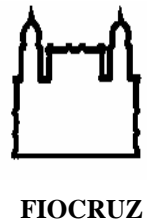




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



**Curso de Pós-graduação em Patologia Humana**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS  
DO TIPO H<sub>1</sub> E H<sub>2</sub> PRESENTES NO NÚCLEO MEDIAL DA  
AMÍGDALA NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR AO  
ESTRESSE**

**Daniela Oliveira de Almeida**

**Salvador – Bahia – Brasil  
2012**



UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

**Curso de Pós-graduação em Patologia Humana**

**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS  
DO TIPO H1 E H2 PRESENTES NO NÚCLEO MEDIAL DA  
AMÍGDALA NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR AO  
ESTRESSE**

Daniela Oliveira de Almeida

Orientadora: Josmara Bartolomei Fregoneze

Dissertação apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-graduação em Patologia Humana, como pré-requisito obrigatório para obtenção do grau Mestre.

Salvador – Bahia – Brasil  
2012

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do  
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

A447p Almeida, Daniela Oliveira de  
Participação dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> presentes no  
núcleo medial da amígdala na resposta cardiovascular ao estresse. [manuscrito]  
/ Daniela Oliveira de Almeida. - 2012.  
85 f.: il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).  
Mestrado (dissertação) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo  
Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2012.  
Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Josmara Bartolomei Fregoneze. Laboratório de  
Neurociências.

1. Amígdala. 2. Histamina. 3. Pressão Arterial. 4. Estresse. I.Título.

CDU 616.322:615.218

“PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS DO TIPO H1 E H2 PRESENTES  
NO NÚCLEO MEDIAL DA AMIGDALA NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR AO  
ESTRESSE.”

DANIELA OLIVEIRA DE ALMEIDA

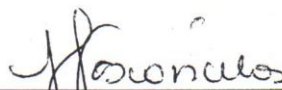
FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



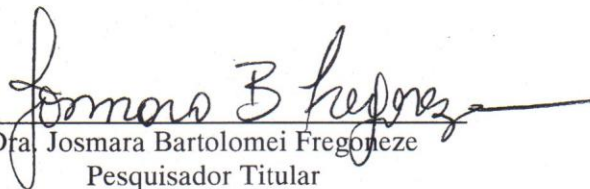
---

Dr. José Vanderlei Menani  
Professor Titular  
FOAR / UNESP



---

Dra. Darizy Flávia Silva A. de Vasconcelos  
Professora Adjunta  
UFBA



---

Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze  
Pesquisador Titular  
UFBA

*“Gravitar para a unidade divina, eis o fim da Humanidade.  
Para atingi-lo, três coisas são necessárias:  
a Justiça, o Amor e a Ciência”.*

*- Apóstolo Paulo, em O Livro dos Espíritos -*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao grande criador e pai, Deus, por me proporcionar a oportunidade de crescer como pessoa e profissional.

À professora Josmara Bartolomei Fregoneze pela orientação, contribuição com minha formação e crescimento científico e por todo o cuidado e atenção nos momentos que precisei.

À professora Hilda Silva Ferreira, pela co-orientação e conselhos. A você, serei eternamente grata por me iniciar no ramo das ciências.

Aos meus amigos e companheiros do Laboratório de Neurociências, Átila Batista, Lilia Urzedo-Rodrigues, Rejane Santana, José de Sousa, Ana Isabel e Diana Rodrigues pelo crescimento e aprendizagem. Com vocês, dividi momentos alegres e difíceis que me fortaleceram e ajudaram a construir minha pessoa.

Às estudantes de iniciação científica do Laboratório de Neurociências, especialmente Luana Pereira e Naiara Nascimento, pelo carinho e pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos meus pais, João e Márcia, meus irmãos Marconi e Caio e a Luiz por todo o apoio, paciência, amor e confiança, me dando forças para sempre seguir adiante e lutar pelos meus sonhos.

Muito obrigada!

