

AJUSTES CARDIOVASCULARES E COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA HIPERNATREMIA CRÔNICA DURANTE AS PRIMEIRAS FASES DO PERÍODO PÓS-NATAL

Marina Conceição dos Santos Moreira¹; Mirela Barros Dias²; Gustavo Rodrigues Pedrino³.

Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Fisiológicas – Goiânia, GO, Brasil

Email: marinasantosm@hotmail.com

mirela-fisio@hotmail.com

gpedrino@gmail.com

Palavras-chave: hipertensão arterial; ingestão de água e sódio; período pós-natal

INTRODUÇÃO

O termo homeostasia se refere ao equilíbrio do meio interno do organismo e está diretamente relacionado com a manutenção das concentrações iônicas dos compartimentos intra e extracelulares. Alterações na tonicidade do compartimento extracelular causam alterações celulares e podem levar a convulsões, paralisias, coma e até morte (Bourque et.al, 1994), sendo, portanto, de grande importância a manutenção do volume e da osmolaridade deste compartimento.

O íon sódio (Na^+), por se encontrar em baixas concentrações e ser pouco permeável através da membrana plasmática, é o principal íon responsável pela manutenção da osmolaridade e do volume extracelular. Variações de sua concentração podem modificar a concentração de diversos outros elementos dos compartimentos intra e extracelulares, já que geram fluxo osmótico entre eles. Assim, o objetivo principal dos diversos mecanismos homeostáticos é a manutenção da concentração plasmática de sódio dentro de determinada faixa de variação.

Revisado pelo orientador.

¹ Orientando

² Orientador

³ Co-orientador

Tais variações, mesmo que pequenas, desencadeiam mecanismos de ajuste comportamentais e vegetativos que promovem o restabelecimento das condições fisiológicas. Sabe-se que todos os vertebrados mantêm a osmolaridade e o volume do compartimento extracelular por meio, principalmente, de ajustes comportamentais e vegetativos. Os ajustes comportamentais consistem na regulação da ingestão de água e sódio através de mudanças no apetite ao sódio e na sede.

Estudos demonstraram que o comportamento de sede é fortemente estimulado por variações mínimas da osmolaridade plasmática e do volume circulante (Antunes-Rodrigues et al., 2004; Fitzsimons, 1998), assim como o apetite ao sódio é estimulado pela diminuição da concentração plasmática de sódio e pela diminuição da ingestão de sal (Fitzsimons, 1998; Beauchamp et.al 1990). Esses comportamentos são necessários para que o equilíbrio hidroeletrólítico do compartimento extracelular seja mantido.

Diversas patologias, como a hipertensão arterial, são desencadeadas pela ineficácia desses ajustes. Estudos recentes identificaram que atualmente mais que 25% da população mundial são afetadas por esta patologia. Ademais, devido ao aumento da obesidade, ao alto consumo de sal na dieta e ao envelhecimento da população em países desenvolvidos e em desenvolvimentos, o impacto mundial da hipertensão arterial tem aumentado e projeta-se que 1,5 milhões de pessoas serão acometidas desta patologia até 2025 (Kaplan & Opie, 2006; Kearney, *et al.*, 2005). Além da grande prevalência da hipertensão arterial sistêmica na população, estimativas da Organização Mundial da Saúde indicam que esta doença é responsável por aproximadamente 7,1 milhões de mortes prematuras por ano, o que representa 13% do total geral dos óbitos mundiais (World Health Organization and International Society of Hypertension, 2003).

No Brasil, estima-se que a hipertensão arterial essencial atinja aproximadamente 22% da população brasileira acima de 20 anos (Ministério da Saúde do Brasil, 2001). Além disso, em 2008, doenças cardiovasculares causaram 1.096.888 internações hospitalares pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o que resultou em gastos aproximados de 1.627.311.414,94 reais, representando 14% do total geral de gastos com internação pelo SUS (DATASUS, 2010). Estudos experimentais e epidemiológicos demonstram que uma dieta rica em sódio é um importante fator contribuinte para o desenvolvimento da hipertensão (Keys, 1970; Horan e cols., 1985; Law e cols., 1991; Simons-Morton & Obarzanek, 1997). Estudos com animais e ensaios clínicos fornecem provas convincentes a respeito do efeito nocivo da ingestão de sódio na PA tanto entre hipertensos quanto entre normotensos. Além de seus efeitos sobre a

PA, o excesso de consumo de sódio na dieta tem sido associado diretamente com a doença cardíaca coronária, acidente vascular cerebral e doenças não-cardiovasculares (Brown,2009). Ademais, aumentos da pressão arterial têm sido descritos em populações com altos consumos de sódio em suas dietas (Horan e cols., 1985).

