

Ajustes Cardiovasculares Induzidos pela Desidratação Crônica nas Fases Iniciais do Período Pós-Natal em Ratos Acordados

Cardiovascular Adjustments Induced by Chronic Dehydration in the Early Stages of Post-Natal in Awake Rats

Paulo Ricardo Lopes^a; Nathallie de Freitas Cezário^b; Eduardo Henrique Rosa Santos^b;
Gustavo Rodrigues Pedrino^a; Marcos Luiz Ferreira-Neto^{b*}

^aUniversidade Federal de Goiás, Centro de Neurociências e Fisiologia Cardiovascular, GO, Brasil.

^bUniversidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Educação Física, MG, Brasil.

*E-mail: fmarcosneto@gmail.com

Recebido: 4 de Janeiro de 2015; Aceito: 3 de Abril de 2015.

Resumo

Alterações da osmolaridade do compartimento extracelular podem alterar o volume, o metabolismo e a função celular. Em virtude disso, várias complicações podem ser observadas, dentre elas a hipertensão arterial. Assim, a regulação precisa do volume e da osmolaridade do compartimento extracelular é fundamental para a manutenção das funções normais do organismo e da sobrevivência. O objetivo desse estudo foi avaliar os parâmetros hemodinâmicos através de desidratação induzida por furosemide em ratos jovens não anestesiados. Foram utilizados, ratos Wistar com cinco dias de idade, divididos em dois grupos experimentais, um controle (n=10) e um submetido ao tratamento com Furosemide (10mg/kg de massa corpórea, n=12), administrado três vezes por semana, durante dois meses. Após o tratamento, os animais foram anestesiados para cateterização com cânulas inseridas na artéria e veia femorais, através de um corte inguinal de um dos lados. As cânulas foram transpassadas subcutaneamente através do dorso do animal e foram exteriorizadas. Os experimentos foram realizados após uma recuperação de 48h do procedimento cirúrgico, utilizando um amplificador e um *software*. Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferenças nos testes induzidos de ingestão de água durante os 120 minutos analisados, quando comparados o grupo controle e o grupo furosemide, respectivamente. Na análise da pressão arterial média e frequência cardíaca, não foi observada modificação dos níveis basais. Esse padrão de resposta também foi obtido quando analisado a PAS e PAD. Com esses resultados, concluímos que a depleção do compartimento extracelular induzido pela administração de furosemide em ratos jovens não é fator determinante para alteração dos parâmetros hemodinâmicos na fase adulta.

Palavras-chave: Desequilíbrio Hidroeletrólítico. Concentração Osmolar. Desidratação. Pressão Arterial.

Abstract

Changes in osmolarity of the extracellular compartment may change the volume, metabolism and cellular function. As a result, many complications can be observed, among them hypertension. Thus, precise regulation of the volume and osmolality of the extracellular compartment is critical to maintaining normal body functions and survival. Previous results demonstrated that despite anesthetized rats submitted to chronic diuretic treatment showed no change in sensitivity to sodium and water, an increased arterial pressure was observed. The present study aims to assess hemodynamic parameters through furosemide-induced dehydration in anaesthetized young rats. Five days old Wistar rats divided into two groups, a control (n = 10) and a group subjected to subcutaneous treatment with the diuretic Furosemide (10mg/kg of body weight, n = 12) were used. After treatment, the animals were anesthetized for the implantation of the polyethylene tubes, which were inserted into the artery (for records cardiovascular variables) and femoral vein through a cut inguinal one side (left / right). The cannulas were transfixated subcutaneously through the back of the animal and were exteriorized. Data were recorded after a 48h recovery of the surgical procedure, using an amplifier and software. No differences in induced intake test of water within 120 minutes were observed. With respect to mean arterial pressure and heart rate, no modification on baseline levels were observed (PAM: 99.4 ± 1.9 mmHg, control vs 102.7 ± 1 mmHg, furosemide; FC: 362.5 ± 5.2 bpm, control vs 364.9 ± 7 bpm, furosemide). This response pattern was also obtained for SBP (124.3 ± 6 mmHg, control vs 130 ± 1.6 mmHg, furosemide) and DBP (82.2 ± 1.9 mmHg, control vs 82.1 ± 1 mmHg, furosemide). We concluded that depletion of the extracellular compartment induced by furosemide administration in young rats is not a determining factor to change the hemodynamic parameters in adulthood.