## ÍNDICE

Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	9
Lista de Abreviaturas e Siglas	10
Resumo	13
Abstract	14
<b>1 Introdução</b>	<b>15</b>
<b>2 Revisão de Literatura</b>	<b>17</b>
2.1 Histamina e Vias Histaminérgicas Centrais	17
2.1.1 Vias histaminérgicas	17
2.1.2 Participação das vias histaminérgicas centrais no controle cardiovascular e no estresse	25
2.2 Sistema Cardiovascular e Respostas ao Estresse	27
2.3 O Complexo Amigdalóide	31
2.3.1 MeA e as vias histaminérgicas	36
<b>3 Objetivos</b>	<b>38</b>
3.1 Geral	38
3.2 Específicos	38
<b>4 Hipóteses</b>	<b>39</b>
4.1 Hipóteses Testes	39
4.2 Hipótese Nula	39
<b>5 Materiais e Métodos.</b>	<b>40</b>
5.1 Animais	40
5.2 Cirurgia Estereotáxica	40
5.3 Cateterização da Artéria Carótida	41
5.4 Registro da Pressão Arterial	41
5.5 Drogas e Microinjeções	42
5.6 Estresse de Restrição de Movimentos	42
5.7 Grupos Experimentais	43
5.8 Protocolos e Desenhos Experimentais	44
5.9 Análise Histológica	45
5.10 Análise Estatística	45
5.11 Considerações Éticas	46

<b>6 Resultados</b>	<b>47</b>
6.1 Análise Histológica	47
6.2 Efeito do bloqueio farmacológico dos receptores histaminérgicos do tipo H <sub>1</sub> presentes no MeA sobre a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse de restrição	48
6.3 Efeito do bloqueio farmacológico dos receptores histaminérgicos do tipo H <sub>2</sub> presentes no MeA sobre a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse de restrição	52
6.4 Comparação do efeito anti-hipertensivo da mepiramina e cimetidina administradas no MeA em ratos submetidos ao estresse de restrição	55
6.5 Efeito do bloqueio farmacológico dos receptores histaminérgicos do tipo H <sub>1</sub> e H <sub>2</sub> presentes no MeA sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca em animais sob condições basais e livre movimento (não estressados)	57
6.6 Efeito na pressão arterial média e frequência cardíaca após microinjeção de mepiramina e cimetidina em áreas circunvizinhas ao MeA em ratos submetidos ao estresse de restrição	61
<b>7 Discussão</b>	<b>63</b>
<b>8 Perspectivas de Trabalhos Futuros</b>	<b>71</b>
<b>9 Conclusão</b>	<b>73</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>74</b>



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Principais projeções histaminérgicas e distribuição de receptores histaminérgicos no cérebro de ratos.....	19
FIGURA 2. Síntese e metabolismo da histamina.....	20
FIGURA 3. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor H <sub>1</sub> .....	22
FIGURA 4. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor histaminérgico H <sub>2</sub> .....	23
FIGURA 5. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor histaminérgico H <sub>3</sub> .....	24
FIGURA 6. Diagrama das conexões do MeA com áreas do sistema nervoso central.....	34
FIGURA 7. Fotomicrografia (painel A) de corte coronal (40 µm) e desenho esquemático (painel B, adaptado do Atlas de Paxinos & Watson, 1998) de cérebro de rato indicando local da microinjeção bilateral no MeA.....	47
FIGURA 8. Alteração da PAM (A) e FC (B) durante o estresse de restrição em ratos após a administração de mepiramina no MeA.....	50
FIGURA 9. Alteração da PAM (A) e FC (B) durante o estresse de restrição em ratos após a administração de cimetidina no MeA.....	54
FIGURA 10. Comparação do efeito anti-hipertensivo aos 25 min de estresse de restrição provocado pela administração de mepiramina e cimetidina no MeA em animais estressados.....	56
FIGURA 11. Alteração da PAM (A) e FC (B) após a administração bilateral de mepiramina no MeA em ratos não estressados.....	58
FIGURA 12. Alteração da PAM (A) e FC (B) após a administração bilateral de cimetidina no MeA em ratos não estressados.....	60
FIGURA 13. Diagrama esquemático indicando as possíveis conexões do MeA com áreas importantes no controle cardiovascular responsáveis pela resposta hipertensiva ao estresse emocional.....	69