Alguns estudos sugerem ainda que doenças desenvolvidas na fase adulta estão relacionadas com determinadas condições a que o indivíduo foi exposto nos estágios iniciais de vida, incluindo a fase pré-natal (Barker et. al 1998). Bao et. al (1995) demonstram que o risco de se desenvolver hipertensão na fase adulta está relacionado com os níveis de pressão arterial nas fases iniciais da vida. Consistentes com estes resultados, Li et al. (1995) mostraram que nas valores de pressão arterial altos durante a infância estiveram correlacionados positivamente com os valores da pressão arterial sistólica e diastólica anos mais tarde. Apesar de evidenciar as influências pós-natais no desenvolvimento de hipertensão arterial, os diversos estudos não avaliaram se alterações no parâmetro de ingestão de água e sódio durante as fases pós-natais levariam a alteração do apetite de sódio na fase adulta e se essa alteração estaria relacionada com elevados níveis de pressão arterial.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é evidenciar se a ingestão de sódio aumentada em animais jovens altera a sensibilidade ao sódio (e, portanto, o apetite ao sal) na fase adulta. Mais especificamente, buscamos avaliar os efeitos do aumento do consumo de sódio durante as primeiras fases pós-natais sobre a ingestão de água e sódio induzida pela depleção de sódio.

METODOLOGIA

1. Modelo animal utilizado

Os experimentos foram realizados com ratos da linhagem Wistar - fornecidos pelo biotério da Universidade Federal de Goiás - com 21 dias de vida, mantidos com água e ração *ad libitum*. Cabe ressaltar que todos os protocolos utilizados neste projeto foram previamente submetidos à aprovação do comitê de ética da UFG (processo no. 051/2010).

2. Protocolo de ingestão de dieta hiperssódica

A dieta ofertada ao grupo experimental teve aumento na quantidade de cloreto de sódio (dieta hiperssódica: *grupo experimental 1%*: salina hipertônica NaCl 1% + ração para animais; *grupo experimental 1,8%*: salina hipertônica NaCl 1,8% + ração para animais). O

grupo controle foi mantido com dieta normossódica (água + ração para animais). A administração da dieta hiperssódica iniciou-se no vigésimo primeiro dia de vida e finalizou-se após 60 dias de tratamento. O período de recuperação (em que foi ofertada dieta normossódica tanto ao grupo controle, quanto ao grupo experimental) foi de 25 dias.

3. Análise da ingestão de água e sódio

Após o tratamento crônico com dieta hiperssódica e normossódica, os animais adultos dos dois grupos (experimental e controle) foram submetidos a um teste de ingestão induzida de água e sódio. Para isso os animais foram individualizados e tratados com a aplicação subcutânea de furosemide (FUR, 10 mg/kg). 24 horas após a administração de FUR, uma bureta contendo água e outra contendo solução salina (NaCl 0,3 M) foram ofertadas aos animais, permitindo livre acesso destes às duas soluções. O volume ingerido foi medido em intervalos de 30 min por duas horas. Durante todo o período do teste de ingestão os animais não tiveram acesso à ração.

4. Análise Estatística

As ingestões diárias de água, salina e ração foram expressas como média \pm EPM (erro padrão da média) e analisadas através teste t não pareado; assumiu-se significância quando $p < 0,05$. As variações da ingestão induzida de água e sódio foram expressas como média \pm EPM (erro padrão da média) e analisados através de análise de variância de duas vias para medidas repetidas, seguido pelo teste Bonferroni, nos casos em que o f atingiu o valor crítico assumindo-se $p < 0,05$.

