



KAROLINY COELHO ANDRADE

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO
SINTASE NEURONIAL SOBRE AS RESPOSTAS
CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
NEUROENDÓCRINAS DURANTE O CHOQUE
HEMORRÁGICO EM RATOS**

**LAVRAS – MG
2025**

KAROLINY COELHO ANDRADE

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NEURONIAL SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
NEUROENDÓCRINAS DURANTE O CHOQUE HEMORRÁGICO EM RATOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Ciências da Saúde, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr: Fernando Henrique Ferrari Alves

Orientador

**LAVRAS – MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Coelho Andrade, Karoliny.

Estudo da participação da enzima óxido nítrico sintase neuronal sobre as respostas cardiovasculares, autonômicas e neuroendócrinas durante o choque hemorrágico em ratos. / Karoliny Coelho Andrade. - 2025.

60 p. : il.

Orientador: Fernando Henrique Ferrari Alves

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. Choque hemorrágico. 2. Pressão arterial. 3. Óxido nítrico. I. Ferrari Alves, Fernando Henrique. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

KAROLINY COELHO ANDRADE

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NEURONIAL SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES, AUTÔNOMICAS E
NEUROENDÓCRINAS DURANTE O CHOQUE HEMORRÁGICO EM RATOS**

**STUDY OF THE ROLE OF NEURONAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN
CARDIOVASCULAR, AUTONOMIC, AND NEUROENDOCRINE RESPONSES
DURING HEMORRHAGIC SHOCK IN RATS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Ciências da Saúde, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de maio de 2025

Prof. Dr. Bruno Del Bianco Borges – UFLA-MG

Prof. Dr: Fernando Henrique Ferrari Alves (Orientador) - UFLA-MG

Profa. Dra. Cristiane Busnardo Santiago – UNESP-SP

Prof. Dr: Fernando Henrique Ferrari Alves

Orientador

LAVRAS - MG

2025

Aos meus eternos e grandes amores, meus avós, que sempre cuidaram de mim e estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Vocês são minha força e minha luz nos momentos de escuridão. Seu amor, ensinamentos e valores são um legado que levo comigo e que continuarão a me guiar.

Dedico

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Primeiramente, agradeço a Deus por todas as oportunidades concedidas a mim, pela força e serenidade nos momentos de fraqueza e dificuldade.

Aos meus pais, por todo amor e incentivo, por serem minha base e dedicarem seus esforços para que eu pudesse viver meus sonhos. Agradeço a Deus todos os dias por suas vidas. Obrigada por tudo!

Ao meu companheiro de vida, Gustavo, por ser o meu maior incentivador e apoiar todas as minhas escolhas. Nos momentos em que pensei em desistir, você sempre me fez lembrar o motivo pelo qual comecei. Obrigada por todo amor e apoio!

Ao meu irmão e à minha cunhada, por me permitirem conhecer o maior amor do mundo: meus sobrinhos, Luiza e Benício. Vocês são fontes constante de felicidade e incentivo em minha vida!

Ao Professor Fernando Henrique Ferrari Alves, meu orientador, por me receber tão bem, pelo apoio incondicional, disponibilidade, aconselhamento assertivo e incentivo constante. Sua orientação foi essencial para minha evolução pessoal e para o desenvolvimento desta pesquisa. Muito obrigada por tudo!

Ao laboratório de Farmacologia de Ribeirão Preto – USP, por me acolher com tanto carinho e apoio.

Ao Professor Morgan, por me receber tão bem, por sua prontidão em ajudar e pelos valiosos ensinamentos.

Em especial, à Cristiane e ao Ivaldo, que foram fundamentais para a realização deste experimento. Agradeço por todos os ensinamentos, pela disponibilidade em ajudar e por toda acolhida nos momentos em que estive no laboratório. Vocês são inspirações!

A todos os membros do laboratório que, durante o período do experimento, demonstraram solidariedade e acolhimento.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, por proporcionar um ambiente acadêmico de excelência, onde pude desenvolver e aprimorar meus conhecimentos, contribuindo significativamente para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Ao Professor Rafael, por sua disponibilidade e pelos ensinamentos essenciais para a realização do experimento.

À responsável técnica pelo biotério da UFLA, Samantha, por sua disponibilidade em ajudar e ensinamentos, especialmente sobre bem-estar animal e ética em pesquisa.

Aos membros desta banca, professor Bruno Del Bianco, por todos os ensinamentos ao longo das disciplinas e na banca de qualificação, e por todo auxílio prestado ao longo desta jornada.

E às amizades que levo para a vida, obrigada por tornarem cada momento mais divertido e por serem meu apoio nos momentos de dificuldade. Ter vocês ao meu lado faz toda a diferença!

*“Não é o mais forte que sobrevive,
nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta
às mudanças.”
(DARWIN)*

RESUMO

O óxido nítrico (NO), sintetizado pela isoforma neuronal da óxido nítrico sintase (nNOS), é um neuromodulador amplamente distribuído no sistema nervoso central, envolvido na regulação de funções autonômicas e cardiovasculares. Este estudo teve como objetivo investigar o papel da DA enzima nNOS nas respostas cardiovasculares, autonômicas e neuroendócrinas ao choque hemorrágico em ratos. Para isso, utilizou-se o 7-Nitroindazol (7-NI), um inibidor seletivo da nNOS, administrado por via intraperitoneal. Foram avaliados os efeitos do tratamento sobre a pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), temperatura cutânea da cauda (TC) e concentrações plasmáticas de vasopressina (AVP), em um modelo experimental de hemorragia aguda. Os resultados demonstraram que a inibição da nNOS aumentou a latência para o início da hipotensão e atenuou a queda da PAM durante a hemorragia, sem influenciar a temperatura da pele da cauda. Além disso, o tratamento com 7-NI induziu taquicardia mais acentuada durante e após a hemorragia, indicando possível intensificação da atividade simpática. Foi observado que a inibição da nNOS atenuou o aumento da liberação plasmática de AVP em resposta à hemorragia, sugerindo que o NO de origem neuronal participa da estimulação da secreção desse hormônio em condições de hipovolemia. Esses achados indicam que o NO derivado da nNOS participa ativamente da modulação das respostas fisiológicas ao choque hemorrágico e que sua inibição pode representar um potencial alvo terapêutico para melhorar a estabilidade hemodinâmica em situações de hipovolemia grave.

Palavras-chave: Óxido nítrico; pressão arterial; choque hemorrágico; vasopressina.

ABSTRACT

Nitric oxide (NO), synthesized by the neuronal isoform of nitric oxide synthase (nNOS), is a neuromodulator widely distributed in the central nervous system, involved in the regulation of autonomic and cardiovascular functions. This study aimed to investigate the role of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) in cardiovascular, autonomic, and neuroendocrine responses to hemorrhagic shock in rats. For this purpose, 7-Nitroindazole (7-NI), a selective nNOS inhibitor, was administered intraperitoneally. The effects of the treatment were evaluated on mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), tail skin temperature (TST), and plasma concentrations of vasopressin (AVP), in an experimental model of acute hemorrhage. The results showed that nNOS inhibition increased the latency to the onset of hypotension and attenuated the drop in MAP during hemorrhage, without affecting tail skin temperature. In addition, 7-NI treatment induced a more pronounced tachycardic response during and after hemorrhage, suggesting a possible enhancement of sympathetic activity. It was observed that nNOS inhibition attenuated the increase in plasma AVP release in response to hemorrhage, suggesting that neuronally-derived NO contributes to the stimulation of this hormone's secretion under hypovolemic conditions. These findings indicate that nNOS-derived NO actively participates in the modulation of physiological responses to hemorrhagic shock and that its inhibition may represent a potential therapeutic target to improve hemodynamic stability in situations of severe hypovolemia.

Keywords: Nitric oxide; blood pressure; hemorrhagic shock; vasopressin.

INDICADORES DE IMPACTO

Este estudo investigou a influência da enzima óxido nítrico sintase neuronal na regulação cardiovascular e neuroendócrina durante o choque hemorrágico, com foco na inibição da óxido nítrico sintase neuronal pelo 7-NI. Os resultados mostraram que essa inibição atenuou a queda da pressão arterial, retardou a hipotensão e reduziu a liberação de vasopressina, sugerindo um papel modulador do óxido nítrico neuronal na resposta ao choque hemorrágico. Esses achados reforçam a importância da via nitrérgica e da neurotransmissão glutamatérgica na regulação das respostas simpáticas e parassimpáticas ao choque hemorrágico, contribuindo para a identificação de novos alvos terapêuticos no tratamento de emergências cardiovasculares. O estudo apresenta impacto translacional relevante, fornecendo subsídios para futuras pesquisas sobre intervenções farmacológicas voltadas para a estabilização hemodinâmica e a otimização do manejo clínico de pacientes críticos. Além da relevância científica, a pesquisa também possui um caráter extensionista, ao fortalecer a relação entre ciência básica e prática clínica. O trabalho impacta diretamente a formação de profissionais da saúde, promovendo avanços no treinamento especializado e na implementação de protocolos médicos em unidades de emergência e terapia intensiva. Os achados estão alinhados aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, especialmente ao ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ao contribuir para o aprimoramento das estratégias terapêuticas voltadas para o tratamento do choque hemorrágico. Dessa forma, o estudo reforça a importância da integração entre pesquisa acadêmica e aplicação clínica, gerando benefícios diretos tanto para a comunidade científica quanto para a assistência hospitalar, contribuindo para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e melhorias no atendimento de pacientes em estado crítico.

IMPACT INDICATORS

This study investigated the influence of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) on cardiovascular and neuroendocrine regulation during hemorrhagic shock, focusing on the effects of nNOS inhibition by 7-Nitroindazole (7-NI). The results showed that this inhibition attenuated the drop in arterial pressure, delayed the onset of hypotension, and reduced vasopressin release, suggesting a modulatory role of neuronally-derived nitric oxide in the response to hemorrhagic shock. These findings reinforce the importance of the nitrenergic pathway and glutamatergic neurotransmission in regulating sympathetic and parasympathetic responses to hemorrhagic shock, contributing to the identification of new therapeutic targets for

the treatment of cardiovascular emergencies. The study presents significant translational impact, providing a foundation for future research on pharmacological interventions aimed at improving hemodynamic stability and optimizing the clinical management of critically ill patients. Beyond its scientific relevance, the research also has an extensionist character, strengthening the link between basic science and clinical practice. The work directly impacts the training of healthcare professionals, promoting advancements in specialized education and the implementation of medical protocols in emergency and intensive care units. The findings align with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 3 (Good Health and Well-being), by contributing to the enhancement of therapeutic strategies for the treatment of hemorrhagic shock. Thus, the study underscores the importance of integrating academic research with clinical application, generating direct benefits for both the scientific community and hospital care, and contributing to the development of new therapeutic approaches and improvements in the care of critically ill patients.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração da via de ativação de receptores NMDA e cascata de reações NO/GC.....	26
Figura 2 - Cronologia dos protocolos experimentais.....	42
Figura 3 - Variação da pressão arterial média (Δ PAM) (A), frequência cardíaca (Δ FC) (B) em animais submetidos a hemorragia controle e tratados com 7-NI.....	47
Figura 4 - Temperatura da pele da cauda (TC) basal em animais controle e tratados com 7-NI.....	49
Figura 5 - Variação da temperatura da pele da cauda (Δ TC) em animais submetidos a hemorragia controle e tratados com 7-NI.....	49
Figura 6 - Representação termográfica da variação da temperatura caudal em animais submetidos a hemorragia controle e tratados com 7-NI.....	50
Figura 7 - Variação das concentrações plasmáticas de vasopressina (Δ AVP) em animais submetidos à hemorragia controle e tratados com 7-NI.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores basais de PAM e FC em animais controle e tratados com 7-NI.....46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico
ATP	Adenosina trifosfato
AVP	Arginina vasopressina
BNST	Núcleo da estria terminal
CVLM	Área ventrolateral
EPM	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
iGluR	Receptores ionotrópicos de glutamato
NMDA	N-metil-D-aspartico
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NPV	Núcleo paraventricular do hipotálamo
NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso autônomo simpático
TC	Temperatura caudal
vPAG	Substância cinzenta periaquedutal ventral

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	16
1	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	Choque hemorrágico.....	19
2.2	Sistema cardiovascular e Sistema nervoso autônomo.....	21
2.3	Núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV)	22
2.4	Neurotransmissão Glutamatérgica e Nitrérgica	24
	REFERÊNCIAS.....	28
	SEGUNDA PARTE - ARTIGO.....	34
	ARTIGO 1 - ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE NEURONIAL SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E NEUROENDÓCRINAS DURANTE O CHOQUE HEMORRÁGICO EM RATOS.....	45
	TERCEIRA PARTE	55
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
	REFERÊNCIAS.....	57

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

O choque hemorrágico é uma condição crítica caracterizada por hipoperfusão tecidual, decorrente de perda aguda de volume sanguíneo, que leva a desequilíbrios hemodinâmicos e comprometimento da oxigenação celular (Schadt; Ludbrook, 1991). Essa condição desencadeia respostas compensatórias mediadas pelos sistemas cardiovascular, autonômico e neuroendócrino, visando preservar a perfusão de órgãos vitais, como cérebro e coração (Antunes-Rodrigues *et al.*, 2004; Barretto-de-Souza *et al.*, 2018).

Dentre essas respostas, destaca-se inicialmente o aumento da atividade simpática, que promove taquicardia, vasoconstrição periférica e liberação de catecolaminas (Schadt; Ludbrook, 1991; Victor *et al.*, 1989). Paralelamente, ocorre ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e liberação de vasopressina, um hormônio com potente efeito vasoconstritor que auxilia na manutenção da pressão arterial (Holmes; Landry; Granton, 2003; Johnson *et al.*, 2006).

A vasopressina desempenha um papel central na resposta compensatória ao choque, sendo liberada em duas fases: uma rápida, mediada por mecanismos neurais, e outra sustentada, associada a estímulos osmóticos e não osmóticos nos neurônios magnocelulares do hipotálamo (Kakiya *et al.*, 2000; Malpas; Coote, 1994). Estudos demonstram que níveis plasmáticos elevados desse hormônio durante o choque refletem sua importância na estabilização hemodinâmica (Cossu *et al.*, 2014; Gupta; Garg; Ramachandran, 2017).

