1987), Marins e colaboradores (2016) encontraram recentemente que a estimulação química de receptores ionotrópicos do tipo NMDA esteve associada a uma resposta simpática sítio-específica (MARINS *et al*., 2016). No contexto das respostas cardiovasculares evocadas pelo estresse, um estudo recente relatou que o antagonismo de receptores NMDA esteve envolvido com o aumento de PA e FC evocados pelo estresse de restrição em ratos, enquanto o antagonismo de receptores não-NMDA não afetou as respostas cardiovasculares (GOULART *et al*., 2022).

O principal neurotransmissor envolvido nas respostas inibitórias e na manutenção do equilíbrio elétrico do SNC é o GAB_A. A síntese desse neurotransmissor é dependente da conversão do glutamato pela enzima glutamato descarboxilase (GAD) (WALLS *et al*., 2015); e assim como o glutamato, o $GABA_A$ fica armazenado em vesículas pré-sinapticas e após sua liberação nos terminais sinápticos atuam em receptores específicos que podem ser metabotrópicos (receptores $GABA_B$) ou ionotrópicos (receptores $GABA_A$). Os receptores $GABA_A$ são ionotrópicos e sua ativação permite a difusão de íons Cl^- através da membrana da célula, o que acarreta hiperpolarização da membrana. Os receptores $GABA_B$ são metabotrópicos e pertencem a família dos receptores acoplados a proteína G, assim sua ativação inibe a enzima adenilato ciclase, reduzindo os níveis de AMPc e a atividade da proteína quisase A (PKA) (PETROFF, 2002; ROTH; DRAGUHN, 2012).

O envolvimento de mecanismos GABAérgicos no controle de repostas cardiovasculares ao estresse pelo IC já foi evidenciado. Nesse sentido, foi identificado um papel tônico inibitório do receptor $GABA_A$ na porção posterior do IC na manutenção da PA e da atividade simpática em ratos em repouso (SALEH *et al*., 2005). A neurotransmissao GABAérgica no IC foi também reportada estar envolvida no controle

de respostas comportamentais ao estresse. Por exemplo, a microinjecao de muscimol (agonista do receptor $GABA_A$) no IC reduziu a resposta de diminuição da exploração social induzida pelo estresse de choque na cauda (CHRISTIANSON *et al*., 2011). Contudo, o envolvimento de mecanismos GABAérgicos do IC nas respsotas cardiovasculares ao estresse nunca foi reportado.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi investigar os mecanismos neuroquímicos locais envolvidos no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição em diferentes sítios ao longo do eixo rostrocaudal do IC posterior em ratos. Para tanto, os objetivos específicos foram:

1. Os efeitos da microinjeção bilateral de um antagonista de receptores glutamatérgicos nas regiões posterior-rostral e posterior-caudal do IC sobre as respostas cardiovasculares ao estresse de restrição agudo.

2. Os efeitos da microinjeção bilateral de um coquetel de antagonistas de receptores GABAérgicos na região posterior-rostral e posterior-caudal do IC sobre as respostas cardiovasculares ao estresse de restrição agudo.

8.CONCLUSÃO

Os resultados reportados no presente trabalho indicam que a neurotransmissão GABAérgica no IC posterior tem uma influência sobre a resposta de taquicardia induzida pelo estresse de restrição agudo. A tendência de efeito sobre a resposta pressora observada nos animais tratados com ácido quinurênico sugere um envolvimento da neurotransmissão glutamatérgica local no controle das respostas cardiovasculares ao estresse de restrição pelo IC posterior-rostral, apesar desses achados, mais estudos são necessários para elucidar a população neuronal local envolvida no controle das respostas cardiovasculares ao estresse, principalmente no que diz respeito aos mecanismos glutamatérgicos.