RESULTADOS

Animais do grupo experimental submetidos à dieta hiperssódica (salina hipertônica 1 %):

Durante o período de tratamento do protocolo em que era ofertada dieta hiperssódica 1% ao grupo experimental e dieta normossódica ao grupo controle, observamos que a ingestão diária de salina hipertônica dos animais do grupo experimental foi significativamente maior do que a ingestão de água observada no grupo controle ($35 \pm 2,3$ ml de salina hipertônica 1% vs. $28,6 \pm 0,96$ ml de água, respectivamente; Fig.1A; $p < 0,05$). Em relação à ingestão diária de ração, não foram evidenciadas diferenças entre os animais do grupo experimental e controle ($18 \pm 0,8$ g vs. $19,6 \pm 0,47$ g, respectivamente; Fig.2A; $p > 0,05$).

Já ao longo do período de recuperação, em que era ofertada dieta normossódica a ambos os grupos, não houve diferença significativa entre a ingestão de águas dos animais do grupo experimental 1% ($38 \pm 2,6$ ml) e controle ($36,3 \pm 2,45$ ml; Fig.1B; $p > 0,05$). Em relação à ingestão de ração, as diferenças entre os dois grupos também não foram significativas (experimental = $21 \pm 0,8$ g ; controles = $23,1 \pm 0,62$ g de ração para animais por dia; Fig.2B; $p > 0,05$).

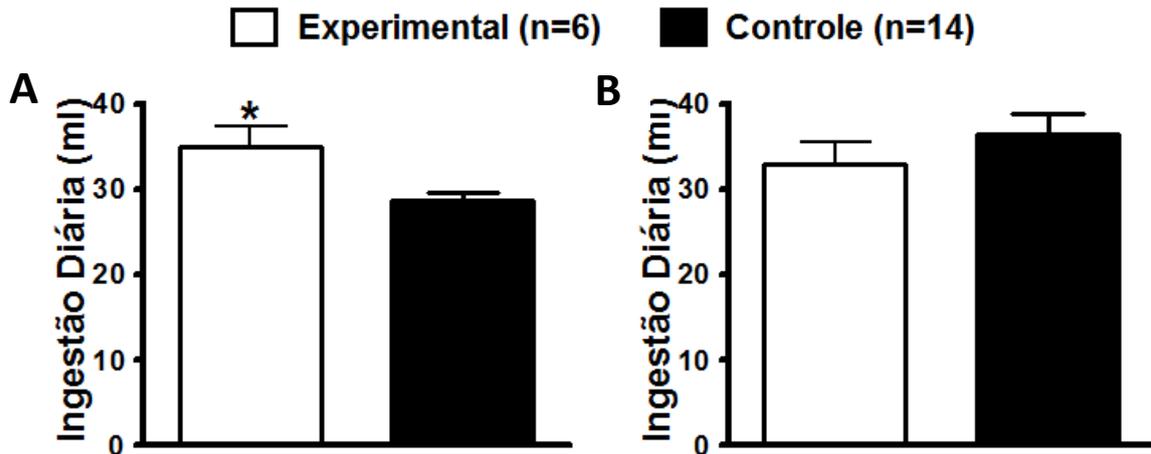


Figura 1. Média \pm EPM da ingestão diária (ml) de salina hipertônica 1% pelos animais do grupo experimental e de água pelos animais do grupo controle no período de tratamento (A) e de água por ambos os grupos no período de recuperação (B). * diferente do grupo controle; $p < 0,05$.

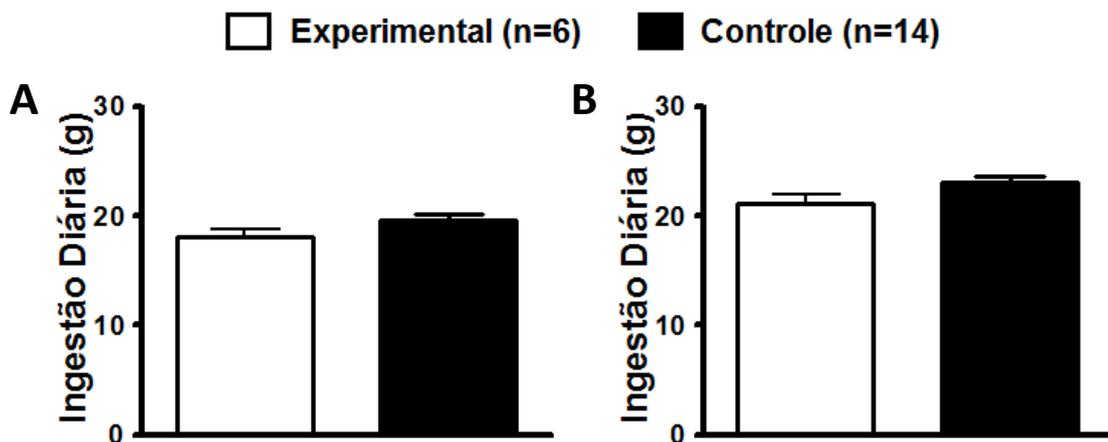


Figura 2. Média \pm EPM da ingestão diária, em g, de ração pelos animais dos grupos experimental 1% e controle no período de tratamento (A) e no período de recuperação (B).