No sistema nervoso central (SNC), regiões como o núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV) e a região ventrolateral da medula (RVLM) modulam as respostas autonômicas e neuroendócrinas ao choque (Badoer, 1998; Dampney *et al.*, 2002). A neurotransmissão glutamatérgica e nitrérgica nessas áreas exerce influência crucial, com o óxido nítrico (NO) atuando como um neuromodulador inibitório da atividade simpática (Garthwaite & Boulton, 1995; Resstel; Corrêa, 2006).

A interação da via nitrérgica e a vasopressina no SNC pode modular a eficácia das respostas compensatórias durante o choque. A produção central de NO está associada à inibição da liberação de vasopressina e à redução da atividade simpática, o que, em situações de choque grave, pode contribuir para a descompensação hemodinâmica (Benarroch, 2005; Zanzinger, 1999). Compreender esses mecanismos é essencial para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas mais eficazes, capazes de melhorar significativamente o prognóstico de pacientes em choque hemorrágico.

Com base nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar o papel da enzima nNOS na modulação da atividade cardiovascular, autonômica e neuroendócrina durante o choque hemorrágico, com ênfase em suas influências sobre a pressão arterial, frequência cardíaca, temperatura cutânea e liberação de vasopressina.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Choque hemorrágico

O choque hemorrágico é uma síndrome caracterizada pela perda significativa de volume intravascular de sangue, resultando em hipotensão e alterações hemodinâmicas que comprometem a homeostase (Chen; Pittman; Po pel, 2009). Em humanos, essa condição é geralmente identificada por marcadores clínicos, como hipotensão grave (PA sistólica < 90 mmHg), taquicardia acentuada (FC > 120 bpm) e acidose metabólica, evidenciada por lactato sanguíneo elevado (> 2–3 mmol/L). Outros sinais incluem diminuição da pressão de pulso, pele fria e pegajosa e alterações no estado mental, como desorientação e confusão (Ryan *et al.*, 2012; Schiller; Howard; Convertino, 2017). No entanto, em modelos animais como nos ratos, cujas características genéticas diferem das dos humanos, as respostas cardiovasculares à perda sanguínea podem apresentar particularidades, a PA diminui (entre 25 - 40 mmHg, dependendo da espécie), a FC aumenta (> 350 bpm), e as concentrações sistêmicas de lactato e succinato são significativamente mais altos comparados em humanos após choque hemorrágico (Fülöp *et al.*, 2013; Khodadadi *et al.*, 2020; Weber *et al.*, 2019). Isto por sua vez leva a ativação de uma variedade de mecanismos homeostáticos, como uma resposta compensatória para manter a PA e a perfusão para os órgãos vitais, como coração e cérebro (Chang; Holcomb, 2017).

A nível celular, o choque hemorrágico resulta em uma condição na qual a perfusão tecidual não é capaz de sustentar o metabolismo aeróbico (Gutierrez; Reines; Wulf-Gutierrez, 2004). Isso acontece quando a demanda de oxigênio supera a oferta, desencadeando vários processos patológicos. Sem oxigênio presente na cadeia de transporte de elétrons, a produção de adenosina trifosfato (ATP) é drasticamente reduzida, o que afeta vários processos celulares; talvez o mais importante seja a incapacidade de acionar a bomba de sódio/potássio, resultando em falha da bomba. Isso gera um aumento do sódio citosólico, inchaço e ruptura da membrana celular levando à morte celular (Edwards; Rizzo; Pusateri, 2021).

Existem quatro tipos de choque hemorrágico: hipovolêmico (baixo volume intravascular), cardiogênico (a função da bomba cardíaca não é suficiente para compensar o débito cardíaco), obstrutivo (derivado do bloqueio sanguíneo na circulação pulmonar ou sistêmica) e distributivo (caracterizado por inadequação entre a quantidade de tecido e produção de oxigênio provocada por problemas na distribuição do fluxo de sangue) (Siqueira; Schmidt, 2003).

O choque hemorrágico pode ser categorizado em diferentes classes de acordo com sua progressão. A classe I é a perda de menos de 15% do volume total de sangue e incluindo a maioria dos sinais vitais normais. A classe II representa uma perda de sangue de 15% a 30% e mostra um ligeiro desvio dos sinais vitais normais. O desvio dos sinais vitais em relação ao normal aumenta na classe III, onde a perda sanguínea está entre 31% e 40%. A classe IV inclui pacientes com perdas superiores a 40% do volume total de sangue, o que pode levar a alteração do estado mental, hipotensão significativa, taquicardia intensa e taquipneia (Donley; Munakomi; Loyd, 2023).

O estado clínico do choque hipovolêmico pode ser categorizado em 3 fases: (i) compensado, (ii) descompensado e (iii) irreversível. No choque precoce ou compensado, as reduções na PA detectadas pelos barorreceptores do arco aórtico e do seio carotídeo levam à estimulação do SNS. Concentrações mais elevadas de catecolaminas subsequentemente causam aumento da FC, contratilidade miocárdica e vasoconstrição para manter o débito cardíaco (Wang *et al.*, 2013). A vasoconstrição ocorre predominantemente nos vasos esplâncnicos e periféricos, desviando assim o fluxo sanguíneo do trato gastrointestinal, da pele e dos músculos esqueléticos, mantendo a perfusão para o cérebro e o coração (Caldwell; Garcia-Choudary; Vanfosson, 2020; Dutton, 2007). A perfusão renal pode ser adequadamente mantida em hemorragias baixas a moderadas; no entanto, sob hemorragia grave, o fluxo sanguíneo renal diminui, o que causa estimulação do eixo renina-angiotensina e liberação de angiotensina II, um potente vasoconstritor e estimulador da liberação de aldosterona. O RAAS mantém a tonicidade vascular regulando o volume do fluido extracelular e a PA (Patel *et al.*, 2017). A reabsorção de água é ainda aumentada pelo sistema neuroendócrino por meio do aumento das concentrações circulantes de hormônio antidiurético, também conhecido como AVP, secretado pela hipófise posterior (Wang *et al.*, 2013). Resumidamente, a ativação das vias do RAAS leva a um aumento significativo da atividade simpática, tanto no SNC quanto nos gânglios autônomos, medula espinhal e órgãos terminais (Brewster; Perazella; Setaro, 2003; Ranjan; Gulati, 2023). A interação renina, angiotensina e aldosterona resulta em vasoconstrição, aumento da liberação de AVP, retenção de sódio e água, estresse oxidativo e inflamação (Rupp; Jäger, 2001; Geevarghese, 2023). Além disso, essa ativação do sistema simpático ocorre principalmente por meio da modulação de centros encefálicos chave, como o núcleo do trato solitário (NTS) no tronco encefálico e o núcleo paraventricular (NPV) do hipotálamo, que estão envolvidos no controle da PA e da resposta neuroendócrina durante o choque hemorrágico (Chien, 1967; Zanzinger, 1999). Como resultado, a ativação do RAAS desencadeia uma série

de respostas que tentam restaurar a PA, mas que podem contribuir para danos em órgãos-alvo quando esse processo é desregulado ou prolongado (Brewster; Perazella; Setaro, 2003).

Na fase de descompensação a resposta simpática não é mais suficiente, é caracterizado por uma resposta diminuída a vasopressores e hipoperfusão para os tecidos periféricos (Khazaei; Barmaki; Nasimi, 2012). Tais alterações podem resultar em disfunção de órgãos vitais e são responsáveis por altas taxas de mortalidade. Por fim, desenvolve-se um choque irreversível e o débito cardíaco deprimido não pode mais ser revertido com terapias de reposição de volume (Wang *et al.*, 2013).

2.2 Sistema cardiovascular e Sistema nervoso autônomo

Compreendidos os mecanismos fisiopatológicos do choque hemorrágico, é essencial analisar como o sistema cardiovascular e o sistema nervoso autônomo interagem na regulação hemodinâmica durante esta condição.

A PA é rigorosamente regulada para garantir que o corpo atenda às diversas atividades diárias. Os mecanismos que alteram o volume sanguíneo controlam a regulação da PA a longo prazo. A regulação da PA é iniciada principalmente por barorreceptores, uma classe de neurônios sensíveis ao estiramento dentro dos gânglios nodosos e petrosos com projeções periféricas nas paredes da aorta e do seio carotídeo (Grassi *et al.*, 2006; Kirchheim, 1976; Wehrwein; Joyner, 2013). Um aumento na PA provoca o estiramento das terminações nervosas dos barorreceptores, que enviam sinais aferentes ao SNC. Em resposta, a ativação dos barorreceptores reduz a atividade simpática, resultando em diminuição da FC, do débito cardíaco e da resistência vascular, mecanismos que neutralizam o aumento inicial da PA (Iliescu; Tudorancea; Lohmeier, 2014; Wehrwein; Joyner, 2013).

Além dos barorreceptores, existem também os receptores cardiopulmonares, que são receptores de estiramento localizados nas paredes cardíacas e na circulação pulmonar, que modulam, em grande parte, o impulso cardiovascular simpático e a liberação de substâncias humorais, como AVP plasmática, atividade da renina plasmática e inibição de peptídeos natriuréticos atriais (Grassi *et al.*, 2006; Meehan, 1986). Os receptores cardiopulmonares, ou receptores de volume, também são mecanorreceptores que são ativados para informar o sistema nervoso autônomo sobre o volume de sangue dentro do sistema. Em estados de baixo volume, as alterações circulatórias e renais resultam em aumento da reabsorção de sal e água nos rins e em mudanças de PA média mais lentas e de longo prazo (Ishii; Idesako; Matsukawa, 2015; Meehan, 1986).

O SNS é um dos principais controladores do sistema cardiovascular e desempenha um papel fundamental na homeostase da PA (Guyenet, 2006; Simpson *et al.*, 2019; Joyner; Charkoudian; Wallin, 2008). Durante os estágios iniciais de uma hemorragia, a diminuição da PA e do volume sanguíneo ativa barorreceptores periféricos e centrais, desencadeando mecanismos compensatórios simpáticos e endócrinos (Powell *et al.*, 2019; Wehrwein; Joyner, 2013). Esses mecanismos têm como objetivo restaurar a PA e preservar a perfusão tecidual.

Durante uma hipovolemia central progressiva, o acoplamento entre a PA e as oscilações do fluxo simpático desempenha um papel compensatório crucial (Schiller; Howard; Convertino, 2017; Xiang *et al.*, 2018). Uma queda na pressão arterial (PA) é rapidamente detectada pelos barorreceptores, resultando em uma redução da atividade aferente excitatória ao núcleo do trato solitário (NTS) no tronco encefálico. Essa redução diminui a ativação de vias inibitórias centrais, favorecendo o aumento da atividade simpática. Como consequência, ocorre vasoconstrição periférica, aumento do tônus vascular e uma elevação compensatória da PA (Benarroch, 1993).

O barorreflexo é um mecanismo de feedback negativo que regula a PA por meio do ajuste do fluxo simpático e parassimpático. Quando a PA cai, os barorreceptores enviam menos impulsos aferentes ao NTS, o que reduz a inibição sobre os neurônios simpáticos no bulbo ventrolateral rostral (RVLM). Isso leva a um aumento na liberação de noradrenalina nas junções neuroefetoras, causando vasoconstrição, aumento da resistência vascular periférica e elevação da PA (Zocal *et al.*, 2021). Simultaneamente, a atividade parassimpática é reduzida, o que aumenta a FC e o débito cardíaco (Head *et al.*, 1995).

Esse acoplamento oscilatório entre a PA e o fluxo simpático representa um importante mecanismo compensatório durante situações de hipovolemia, ajudando a garantir a manutenção da perfusão de órgãos vitais (Carrara *et al.*, 2018; Mancina; Grassi, 2014;). Em suma, o barorreflexo desempenha um papel essencial na resposta fisiológica ao choque hemorrágico, garantindo que o organismo consiga reagir rapidamente às mudanças na PA e evitar o colapso cardiovascular (Ranjan; Gulati, 2023; Victor *et al.*, 1989).

2.3 Núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV)

Dentre os núcleos hipotalâmicos envolvidos na resposta ao choque, destaca-se o núcleo paraventricular (NPV). O NPV é um centro integrador fundamental no controle da função cardiovascular e no ajuste da resposta neuroendócrina (Dampney, 2016). Ele desempenha um papel crucial na regulação do tônus simpático e no volume do fluido extracelular, impactando

diretamente a PA e o equilíbrio hídrico do organismo. O NPV é composto por neurônios magnocelulares, que sintetizam a AVP, um neurotransmissor importante para a modulação da PA, e por neurônios parvocelulares, que se projetam para a eminência mediana e estão envolvidos na liberação de hormônios pituitários. Os neurônios parvocelulares também se comunicam com os neurônios pré-motores e pré-ganglionares simpáticos, participando ativamente da regulação da atividade simpática (Badoer; Merolli, 1998; Cannon *et al.*, 2017), e serão mais bem descritos posteriormente.

Mais de 30 neurotransmissores já foram identificados no NPV, com a AVP sendo um dos mais abundantes (Malpas; Coote, 1994; Savić; Murphy; Japundžić-Žigon, 2022). A AVP é um peptídeo composto por 9 aminoácidos, sintetizado principalmente por neurônios magnocelulares do NPV e do núcleo supraóptico (SON) do hipotálamo (Antunes-Rodrigues *et al.*, 2004). Como neurotransmissor, a AVP desempenha um papel crucial na regulação da PA e em outros processos fisiológicos, interagindo com áreas chave do sistema nervoso, como o NTS e NPV (Badoer; Merolli, 1998; Holmes *et al.*, 2001). Essa interação contribui para a modulação da atividade simpática e da resposta neuroendócrina em situações de estresse ou alterações do volume sanguíneo.