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina e cimetidina em diferentes doses sobre a PAM em diferentes momentos do período experimental.....	51
TABELA 2. Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina e cimetidina em diferentes doses sobre a FC em diferentes momentos do período experimental.....	51
TABELA 3. Efeito da microinjeção de mepiramina e cimetidina na dose de 200 nmol ou salina 0,9% na PAM e na FC em áreas circunvizinhas ao MeA (MGP, BMA, CoA e LH) em animais submetidos ao estresse de restrição.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
AHA	Área hipotalâmica anterior
AMPC	Adenosina mono-fosfato cíclico
ANOVA	Análise de variância
ap	Via amigdalofugal
ASM/DBB	Área septal medial/banda diagonal de Broca
ATP	Adenosina trifosfato
AVP	Vasopressina
BMA	Núcleo basomedial da amígdala
BST	Núcleo do leito da estria terminal
c-fos	Proteína c-fos
Ca <sup>+2</sup>	Íon cálcio
Ca <sub>v</sub>	Canal de cálcio voltagem dependente
CeA	Núcleo central da amígdala
CoA	Núcleo cortical da amígdala
CREB	Proteína ligante ao elemento de resposta ao AMPC
CRH	Hormônio liberador de corticotropinas
CVLm	Núcleo ventrolateralcaudal do bulbo
DAG	Diacilglicerol
DMH	Núcleo dorsomedial do hipotálamo
DMV	Núcleo dorsomotor do vago
E.P.M.	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HCN	Canal ativado por hiperpolarização e dependente de nucleotídeo cíclico
HDC	Histidina descarboxilase
HNMT	Histamina N-metiltransferase

HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
HPPA	Hiperpolarização pós-potencial de ação
Hz	Hertz
i.c.v.	Intracerebroventricular
i.p.	intraperitonal
i.m.	Intramuscular
IML	Coluna intermédiodatareal da medula espinhal
IMP	Impromidina
IP <sub>3</sub>	1-4-5 inositol trifosfato
K <sup>+</sup>	Íon potássio
K <sub>2p</sub>	Canal de potássio de dois póros
K <sub>Ca</sub>	Canal de potássio dependente de cálcio
LH	Hipotálamo lateral
MeA	Núcleo medial da amígdala
MeAad	Núcleo medial anterodorsal da amígdala
MeAav	Núcleo medial anteroventral da amígdala
MeApd	Núcleo medial posterodorsal da amígdala
MeApv	Núcleo medial posteroventral da amígdala
Mg <sup>+2</sup>	Íon magnésio
MGP	Globo pálido medial
MPOA	Área pré-óptica medial
NA	Núcleo ambíguo
NCX	Trocador de Na <sup>+</sup> /Ca <sup>+2</sup>
NE	Noradrenalina
NMDA	N-metil-D-aspartato
NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAG	substância cinzenta periaquedutal
PAM	Pressão arterial média

PB	Complexo parabraquial
PHA	Área hipotalâmica posterior
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidil inositol 4,5-bifosfato
PKA	Proteína cinase A
PKC	Proteína cinase C
PVN	Núcleo paraventricular do hipotálamo
Rch	Núcleo retroquiasmático
RPa	Rafe pálida
RVLm	Núcleo rostroventrolateral do bulbo
Sch	Núcleo supraquiasmático
SI	Substância inominada
SNC	Sistema nervoso central
SON	Núcleo supra óptico
st	Estria terminal
TMN	Núcleo tuberomamilar do hipotálamo
VMAT-2	Proteína vesicular transportadora de monoaminas
VMH	Núcleo ventromedial do hipotálamo
VTA	Área tegmental ventral

## RESUMO

ALMEIDA, D.O. Participação dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> presentes no núcleo medial da amígdala na resposta cardiovascular ao estresse. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia/ FIOCRUZ, Salvador, 2012.