Keywords: Water-Electrolyte Imbalance. Osmolar Concentration. Dehydration. Arterial Pressure.

1 Introdução

Alterações da osmolaridade do compartimento extracelular são sentidas por todos os tecidos perfundidos e podem alterar o volume, o metabolismo e a função celular¹. Em decorrência destas modificações celulares, alterações agudas da osmolaridade podem induzir convulsões, paralisia, coma e, em condições extremas, morte². Assim, a regulação precisa do volume e da osmolaridade do compartimento

extracelular é fundamental para sobrevivência. Como é sabido, todos os vertebrados mantêm a osmolaridade e o volume do compartimento extracelular através, principalmente, de ajustes comportamentais e vegetativos. Esses ajustes consistem na regulação da ingestão de água e sódio através de mudanças no apetite ao sódio e na sede. Estudos têm demonstrado que elevações mínimas da osmolaridade plasmática ou reduções do volume circulante (desidratação) são potentes estímulos para se desenvolver o comportamento de sede. Em mamíferos,

um pequeno aumento de 1-2% da osmolaridade plasmática ou uma redução de 8-10% no volume do compartimento extracelular é suficiente para induzirem ingestão de água nestes animais^{3,4}.

Além da sede, o apetite ao sódio é um importante componente comportamental para a manutenção da osmolaridade plasmática. Em mamíferos e algumas aves, diminuições na concentração plasmática de sódio ou na ingesta diária de sal são potentes estímulos para que se desenvolva apetite ao sódio, sendo que nestas espécies este comportamento inato é necessário para que a homeostase do compartimento extracelular seja mantida^{4,5}. A ineficiência desse conjunto de ajustes pode acarretar patologias, das quais destacamos a hipertensão. Numerosos estudos experimentais e epidemiológicos têm sugerido que a dieta de sódio é um importante fator contribuinte para o desenvolvimento da hipertensão⁶⁻⁹.

Atualmente, estudos sugerem que o desenvolvimento de doenças na fase adulta está relacionado com condições específicas ocorridas nos estágios iniciais da vida, incluindo a fase pré-natal¹⁰. Málaga *et al.*¹¹ evidenciaram que mães que sofreram episódios de vômitos e desidratação durante os três primeiros meses da gravidez geravam filhos que na adolescência possuíam menor sensibilidade ao sódio e pressão sistólica aumentada. Assim, esses autores demonstraram que a sensibilidade ao sódio e a pressão arterial podem ser determinadas antes do nascimento, através de diferentes influências materno-fetal, incluindo mudanças na homeostase hidromineral.

Como mencionado anteriormente, vários estudos demonstraram que diferentes influências pré-natais, como a desidratação materna, alteram a sensibilidade ao apetite ao sódio, o que pode favorecer o aparecimento de hipertensão^{11,21,22}. Entretanto, nenhum desses estudos se preocupou em avaliar se alterações durante a infância poderiam promover alterações nesses parâmetros na fase adulta. Recentemente, estudos iniciais em nosso laboratório demonstraram que em animais anestesiados submetidos previamente à desidratação induzida pela administração de furosemide apresentaram pequenas alterações da pressão arterial. Entretanto, esses resultados não conclusivos em virtude de uma possível ação simpatomimética proporcionada pelo anestésico utilizado.

Dessa forma, através da desidratação induzida em ratos jovens e registro da pressão arterial e frequência cardíaca em ratos não anestesiados, procuramos com esse trabalho determinar se a diminuição do volume do compartimento extracelular em fases pós-natais é capaz de gerar alterações nos ajustes hemodinâmicos.