9. REFERÊNCIAS

ALEXANDER, S. P. H. *et al*. The concise guide to pharmacology 2021/22: Ion channels. **British Journal of Pharmacology**, v. 178, n. S1, 16 out. 2021. DOI: 10.1111/bph.15539

ALLEN, G. V. *et al*. Organization of visceral and limbic connections in the insular cortex of the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 311, n. 1, p. 1–16, 1 set. 1991. DOI: 10.1002/cne.903110102

ALVES, F. H. F. et al. Involvement of the insular cortex in the consolidation and expression of contextual fear conditioning. **European Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 2, p. 2300–2307, jul. 2013. DOI: 10.1111/ejn.12210

ALVES, F. H. F. *et al*. Both α1- and α2-adrenoceptors in the Insular Cortex Are Involved in the Cardiovascular Responses to Acute Restraint Stress in Rats. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e83900, 3 jan. 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0083900

ALVES, F. H. F.; CRESTANI, C. C.; CORRÊA, F. M. A. The insular cortex modulates cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. **Brain Research**, v. 1333, p. 57–63, maio 2010. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.03.077

AUGUSTINE, J. Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans. **Brain Research Reviews**, v. 22, n. 3, p. 229–244, out. 1996. DOI: 10.1016/s0165-0173(96)00011-2

BAK, L. K.; SCHOUSBOE, A.; WAAGEPETERSEN, H. S. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. **Journal of Neurochemistry**, v. 98, n. 3, p. 641–653, ago. 2006. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.03913.x

BALI, A.; JAGGI, A. S. Preclinical experimental stress studies: Protocols, assessment and comparison. European Journal of Pharmacology, v. 746, p. 282–292, jan. 2015. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.10.017

BARRON, B. A.; VAN LOON, G. R. Role of sympathoadrenomedullary system in cardiovascular response to stress in rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 28, n. 2, p. 179–187, nov. 1989. DOI: 10.1016/0165-1838(89)90090-8

BENINI, R. *et al*. Habituation of the cardiovascular responses to restraint stress in male rats: influence of length, frequency and number of aversive sessions. **Stress**, v. 22, n. 1, p. 151–161, 2 jan. 2019. DOI: 10.1080/10253890.2018.1532992

BLESSING, W. W. Lower brainstem pathways regulating sympathetically mediated changes in cutaneous blood flow. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 23, n. 4/5, p. 527–538, 2003. DOI: 10.1023/a:1025020029037

BORNSTEIN, S. R.; BÖTTNER, A.; CHROUSOS, G. P. Knocking out the stress response. **Molecular Psychiatry**, v. 4, n. 5, p. 403–407, 1 set. 1999. DOI: 10.1038/sj.mp.4000602

BOWERY, N. G.; SMART, T. G. GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, n. S1, p. S109–S119, jan. 2006. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706443

BUSNARDO, C. *et al*. Nitrergic neurotransmission in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulates autonomic, neuroendocrine and behavioral responses to acute restraint stress in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 90, p. 16–27, mar. 2019. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.11.001

BUSNARDO, C.; TAVARES, R. F.; CORRÊA, F. M. A. Mechanisms involved in the pressor response to noradrenaline microinjection into the supraoptic nucleus of unanesthetized rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 145, n. 1–2, p. 63–70, jan. 2009. DOI: 10.1016/j.autneu.2008.11.005

BUTCHER, K. S.; CECHETTO, D. F. Autonomic responses of the insular cortex in hypertensive and normotensive rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 268, n. 1, p. R214–R222, 1 jan. 1995. DOI: 10.1152/ajpregu.1995.268.1.R214

BUYNITSKY, T.; MOSTOFSKY, D. I. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 7, p. 1089–1098, jul. 2009. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2009.05.004

CAMPOS, A. C. *et al*. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, n. suppl 2, p. S101–S111, 2013. DOI: 10.1590/1516-4446-2013-1139

CECHETTO, D. F. Identification of a cortical site for stress-induced cardiovascular dysfunction. **Integrative Physiological and Behavioral Science**, v. 29, n. 4, p. 362–373, out. 1994. DOI: 10.1007/BF02691356

CHRISTIANSON, J. P. *et al*. Safety signals mitigate the consequences of uncontrollable stress via a circuit involving the sensory insular cortex and bed nucleus of the stria terminalis. **Biological Psychiatry**, v. 70, n. 5, p. 458–464, set. 2011. DOI: 10.1016/j.biopsych.2011.04.004

CRESTANI, C. C. Emotional Stress and Cardiovascular Complications in Animal Models: A Review of the Influence of Stress Type. **Frontiers in Physiology**, v. 7, 24 jun. 2016. DOI: 10.3389/fphys.2016.00251

CULLINAN, W. E. *et al*. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. **Neuroscience**, v. 64, n. 2, p. 477–505, jan. 1995. DOI: 10.1016/0306-4522(94)00355-9