Os neurônios magnocelulares do NPV possuem terminais axonais localizados principalmente na neuro-hipófise, onde a AVP é armazenada e liberada em resposta a estímulos apropriados (Holmes, Landry e Granton, 2003; Verney, 1947). Esses neurônios respondem a sinais como o aumento da osmolaridade plasmática e a redução do volume intravascular, promovendo a liberação de AVP na circulação sistêmica (Holmes *et al.*, 2001; Verney, 1947). Uma vez liberada, a AVP exerce importantes efeitos cardiovasculares, incluindo o aumento do tônus vascular e a indução de vasoconstrição periférica (Anand e Skinner, 2012; Porter *et al.*, 1983). Além de sua ação periférica, a AVP também pode atuar como neuromodulador dentro do sistema nervoso central, por meio de projeções colaterais de neurônios magnocelulares para outras regiões do cérebro, modulando circuitos envolvidos na regulação autonômica e cardiovascular (Holmes, Landry e Granton, 2003; Johnson *et al.*, 2006). A AVP é reconhecida como um potente vasoconstritor, atuando predominantemente por meio da ativação de receptores V_1 , além de interagir com canais iônicos e sistemas moduladores como o NO (Holmes, Landry e Granton, 2003; Johnson *et al.*, 2006).

Além disso, o NPV mantém conexões cruciais com núcleos bulbares, como o NTS e a porção caudal do bulbo ventrolateral (CVLM), que são vitais para o controle autonômico da PA. Essas interações conferem ao NPV um papel importante nos ajustes tônicos e reflexos da

atividade simpática, essencial para a adaptação do organismo a alterações hemodinâmicas e condições de estresse (Badoer; Merolli, 1998; Pyner, 2009; Silveira *et al.*, 2003).

2.4 Neurotransmissão Glutamatérgica e Nitrérgica

Além da vasopressina, outros neurotransmissores participam da regulação hemodinâmica central, como o glutamato e o óxido nítrico. A liberação pré-sináptica de glutamato ocorre de forma dependente de cálcio, que entra no neurônio pré-sináptico através de canais voltagem-dependentes em resposta à despolarização da membrana. Esse influxo de cálcio promove a fusão das vesículas sinápticas com a membrana plasmática, liberando o glutamato na fenda sináptica. O glutamato exerce seus efeitos por meio de receptores ionotrópicos e metabotrópicos, com destaque para os receptores de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), responsáveis pela neurotransmissão excitatória rápida, e os receptores de NMDA (ácido N-metil-D-aspartico), que medeiam potenciais excitatórios pós-sinápticos lentos, fundamentais para o processamento de informações (Barker-Haliski; Steve White, 2015). Além disso, o glutamato também pode ativar receptores de cainato, outro tipo de receptor ionotrópico, cujo papel na sinalização neuronal ainda não é completamente compreendido, mas que parece estar relacionado à modulação pré e pós-sináptica da neurotransmissão excitatória (Contractor *et al.*, 2000; Lerma; Marques, 2013).

O NO é uma molécula sinalizadora onipresente que desempenha um papel crucial em diversos processos fisiológicos, como a neurotransmissão e a regulação cardiovascular (Barretto-De-Souza *et al.*, 2018; Letson; Dobson, 2021). No SNC, o NO é sintetizado principalmente pela enzima nNOS (Raju *et al.*, 2015) em resposta à ativação de receptores NMDA de glutamato. Essa ativação ocorre devido ao influxo de Ca^{2+} , que ativa a nNOS, promovendo a conversão de L-arginina em L-citrulina e a produção de NO, de forma dependente de oxigenação (Bredt *et al.*, 1991; Garthwaite; Boulton, 1995). A nNOS é uma das três isoformas da NOS, sendo as outras a eNOS (endotelial) e a iNOS (induzível), que possuem funções distintas no organismo (Pereira *et al.*, 2013).

A nNOS é predominantemente expressa no SNC, onde sua principal função é a modulação da neurotransmissão e do acoplamento neurovascular. Quando ativada, a nNOS gera NO, que modula a excitabilidade neuronal, a plasticidade sináptica e facilita a vasodilatação, essencial para o fornecimento adequado de oxigênio e nutrientes ao cérebro durante a atividade neuronal (Garthwaite, 2008; Garthwaite; Boulton, 1995). Já a eNOS, encontrada principalmente no endotélio vascular, tem um papel crucial na regulação do tônus vascular e na

manutenção da PA (Pereira *et al.*, 2013). A iNOS, por sua vez, é induzida em situações inflamatórias ou de estresse e pode produzir grandes quantidades de NO, o que, embora tenha um papel de defesa, pode também contribuir para danos teciduais em condições de inflamação ou trauma (Garthwaite, 2008; Pereira *et al.*, 2013).

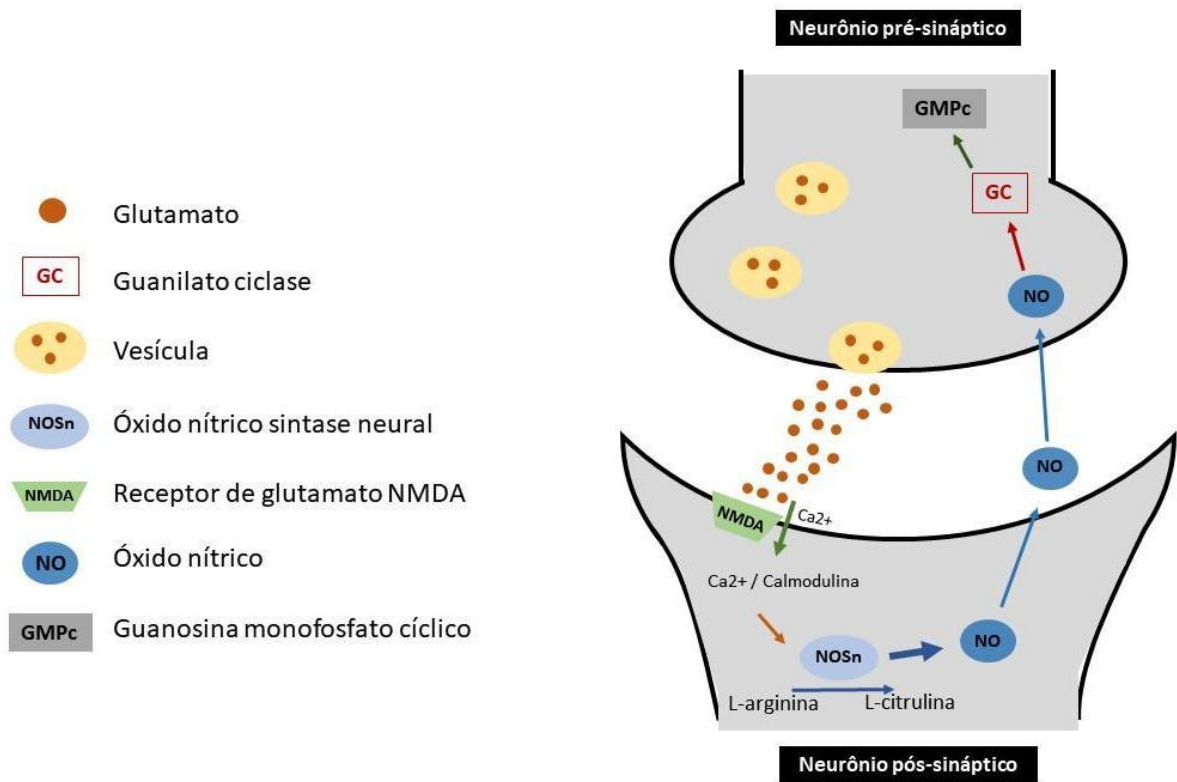
Após sua produção, o NO exerce diversos efeitos neuromodulatórios, incluindo a ativação da guanilato ciclase solúvel, o que desencadeia respostas fisiológicas específicas, como a modulação da excitabilidade neuronal, a plasticidade sináptica, a regulação da liberação de neurotransmissores e o acoplamento neurovascular. Esse último processo é essencial para assegurar o fluxo sanguíneo adequado nas áreas cerebrais ativas, garantindo o fornecimento de oxigênio e nutrientes aos neurônios (Chen; Pittman; Popel, 2009; Pereira *et al.*, 2013).

Durante a hipóxia, é esperado que a atividade da nNOS seja reduzida, comprometendo a produção de NO e, conseqüentemente, o fluxo sanguíneo cerebral e a vasodilatação (Pereira *et al.*, 2013). Diversos estudos demonstram que a ativação dos receptores NMDA está diretamente relacionada à ativação da nNOS e à produção de NO no SNC, enquanto o bloqueio dessa enzima inibe completamente as respostas cardiovasculares induzidas pelos receptores NMDA em diferentes regiões do SNC (Ferreira-Junior *et al.*, 2013; Martins-Pinge *et al.*, 2007; Resstel; Corrêa, 2006).

Um estudo anterior demonstrou o envolvimento dos receptores NMDA de glutamato na hipotensão e taquicardia induzidas pela hemorragia. A hipotensão resultou da inibição da liberação de AVP na circulação durante as fases de descompensação e recompensação do choque hemorrágico. Além disso, foi demonstrado que a hemorragia reduziu a produção de NO em áreas como NPV, amígdala, núcleo da estria terminal (BNST) e substância cinzenta periaquedutal ventral (vPAG) por meio de um mecanismo independente do receptor NMDA de glutamato (Busnardo *et al.*, 2021). Entretanto, o envolvimento da interação das neurotransmissões glutamatergicas e nitrérgicas no SNC envolvida nos ajustes fisiológicos provocados pela hemorragia ainda são pouco conhecidos, evidenciando a necessidade de mais estudos sobre o tema.

Diante disso, o presente estudo se propôs a investigar o papel da enzima nNOS na modulação da atividade cardiovascular durante o choque hemorrágico.

Figura 1 - Ilustração da via de ativação de receptores NMDA e cascata de reações NO/GC.



Legenda – No neurônio pré-sináptico ocorre a despolarização da membrana pré-sináptica, levando a exocitose das vesículas contendo glutamato. Após liberado na fenda sináptica, o glutamato interage com seu receptor do tipo NMDA e leva ao influxo de Ca^{2+} no neurônio pós-sináptico. O complexo Ca^{2+} / Calmodulina ativa a enzima óxido nítrico sintase neuronal (NOSn), que a partir da biossíntese de L-arginina em L-citrulina, forma o óxido nítrico (NO). Uma vez formado, o NO se difunde pela membrana pós sináptica e atua de forma retrógrada no neurônio pré-sináptico, interagindo com a guanilato ciclase (GC), que através de reações dependentes de GMPc, leva à exocitose de novas vesículas contendo glutamato e assim, o ciclo se repete.

Fonte: Da Autora (2025).

OBJETIVO

O objetivo geral do estudo foi investigar o papel da enzima nNOS na modulação da atividade cardiovascular, autonômica e neuroendócrina durante o choque hemorrágico.

Objetivos específicos

1. Verificar o possível envolvimento da enzima nNOS nas respostas de queda da PAM e aumento da FC decorrentes do choque hemorrágico.
2. Verificar o possível envolvimento da enzima nNOS sobre a temperatura cutânea da cauda durante o choque hemorrágico.
3. Verificar o possível envolvimento da enzima nNOS sobre as concentrações plasmáticas de vasopressina durante o choque hemorrágico.

REFERÊNCIAS

- ANAND, T.; SKINNER, R. Arginine vasopressin: The future of pressure-support resuscitation in hemorrhagic shock. **Journal of Surgical Research**, [s. l.], v. 178, n. 1, p. 321–329, 2012.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; DE CASTRO, M.; ELIAS, L. L. K.; VALENÇ, M. M.; MCCANN, S. M. Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism. **The American Physiological Society**, [s. l.], v. 84, p. 169–208, 2004. Disponível em: <www.prv.org>.
- BADOER, E.; MEROLLI, J. Neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus that project to the rostral ventrolateral medulla are activated by haemorrhage. **Brain Research**, [s. l.], v. 791, p. 317–320, 1998.
- BARKER-HALISKI, M.; STEVE WHITE, H. Glutamatergic mechanisms associated with seizures and epilepsy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 8, p. 1–15, 2015.
- BARRETTO-DE-SOUZA, L.; ADAMI, M. B.; BENINI, R.; CRESTANI, C. C. Dual role of nitrergic neurotransmission in the bed nucleus of the stria terminalis in controlling cardiovascular responses to emotional stress in rats. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 175, n. 19, p. 3773–3783, 2018.
- BENARROCH, E. E. The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 96, n. 3, p. 721–735, 1993.
- BENARROCH, E. E. Paraventricular nucleus, stress response, and cardiovascular disease. **Clinical Autonomic Research**, v. 15, p. 254–263, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10286-005-0290-7>. Acesso em: 02 abr. 2025.
- BREDT, D. S.; GLATT, C. E.; HWANG, P. M.; FOTUHI, M.; DAWSON, T. M.; SNYDER, S. H. Nitric Oxide Synthase Protein and mRNA Are Discretely Localized in Neuronal Populations of Mammalian CNS Together with NADPH Diaphorase. **Neuron**, [s. l.], v. 7, p. 615–624, 1991.
- BREWSTER, U. C.; PERAZELLA, M. A.; SETARO, J. F. The renin-angiotensin-aldosterone system: cardiorenal effects and implications for renal and cardiovascular disease states. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 326, n. 1, p. 15–24, 2003. DOI: 10.1097/0000441-200307000-00005.
- BUSNARDO, C.; FASSINI, A.; RODRIGUES, B.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CRESTANI, C. C.; CORRÊA, F. M. A. N-Methyl-D-aspartate Glutamate Receptor Modulates Cardiovascular and Neuroendocrine Responses Evoked by Hemorrhagic Shock in Rats. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2021, 2021.
- CALDWELL, N. W.; GARCIA-CHOUDARY, T.; VANFOSSON, C. A. Trauma-Related Hemorrhagic Shock: A Clinical Review. **Emergency CE**, [s. l.], v. 120, n. 9, 2020. Disponível em: <<https://journals.lww.com>>.