Os valores da ingestão média de água e sódio 0,3M após a administração de FUR, nos animais do grupo experimental 1% e do grupo controle estão expressos na figura 3. Como podemos observar, o padrão de ingestão induzida de água e sódio foi semelhante nos dois grupos. Após 120 minutos, os animais experimentais haviam ingerido $10,1 \pm 0,9$ ml de água e os animais controles, $10,6 \pm 1,6$ ml de água. Com relação à ingestão de sódio, após 120 min, os animais do grupo experimental haviam ingerido $13,9 \pm 1,0$ ml de NaCl 0,3 M enquanto que os animais do grupo controle haviam ingerido $13,8 \pm 1,7$ ml desta solução. ($p > 0,05$)

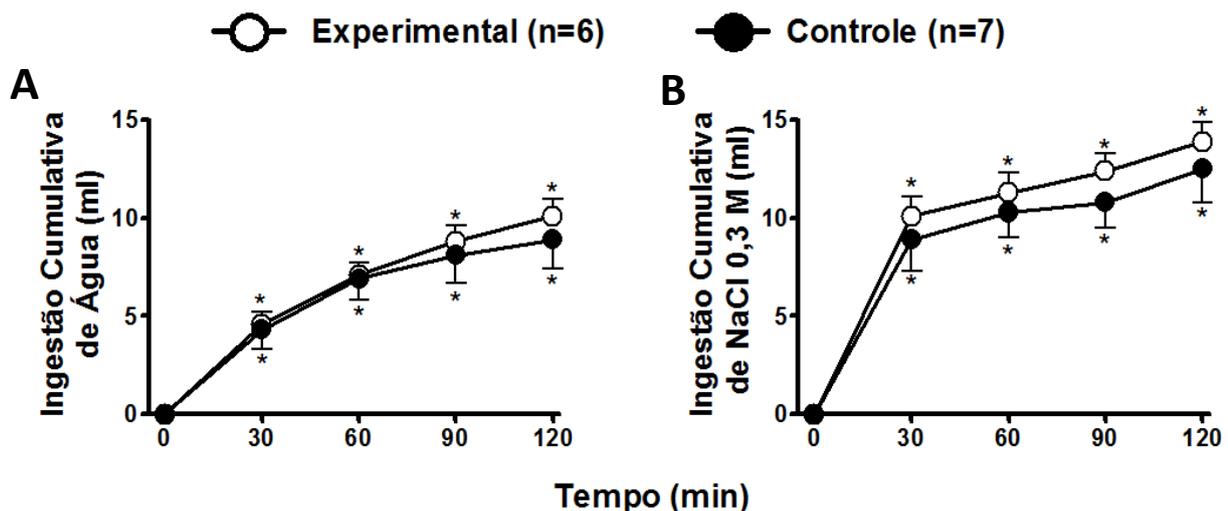


Figura 3. Média \pm EPM da ingestão cumulativa de água (ml; **A**) e da ingestão cumulativa de sódio 0,3M (ml; **B**), em resposta a administração subcutânea de furosemida em ratos controles e submetidos à sobrecarga de sódio durante as primeiras fases pós-natais (experimental 1,0%). * diferente do tempo 0; $p < 0,05$.

Animais do grupo experimental submetidos à dieta hiperssódica (salina hipertônica 1,8 %):

Durante o período de tratamento do protocolo em que era ofertada dieta hiperssódica 1,8% ao grupo experimental e dieta normossódica ao grupo controle observamos que a ingestão diária de salina hipertônica dos animais do grupo experimental foi significativamente maior do que a ingestão de água do grupo controle ($103 \pm 12,3$ ml de salina hipertônica 1,8% vs. $28,6 \pm 0,96$ ml de água, respectivamente; Fig.4A; $p < 0,05$). Em relação à ingestão diária de ração, foram evidenciadas que o grupo experimental ingeriu menos ração do o grupo controle,

sendo que a ingestão do grupo controle é ($13 \pm 0,5$ g vs. $19,6 \pm 0,47$ g, respectivamente; Fig. 5A; $p < 0,05$).