DAMPNEY, R. A. L. Central mechanisms regulating coordinated cardiovascular and respiratory function during stress and arousal. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 309, n. 5, p. R429–R443, set. 2015. DOI: 10.1152/ajpregu.00051.2015

DAMPNEY, R. A. L.; HORIUCHI, J.; MCDOWALL, L. M. Hypothalamic mechanisms coordinating cardiorespiratory function during exercise and defensive behaviour. **Autonomic Neuroscience**, v. 142, n. 1–2, p. 3–10, nov. 2008. DOI: 10.1016/j.autneu.2008.07.005

DANBOLT, N. C. Glutamate uptake. **Progress in Neurobiology**, v. 65, n. 1, p. 1–105, set. 2001. DOI: 10.1016/s0301-0082(00)00067-8

DE PAIVA, J. P. Q. *et al*. The posterior insular cortex is necessary for the consolidation of tone fear conditioning. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 179, p. 107402, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.nlm.2021.107402

DHABHAR, F. S. The power of positive stress – a complementary commentary. **Stress**, v. 22, n. 5, p. 526–529, 3 set. 2019. DOI: 10.1080/10253890.2019.1634049

DHABHAR, F. S.; MCEWEN, B. S. Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunityin Vivo: A Potential Role for Leukocyte Trafficking. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 11, n. 4, p. 286–306, dez. 1997. DOI: 10.1006/brbi.1997.0508

DOS REIS, D. G. *et al*. Role of the autonomic nervous system and baroreflex in stress-evoked cardiovascular responses in rats. **Stress**, v. 17, n. 4, p. 362–372, 25 jul. 2014. DOI: 10.3109/10253890.2014.930429

DUARTE, J. O. *et al*. Stress Vulnerability During Adolescence. **Psychosomatic Medicine**, v. 77, n. 2, p. 186–199, fev. 2015. DOI: 10.1097/PSY.0000000000000141

DUPONT, A. G.; LÉGAT, L. GABA is a mediator of brain AT1 and AT2 receptor-mediated blood pressure responses. **Hypertension Research**, v. 43, n. 10, p. 995–1005, 25 out. 2020. DOI: 10.1038/s41440-020-0470-9

FONTES, M. A. P. *et al*. The dorsomedial hypothalamus and the central pathways involved in the cardiovascular response to emotional stress. **Neuroscience**, v. 184, p. 64–74, jun. 2011. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.03.018

GEHRLACH, D. A. *et al*. A whole-brain connectivity map of mouse insular cortex. **eLife**, v. 9, 17 set. 2020. DOI: 10.7554/eLife.55585

GIANAROS, P. J. *et al*. Heightened Functional Neural Activation to Psychological Stress Covaries With Exaggerated Blood Pressure Reactivity. **Hypertension**, v. 49, n. 1, p. 134–140, jan. 2007. DOI: 10.1161/01.HYP.0000250984.14992.64

GOGOLLA, N. The insular cortex. **Current Biology**, v. 27, n. 12, p. R580–R586, jun. 2017. DOI: 10.1016/j.cub.2017.05.010

GOMES-DE-SOUZA, L. *et al*. GABAA but not GABAB receptors in the lateral hypothalamus modulate the tachycardic response to emotional stress in rats. **European Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 5, p. 672–680, maio 2019. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2019.03.001

GORDON, F. J.; SVED, A. F. Neurotransmitters In Central Cardiovascular Regulation: Glutamate And Gaba. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 5–6, p. 522–524, maio 2002. DOI: 10.1046/j.1440-1681.2002.03666.x

GOULART, M. T. *et al*. NMDA receptors in the insular cortex modulate cardiovascular and autonomic but not neuroendocrine responses to restraint stress in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 119, p. 110598, dez. 2022. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2022.110598

HARDY, S. G. P.; HOLMES, D. E. Prefrontal stimulus-produced hypotension in rat. **Experimental Brain Research**, v. 73, n. 2, nov. 1988. DOI: 10.1007/BF00248217

HARDY, S. G. P.; MACK, S. M. Brainstem mediation of prefrontal stimulus-produced hypotension. **Experimental Brain Research**, v. 79, n. 2, p. 393–399, 1990. DOI: 10.1007/BF00608250

HARRIS, R. B. S. Chronic and acute effects of stress on energy balance: are there appropriate animal models? **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 308, n. 4, p. R250–R265, 15 fev. 2015. DOI: 10.1152/ajpregu.00361.2014