CANNON, J. W.; KHAN, M. A.; RAJA, A. S.; COHEN, M. J.; COMO, J. J.; COTTON, B. A.; DUBOSE, J. J.; FOX, E. E.; INABA, K.; RODRIGUEZ, C. J.; HOLCOMB, J. B.; DUCHESNE, J. C. Damage control resuscitation in patients with severe traumatic hemorrhage: A practice management guideline from the Eastern Association for the Surgery of Trauma. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, [s. l.], v. 82, n. 3, p. 605–617, 2017.

CARRARA, M.; BABINI, G.; BASELLI, G.; RISTAGNO, G.; PASTORELLI, R.; BRUNELLI, L.; FERRARIO, M. Blood pressure variability, heart functionality, and left ventricular tissue alterations in a protocol of severe hemorrhagic shock and resuscitation. **Journal of Applied Physiology**, v. 125, n. 4, p. 1011-1020. 2018.

CHANG, R.; HOLCOMB, J. B. Optimal fluid therapy for traumatic hemorrhagic shock. **Critical Care Clinics**, v. 33, n. 1, p. 15–36, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5131713/>. Acesso em: 22 abr. 2025.

CHEN, K.; PITTMAN, R. N.; POPEL, A. S. Hemorrhagic shock and nitric oxide release from erythrocytic nitric oxide synthase: A quantitative analysis. **Microvascular Research**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 107–118, 2009.

CHIEN, S. Role of the sympathetic nervous system in hemorrhage. **Physiological Reviews**, v. 47, n. 2, p. 214–288, 1967. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.1967.47.2.214>. Acesso em: 22 fev. 2025.

CONTRACTOR, A.; SWANSON, G. T.; SAILER, A.; O’GORMAN, S.; HEINEMANN, S. F. Identification of the Kainate Receptor Subunits Underlying Modulation of Excitatory Synaptic Transmission in the CA3 Region of the Hippocampus. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], p. 8269–8278, 2000.

COSSU, A. P.; MURA, P.; DE GIUDICI, L. M.; PUDDU, D.; PASIN, L.; EVANGELISTA, M.; XANTHOS, T.; MUSU, M.; FINCO, G. Vasopressin in Hemorrhagic Shock: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Animal Trials. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, 2014.

DAMPNEY, R. A. L. Central neural control of the cardiovascular system: current perspectives. **Advances in Physiology Education**, v. 40, n. 3, p. 283–296, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/advan.00027.2016>. Acesso em: 02 abr. 2025.

DAMPNEY, R. A. L.; COLEMAN, M. J.; FONTES, M. A. P.; HIROOKA, Y.; HORIUCHI, J.; LI, Y. W.; POLSON, J. W.; POTTS, P. D.; TAGAWA, T. Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 4, p. 261–268, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03640.x>.

DONLEY, E. R.; MUNAKOMI, S.; LOYD, J. W. Hemorrhage control. In: **STATPEARLS**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470382/>. Acesso em: 22 abr. 2025. Atualizado em: 13 ago. 2023.

- DUTTON, R. P. Current Concepts in Hemorrhagic Shock. **Anesthesiology Clinics**, [s. l.], v. 25, p. 23–34, 2007.
- EDWARDS, T. H.; RIZZO, J. A.; PUSATERI, A. E. Hemorrhagic shock and hemostatic resuscitation in canine trauma. **Transfusion**, v. 61, p. 264-274. 2021.
- FERREIRA-JUNIOR, N. C.; FEDOCE, A. G.; ALVES, F. H. F.; RESSTEL, L. B. M. Medial prefrontal cortex N-methyl-D-aspartate receptor/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway modulates both tachycardic and bradycardic baroreflex responses. **J Neurosci Res.**, v. 91, n. 10, p. 1338-13348, 2013.
- FÜLÖP, A.; TURÓCZI, Z.; GARBAISZ, D.; HARSÁNYI, L.; SZIJÁRTÓ, A. Experimental models of hemorrhagic shock: A review. **European Surgical Research**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 57–70, 2013.
- GARTHWAITE, J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. **European Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 27, n. 11, p. 2783–2802, 2008.
- GARTHWAITE, J.; BOULTON, C. L. Nitric oxide signaling in the central nervous system. **Annu. Rev. Physiol**, [s. l.], v. 57, p. 683–706, 1995. Disponível em: <www.annualreviews.org>
- GEEVARGHESE III, M.; PATEL, K.; GULATI, A.; RANJAN, A. K. Role of adrenergic receptors in shock. **Frontiers in Physiology**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1094591>. Acesso em: 21 nov. 2024.
- GRASSI, G.; TREVANO, F. Q.; SERAVALLE, G.; SCOPELLITI, F.; MANCIA, G. Baroreflex Function in Hypertension: Consequences for Antihypertensive Therapy. **Progress in Cardiovascular Diseases**, [s. l.], v. 48, n. 6, p. 407–415, 2006.
- GUPTA, B.; GARG, N.; RAMACHANDRAN, R. Vasopressors: Do they have any role in hemorrhagic shock? **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 3–8, 2017.
- GUTIERREZ, G.; REINES, H. D.; WULF-GUTIERREZ, M. E. Clinical review: Hemorrhagic shock. **Critical Care**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 373–381, 2004.
- GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 5, p. 335–346, 2006.
- HEAD, G. A. Baroreflexes and cardiovascular regulation in hypertension. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 26, supl. 2, p. S7–S16, 1995.
- HOLMES, C. L.; LANDRY, D. W.; GRANTON, J. T. Vasopressin and the cardiovascular system. **Critical Care**, v. 7, n. 6, p. 427–435, 2003.
- HOLMES, C. L.; PATEL, B. M.; RUSSELL, J. A.; WALLEY, K. R. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. **Chest**, v. 120, n. 3, p. 989–1002, 2001.

- ILIESCU, R.; TUDORANCEA, I.; LOHMEIER, T. E. Baroreflex activation: from mechanisms to therapy for cardiovascular disease. **Current Hypertension Reports**, v. 16, n. 453, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11906-014-0453-9>. Acesso em: 02 abr. 2025.
- ISHII, K.; IDESAKO, M.; MATSUKAWA, K. Differential contribution of aortic and carotid sinus baroreflexes to control of heart rate and renal sympathetic nerve activity. **J Physiol Sci.**, v. 65, n. 5, p. 471-80, 2015.
- JOHNSON, K. B.; PEARCE, F. J.; JEFFREYS, N.; MCJAMES, S. W.; CLUFF, M. Impact of Vasopressin on Hemodynamic and Metabolic Function in the Decompensatory Phase of Hemorrhagic Shock. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 167–172, 2006.
- JOYNER, M. J.; CHARKOUDIAN, N.; WALLIN, B. G. A sympathetic view of the sympathetic nervous system and blood pressure regulation in humans. **Experimental Physiology**, v. 93, n. 6, p. 715–724, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1113/expfisiol.2007.039545>. Acesso em: 22 abr. 2025.
- KAKIYA, S.; ARIMA, H.; YOKOI, H.; MURASE, T.; YAMBE, Y.; OISO, Y. Effects of acute hypotensive stimuli on arginine vasopressin gene transcription in the rat hypothalamus. **American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism**, v. 279, n. 4, p. E886–E892, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.279.4.E886>.
- KHAZAEI, M.; BARMAKI, B.; NASIMI, A. Protective Role of Selective Nitric Oxide Synthase Inhibitor for Treatment of Decompensated Hemorrhagic Shock in Normotensive and Hypertensive Rats. **International Journal of Preventive Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 1, 2012.
- KHODADADI, F.; BAHAODDINI, A.; TAVASSOLI, A.; KETABCHI, F. Heart rate variability and pulmonary dysfunction in rats subjected to hemorrhagic shock. **BMC Cardiovascular Disorders**, [s. l.], v. 20, n. 1, 2020.
- KIRCHHEIM, H. R. Systemic arterial baroreceptor reflexes. **Physiological Reviews**, v. 56, n. 1. 1976.
- LERMA, J.; MARQUES, J. M. Kainate receptors in health and disease. **Neuron**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 292–311, 2013.
- LETSON, H. L.; DOBSON, G. P. The Role of Nitric Oxide in the Efficacy of Adenosine, Lidocaine, and Magnesium Treatment for Experimental Hemorrhagic Shock in Rats. **Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental**, [s. l.], v. 95, 2021.
- MALPAS, S. C.; COOTE, J. H. Role of vasopressin in sympathetic response to paraventricular nucleus stimulation in anesthetized rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 266, n. 1, p. R228–R235, 1994. DOI: [10.1152/ajpregu.1994.266.1.R228](https://doi.org/10.1152/ajpregu.1994.266.1.R228).
- MANCIA, G.; GRASSI, G. The autonomic nervous system and hypertension. **Circulation Research**, v. 114, n. 11, p. 1804–1814, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302524>. Acesso em: 22 fev. 2025.

MARTINS-PINGE, M. C.; GARCIA, M. R. L.; ZOCCAL, D. B.; CRESTANI, C. C.; PINGE-FILHO, P. Differential influence of iNOS and nNOS inhibitors on rostral ventrolateral medullary mediated cardiovascular control in conscious rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, [s. l.], v. 131, n. 1–2, p. 65–69, 2007.

MEEHAN, J. P. Cardiovascular receptors and fluid volume control. **Aviation, Space, and Environmental Medicine**, v. 57, p. 267–275, 1986.

PATEL, S.; RAUF, A.; KHAN, H.; ABU-IZNEID, T. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 317-325, 2017.

PEREIRA, C.; FERREIRA, N. R.; ROCHA, B. S.; BARBOSA, R. M.; LARANJINHA, J. The redox interplay between nitrite and nitric oxide: From the gut to the brain. **Redox Biology**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 276–284, 2013.

POWELL, K.; SHAH, K.; HAO, C.; WU, Y.; JOHN, A.; NARAYAN, R. K.; LI, C. Neuromodulation as a new avenue for resuscitation in hemorrhagic shock. **Bioelectronic Medicine**, v. 5, art. 17, 2019. Disponível em: <https://bioelecmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42234-019-0020-2>. Acesso em: 22 abr. 2025.

PYNER, S. Neurochemistry of the paraventricular nucleus of the hypothalamus: implications for cardiovascular regulation. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 38, n. 3, p. 197–208, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2009.03.005>. Acesso em: 22 abr. 2025.

RAJU, K.; DOULIAS, P. T.; EVANS, P.; KRIZMAN, E. N.; JACKSON, J. G.; HORYN, O.; DAIKHIN, Y.; NISSIM, I.; YUDKOFF, M.; NISSIM, I.; SHARP, K. A.; ROBINSON, M. B.; ISCHIROPOULOS, H. Regulation of brain glutamate metabolism by nitric oxide and S-nitrosylation. **Science Signaling**, [s. l.], v. 8, n. 384, 2015.

RANJAN, A. K.; GULATI, A. Controls of Central and Peripheral Blood Pressure and Hemorrhagic/Hypovolemic Shock. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2023.

RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Injection of l-glutamate into medial prefrontal cortex induces cardiovascular responses through NMDA receptor - nitric oxide in rat. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 160–167, 2006.

RUPP, H.; JÄGER, B. The renin-angiotensin system and the sympathetic nervous system in hypertension and congestive heart failure: implications for therapeutic interventions. **Journal of Clinical and Basic Cardiology**, v. 4, n. 1, p. 47–51, 2001.

RYAN, K. L.; RICKARDS, C. A.; HINOJOSA-LABORDE, C.; COOKE, W. H.; CONVERTINO, V. A. Sympathetic responses to central hypovolemia: New insights from microneurographic recordings. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 3, 2012.

SAVIĆ, B.; MURPHY, D.; JAPUNDŽIĆ-ŽIGON, N. The paraventricular nucleus of the hypothalamus in control of blood pressure and blood pressure variability. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 1-14. 2022.

SCHADT, J. C.; LUDBROOK, J. Hemodynamic and neurohumoral responses to acute hypovolemia in conscious mammals. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 260, n. 2, p. H305–H318, 1991.

SCHILLER, A. M.; HOWARD, J. T.; CONVERTINO, V. A. The physiology of blood loss and shock: New insights from a human laboratory model of hemorrhage. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 242, n. 8, p. 874–883, 2017.

SILVEIRA, S. A.; VIANA LIMA, N. R.; HAIBARA, A. S.; COIMBRA, C. C. The hypothalamic paraventricular nucleus and carotid receptors modulate hyperglycemia induced by hemorrhage. **Brain Research**, [s. l.], v. 993, n. 1–2, p. 183–191, 2003.

SIMPSON, L. L.; BUSCH, S. A.; OLIVER, S. J.; AINSLIE, P. N.; STEMBRIDGE, M.; STEINBACK, C. D.; MOORE, J. P. Baroreflex control of sympathetic vasomotor activity and resting arterial pressure at high altitude: insight from Lowlanders and Sherpa. **Journal of Physiology**, [s. l.], v. 597, n. 9, p. 2379–2390, 2019.

SIQUEIRA, B. G.; SCHMIDT, A. Choque circulatório: definição, classificação, diagnóstico e tratamento. **Medicina**, v. 36, p. 145-150. 2003.

VERNEY, E. B. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, **Biological Sciences**, v. 135, n. 878, p. 25–106, 1947.

VICTOR, R. G.; THOREN, P.; MORGAN, D. A.; MARK, A. L. Differential control of adrenal and renal sympathetic nerve activity during hemorrhagic hypotension in rats. **Circulation Research**, v. 64, n. 4, p. 686–694, 1989.

WANG, J.; LIANG, T.; LOUIS, L.; NICOLAOU, S.; MCLAUGHLIN, P. D. Hypovolemic shock complex in the trauma setting: A pictorial review. **Canadian Association of Radiologists Journal**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 156–163, 2013.

WEHRWEIN, E. A.; JOYNER, M. J. Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic nervous system. In: AMINOFF, M. J. (ed.). **Handbook of Clinical Neurology**. v. 117, p. 89–102, 2013.

XIANG, L.; HINOJOSA-LABORDE, C.; RYAN, K. L.; RICKARDS, C. A.; CONVERTINO, V. A. Temporal evolution of compensatory physiological responses to central hypovolemia in humans with high and low tolerance. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 315, n. 4, p. R630–R639, 2018.

ZANZINGER, J. Role of nitric oxide in the neural control of the cardiovascular system. **Cardiovascular Research**, v. 43, n. 3, p. 639–649, 1999.