Durante o período de recuperação (em que era ofertada dieta normossódica para os animais tanto do grupo controle quanto do grupo experimental), não foram evidenciadas diferenças significativas na ingestão de água e ração entre os dois grupos ($p > 0,05$). Neste período, os animais do grupo experimental consumiam $36 \pm 1,6$ ml de água enquanto que os animais do grupo controle consumiam $36,3 \pm 2,45$ ml de água (Fig. 4B). Em relação à ingestão diária de ração, os animais experimentais consumiam, em média, $23 \pm 1,9$ g e os animais controles, $23,1 \pm 0,62$ g de ração para animais (Fig. 5B).

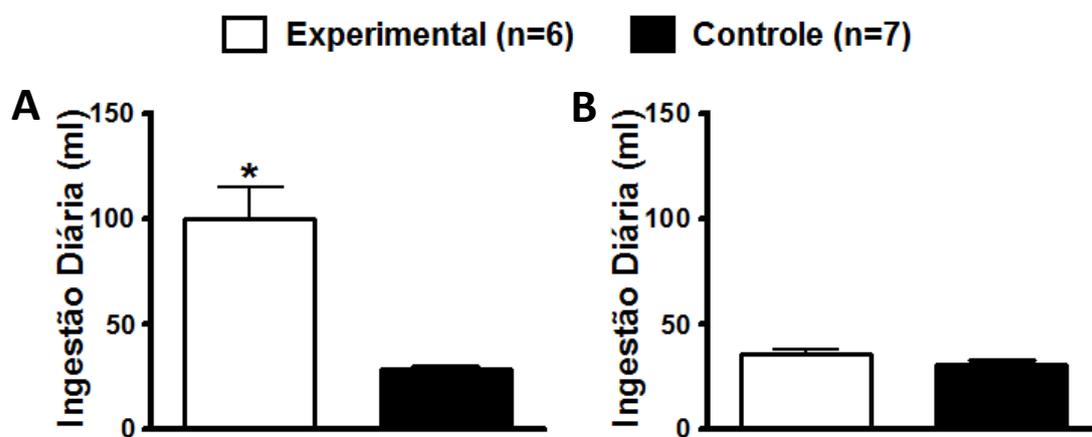


Figura 4. Média \pm EPM da ingestão diária, em ml, de salina hipertônica 1,8% pelos animais do grupo experimental e de água pelos animais do grupo controle durante o período de tratamento (A) e de água por ambos os grupos no período de recuperação (B). *diferente do grupo controle; $p < 0,05$.

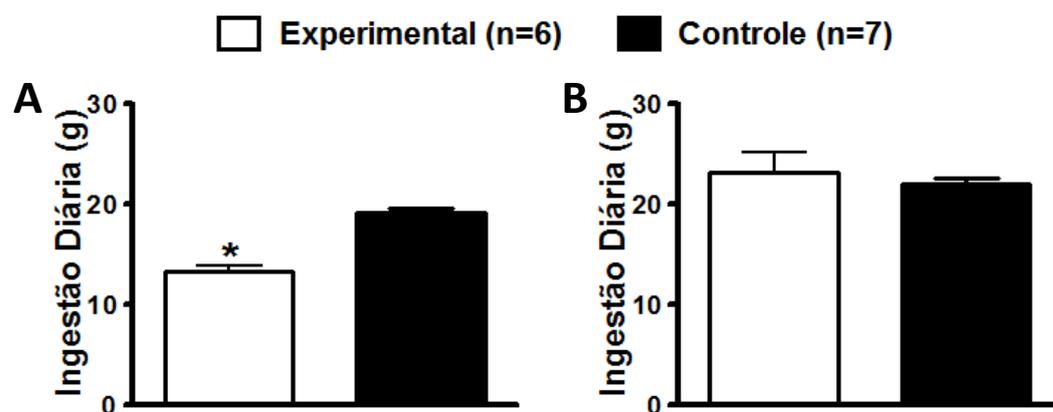


Figura 5. Média \pm EPM da ingestão diária, em g, de ração pelos animais do grupo experimental 1,8% e do grupo controle nos períodos experimental (A) e de recuperação (B). *diferente do grupo controle; $p < 0,05$.