HARTMANN, A. *et al*. Role of the endocannabinoid system in the dorsal hippocampus in the cardiovascular changes and delayed anxiety-like effect induced by acute restraint stress in rats. **Journal of Psychopharmacology**, v. 33, n. 5, p. 606–614, 21 maio 2019. DOI: 10.1177/0269881119827799

HERMAN, J. P. The neuroendocrinology of stress: Glucocorticoid signaling mechanisms. **Psychoneuroendocrinology**, v. 137, p. 105641, mar. 2022. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2021.105641

JAGGI, A. S. *et al*. A review on animal models for screening potential anti-stress agents. **Neurological Sciences**, v. 32, n. 6, p. 993–1005, 17 dez. 2011. DOI: 10.1007/s10072-011-0770-6

JOËLS, M.; BARAM, T. Z. The neuro-symphony of stress. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 459–466, 2 jun. 2009. DOI: 10.1038/nrn2632

JORGENSEN, E. M. Gaba. **WormBook: The Online Review of C. elegans Biology [Internet]**, 2005. DOI: 10.1895/wormbook.1.14.1

KIVIMÄKI, M.; STEPTOE, A. Effects of stress on the development and progression of cardiovascular disease. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 4, p. 215–229, 7 abr. 2018. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.189

MARINS, F. R. *et al*. Functional topography of cardiovascular regulation along the rostrocaudal axis of the rat posterior insular cortex. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 43, n. 4, p. 484–493, abr. 2016. DOI: 10.1111/1440-1681.12542

MARINS, F. R. *et al*. Alamandine but not angiotensin-(1–7) produces cardiovascular effects at the rostral insular cortex. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 321, n. 3, p. R513–R521, 1 set. 2021a. DOI: 10.1152/ajpregu.00308.2020

MARINS, F. R. *et al*. Tachycardia evoked from insular stroke in rats is dependent on glutamatergic neurotransmission in the dorsomedial hypothalamus. **European Journal of Neurology**, v. 28, n. 11, p. 3640–3649, 9 nov. 2021b. DOI: 10.1111/ene.14987

MATSUHISA, F.; KITAMURA, N.; SATOH, E. Effects of acute and chronic psychological stress on platelet aggregation in mice. **Stress**, v. 17, n. 2, p. 186–192, 14 mar. 2014. DOI: 10.3109/10253890.2014.888548

MCEWEN, B. S. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 873–904, jul. 2007. DOI: 10.1152/physrev.00041.2006

MCEWEN, B. S. Neurobiological and Systemic Effects of Chronic Stress. **Chronic Stress**, v. 1, p. 247054701769232, 10 fev. 2017. DOI: 10.1177/2470547017692328

MCEWEN, B. S.; AKIL, H. Revisiting the Stress Concept: Implications for Affective Disorders. **The Journal of Neuroscience**, v. 40, n. 1, p. 12–21, 2 jan. 2020. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0733-19.2019

MELDRUM, B. S. Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 1007S-1015S, abr. 2000. DOI: 10.1093/jn/130.4.1007S

MÉNDEZ-RUETTE, M. *et al*. The Role of the Rodent Insula in Anxiety. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 29 mar. 2019. DOI: 10.3389/fphys.2019.00330

MORAGA-AMARO, R.; STEHBERG, J. The insular cortex and the amygdala: shared functions and interactions. **The amygdala: a discrete multitasking manager**, p. 231-56, 2012.

MYERS, B. Corticolimbic regulation of cardiovascular responses to stress. **Physiology & Behavior**, v. 172, p. 49–59, abr. 2017. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.10.015

MYERS, B.; MCKLVEEN, J. M.; HERMAN, J. P. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 35, n. 2, p. 180–196, abr. 2014. DOI: 10.1016/j.yfrne.2013.12.003

NAKAMURA, K.; MORRISON, S. F. Central sympathetic network for thermoregulatory responses to psychological stress. **Autonomic Neuroscience**, v. 237, p. 102918, jan. 2022. DOI: 10.1016/j.autneu.2021.102918

NAMKUNG, H.; KIM, S.-H.; SAWA, A. The Insula: An Underestimated Brain Area in Clinical Neuroscience, Psychiatry, and Neurology. **Trends in Neurosciences**, v. 40, n. 4, p. 200–207, abr. 2017. DOI: 10.1016/j.tins.2017.02.002