SEGUNDA PARTE

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE
NEURONIAL SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES, AUTONÔMICAS E
NEUROENDÓCRINAS DURANTE O CHOQUE HEMORRÁGICO EM RATOS**

Karoliny Coelho Andrade ¹, Fernando Henrique Ferrari Alves ¹, Cristiane Busnardo ², Ivaldo de Jesus Almeida Belém Filho ³, Fernando Morgan de Aguiar Corrêa ³.

¹ Departamento de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

² Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

³ Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

RESUMO

Neste estudo, investigamos o papel da enzima nNOS na modulação das respostas cardiovasculares, autonômicas e neuroendócrinas durante o choque hemorrágico em ratos. A administração sistêmica de 7-Nitroindazol (7-NI, 45 mg/kg, i.p.), inibidor seletivo da nNOS, aumentou a latência para o início da hipotensão e reduziu a magnitude da queda da pressão arterial média (PAM), sem interferir de forma significativa no efeito principal do tratamento. O 7-NI também potencializou a taquicardia durante e após a hemorragia, com valores de frequência cardíaca (FC) significativamente maiores em relação ao grupo controle. A temperatura cutânea da cauda não foi alterada pelo tratamento com 7-NI. Além disso, a inibição da nNOS aumentou significativamente as concentrações plasmáticas de vasopressina (AVP) durante a hemorragia, em comparação ao grupo salina, especialmente nos períodos de 20 minutos de sangramento e 40 minutos após o término da hemorragia. Esses resultados sugerem que o NO derivado da nNOS modula negativamente a liberação de AVP e regula a resposta autonômica à hemorragia, atuando como um importante modulador das respostas fisiológicas em condições de estresse hemodinâmico.

Palavras-chave: Óxido nítrico; pressão arterial; choque hemorrágico.

ABSTRACT

In this study, we investigated the role of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) in modulating cardiovascular, autonomic, and neuroendocrine responses during hemorrhagic shock in rats. Systemic administration of 7-Nitroindazole (7-NI, 45 mg/kg, i.p.), a selective nNOS inhibitor, increased the latency to the onset of hypotension and reduced the magnitude of the drop in mean arterial pressure (MAP), without significantly interfering with the primary effect of the treatment. Additionally, 7-NI enhanced tachycardia during and after hemorrhage, with heart rate (HR) values significantly higher compared to the control group. Tail skin temperature (TST) was not affected by 7-NI treatment. Furthermore, nNOS inhibition significantly increased plasma vasopressin (AVP) concentrations during hemorrhage compared to the saline group, especially at 20 minutes of bleeding and 40 minutes after the end of hemorrhage. These results suggest that nNOS-derived nitric oxide negatively modulates AVP release and regulates the autonomic response to hemorrhage, acting as an important modulator of physiological responses under hemodynamic stress conditions.

Keywords: Nitric oxide; blood pressure; hemorrhagic shock.

INTRODUÇÃO

O choque hemorrágico é uma condição grave em que o volume inadequado de sangue intravascular leva a uma redução significativa na pressão de perfusão (Caldwell; Garcia-Choudary; Vanfosson, 2020). Em nível celular, esse desequilíbrio se manifesta quando a quantidade de oxigênio disponível não é suficiente para atender à demanda necessária para o metabolismo aeróbico, resultando em hipoperfusão e lesões nos órgãos-alvo, como rins, fígado, intestino e músculo esquelético, podendo levar à falência múltipla de órgãos (Cannon *et al.*, 2017). As causas de hemorragia que podem resultar em choque são variadas e incluem eventos traumáticos, entre eles: hemorragia pós-parto, hemorragia gastrointestinal, hemorragia perioperatória e ruptura de aneurisma, entre outros. É importante ressaltar que o choque hemorrágico representa a principal causa de morbidade e mortalidade, contribuindo com 1,9 milhões de mortes por ano em todo o mundo (Cohen; Monaghan, 2021; Fülöp *et al.*, 2013; Owattanapanich *et al.*, 2018), sendo também a principal causa de mortes evitáveis (Black *et al.*, 2021). Esses dados evidenciam a importância de uma abordagem eficaz no manejo do choque hemorrágico, sendo necessário estudos em todos os aspectos relacionados a essa condição, incluindo aspectos cardiovasculares, autonômicos e neuroendócrinos, foco do presente estudo.

No início da hemorragia, alguns mecanismos compensatórios são ativados para preservar a perfusão dos órgãos vitais. Os barorreceptores arteriais, que são terminações nervosas livres sensíveis ao distendimento das paredes arteriais, desempenham um papel crucial nesse processo. Ao detectarem a redução na pressão arterial (PA), esses receptores ativam o sistema nervoso simpático (SNS), que estimula a liberação de hormônios vasoativos, como epinefrina e norepinefrina (Caldwell; Garcia-Choudary; Vanfosson, 2020; Dutton, 2007). Esses hormônios atuam em receptores adrenérgicos específicos, promovendo o aumento da contratilidade cardíaca e da frequência cardíaca (FC), além de estimular a liberação de renina pelos rins. A renina, por sua vez, ativa o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), que intensifica a vasoconstrição e promove retenção de sódio e água. Paralelamente, o hipotálamo estimula a liberação de AVP, que exerce um potente efeito vasoconstritor imediato e, posteriormente, contribui para a retenção de água pelos rins, aumentando o volume intravascular. Outros hormônios neuroendócrinos que atuam sinergicamente incluem a aldosterona e o neuropeptídeo Y, que regulam a pressão sanguínea e mantêm o fluxo sanguíneo para os órgãos que dependem de suprimento contínuo de oxigênio (Ranjan; Gulati, 2023). Devido a essas respostas compensatórias para manter a PA dentro da normalidade, até 30% do volume sanguíneo pode ser perdido antes que os sinais e sintomas do choque apareçam (Gupta;

Garg; Ramachandran, 2017). No choque descompensado, a resposta simpática não é suficiente e o débito cardíaco cai, o que resulta em diminuição da PA e acidose tecidual (Wang *et al.*, 2013). Quando a hemorragia é contida, tem início a fase de recompensação, na qual ocorre um aumento na circulação da AVP, aumento na FC e na atividade simpática cardíaca que juntas medeiam o retorno da pressão arterial média (PAM) a valores próximos aos basais (Troy *et al.*, 2003).

A AVP é um hormônio neuro-hipofisário endógeno, peça chave na manutenção do volume intravascular e da pressão durante o choque hemorrágicos (Anand; Skinner, 2012; Simpson *et al.*, 2019). O estímulo de liberação de AVP mais importante é a variação da osmolaridade plasmática seguida por variações da PA. A liberação de AVP pode ser suprimida, entre outros mecanismos, pelo aumento da liberação de óxido nítrico (NO) do endotélio vascular da hipófise posterior (Cossu *et al.*, 2014; Johnson *et al.*, 2006). O NO sintetizado pela isoforma nNOS, é uma molécula de sinalização amplamente distribuída, envolvida em diversos processos fisiopatológicos, como neurotransmissão e regulação da função cardiovascular (Letson; Dobson, 2021).

Alguns estudos têm apontado que a neurotransmissão nitrérgica é um importante mecanismo neuroquímico no sistema nervoso central (SNC) envolvido nas respostas fisiológicas a estímulos aversivos (Guimarães *et al.*, 2005; Resstel; Corrêa, 2006). Nesse contexto, o NO derivado da nNOS pode influenciar a atividade sináptica ao modular a neurotransmissão glutamatérgica (Raju *et al.*, 2015), impactando diretamente respostas relacionadas à memória emocional, excitabilidade pré-sináptica/pós-sináptica diminuída (Rameau *et al.*, 2007; Steinert *et al.*, 2008) e plasticidade sináptica reduzida (Blackshaw *et al.*, 2003; Lange *et al.*, 2011). Contudo mecanismos neuroquímicos encefálicos envolvidos nos ajustes fisiológicos provocados pela hemorragia ainda são pouco conhecidos.

Diante disso, este estudo parte da hipótese de que a enzima nNOS modula a atividade cardiovascular, autonômica e neuroendócrina durante o choque hemorrágico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 15 ratos Wistar pesando entre 230-270 g, com idade entre 8-12 semanas. Os animais foram fornecidos pelo biotério central da Universidade de São Paulo – Campus de Ribeirão Preto e transferidos para a instalação de criação do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Inicialmente, os ratos foram alojados em gaiolas coletivas (38 x 32 x 17 cm, cinco animais por gaiola). No dia anterior ao experimento, os animais foram transferidos para gaiolas individuais (28 x 17 x 13 cm). Comida e água foram fornecidas ad libitum durante todo o protocolo experimental. Os animais foram submetidos a um ciclo alternado de luz (12 h de luz/12 h de escuridão). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Lavras, protocolo nº 5082010224 e segue as normas da comissão de ética em utilização animal (CEUA) e está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Grupos experimentais

- Salina – Solução salina (veículo);
- 7-Nitroindazol – inibidor seletivo da enzima nNOS

Canulação da artéria femoral

Vinte e quatro horas antes dos experimentos, os animais foram anestesiados com ketamina (Cetamin®, Syntec, Brasil) e xilazina (Xilazin®, Syntec, Brasil) em uma solução de 5 ml de ketamina à 10% e 1,6 ml de xilazina a 2%, na dose de 0,1 ml/ 100g, intraperitoneal (i.p.), e foi implantado um cateter em cada artéria femoral. Estes vasos foram dissecados e os cateteres de polietileno foram introduzidos até a artéria aorta abdominal inferior. Os cateteres foram constituídos por um segmento de polietileno PE-10 (4-5 cm) soldado a segmento de polietileno PE-50 (12-13 cm), previamente preenchidos por solução salina e anticoagulante (15 U/mL de heparina em solução salina), e obstruído com pino de metal. Após implantação dos cateteres, estes foram exteriorizados na região dorsal do animal e fixados à pele por sutura cirúrgica. Ao término da cirurgia, os animais receberam 2,5 mg/ kg do analgésico não-esteroidal

flunexina meglumina (Banamine®, Schering Plough, Brasil), por via subcutânea, para analgesia pós-operatória. Os animais foram mantidos em caixas individuais durante todo o período pós-operatório e de registro dos parâmetros cardiovasculares.

Protocolos experimentais

Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo choque hemorrágico.

Este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento da enzima nNOS nas respostas de queda da PAM e aumento da FC decorrentes do choque hemorrágico. Para tanto, foi feita uma injeção intraperitoneal de Salina (veículo) ou 7-Nitroindazol (7-NI, 45 mg/kg) e 30 minutos depois, os animais foram submetidos ao choque hemorrágico onde permaneceram por 20 minutos. PAM e FC foram registradas por mais um período de 40 min após a conclusão de cada hemorragia.

Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI sobre a temperatura caudal induzida pelo choque hemorrágico.

Este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento da enzima nNOS central sobre a temperatura cutânea da cauda durante o choque hemorrágico. Para tanto, foi feita uma injeção intraperitoneal de Salina (veículo) ou 7-Nitroindazol (7-NI, 45 mg/kg), e 30 minutos depois, os animais foram submetidos ao choque hemorrágico onde permaneceram por 20 minutos. A temperatura caudal foi registrada com intervalo de 3 minutos durante o registro basal de PA e FC e, após a injeção intraperitoneal de solução salina (controle) ou 7-NI, uma foto foi capturada a cada dez minutos a partir do período que o animal entrou em sangramento, até 40 minutos após o término do sangramento.

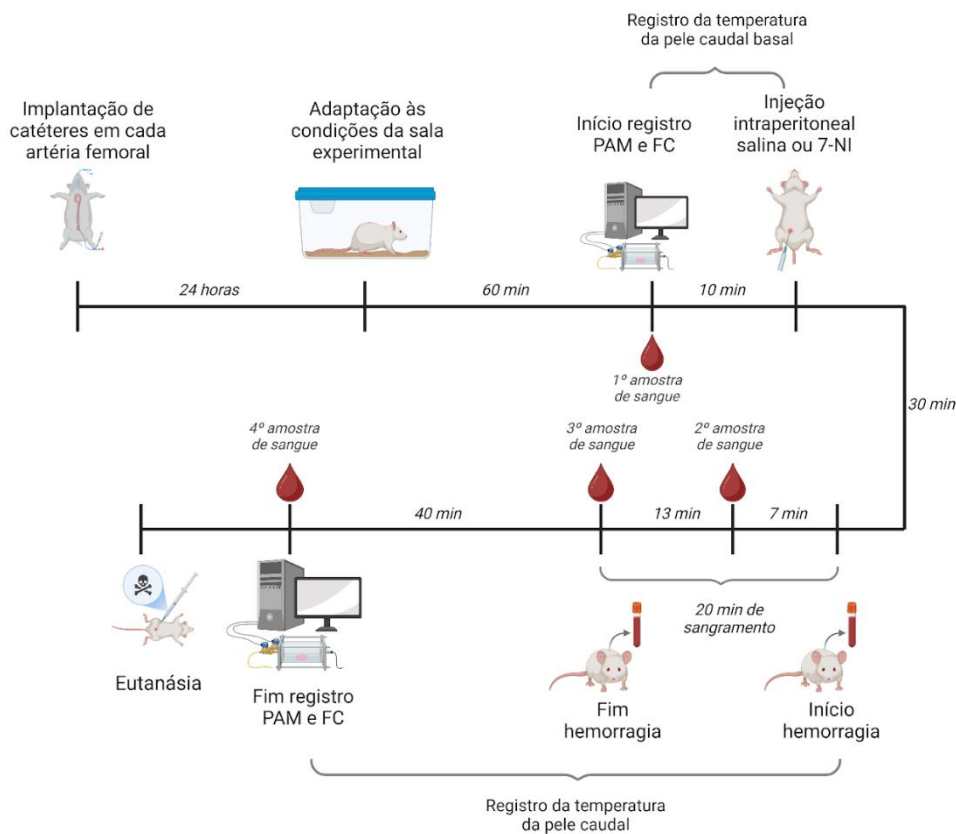
Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI sobre as concentrações de vasopressina circulantes induzida pelo choque hemorrágico

Este experimento teve por objetivo verificar o possível envolvimento da enzima nNOS sobre as concentrações plasmáticas de AVP durante o choque hemorrágico. Para tanto, foi feita

uma injeção intraperitoneal de Salina (veículo) ou 7-Nitroindazol (7-NI, 45 mg/kg) e 30 minutos depois, os animais foram submetidos ao choque hemorrágico onde permaneceram por 20 minutos. Foi feita retirada de amostra sanguínea no período basal e durante as três fases da hemorragia (Fase I aos 7 minutos de hemorragia; Fase II aos 20 minutos de hemorragia e Fase III aos 40 minutos após o fim da hemorragia).