2 Material e Métodos

2.1 Local e modelo animal utilizado

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Eletrofisiologia e Fisiologia Experimental, no bloco 2A (segundo piso), do Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia – MG, e o modelo amostral utilizado foram ratos jovens da linhagem Wistar, com cinco dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Uberlândia (CEBEA/ARFIS/UFU), mantidos com água de torneira e ração *ad libitum*. O protocolo recebeu aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa dessa Universidade sob o número 0637-07.

2.2 Desidratação induzida pela administração de furosemide

A desidratação nos animais jovens foi obtida através da administração subcutânea de furosemide (FURO, 10mg/Kg de massa corpórea) a partir do quinto dia de vida (FURO - 5º Dia). Como controle, outro grupo de animais recebeu a administração subcutânea de soro fisiológico (NaCl 0,9%) a partir da mesma data de início do tratamento. Foram realizadas três administrações semanais até os dois meses de vida.

2.3 Análise da ingestão de água e sódio

Após cinco semanas do término do tratamento, os animais adultos dos referidos grupos foram submetidos a um teste de ingestão induzida de água e sódio. Para tanto, os animais foram individualizados e tratados com a aplicação subcutânea de furosemide (10 mg/kg) e permaneceram sem acesso à água ou ração por vinte e quatro horas. Vinte e quatro horas após a administração de furosemide, uma bureta contendo água e outra contendo solução salina (NaCl 1,8%) foram ofertadas aos animais, que tiveram livre acesso às soluções. O volume ingerido foi medido em intervalos de 30 minutos por duas horas. Os animais foram submetidos de três a quatro testes de ingestão induzida para a análise da ingestão de água e sódio.

2.4 Procedimentos cirúrgicos

Todos os animais foram anestesiados (ketamina – xilazina 20-40 mg/kg) para implantação de cânulas de polietileno. Antes do implante, a tricotomia dos pelos do animal foi realizada com aparelho de barbear (BIC Sensitive) e a anti-sepsia no campo cirúrgico foi feita utilizando-se polivinil-pirrolidona (PVPI), o interior das cânulas foi lavado e preenchido de heparina sódica 50 UI/ml e solução fisiológica e as cânulas foram inseridas na artéria e veia femoral para registro da pressão arterial pulsátil, frequência cardíaca (cânula arterial) e administração de drogas (cânula venosa), respectivamente. A extremidade a ser conectada no transdutor de pressão foi fechada com pinos de aço inoxidável. As cânulas foram introduzidas através de uma pequena incisão inguinal (esquerda ou direita) em direção ao feixe vasculo-nervoso. Já as extremidades de menor calibre das cânulas (PE-10) foram introduzidas na luz da artéria e

veia femorais. As cânulas foram fixadas com fio de algodão na artéria e na veia, e suas extremidades mais calibrosas (PE-50) foram transpassadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical, fixadas com fio de algodão na pele. O tamanho das cânulas foi ajustado de acordo com o tamanho dos animais. Ao final da cirurgia, foi feita uma nova antissepsia no local das incisões com PVPI.

2.5 Registro da pressão arterial e frequência cardíaca

Antes de iniciar o registro de pressão arterial (48 horas após o procedimento cirúrgico), foi administrada salina heparinizada (50 UI/ml) na cânula implantada na artéria femoral com intuito de impedir a formação de coágulos durante o experimento. Em seguida, a cânula arterial foi conectada a um transdutor de pressão, o qual foi acoplado ao sistema de amplificação BP-100 (AD Instruments). A aquisição dos dados foi obtida por meio de *software* correspondente ao sistema de registro (Powerlab versão 7.1, AD Instruments). Foi registrada simultaneamente a pressão arterial pulsátil (PAP) que deu origem aos valores de pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica, pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC). A FC foi obtida através de biotacômetro, a partir dos sinais gerados pela PAP. A PAM foi obtida por amortecimento eletrônico (filtro passa baixo) a partir do sinal da PAP. O *software* capturava os sinais PA com uma frequência amostral de 1000 Hz.

Os animais foram mantidos em caixas individuais durante todo o registro. Os experimentos foram iniciados após um período de no mínimo 20 minutos de adaptação dos animais as condições de som e iluminação do laboratório.