Verificamos que, após a administração de FUR, tanto o grupo controle (N=7) como o experimental (N=6) tiveram comportamentos semelhantes em relação à ingestão de água ($7,0 \pm 1,1$ ml no grupo controle vs. $8,3 \pm 2,3$ ml no grupo experimental; Fig 6A). Entretanto, evidenciamos que a ingestão de sódio é significativamente menor no grupo experimental ($4,6 \pm 1,2$ ml; Fig 6B) quando comparada ao grupo controle ($11,2 \pm 1,9$ ml; Fig 6B; $p < 0,05$).

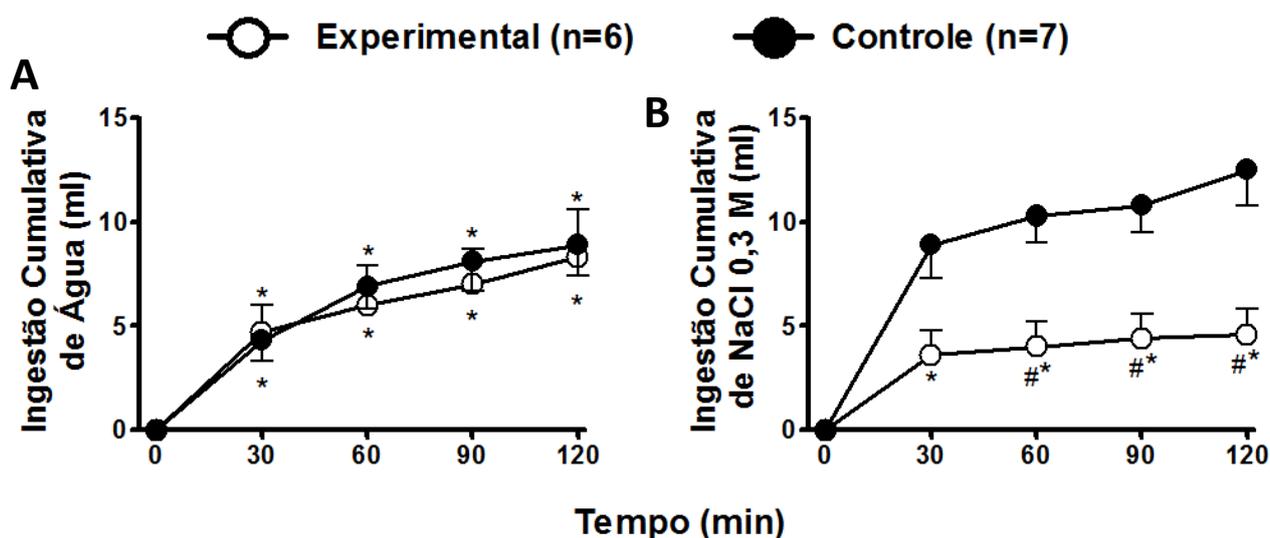


Figura 6. Média \pm EPM da ingestão cumulativa de água (ml; **A**) e da ingestão cumulativa de sódio 0,3M (ml; **B**), em resposta a administração subcutânea de furosemide, em ratos controle e submetidos à sobrecarga de sódio durante as primeiras fases pós-natais (experimental 1,8%). * diferente do tempo 0; # diferente do controle; $p < 0,05$.

DISCUSSÃO

Observamos que os animais submetidos à ingestão pós-natal de salina hipertônica 1% apresentavam padrões de ingestão de ração semelhantes aos padrões de ingestão de ração dos animais do grupo controle (nos períodos de tratamento e de recuperação) e padrões de ingestão de salina diferentes do padrão de ingestão de água do grupo controle no período de tratamento e semelhantes no período de recuperação. Evidenciamos também que, com a concentração de 1% de NaCl, a ingestão induzida de água e sódio de tal grupo experimental se mantém semelhante ao padrão de ingestão dos animais do grupo controle.