Os experimentos foram realizados 24 horas após a implantação do cateter na artéria femoral. Os animais foram mantidos na sala de experimentação por 60 minutos antes do início do experimento para habituação às condições de som e iluminação do ambiente. Além disso, foi realizado um registro basal de 10 minutos da PAM e da FC antes do início dos experimentos. Os parâmetros foram monitorados durante todo o período da hemorragia e por mais 40 minutos após seu término. Cada animal foi submetido a uma única sessão do protocolo de hemorragia.

Figura 2 - Cronologia dos protocolos experimentais.



Legenda – Os animais foram conectados ao aparelho de registro de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), a após 10 minutos receberam injeção intraperitoneal através das cânulas guias implantadas anteriormente nas artérias femorais. 30 minutos após o tratamento, os animais foram submetidos a hemorragia por um período de 20 minutos. Foi feita retirada de amostra sanguínea no período basal e durante as três fases da hemorragia (Fase I aos 7 minutos de hemorragia; Fase II aos 20 minutos de hemorragia e Fase III aos 40 minutos após o fim da hemorragia). Durante o registro basal (30 minutos anteriores ao sangramento), foram tiradas 3 fotos térmicas com intervalo de 3 minutos de uma foto para outra. Após o início da hemorragia, foram tiradas mais 7 fotos, com

intervalo de 10 minutos entre as fotos, com a primeira sendo imediatamente após o início do sangramento e a última assim que completaram 40 minutos após o término da hemorragia. O registro da PA e FC foram feitos por 40 minutos após o término da hemorragia. Esta imagem foi criada com BioRender (<https://biorender.com/>).

Fonte: Da autora (2025).

Registro da pressão arterial e frequência cardíaca

A PA foi registrada pelo menos 24 horas após o procedimento cirúrgico de implantação de cateteres nas artérias femorais, para permitir a recuperação completa dos efeitos anestésicos. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais durante todo o período pós-operatório e durante a gravação cardiovascular (Busnardo *et al.*, 2016, 2019). Antes do início das gravações, 0,1 mL de solução salina com heparina (15 U/mL) foi injetada nos cateteres para evitar obstruções. O cateter implantado na artéria femoral foi conectado a um transdutor de PA (Hewlett Packard, Palo Alto, CA) através de um segmento de polietileno PE-50. A PA pulsátil foi registrada acoplando o transdutor de pressão a um pré-amplificador (HP7754-A; Hewlett Packard, Palo Alto, CA) conectado a um sistema de aquisição de dados computadorizado (MP-100; Biopac Systems, Goleta, CA). A PAM e a FC foram derivadas dos registros de PA pulsátil usando o software Acknowledge III. A PAM foi calculada de acordo com a equação: pressão diastólica + (sistólica - diastólica) /3. A FC (em batimentos por minuto) foi calculada a partir dos intervalos dos picos de PA pulsátil integrada a cada 6 segundos (Busnardo *et al.*, 2016, 2019).

Hemorragia

Durante o procedimento da hemorragia, o sangue foi retirado em uma taxa de 24 mL/kg de peso corporal durante um período de 20 min (0,372 mL / min para um rato 310g). Esta taxa evoca períodos claros de compensação, descompensação e recompensação (Troy *et al.*, 2003). O sangue foi retirado através da artéria femoral esquerda usando uma bomba de retirada / perfusão (KD Scientific, Holliston, MA, EUA).

Soluções e drogas utilizadas

Ketamina (Cetamin®, Syntec, Brasil), xilazina (Xilazin®, Syntec, Brasil), uretana (SIGMA, EUA), 7-Nitroindazol, Pentabiótico veterinário (Fort Dodge, Campinas, SP, Brasil) e Flunixin meglumine (Banamine®, Schering Plough, RJ, Brasil).

Dosagem da concentração da AVP circulante

Amostras de sangue foram coletadas do cateter implantado na artéria femoral em tubos plásticos heparinizados. Os tubos foram mantidos resfriados, centrifugados (20 minutos, 3000 rpm a 4°C), e foi-se separado 1 mL de plasma. A AVP presente nas amostras foi extraída usando acetona e éter de petróleo. O conteúdo de AVP nas amostras foi medido por radioimunoensaio, conforme descrito anteriormente (Busnardo *et al.*, 2021; Elias *et al.*, 1997; Morris; Alexander, 1989).

Temperatura da cauda

A temperatura cutânea, especificamente da cauda dos animais, foi registrada utilizando câmera térmica Multi-Purpose Thermal Imager IRI 4010 (Infra Red Systems Ltd Park Circle, Tithe Barn Way Swan Valley Northampton, USA) a uma distância de 50 cm, medidas com intervalo de 3 minutos durante o registro basal de PA e FC e, após a injeção intraperitoneal de solução salina (controle) ou 7-NI, uma foto a cada dez minutos a partir do período que o animal entrou em sangramento, até 40 min após o término do sangramento.

Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para análise estatística foi utilizado o programa Prism 7.0 (GraphPad, USA). Foi usado o teste t Student pareado para comparar os valores basais da PA, FC, TC, concentrações circulantes de AVP circulantes antes e após tratamento com 7-NI. As alterações cardiovasculares foram analisadas pelo teste de variância de dois fatores (ANOVA two-way) utilizando como variáveis os fatores do tratamento (controle ou droga) e o tempo como medida repetida. Quando os resultados se mostraram diferentes após ANOVA two-way, foi realizado o pós teste de medidas repetidas, Bonferroni's.

RESULTADOS

Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI sobre as respostas cardiovasculares induzidas pelo choque hemorrágico.

A injeção do inibidor da enzima nNOS intraperitonealmente, 7-NI (45 mg/kg), não alterou os valores basais da PAM e FC dos animais, conforme representado na tabela 1, $p < 0,05$.

Tabela 1- Valores basais de PAM e FC em animais controle e tratados com 7-NI.

	n	PAM \pm EPM (mmHg)				FC \pm EPM (bpm)			
		Pré	Pós	p	t	Pré	Pós	p	t
Salina (100 nL)	8	112,1 \pm 3,22	111,9 \pm 5,19	0,93	0,08	352,4 \pm 13,78	362,4 \pm 14,77	0,14	1,64
7-NI (45 mg/kg)	7	108,2 \pm 4,74	119,2 \pm 3,91	0,01	3,41	384,9 \pm 17,58	377,7 \pm 14,39	0,40	0,89

Legenda - Valores: média \pm EPM. Salina = ratos controle (tratados com solução salina); 7 - NI = ratos tratados com inibidor de nNOS; PAM = pressão arterial média; FC = frequência cardíaca; EPM = erro padrão da média; Salina (n= 8) vs. 7 - NI (n= 7); teste t de Student não pareado, $p > 0,05$.

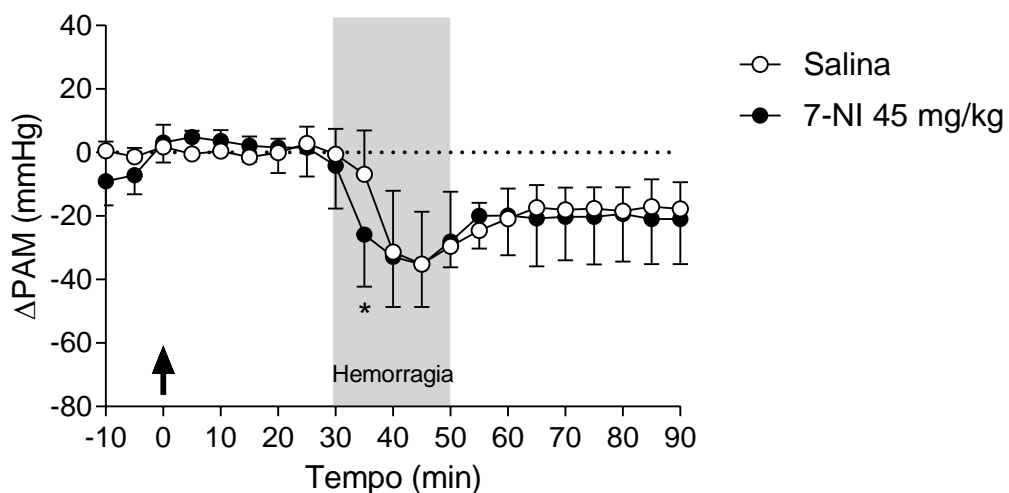
Fonte: Da autora (2025).

A injeção intraperitoneal do inibidor seletivo da enzima nNOS, 7-NI, não apresentou uma influência estatisticamente significativa no tratamento geral ($F_{(1,273)} = 1,937$, $P = 0,1651$) nem na interação entre tratamento e tempo ($F_{(20,273)} = 0,957$, $P = 0,5148$). No entanto, houve um efeito significativo ao longo do tempo ($F_{(20,273)} = 20,19$, $P < 0,0001$), indicando que a hemorragia induziu hipotensão progressiva (Figura 3A). A análise post hoc revelou que a administração de 7-NI aumentou a latência para o início da hipotensão e reduziu a queda da PAM (Δ PAM) em comparação com os animais tratados com veículo ($P < 0,05$), sugerindo que a inibição da nNOS pode atenuar a resposta hipotensiva à hemorragia (Figura 3A).

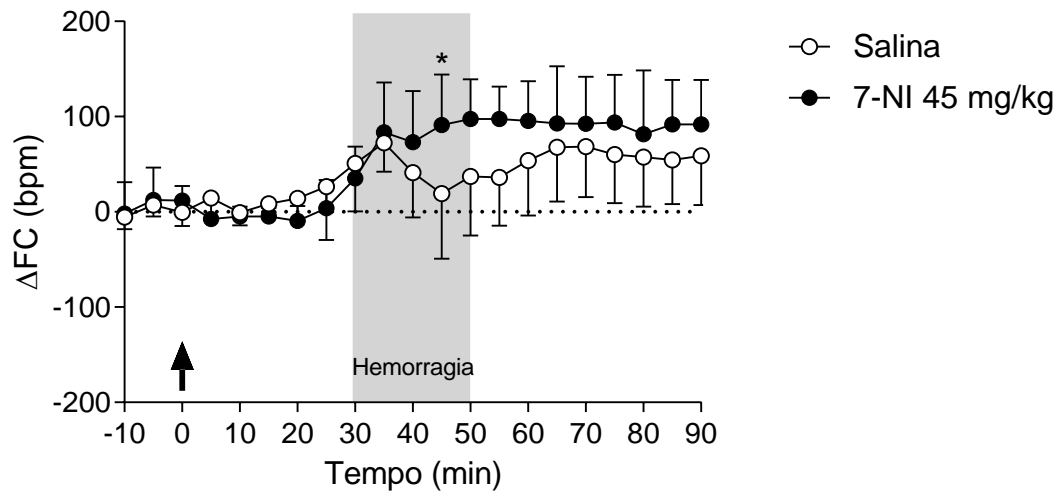
A análise da FC demonstrou um efeito significativo do tratamento com 7-NI ($F_{(1,273)} = 13,7$, $P = 0,0001$), influência do tempo ($F_{(20,273)} = 9,2$, $P = 0,0001$) e uma interação entre tratamento e tempo ($F_{(20,273)} = 1,65$, $P = 0,0402$). A análise post hoc mostrou que os animais tratados com salina (controle) apresentaram aumento da FC durante o período pós-hemorragia (salina basal: Δ HR = $-0,57 \pm 0,97$; salina pós-hemorragia: Δ HR = $19,1 \pm 2,52$, $t = 6,83$, $P = 0,0002$), embora esse aumento não tenha se mostrado estatisticamente significativo no contexto da comparação entre os grupos (Figura 3B). Além disso, os animais tratados com 7-NI apresentaram uma taquicardia acentuada durante e após a hemorragia, com valores de FC significativamente maiores em relação ao grupo controle ($P < 0,05$) (Figura 3B), sugerindo que a inibição da nNOS potencializa a resposta da FC à hemorragia (Figura 3B).

Figura 3 - Variação da pressão arterial média (Δ PAM) (A), frequência cardíaca (Δ FC) (B) em animais submetidos à hemorragia controle e tratados com 7-NI

(A)



(B)



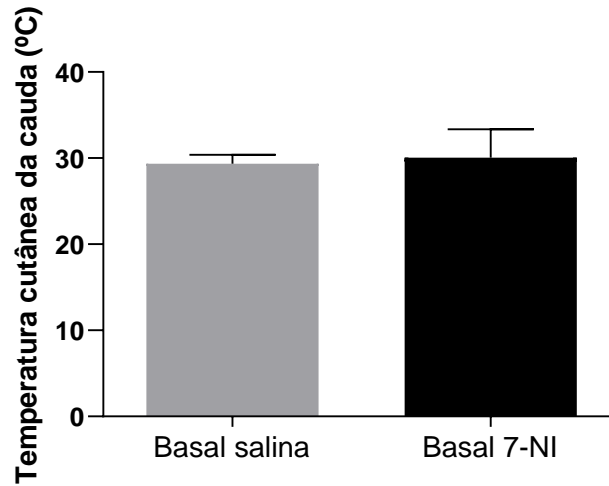
Legenda - Variação da pressão arterial média (Δ PAM) (A) e frequência cardíaca (Δ FC) (B) ao longo do tempo em animais submetidos a hemorragia e tratados com 7-NI (círculos pretos), inibidor seletivo da enzima óxido nítrico sintase neuronal, na dose de 45 mg/kg, ou tratados com solução salina (círculos brancos). Os registros basais da PAM e FC iniciaram em -10. As injeções foram feitas em 0 min (ou seja, 30 min antes do início da hemorragia). A hemorragia começou em 30 min e terminou em 50 min; a faixa cinza representa o período de sangramento. Os pontos representam a média e as barras o EPM. * $P < 0,05$ em relação ao controle (veículo) no mesmo ponto temporal. ANOVA de duas vias.