NIEUWENHUYS, R. The insular cortex: a review. **Progress in brain research**, v. 195, p. 123-163, 2012. DOI: 10.1016/B978-0-444-53860-4.00007-6

NOMI, J. S. *et al*. Structural Connections of Functionally Defined Human Insular Subdivisions. **Cerebral Cortex**, v. 28, n. 10, p. 3445–3456, 1 out. 2018. DOI: 10.1093/cercor/bhx211

OLIVEIRA, L. A. *et al*. CRF 1 and CRF 2 receptors in the bed nucleus of the stria terminalis modulate the cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. **Pharmacological Research**, v. 95–96, p. 53–62, maio 2015. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.03.012

OPPENHEIMER, S.; CECHETTO, D. The Insular Cortex and the Regulation of Cardiac Function. Em: **Comprehensive Physiology**. [s.l.] Wiley, 2016. p. 1081–1133. DOI: 10.1002/cphy.c140076

OSBORNE, M. T. *et al*. Disentangling the Links Between Psychosocial Stress and Cardiovascular Disease. **Circulation: Cardiovascular Imaging**, v. 13, n. 8, ago. 2020. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.120.010931

PAPADOPOULOS, S.; CLEARE, A.J. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis dysfunction in chronic fatigue syndrome. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 1, p. 22-32, 2012.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. San Diego: Acad. Press. , 1997. v. 3rd ed

PELOSI, G. G. *et al*. Involvement of non-NMDA glutamate receptors of the hypothalamic paraventricular nucleus in the cardiovascular response to the microinjection of noradrenaline into the dorsal periaqueductal gray area of rats. **Brain Research**, v. 1602, p. 96–105, mar. 2015. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.01.023

PETROFF, O. A. C. Book Review: GABA and Glutamate in the Human Brain. **The Neuroscientist**, v. 8, n. 6, p. 562–573, 29 dez. 2002. DOI: 10.1177/1073858402238515

PUGLIESI PAJOLLA, G.; GARCIA PELOSI, G.; CORRÊA, F. M. A. Involvement of NMDA receptors in the hypotensive response to the injection of l-glutamate into the lateral hypothalamus of unanesthetized rats. **Brain Research**, v. 1053, n. 1–2, p. 19–26, ago. 2005. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.05.056

RANJBAR, A.; HATAM, M.; NASIMI, A. Cardiovascular and single-unit responses to l-glutamate injection into the posterior insular cortex in rat. **Neuroscience**, v. 306, p. 63–73, out. 2015. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.025

RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Medial prefrontal cortex NMDA receptors and nitric oxide modulate the parasympathetic component of the baroreflex. **European Journal of** Neuroscience, v. 23, n. 2, p. 481–488, 12 jan. 2006. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2005.04566.x

ROM, O.; REZNICK, A. Z. The stress reaction: a historical perspective. **Respiratory Contagion**, p. 1-4, 2016. DOI: 10.1007/5584_2015_195

ROTH, F. C.; DRAGUHN, A. GABA Metabolism and Transport: Effects on Synaptic Efficacy. **Neural Plasticity**, v. 2012, p. 1–12, 2012. DOI: 10.1155/2012/805830

RUGGIERO, D. A. *et al*. A role of insular cortex in cardiovascular function. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 257, n. 2, p. 189–207, 8 mar. 1987. DOI: 10.1002/cne.902570206

SALEH, T. M.; CONNELL, B. J.; CRIBB, A. E. Sympathoexcitatory effects of estrogen in the insular cortex are mediated by GABA. **Brain Research**, v. 1037, n. 1–2, p. 114–122, mar. 2005. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.01.010

SAPER, C. B. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 210, n. 2, p. 163–173, 10 set. 1982. DOI: 10.1002/cne.902100207

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions*. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55–89, 1 fev. 2000. DOI: 10.1210/edrv.21.1.0389

SCHAEUBLE, D.; MYERS, B. Cortical–Hypothalamic Integration of Autonomic and Endocrine Stress Responses. **Frontiers in Physiology**, v. 13, 11 fev. 2022. DOI: 10.3389/fphys.2022.820398

SCHREIHOFER, A. M.; GUYENET, P. G. The Baroreflex And Beyond: Control Of Sympathetic Vasomotor Tone By Gabaergic Neurons In The Ventrolateral Medulla. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 5–6, p. 514–521, maio 2002. DOI: 10.1046/j.1440-1681.2002.03665.x

SELYE, H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 6, n. 2, p. 117–230, fev. 1946.