2.6 Análise estatística

Os dados experimentais (variações da ingestão de água e sódio; PAM basal, PAS basal, PAD basal, FC basal) foram expressos como média \pm EPM (erro padrão da média) e

analisados através do teste *t* não pareado. Quando necessário, foi utilizada a análise de variância de duas vias para medidas repetidas, seguido pelo teste de *Newman-Keuls*. Foi assumida uma diferença entre grupos quando $p < 0,05$.

3 Resultados e Discussão

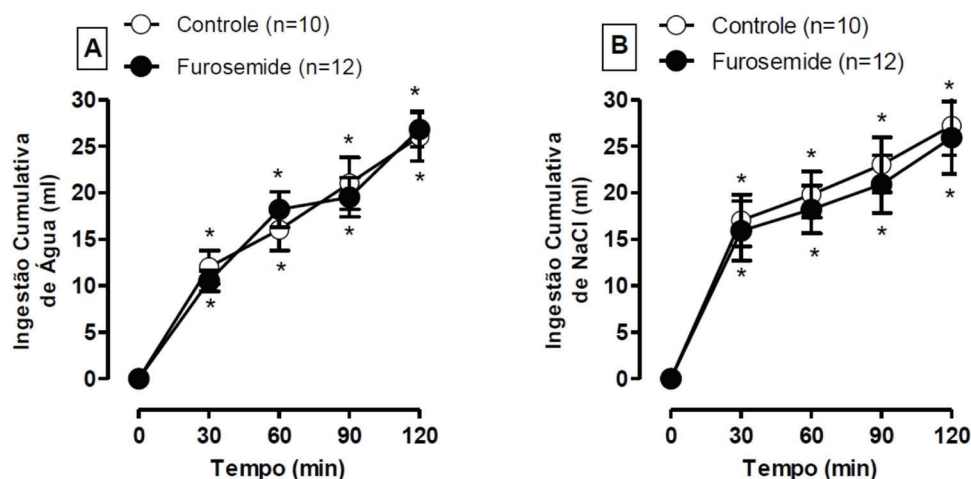
3.1 Variação da massa corporal produzida pela administração de furosemide

Durante o período de tratamento, com administração subcutânea de furosemide (10 mg/kg) três vezes por semana, a análise da massa corporal demonstrou uma redução no grupo experimental (Furosemide, $n=12$) quando comparada com o grupo controle, $n=10$ (289 ± 3.3 gramas vs $220 \pm 4.3^*$ gramas). Estes resultados demonstram que o tratamento com furosemide foi eficiente para promover depleção do compartimento extracelular. Cabe ressaltar que após esse período de tratamento, os animais ficaram em recuperação por cinco semanas e no dia em que os animais foram submetidos ao teste de ingestão (água e sódio) ou ao protocolo para o registro da pressão arterial basal, não havia mais diferenças na massa corporal apresentada pelos grupos (425 ± 8.9 gramas vs 419 ± 7.3 gramas).

3.2 Efeito da administração de furosemide na ingestão de água e sódio em ratos jovens tratados com furosemide a partir de 5º dia de vida

A análise da ingestão cumulativa de água e sódio dos animais tratados com furosemide (10 mg/kg) a partir do 5º dia de vida é apresentada na Figura 1. Após 2 horas do início dos testes de ingestão, observamos que não houve diferença na ingestão de água (Figura 1A) ou sódio (Figura 1B), quando comparado aos animais do grupo controle. Entretanto, observa-se uma diferença entre os dois grupos quando comparado com o período basal – Tempo zero.

Figura 1: Média \pm EPM da ingestão cumulativa de água (A) e NaCl – 0,3 Molar (B) dos animais que sofreram depleção do compartimento extracelular pela administração de furosemide (10 mg/kg), a partir de 5º dia de vida



*diferente do tempo zero; ($p \leq 0,05$).