Já os animais submetidos à ingestão pós-natal salina hipertônica 1,8%, durante o período de tratamento, apresentavam padrões de ingestão de salina e ração distintos dos

padrões de ingestão de água e ração dos animais do grupo controle. Neste período, a ingestão diária média de salina é significativamente maior que a ingestão de água pelo grupo controle e a ingestão de ração para animais pelos indivíduos do grupo experimental é significativamente menor que a ingestão pelos indivíduos do grupo controle. Tal comportamento se deve à presença de sódio na ração - como o animal ingere grandes quantidades de sódio na salina hipertônica, a ingestão da ração se torna diminuída para que a concentração de sódio adquirida pela dieta não seja exacerbada. Durante o período de recuperação, o padrão de ingestão de água e ração dos animais do grupo experimental 1,8% se tornou semelhante ao padrão de ingestão de água e ração dos animais do grupo controle.

Os mecanismos homeostáticos envolvem ajustes no volume de água e de íons ingeridos e excretados, por meio de regulações neuroendócrinas e comportamentais. Os processos de sede e apetite ao sódio, bem como ingestão de água e íons, são regulados por um complexo circuito neural, assim, os comportamentos de ingestão de água e sódio são críticos para a correção de volumes dos líquidos extra e intracelulares para assegurar uma osmolaridade normal. (Kawako et al.,1992)

Respostas comportamentais a perda de líquidos corporais, juntamente com respostas neurais e endócrinas são fundamentais para restabelecer a homeostasia. Assim como as respostas neurais e endócrinas, tais comportamentos estão sob controle de ascendências excitatórias e inibitórias de alterações na osmolaridade plasmática, fatores endócrinos (angiotensina e aldosterona, por exemplo) e sinais neurais proveniente dos barorreceptores, osmorreceptores e receptores cardiopulmonares (Villa, 2006). Tais ascendências que chegam ao encéfalo requerem integração entre as diversas estruturas do sistema neural, como a lâmina terminal, a amígdala, a área perifornical, o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), o núcleo parabraquial lateral (NPBL), o núcleo do trato solitário (NTS) e a área postrema. Estas estruturas recebem aferências sensoriais e processam informações relacionadas ao balanço hidromineral. Os osmorreceptores que controlam a sede estão presentes nas vísceras e em estruturas livres de barreira hematoencefálica, como o órgão subfornical (OSF) e o órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT). A angiotensina e a aldosterona agem em estruturas da lâmina terminal estimulando a sede e o apetite ao sódio em situações de hipovolemia. (Johnson e Thunhorst, 1997).

A furosemida é um diurético/natriurético que reduz a reabsorção renal de sódio e água. Atua no ramo ascendente espesso da alça de Henle provocando hipovolemia. Tal hipovolemia

ativa o sistema endócrino e o sistema nervoso autônomo a fim de manter pressão arterial (Villa, 2006). Nesta situação, observamos a ativação do sistema nervoso autônomo simpático está relacionada ao aumento do tônus vascular, do retorno venoso, da frequência e da contratilidade cardíaca e ainda da reabsorção renal de sódio e água. A elevação de renina, angiotensina, vasopressina e aldosterona plasmáticas, entre outras substâncias, agem na retenção de sódio e água. Entretanto, para que se corrijam déficits absolutos de água e solutos extracelulares, são necessários comportamentos de aquisição e ingestão de sódio em adição a sede, iniciando o apetite ao sódio (Mckinley e Johnson, 2004).

O comportamento de ingestão induzida de água pelos animais com sobrecarga de sódio (salina hipertônica 1,8%) nas fases pós-natais foi semelhante ao comportamento dos animais controles. Entretanto, o comportamento de ingestão induzida de sódio destes animais foi significativamente diferente do comportamento de ingestão de sódio do grupo controle sendo que, nos animais experimentais a ingestão de sódio foi diminuída. Esta alteração foi causada pelo aumento da sensibilidade ao sódio nestes animais. Existem indivíduos cujas respostas neurais e comportamentais aumentam muito frente a determinado incremento no consumo de sal, enquanto que em outros indivíduos a resposta é muito pouco ou quase nada modificada. O grau destas respostas identifica o grau de sensibilidade ao sal. A sensibilidade ao sal é, portanto, a medida das respostas comportamentais frente à variação do conteúdo de sal na dieta (Amodeo e Heiman, 1998). Os animais submetidos à sobrecarga de sódio nas fases iniciais da vida se tornaram mais sensíveis ao sódio, suas respostas ao sódio foram mais significativas e, portanto, estes animais passaram a ingerir menores quantidades de sódio mediante depleção hídrica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados preliminares sugerem que o aumento do consumo de sódio nas primeiras fases pós-natais modifica os ajustes comportamentais induzidos pela depleção hídrica. Observamos que as respostas neurais e comportamentais diante de sobrecarga de sódio na dieta dependem diretamente da concentração de sódio: quanto maior o incremento de sódio na dieta, mais intensas serão as respostas do organismo. Entretanto, a concentração de 1% de sódio não foi suficiente para alterar os padrões neurais e comportamentais dos animais. Nos animais cuja dieta durante as primeiras fases do período pós-natal foi hiperssódica (com oferta de salina hipertônica 1,8%), a ingestão induzida de sódio está reduzida.