SGOIFO, A.; CARNEVALI, L.; GRIPPO, A. J. The socially stressed heart. Insights from studies in rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 39, p. 51–60, fev. 2014. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2013.12.005

SHI, C.-J.; CASSELL, M. D. Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 399, n. 4, p. 440–468, 5 out. 1998. DOI: 10.1002/(sici)1096-9861(19981005)399:4<440::aid-cne2>3.0.co;2-1

SHI, T. *et al*. Role of the anterior agranular insular cortex in the modulation of fear and anxiety. **Brain Research Bulletin**, v. 155, p. 174–183, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.12.003

SHIMOKAWA, A. *et al*. Differential effects of anesthetics on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 72, n. 1, p. 46–54, ago. 1998. DOI: 10.1016/s0165-1838(98)00084-8

STERLING, P. Allostasis: A model of predictive regulation. **Physiology & Behavior**, v. 106, n. 1, p. 5–15, abr. 2012. DOI: 10.1016/j.physbeh.2011.06.004

SUN, L. *et al*. Effects of Anesthetics on the Renal Sympathetic Response to Anaphylactic Hypotension in Rats. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e113945, 25 nov. 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0118042

SUN, M.-K. Medullospinal vasomotor neurones mediate hypotension from stimulation of prefrontal cortex. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 38, n. 3, p. 209–217, maio 1992. DOI: 10.1016/0165-1838(92)90032-c

TOMEO, R. A. *et al*. Site-Specific Regulation of Stress Responses Along the Rostrocaudal Axis of the Insular Cortex in Rats. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, 10 maio 2022. DOI: 10.3389/fnins.2022.878927

UDDIN, L. Q. Salience processing and insular cortical function and dysfunction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 55–61, 19 jan. 2015. DOI: 10.1038/nrn3857

ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, J. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 397–409, 13 jun. 2009. DOI: 10.1038/nrn2647

VERBERNE, A. J. M.; OWENS, N. C. Cortical Modulation of theCardiovascular System. **Progress in Neurobiology**, v. 54, n. 2, p. 149–168, fev. 1998.

VIANNA, D. M. L.; CARRIVE, P. Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat. **European Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 9, p. 2505–2512, maio 2005. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2005.04073.x

VITORIO, A. S. *et al*. Evaluation of the posterior insular cortex involvement in anxiogenic response to emotional stress in male rats: Functional topography along the rostrocaudal axis. **Physiology & Behavior**, v. 258, p. 114006, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.physbeh.2022.114006

WALLS, A. B. *et al*. The Glutamine–Glutamate/GABA Cycle: Function, Regional Differences in Glutamate and GABA Production and Effects of Interference with GABA Metabolism. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 2, p. 402–409, 8 fev. 2015. DOI: 10.1007/s11064-014-1473-1

WIRTZ, P. H.; VON KÄNEL, R. Psychological Stress, Inflammation, and Coronary Heart Disease. **Current Cardiology Reports**, v. 19, n. 11, p. 111, 20 nov. 2017. DOI: 10.1007/s11886-017-0919-x

YASUI, Y. *et al*. Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 303, n. 3, p. 355–374, 15 jan. 1991. DOI: 10.1002/cne.903030303

YOKOYAMA, C.; SASAKI, K. Regional expressions of Fos-like immunoreactivity in rat cerebral cortex after stress; restraint and intraperitoneal lipopolysaccharide. **Brain Research**, v. 816, n. 2, p. 267–275, jan. 1999. DOI: 10.1016/s0006-8993(98)00927-5

ZEFFERINO, R.; DI GIOIA, S.; CONESE, M. Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. **Brain and Behavior**, v. 11, n. 2, 8 fev. 2021. DOI: 10.1002/brb3.1960

ZHONG, M.-K. *et al*. Regulation of cardiac sympathetic afferent reflex by $GABA_A$ and $GABA_B$ receptors in paraventricular nucleus in rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 12, p. 3226–3232, jun. 2008. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06261.x

ZHOU, H. *et al*. Cardiac sympathetic afferent reflex response to intermedin microinjection into paraventricular nucleus is mediated by nitric oxide and γ-amino butyric acid in hypertensive rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 10, p. 1352–1359, 28 out. 2014. DOI: 10.1177/1535370214533882