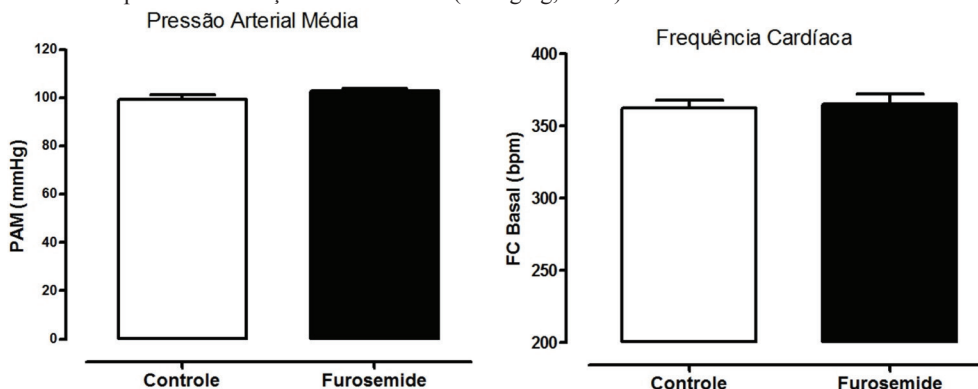
Fonte: Dados da pesquisa.

3.3 Efeito da administração de furosemide nos valores de pressão arterial média, sistólica, diastólica e frequência cardíaca basal em ratos tratados com furosemide a partir de 5º dia de vida

Os gráficos das Figuras 2 e 3 ilustram a média dos resultados obtidos nas respostas cardiovasculares do grupo controle, comparado ao grupo furosemide em ratos não anestesiados. Como podemos observar na Figura 2A, não houve diferença nos valores basais de pressão arterial média

(PAM: $99,4 \pm 1,9$ mmHg vs $102,7 \pm 1$ mmHg) e frequência cardíaca (FC: $362,5 \pm 5,2$ bpm vs $364,9 \pm 7$ bpm), Figura 2B. Também analisamos os resultados de pressão arterial sistólica e diastólica apresentado na Figura 3. Os valores de pressão arterial sistólica (PAS: $124,3$ mmHg ± 6 mmHg vs 130 mmHg $\pm 1,6$ mmHg), Figura 3A e pressão arterial diastólica (PAD: $82,2$ mmHg $\pm 1,9$ mmHg vs $82,1$ mmHg ± 1 mmHg), Figura 3B não foram diferentes quando comparados ao grupo controle.

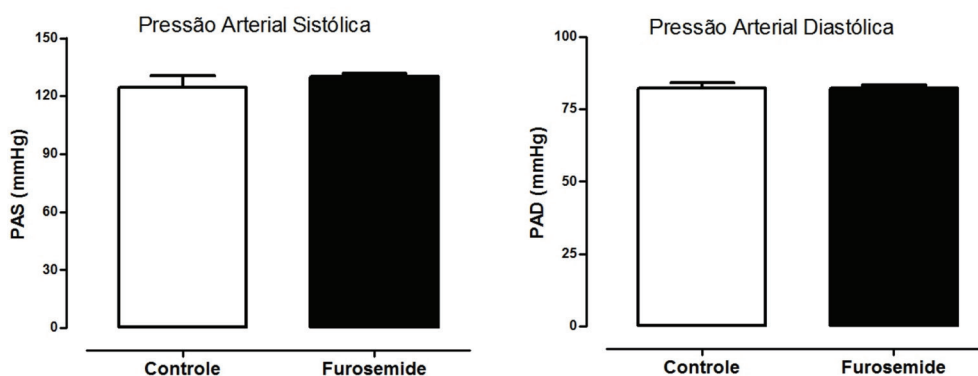
Figura 2: Média \pm EPM dos valores de pressão arterial média (PAM), gráfico A e frequência cardíaca basal (FC), gráfico B, dos animais controle (n=10), comparado ao grupo com depleção do compartimento extracelular pela administração de furosemide (10 mg/kg, n=12)



diferente do controle; ($p \leq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 3: Média \pm EPM dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) dos animais controle (n=10), comparado ao grupo com depleção do compartimento extracelular pela administração de furosemide (10 mg/kg, n=12)



diferente do controle; ($p < 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Em determinadas espécies, incluindo mamíferos e algumas aves, a redução da concentração plasmática de sódio ou até mesmo na ingestão de sal são potentes estímulos para que se desenvolva apetite ao sódio, sendo que nestas espécies este comportamento inato é necessário para que a homeostase do compartimento extracelular seja mantida^{4,5}.