O mecanismo pelo qual a sobrecarga de sódio nas primeiras fases pós-natais altera as respostas comportamentais induzidas ainda precisa ser melhor esclarecido. Assim, são necessários ainda, estudos a respeito dos efeitos da dieta hiperssódica sobre a função renal dos animais durante a fase adulta (por exemplo, determinação da composição urinária e da concentração urinária de sódio) e sobre as respostas cardiovasculares (alterações da pressão arterial, frequência cardíaca e condutância vascular renal).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amodeo, C., Heiman, J.C. Revisão/Atualização em Hipertensão Arterial: O fenômeno da sensibilidade ao sal. **J. Bras. Nefrol.**; 20(1): 68-73,1998.

Antunes-Rodrigues,J., de Castro,M., Elias,L.L., Valenca,M.M., e McCann,S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev.** **84**, 169-208, 2004.

Bao W., Threefoot S.A., Srinivasan S.R. , Berenson G S. Essential hypertension predicted by tracking of elevated blood pressure from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. **Am J Hypertens** **8**:657–665, 1995.

Barker, D. J. P. Mothers, babies and health in later life. Context book. Edinburg: Churchill Livingstone, 1998.

Beauchamp,G.K., Bertino,M., Burke,D., e Engelman,K. Experimental sodium depletion e salt taste in normal human volunteers. **Am J Clin Nutr** **51**, 881-889, 1990.

Bourque,C.W., Oliet,S.H., e Richard,D. Osmoreceptors, osmoreception, e osmoregulation. **Front Neuroendocrinol.** **15**, 231-274, 1994.

Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P.Salt intakes around the world: implications for public health. **International Journal of Epidemiology** **2009**;38:791–813, 2009.

Fitzsimons,J.T. Angiotensin, thirst, e sodium appetite. **Physiol Rev.** **78**, 583-686, 1998.

Horan M.J., Blaustein M.P., Dunbar J.B., Grundy S., Kachadorian W., Kaplan N.M. NIH report on research challenges in nutrition and hypertension. **Hypertension** **7**:818–823, 1985.

Johnson, A.K., Thunhorst, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front. Neuroendocrinol.**, 18, p.252-353, 1997.

Kaplan NM & Opie LH Controversies in hypertension. *Lancet* **367**, 168–176, 2006.

Kawaco, Y.; Sudo, R.T.; Ferraro, C.M. Effects of chronic intraventricular sodium on blood pressure and fluid balance. **Hypertension**, 17, p. 28-35, 1992.

Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* **365**: 217–223, 2005.

Keys A. (ed) Coronary heart disease in seven countries. **Circulation** **41**:1–211, 1970.

Law M.R., Frost C.D., Wald N.J. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? III. Analysis of data from trials of salt reduction. **BMJ** **302**:819–824, 1991.

Li L, Wang Y, Cao W, Xu F, Cao J. Longitudinal studies of blood pressure in children. **Asia Pac J Public Health**; 8(2): 130-3, 1995.

Mckinley, M. J.; Johnson, A.K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **News Physiol Sci**, 19, p. 1-6, 2004.

Simons-Morton DG, Obarzanek E. Diet and blood pressure in children and adolescents. **Pediatr Nephrol** **11**:244–249, 1997.

Villa, P.S. Ativação do subtipo de receptor 5-HT_{1A} do núcleo paraventricular do hipotálamo sobre a ingestão de água e sódio. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 2006.