Fonte: Da autora (2025).

Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI nas respostas da temperatura da pele da cauda induzidas pelo choque hemorrágico.

A injeção intraperitoneal do inibidor seletivo da enzima nNOS, 7-NI (45 mg/kg, $n = 7$), não alterou a temperatura basal da pele da cauda (TC) quando comparada ao grupo tratado com veículo (veículo: $29,34 \pm 0,36$ °C vs. 7-NI: $30,05 \pm 1,2$ °C; $P = 0,5720$, $t = 0,5797$), conforme demonstrado na Figura 4. Além disso, o tratamento com 7-NI não afetou a temperatura cutânea durante a hemorragia em relação ao grupo controle (Δ TC: $0,66 \pm 0,69$ °C vs. $-0,08 \pm 1,66$ °C; $P = 0,6696$, $t = 0,4365$), conforme mostrado na Figura 5.

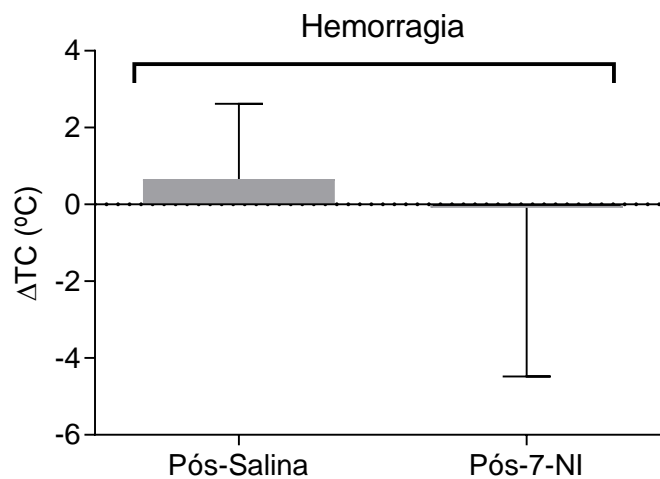
Figura 4 - Temperatura da pele da cauda (TC) basal em animais controle e tratados com 7-NI.



Legenda - Temperatura da pele da cauda (TC) basal em animais tratados com 7-NI (barra preta), inibidor seletivo da enzima óxido nítrico sintase neuronal, na dose de 45 mg/kg, ou tratados com solução salina (barra cinza).

Fonte: Da autora (2025).

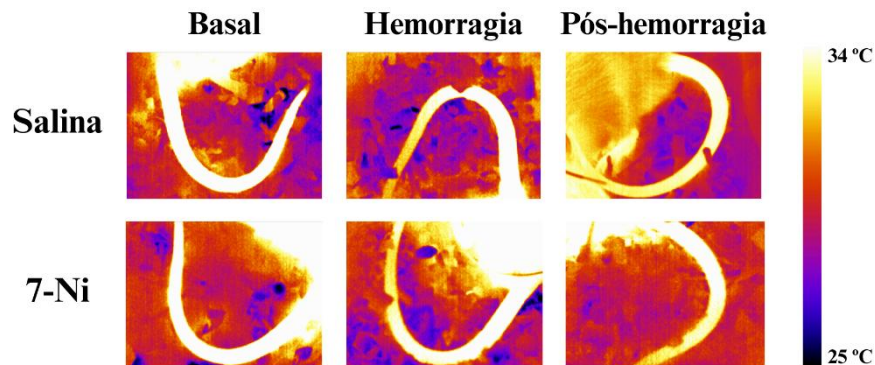
Figura 5 - Variação da temperatura da pele da cauda (ΔTC) em animais submetidos a hemorragia controle e tratados com 7-NI.



Legenda - Variação da temperatura da pele da cauda (ΔTC) em animais submetidos a hemorragia e tratados com 7-NI (barra preta), inibidor seletivo da enzima óxido nítrico sintase neuronal, na dose de 45 mg/kg, ou tratados com solução salina (barra cinza).

Fonte: Da autora (2025).

Figura 6 - Representação termográfica da variação da temperatura caudal em animais submetidos a hemorragia controle e tratados com 7-NI.



Legenda - Imagens digitais infravermelhas da cauda de ratos representativos mostrando a temperatura da pele da cauda antes, durante e após a hemorragia em animais tratados com 7-NI e com solução salina (controle). Todas as imagens utilizam a mesma codificação de cores para indicar a temperatura.

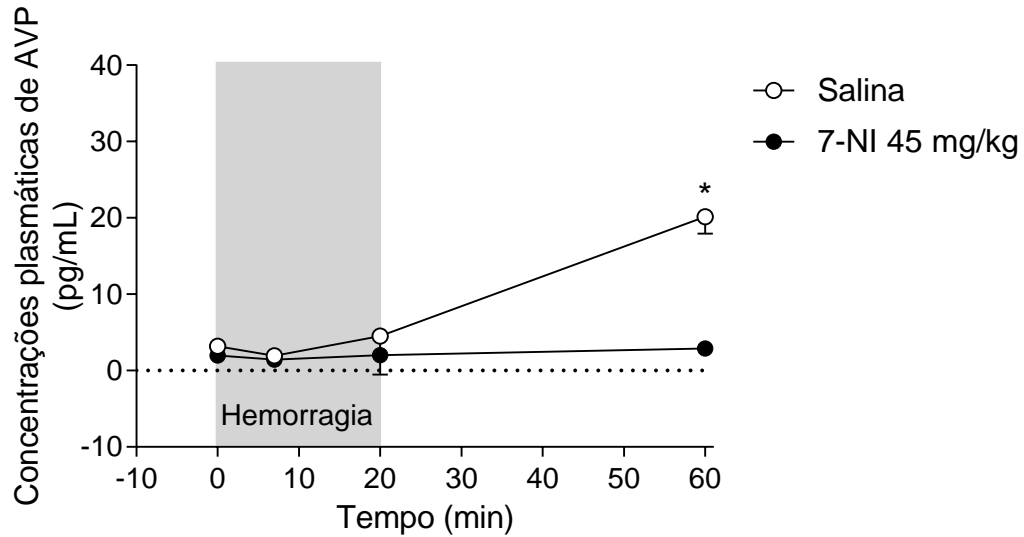
Fonte: Da autora (2025).

Efeitos da injeção intraperitoneal de 7-NI sobre a vasopressina circulante induzida pelo choque hemorrágico.

A administração sistêmica de 7-NI não alterou significativamente os valores basais de AVP plasmática em comparação com os animais tratados com solução salina (solução salina = 7,45 pg/mL, n = 8; 7-NI = 2,08 pg/mL, n = 7; t = 0,9, P = 0,3872). A análise de variância (ANOVA) de duas vias revelou um efeito significativo do 7-NI sobre as concentrações plasmáticas de AVP ($F_{(1,29)} = 69,57$, $P < 0,0001$), além de um efeito significativo ao longo do tempo ($F_{(3,29)} = 42,24$, $P < 0,0001$), indicando alterações nas concentrações plasmáticas de AVP ao longo do experimento. Também foi observada uma interação significativa entre tratamento e tempo ($F_{(3,29)} = 32,25$, $P < 0,0001$) (Figura 7).

A análise post hoc demonstrou que a hemorragia não causou aumento imediato nas concentrações plasmáticas de AVP em nenhum dos grupos durante a fase hemorrágica. No entanto, foi observado um aumento significativo das concentrações de AVP apenas no grupo tratado com solução salina 60 minutos após o início da hemorragia, em comparação com os valores basais (salina basal: AVP = 7,45 pg/mL; salina pós-hemorragia: AVP = $26,98 \pm 7,83$ pg/mL) (Figura 7). Esse aumento tardio não foi observado no grupo tratado com 7-NI, cujos níveis de AVP permaneceram estáveis ao longo de todo o protocolo experimental, sugerindo que a inibição da nNOS bloqueia a resposta tardia de liberação de AVP à hemorragia.

Figura 7 - Variação das concentrações plasmáticas de vasopressina (Δ AVP) em animais submetidos à hemorragia controle e tratados com 7-NI.



Legenda - Variação das concentrações plasmáticas de vasopressina (Δ AVP) ao longo do tempo em animais submetidos a hemorragia e tratados com 7-NI (círculos pretos), inibidor seletivo da enzima óxido nítrico sintase neuronal, na dose de 45 mg/kg, ou tratados com solução salina (círculos brancos).

A hemorragia começou em 0 min e terminou em 20 min; a faixa cinza representa o período de sangramento. As amostras de sangue foram coletadas em 0 min para dosagem basal, em 7 e 20 min durante a hemorragia e 40 min após o término do sangramento. Os pontos representam a média e as barras o EPM. ANOVA de duas vias.

Fonte: Da autora (2025).

DISCUSSÃO

No presente estudo, os achados destacam o papel crucial da inibição da nNOS, por meio do tratamento com 7-NI, na modulação das respostas cardiovasculares e neuroendócrinas à hemorragia. O tratamento com 7-NI agravou significativamente a hipotensão e alterou a dinâmica da frequência cardíaca (FC), reforçando a importância do NO derivado da nNOS na regulação das respostas compensatórias ao choque hemorrágico. Esses resultados sugerem que o NO neuronal contribui para a manutenção da pressão arterial durante a hipovolemia e que sua inibição pode comprometer os mecanismos de defesa cardiovascular, destacando a relevância da via nitrérgica no controle fisiológico em condições de estresse hemodinâmico (Benarroch, 2005; Dampney et al., 2002).

A análise das curvas temporais de variação da pressão arterial média (PAM) mostrou que o tratamento com 7-NI aumentou a magnitude da queda da PAM após a hemorragia. Esse efeito sugere que o NO derivado da nNOS desempenha um papel vasopressor ou modulador protetor durante o choque hemorrágico, possivelmente por meio de mecanismos centrais, localizados no tronco encefálico e no hipotálamo, que regulam a atividade do sistema nervoso autônomo (Barretto-De-Souza et al., 2018; Silveira et al., 2003). A neurotransmissão nitrérgica exerce um papel fundamental na regulação da atividade simpática, especialmente no núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV), uma região crítica para o controle da pressão arterial e do tônus vascular (Barretto-De-Souza et al., 2018; Benarroch, 2005). Assim, a redução na produção de NO neuronal pelo 7-NI pode ter comprometido a manutenção da resistência vascular periférica, contribuindo para o agravamento da hipotensão durante a hemorragia.

A análise da FC demonstrou que o tratamento com 7-NI resultou em uma resposta taquicárdica significativamente mais pronunciada durante a hemorragia, em comparação ao grupo controle. A taquicardia observada nos animais controle reflete o mecanismo compensatório clássico, mediado por reflexos barorreceptores e ativação simpática, em resposta à hipovolemia (Busnardo et al., 2016; Hintze & Vatner, 1984; Schadt & Ludbrook, 1991; Victor et al., 1989). No entanto, a intensificação dessa resposta no grupo 7-NI sugere que a inibição da nNOS pode amplificar a atividade simpática cardíaca ou reduzir o tônus parassimpático durante o choque hemorrágico. Essa modulação autonômica pode refletir a participação do NO neuronal no equilíbrio entre os componentes simpático e parassimpático do controle cardíaco em situações de estresse cardiovascular agudo (Gonzalez Gonzalez et al., 1995; Porter et al., 1983).

Além disso, observou-se que o tratamento com 7-NI reduziu significativamente as concentrações plasmáticas de vasopressina (AVP) durante a hemorragia, indicando que o NO derivado da nNOS pode atuar facilitando a secreção desse hormônio. Os neurônios magnocelulares localizados no NPV e no núcleo supraóptico (SON) são os principais responsáveis pela liberação de AVP, e sua atividade é regulada por múltiplos sistemas de neurotransmissão. Evidências mostram que a neurotransmissão glutamatérgica, especialmente por meio da ativação de receptores do tipo não-NMDA, exerce um efeito excitatório direto sobre esses neurônios, promovendo a liberação de AVP (Busnardo et al., 2012; Busnardo, Tavares & Corrêa, 2009; Busnardo et al., 2007).

Por outro lado, a ativação de receptores NMDA no NPV pode desencadear efeitos inibitórios indiretos sobre esses mesmos neurônios, ao estimular interneurônios GABAérgicos que modulam negativamente a excitabilidade dos neurônios magnocelulares (Toshinai et al., 2014; Stern, 2004). No entanto, os neurônios produtores de NO — via nNOS — parecem atuar como facilitadores da resposta hormonal ao choque hemorrágico, possivelmente amplificando a sinalização excitatória mediada por receptores não-NMDA.

Nesse contexto, a inibição da nNOS com 7-NI, ao reduzir a produção de NO, comprometeu essa modulação facilitadora, resultando na menor liberação de AVP durante o desafio hemorrágico. Esse achado reforça a ideia de que o NO neuronal exerce um papel funcional na sustentação da resposta neuroendócrina compensatória, atuando de forma positiva sobre a atividade secretora dos neurônios magnocelulares.

Em contraste com os efeitos do 7-NI, o tratamento com MK801, um antagonista dos receptores NMDA, também demonstrou atenuar a hipotensão induzida pela hemorragia, mas por mecanismos distintos. O MK801 atrasou e reduziu a magnitude da queda da PAM, sugerindo que a ativação dos receptores NMDA facilita a resposta hipotensiva ao choque hemorrágico (Busnardo et al., 2021). Esse efeito foi acompanhado por um aumento nas concentrações plasmáticas de AVP, em oposição ao observado com o 7-NI, que reduziu significativamente essa liberação. Essa diferença aponta para a atuação dos dois compostos em vias distintas, mas potencialmente complementares.