Diariamente através do suor, respiração, exercício físico e principalmente pela excreção urinária há perda de água e/ou eletrólitos, em especial o sódio. Mecanismos são acionados no organismo para controlar e/ou repor a perda destas substâncias, pois o controle da osmolaridade é importante

para a manutenção do volume normal das células nos tecidos e o controle do volume dos líquidos é necessário para o funcionamento normal do sistema cardiovascular. Os rins têm um papel importante na regulação da osmolaridade e do volume dos líquidos, graças à sua capacidade de variar a excreção de água e solutos durante o processo de formação da urina. A regulação da osmolaridade dos líquidos corporais exige que a entrada de água e eletrólitos seja igual à perda pelo corpo e, para tanto, a regulação envolve a ação integrada dos centros da sede e secretores de hormônios antidiuréticos do hipotálamo e a capacidade dos rins de excretar uma urina

hiposmótica ou hiperosmótica. A excreção do íon sódio é dependente da ação dos rins, sendo influenciada pelo sistema nervoso simpático, sistema cardiovascular e hormônios. Os sensores espalhados por todo o corpo, principalmente os sensores de volume vascular no território de baixa pressão e alta pressão, controlam o volume circulante efetivo. Os sinais hormonais e neurais modulam a excreção renal de sódio para que ela se iguale à sua entrada¹².

Em situações em que a água e/ou sódio estão em falta no organismo, a ação dos rins não é suficiente para normalizar o quadro. Assim sendo, a recuperação da normalidade só pode ser obtida com as ingestões de água e sódio reguladas por mecanismos ativados pelas situações de hipovolemia ou alterações de osmolaridade. Nestas situações, receptores localizados em diversas partes do organismo sinalizam, por meio de impulsos nervosos ou hormônios, para algumas regiões específicas do cérebro que, uma vez ativadas, desencadeiam respostas renais e/ou o comportamento de água e sódio^{13,14}.

A hipovolemia, por sua vez, é detectada por receptores de pressão (ou estiramento) localizados nos vasos. Há dois tipos de receptores de estiramento, os de baixa pressão ou receptores cardiopulmonares localizados nas paredes das grandes veias, átrio e circulação pulmonar; e os receptores de alta pressão localizados no arco da aorta e seio carotídeo. O relaxamento desses receptores de estiramento induzido pela redução do volume e/ou pressão sanguínea ativa a ingestão de água e sódio. A hipovolemia reduz a pressão de perfusão renal que é detectada por pressoreceptores localizados nesses órgãos, ativando o sistema renina-angiotensina e estimulando a ingestão de água e sódio¹³.

No SNC, mecanismos excitatórios e inibitórios podem ser ativados para se controlar a ingestão de água e sódio. As influências excitatórias de áreas prosencefálicas (órgão vasculoso da lâmina terminal – OVLT, órgão subfornical – OSF, região anteroventral do 3º ventrículo – AV3V) no controle do equilíbrio hidroeletrólítico têm sido bem estudadas, enquanto que os mecanismos centrais inibitórios não são bem compreendidos e tem sido demonstrados tanto em áreas anteriores quanto posteriores do cérebro^{13,15,16}.

Nesse estudo, evidenciamos que a redução da osmolaridade produzida pelo tratamento crônico com furosemide, ativa mecanismos neurais e hormonais para a busca do balanço hidroeletrólítico. Entretanto, não foi observado alterações no apetite ao sódio e também nos níveis basais de pressão arterial e frequência na fase adulta. Uma vez que os animais tratados com furosemide estavam no período pós-natal (5º de vida), acreditamos que a ingestão de sódio inalterada seja devido a uma incapacidade desses animais em detectar e ajustar os níveis normais de balanço de NaCl pelos mecanismos clássicos já descritos.