Enquanto o MK801 pode facilitar a liberação de AVP ao impedir a ativação dos receptores NMDA que promovem a atividade de interneurônios GABAérgicos inibitórios sobre os neurônios magnocelulares no NPV (Busnardo et al., 2021; Toshinai et al., 2014; Stern, 2004), o 7-NI atua diretamente sobre a via nitrérgica, reduzindo a produção de NO. Considerando que o NO derivado da nNOS contribui para aumentar a excitabilidade dos neurônios

neurosecretores, sua inibição pelo 7-NI pode ter comprometido a ativação dessas células, resultando na menor liberação de AVP observada durante o choque hemorrágico.

Além disso, enquanto o MK801 promoveu bradicardia — possivelmente por diminuir a ativação simpática cardíaca — o tratamento com 7-NI resultou em taquicardia mais acentuada. Esses efeitos distintos reforçam a ideia de que os receptores NMDA e a via nitrérgica regulam de forma diferente os componentes simpáticos e endócrinos durante o choque hemorrágico.

Em resumo, os resultados indicam que o óxido nítrico produzido pela nNOS exerce um papel facilitador na resposta neuroendócrina ao choque hemorrágico, especialmente na liberação de vasopressina. A inibição da nNOS prejudica essa resposta hormonal, o que pode comprometer os mecanismos compensatórios frente à hipovolemia. Os dados obtidos também mostram que os efeitos da inibição da nNOS diferem daqueles observados com o bloqueio dos receptores NMDA, sugerindo que essas vias atuam de forma distinta no controle neuroautônomo e hormonal durante o choque hemorrágico.

TERCEIRA PARTE

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo demonstram que a nNOS desempenha um papel fundamental na regulação cardiovascular e neuroendócrina durante o choque hemorrágico. A inibição seletiva da nNOS agravou a hipotensão induzida pela hemorragia, intensificou a resposta taquicárdica e reduziu a liberação de vasopressina. Esses achados indicam que o NO de origem neuronal contribui para a manutenção da pressão arterial e modula os mecanismos hormonais compensatórios, como a secreção de vasopressina. Além disso, os resultados sugerem que o NO neuronal facilita o ajuste autonômico e hemodinâmico ao estresse hipovolêmico, possivelmente por meio de ações centrais no tronco encefálico e no hipotálamo. Compreender a função da via nitrérgica em situações de hipovolemia pode oferecer subsídios importantes para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes no tratamento do choque hemorrágico.

REFERÊNCIAS

- ANAND, T.; SKINNER, R. Arginine vasopressin: The future of pressure-support resuscitation in hemorrhagic shock. **Journal of Surgical Research**, [s. l.], v. 178, n. 1, p. 321–329, 2012.
- BARRETTO-DE-SOUZA, L.; ADAMI, M. B.; BENINI, R.; CRESTANI, C. C. Dual role of nitrenergic neurotransmission in the bed nucleus of the stria terminalis in controlling cardiovascular responses to emotional stress in rats. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 175, n. 19, p. 3773–3783, 2018.
- BENARROCH, E. E. Paraventricular nucleus, stress response, and cardiovascular disease. **Clinical Autonomic Research**, v. 15, p. 254–263, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10286-005-0290-7>. Acesso em: 22 abr. 2025.
- BLACK, J. A.; PIERCE, V. S.; JUNEJA, K.; HOLCOMB, J. B. Complications of Hemorrhagic Shock and Massive Transfusion—a Comparison Before and After the Damage Control Resuscitation Era. **Shock**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 42–51, 2021.
- BLACKSHAW, S.; ELIASSON, M. J.; SAWA, A.; WATKINS, C. C.; KRUG, D.; GUPTA, A.; ARAI, T.; FERRANTE, R. J.; SNYDER, S. H. Species, strain and developmental variations in hippocampal neuronal and endothelial nitric oxide synthase clarify discrepancies in nitric oxide-dependent synaptic plasticity. **Neuroscience**, v. 119, n. 4, p. 979–990, 2003. doi: 10.1016/s0306-4522(03)00217-3.
- BUSNARDO, C.; TAVARES, R. F.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CORRÊA, F. M. A. Cardiovascular effects of L-glutamate microinjection in the supraoptic nucleus of unanesthetized rats. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 6, p. 1378–1384, 2007. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.01.011.
- BUSNARDO, C.; TAVARES, R. F.; CORRÊA, F. M. A. Role of N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors in the cardiovascular effects of L-glutamate microinjection into the hypothalamic paraventricular nucleus of unanesthetized rats. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 9, p. 2066–2077, 2009. DOI: 10.1002/jnr.22028.
- BUSNARDO, C.; CRESTANI, C. C.; RESSTEL, L. B. M.; TAVARES, R. F.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CORREA, F. M. A. Ionotropic glutamate receptors in hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei mediate vasopressin and oxytocin release in unanesthetized rats. **Endocrinology**, v. 153, n. 5, p. 2323–2331, 2012.
- BUSNARDO, C.; CRESTANI, C.C.; FASSINI, A.; CORRÊA, F. M. A.; RESSTEL, L. B. M. NMDA and non-NMDA glutamate receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulate different stages of hemorrhage-evoked cardiovascular responses in rats. **Neuroscience**, v. 320, p. 149–159, 2016.
- BUSNARDO, C.; CRESTANI, C.C.; SCOPINHO, A.A.; PACKARD, B. A.; RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A.; HERMAN, J. P. Nitrenergic neurotransmission in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulates autonomic, neuroendocrine and behavioral responses to acute restraint stress in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 90, p. 16–27, 2019.

- BUSNARDO, C.; FASSINI, A.; RODRIGUES, B.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CRESTANI, C. C.; CORRÊA, F. M. A. N-Methyl-D-aspartate Glutamate Receptor Modulates Cardiovascular and Neuroendocrine Responses Evoked by Hemorrhagic Shock in Rats. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2021, 2021.
- CALDWELL, N. W.; GARCIA-CHOUDARY, T.; VANFOSSON, C. A. Trauma-Related Hemorrhagic Shock: A Clinical Review. **Emergency CE**, [s. l.], v. 120, n. 9, 2020. Disponível em: <<https://journals.lww.com>>.
- CANNON, J. W.; KHAN, M. A.; RAJA, A. S.; COHEN, M. J.; COMO, J. J.; COTTON, B. A.; DUBOSE, J. J.; FOX, E. E.; INABA, K.; RODRIGUEZ, C. J.; HOLCOMB, J. B.; DUCHESNE, J. C. Damage control resuscitation in patients with severe traumatic hemorrhage: A practice management guideline from the Eastern Association for the Surgery of Trauma. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, [s. l.], v. 82, n. 3, p. 605–617, 2017.
- COHEN, M.; MONAGHAN, S. F. Hemorrhagic shock and fluid dynamics. **Physiological Reports**, [s. l.], v. 9, n. 6, 2021.
- COSSU, A. P.; MURA, P.; DE GIUDICI, L. M.; PUDDU, D.; PASIN, L.; EVANGELISTA, M.; XANTHOS, T.; MUSU, M.; FINCO, G. Vasopressin in Hemorrhagic Shock: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Animal Trials. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, 2014.
- DAMPNEY, R. A. L.; COLEMAN, M. J.; FONTES, M. A. P.; HIROOKA, Y.; HORIUCHI, J.; LI, Y. W.; POLSON, J. W.; POTTS, P. D.; TAGAWA, T. Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 4, p. 261–268, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03640.x>.
- DUTTON, R. P. Current Concepts in Hemorrhagic Shock. **Anesthesiology Clinics**, [s. l.], v. 25, p. 23–34, 2007.
- ELIAS, L. L.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; ELIAS, P.C.; MOREIRA, A. C. Effect of plasma osmolality on pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide changes in central diabetes insipidus. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 8, n. 4, p. 1243–1247, 1997.
- FÜLÖP, A.; TURÓCZI, Z.; GARBAISZ, D.; HARSÁNYI, L.; SZIJÁRTÓ, A. Experimental models of hemorrhagic shock: A review. **European Surgical Research**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 57–70, 2013.
- GONZALEZ GONZALEZ, J.; CORDERO VALERIANO, J. J.; FERIA RODRIGUEZ, M. Autonomic mediation of short-term cardiovascular oscillations after acute hemorrhage in conscious rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 55, n. 1–2, p. 123–130, 1995. DOI: 10.1016/0165-1838(95)00038-Y.
- GUIMARÃES, F. S.; BEIJAMINI, V.; MOREIRA, F. A.; AGUIAR, D. C.; LUCCA, A. C. B. de. Role of nitric oxide in brain regions related to defensive reactions. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1313–1322, 2005.

- GUPTA, B.; GARG, N.; RAMACHANDRAN, R. Vasopressors: Do they have any role in hemorrhagic shock? **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 3–8, 2017.
- HINTZE, T. H.; VATNER, S. F. Reactive dilation of large coronary arteries in conscious dogs. **Circulation Research**, v. 54, n. 1, p. 50–57, 1984.
- JOHNSON, K. B.; PEARCE, F. J.; JEFFREYS, N.; MCJAMES, S. W.; CLUFF, M. Impact of Vasopressin on Hemodynamic and Metabolic Function in the Decompensatory Phase of Hemorrhagic Shock. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 167–172, 2006.
- LANGE, M. D.; DOENGI, M.; LESTING, J.; PAPE, H. C.; JÜNGLING, K. Heterosynaptic long-term potentiation at interneuron–principal neuron synapses in the amygdala requires nitric oxide signalling. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 1, p. 131–143, 2011. doi: 10.1113/jphysiol.2011.221317.
- LETSON, H. L.; DOBSON, G. P. The Role of Nitric Oxide in the Efficacy of Adenosine, Lidocaine, and Magnesium Treatment for Experimental Hemorrhagic Shock in Rats. **Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental**, [s. l.], v. 95, 2021.
- MORRIS, M.; ALEXANDER, N. Baroreceptor influences on oxytocin and vasopressin secretion. **Hypertension**, v. 13, n. 2, p. 110–114, 1989.
- OWATTANAPANICH, N.; CHITTAWATANARAT, K.; BENYAKORN, T.; SIRIKUN, J. Risks and benefits of hypotensive resuscitation in patients with traumatic hemorrhagic shock: A meta-analysis. **Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine**, [s. l.], v. 26, n. 107, 2018.
- PORTER, J. C.; SISSOM, J. F.; ARITA, J.; REYMOND, M. J. Hypothalamic-hypophysial vasculature and its relationship to secretory cells of the hypothalamus and pituitary gland. **Vitamins & Hormones**, v. 40, p. 145–174, 1983.
- RAJU, K.; DOULIAS, P. T.; EVANS, P.; KRIZMAN, E. N.; JACKSON, J. G.; HORYN, O.; DAIKHIN, Y.; NISSIM, I.; YUDKOFF, M.; NISSIM, I.; SHARP, K. A.; ROBINSON, M. B.; ISCHIROPOULOS, H. Regulation of brain glutamate metabolism by nitric oxide and S-nitrosylation. **Science Signaling**, [s. l.], v. 8, n. 384, 2015.
- RAMEAU, G. A.; TUKEY, D. S.; GARCIN-HOSFIELD, E. D.; TITCOMBE, R. F.; MISRA, C.; KHATRI, L.; GETZOFF, E. D.; ZIFF, E. B. Biphasic coupling of neuronal nitric oxide synthase phosphorylation to the NMDA receptor regulates AMPA receptor trafficking and neuronal cell death. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 13, p. 3445–3455, 2007. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4799-06.2007.
- RANJAN, A. K.; GULATI, A. Controls of Central and Peripheral Blood Pressure and Hemorrhagic/Hypovolemic Shock. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 12, n. 3, 2023.
- RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Injection of l-glutamate into medial prefrontal cortex induces cardiovascular responses through NMDA receptor - nitric oxide in rat. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 160–167, 2006.

SCHADT, J. C.; LUDBROOK, J. Hemodynamic and neurohumoral responses to acute hypovolemia in conscious mammals. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 260, n. 2, p. H305–H318, 1991.

SILVEIRA, S. A.; VIANA LIMA, N. R.; HAIBARA, A. S.; COIMBRA, C. C. The hypothalamic paraventricular nucleus and carotid receptors modulate hyperglycemia induced by hemorrhage. **Brain Research**, [s. l.], v. 993, n. 1–2, p. 183–191, 2003.

SIMPSON, L. L.; BUSCH, S. A.; OLIVER, S. J.; AINSLIE, P. N.; STEMBRIDGE, M.; STEINBACK, C. D.; MOORE, J. P. Baroreflex control of sympathetic vasomotor activity and resting arterial pressure at high altitude: insight from Lowlanders and Sherpa. **Journal of Physiology**, [s. l.], v. 597, n. 9, p. 2379–2390, 2019.

STEINERT, J. R.; KOPP-SCHEINPFLUG, C.; BAKER, C.; CHALLISS, R. A.; MISTRY, R.; HAUSTEIN, M. D.; GRIFFIN, S. J.; TONG, H.; GRAHAM, B. P.; FORSYTHE, I. D. Nitric oxide is a volume transmitter regulating postsynaptic excitability at a glutamatergic synapse. **Neuron**, v. 60, n. 4, p. 642–656, 2008. doi: 10.1016/j.neuron.2008.08.025.

TOSHINAI, K.; MONDAL, M. S.; NAKAZATO, M.; DATE, Y.; MURAKAMI, N.; SHIMADA, M.; KANGAWA, K.; MATSUKURA, S. Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 281, n. 5, p. 1220–1225, 2001.

TROY, B. P.; HESLOP, D. J.; BANDLER, R.; KEAY, K. A. Haemodynamic response to haemorrhage: distinct contributions of midbrain and forebrain structures. **Autonomic Neuroscience**, v. 108, n.1-2, p. 1-11, 2003.

VICTOR, R. G.; THOREN, P.; MORGAN, D. A.; MARK, A. L. Differential control of adrenal and renal sympathetic nerve activity during hemorrhagic hypotension in rats. **Circulation Research**, v. 64, n. 4, p. 686–694, 1989.

WANG, J.; LIANG, T.; LOUIS, L.; NICOLAOU, S.; MCLAUGHLIN, P. D. Hypovolemic shock complex in the trauma setting: A pictorial review. **Canadian Association of Radiologists Journal**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 156–163, 2013.