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório, dados não publicados, mostraram que a aplicação desse mesmo

protocolo experimental em animais anestesiados não alterou a sensibilidade ao sódio, porém evidenciamos aumento da pressão arterial basal. Entendemos que esses resultados seriam de grande relevância, uma vez que a hipertensão arterial é atualmente a doença que mais afeta o ser humano. Porém, é digno de nota, que estes experimentos foram realizados em animais anestesiados e poderiam ter sofrido com efeitos do tipo de anestésico.

Vários estudos têm demonstrado que manutenção da osmolaridade e do volume plasmático é fundamental para a homeostase celular. Assim, variações da concentração plasmática de sódio ou do volume circulante desencadeiam um conjunto de ajustes comportamentais e vegetativos que visam corrigir estes desvios, restabelecendo as condições fisiológicas. A ineficiência desse conjunto de ajustes pode acarretar patologias, das quais destacamos a hipertensão. Estudos experimentais e epidemiológicos evidenciaram que o aumento no apetite ao sódio contribui para o desenvolvimento da hipertensão⁶⁻⁹. Aumentos da pressão arterial têm sido descritos em populações com altos consumos de sódio em suas dietas⁷.

Recentes estudos sugerem que o desenvolvimento de doenças na fase adulta está relacionado com condições específicas ocorridas nos estágios iniciais da vida¹⁰. Bao *et al.*¹⁶ demonstraram que o risco de se desenvolver hipertensão na fase adulta está relacionado com os níveis de pressão arterial nas fases iniciais da vida. Corroborando com essa ideia, Nicolaidis *et al.*¹⁸ evidenciaram que ratas grávidas submetidas à desidratação extracelular geravam filhotes com o apetite ao sódio aumentado. Em conjunto, esses resultados demonstram que a organização do substrato neural responsável pela ingestão de água e sódio ocorre em fases pré-natais, assim, apenas alterações no equilíbrio hidroeletrólítico em fases uterinas podem comprometer esses ajustes comportamentais.

Em nosso estudo, o modelo de desidratação adotado foi a administração de furosemide, um diurético de alça que produz um efeito diurético potente com início de ação rápido e de curta duração. A furosemida bloqueia o sistema co-transportador de Na⁺/K⁺/2Cl⁻ localizado na membrana celular luminal do ramo ascendente da alça de Henle¹⁹. Desta forma, os animais submetidos ao tratamento por dois meses a partir do 5º dia de vida apresentaram um quadro de depleção do compartimento extracelular que foi confirmado através da redução do peso quando comparado ao grupo controle.

Um aspecto importante é que alguns medicamentos anti-hipertensivos tendem a aumentar o apetite por sódio. Isso pode ocorrer, por exemplo, com a furosemide e, dependendo da dose, com o captopril (inibidor da enzima conversora de angiotensina), curiosamente os dois anti-hipertensivos mais prescritos no tratamento da hipertensão²⁰. Em nossos experimentos, não evidenciamos aumento no apetite ao sódio após o tratamento com furosemide, possivelmente devido aos experimentos de sensibilidade ao sódio terem sido realizados

cinco semanas após o término do tratamento, dessa forma todos os mecanismos afetados pela desidratação foram compensados.

Em relação aos fatores hemodinâmicos, diferentemente apresentados em resultados com animais anestesiados, observamos que os valores basais de pressão arterial não foram modificados, possivelmente porque não houve alteração do apetite ao sódio e conseqüentemente a busca por mais sódio. Em animais anestesiados, possivelmente a influência do anestésico tiopental sódico exerceu uma ação simpatomimética, que foi responsável pelas alterações na pressão arterial apresentadas anteriormente.

Dessa forma, observamos neste estudo que a desidratação induzida por furosemide em ratos jovens gerando a diminuição do volume do compartimento extracelular não foi capaz de produzir alterações no apetite ao sódio, e assim não pode tornar-se fator de risco para o desenvolvimento da hipertensão.

4 Conclusão

Com esses resultados, concluímos que a depleção do compartimento extracelular induzido pela administração de furosemide em ratos jovens não produz alteração no apetite ao sódio e nem alteração de pressão arterial.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro (Proc. APQ-00843-08).

Referências

1. Strange K. Cellular and molecular physiology of cell volume regulation. Boca Raton: CRC; 1993.
2. Bourque CW, Olliet SH, Richard D. Osmoreceptors, osmoreception, e osmoregulation. *Front Neuroendocrinol* 1994;15(3):231-74.
3. Antunes-Rodrigues J, De Castro M, Elias LL, Valença MM, McCann SM. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiol Rev* 2004;84(1):169-208.
4. Fitzsimons JT. Angiotensin, thirst, e sodium appetite. *Physiol Rev* 1998;78(3):583-686.
5. Beauchamp GK, Bertino M, Burke D, Engelman K. Experimental sodium depletion and salt taste in normal human volunteers. *Am J Clin Nutr* 1990;51(5):881-9.
6. Keys A. Experimental sodium depletion and salt taste in normal human volunteers. *Circulation* 1970;41:1-11.
7. Horan MJ, Blaustein MP, Dunbar JB, Grundy S, Kachadorian W, Kaplan NM, *et al.* NIH report on research challenges in nutrition and hypertension. *Hypertension* 1985;7(5):818-23.
8. Law MR, Frost CD, Wald NJ. By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? II-Analysis of data from trials of salt reduction. *BMJ* 1991;302(6780):819-24.
9. Simons-Morton DG, Obarzanek E. Diet and blood pressure in children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 1997;11(2):244-9.
10. Barker DJ. Rise and fall of Western diseases. *Nature* 1989;338(6214):371-2.
11. Malaga I, Arquelles J, Díaz JJ, Perillán C, Vijande M, Málaga S. Maternal pregnancy vomiting and offspring salt taste sensitivity and blood pressure. *Pediatr Nephrol* 2005;20(7):956-60.
12. Berne RM. O rim: controle da osmolaridade e do volume dos líquidos corporais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
13. Johnson AK, Thunhorst RL. The neuroendocrinology of thirst: afferent signaling and mechanisms of central integration. *Front Neuroendocrinol* 1990;18(3):292-353.
14. Tunhorst RL, Johnson AK. Renin angitensin, arterial blood pressure and salt appetite in rats. *Am J Physiol* 1994;266(2):458-65.
15. Ferrari AC, Camargo LA, Saad WA, Renzi A, De Luca Junior LA, Menani JV. Clonidine and phenylephrine injected into the lateral hypothalamus inhibits water intake in rats. *Brain Res* 1990;522(1):125-30.
16. De Luca JR, Menani JV. Multifatorial control of water and saline intake: role of α 2-adrenoceptors. *Braz J Med Biol Res* 1997;30(4):497-502.
17. Bao W, Threefoot SA, Srinivasan SR, Berenson GS. Essential hypertension predicted by tracking of elevated blood pressure from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens* 1995;8(7):657-65.
18. Nicolaidis S, Galaverna O, Metzler CH. Extracellular dehydration during pregnancy increases salt appetite of offspring. *Am J Physiol* 1990;258(1):281-3.
19. LASIX: injetável. Suzano: Sanofi Aventis Farmacêutica. 2012. [acesso em 13 mar 2014]. Disponível em <http://www.bulas.med.br/bula/2959/lasix.htm>.
20. Christante L. Sede de sal. *Rev Unesp Ciênc* 2011;17:30-5.
21. Arguelles J, Diaz, JJ, Malaga I, Perillan C, Costales M, Vijande M. Sodium taste threshold in children and its relationship to blood pressure. *Braz J Med Biol Res* 2007;40(5):721-6.
22. Rabin M, Poli de Figueiredo CE, Wagner MB, Antonello IC. Salt taste sensitivity threshold and exercise-induced hypertension. *Appetite* 2009;52(3):609-13.