Situações de estresse repetido ou prolongado podem resultar em vários estados patológicos, como hipertensão arterial, arritmias cardíacas, infarto do miocárdio e até mesmo morte súbita. Embora se tenha muita informação sobre o controle cerebral da pressão arterial, as respostas cardiovasculares ao estresse não são totalmente compreendidas. Dados da literatura mostram a importância do núcleo medial da amígdala (MeA) e da neurotransmissão histaminérgica no controle autonômico das funções cardiovasculares, no entanto, não há estudos evidenciando o papel das vias histaminérgicas no MeA nas adaptações cardiovasculares evocada pelo estresse emocional. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi estudar a participação dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA sobre as respostas cardiovasculares em ratos estressados e não-estressados. Ratos Wistar (280-320g) foram submetidos à cirurgia estereotáxica para canulação bilateral do MeA. Passado cinco dias da estereotaxia, os animais foram submetidos a cateterização da artéria carótida esquerda. Vinte e quatro horas após a inserção do cateter, foram iniciados os experimentos com a gravação do registro da pressão arterial pulsátil (PAP) dos animais em condições basais e em livre movimento em suas respectivas caixas de forma continuada. As drogas utilizadas para a microinjeção central foram a mepiramina (antagonista dos receptores H<sub>1</sub>) nos grupos experimentais I e III e a cimetidina (antagonista dos receptores H<sub>2</sub>) nos grupos experimentais II e IV. Nos grupos experimentais I e II, 15 min após microinjeção central bilateral de mepiramina ou cimetidina respectivamente, em diferentes doses, os animais foram submetidos a estresse de restrição de movimentos em tubos de polietileno, e a PAP foi registrada continuamente durante 45 min. Após o período de estresse, os animais foram realocados em suas caixas e a PAP foi registrada por mais 30 min. Nos grupos experimentais III e IV, após as microinjeções centrais bilaterais no MeA, a PAP continuou sendo registrada por 75 min em animais sob condições basais e em livre movimento (não estressados). Os animais controles de todos os grupos experimentais receberam microinjeções de salina 0,9%. Os experimentos foram realizados entre 7h00min às 13h00min e os animais não tiveram acesso à água ou ração durante o experimento. Os dados estão expressos como média±E.P.M das variações da PAM e FC. Microinjeções de mepiramina nas doses de 50, 100 e 200 nmol promoveu bloqueio dose-dependente da resposta hipertensiva evocada pelo estresse de restrição. A cimetidina (100 e 200 nmol) atenuou a resposta hipertensiva ao estresse apenas na maior dose utilizada. A resposta anti-hipertensiva ao estresse foi maior nos animais que receberam microinjeções de mepiramina do que de cimetidina nas mesmas doses. Nenhuma das drogas alterou a resposta taquicárdica típica do estresse. Mepiramina ou cimetidina foram incapazes de alterar a PAM ou a FC de animais não estressados. Os dados sugerem que as vias histaminérgicas presentes no MeA medeiam a resposta pressora sem alterar a taquicardia evocadas pelo estresse de restrição, ativando preferencialmente os receptores do tipo H<sub>1</sub>. Além disto, os dados confirmam a hipótese de que a via histaminérgica no MeA não exerce modulação tônica do sistema cardiovascular. A obtenção de dados adicionais relativos ao papel fisiológico dos receptores histaminérgicos centrais no controle das funções cardiovasculares se reveste de grande importância para as ciências biológicas e para a clínica médica, principalmente quando vinculada à variável estresse. Os resultados deste trabalho contribuem para o esclarecimento da participação destes receptores no controle das funções cardiovasculares.

**Palavras-chave:** núcleo medial da amígdala; histamina; pressão arterial; estresse.

## ABSTRACT

ALMEIDA, D.O. Role of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histaminergic receptors localized in the medial amygdala nucleus on the cardiovascular control of rats. Thesis (master's degree) – Universidade Federal da Bahia/ FIOCRUZ, Salvador, 2012.

Repeated long lasting experiences of stress situations may result in various pathologic states such as arterial hypertension, cardiac dysrhythmias, myocardial stroke and even sudden death. Although there is a lot information about the neural control of the arterial blood pressure, especially by the brain stem and some other prosencephalic areas, stress-evoked cardiovascular responses are not totally understood. Previous studies shows the importance of the medial amygdala nucleus (MeA) and of the histaminergic neurotransmission on the autonomic control of cardiovascular functions, however there aren't studies that evidence the role of the histaminergic pathways in MeA on emotional stress-evoked cardiovascular adaptations. Therefore, the aim of this study was investigate the participation of the histaminergic receptors H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> in MeA on the cardiovascular responses in stressed and non-stressed rats. Wistar rats (280-320g) were submitted to stereotaxic surgery for bilateral cannulation of MeA. Five days after surgery, animals were submitted to catheterization of the left carotid artery. Twenty four hours after catheter insertion, experiments were started and the pulsatile arterial pressure (PAP) of freely moving rats on basal conditions was recorded. Drugs used for central administration were mepyramine (H<sub>1</sub> receptors antagonist) on experimental groups I and III and cimetidine (H<sub>2</sub> receptors antagonist) on experimental groups II and IV. At experimental groups I and II, 15 min after central microinjections of mepyramine or cimetidine respectively, in different doses, the rats was submitted to restraint stress in a polyvinyl apparatus, and PAP were continuously recorded for 45 min. After stress period, rats were replaced in their own cages and an additional 30 min were recorded for PAP reestablishment. At experimental groups III and IV, after 30 min of basal recording, rats received bilateral central microinjections of mepyramine or cimetidine in a dose of 200 nmol, respectively, and an additional period of 75 min was recorded in freely moving rats on basal conditions. Saline 0,9% was administered as vehicle in control animals of all experimental groups. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were, then, calculated from the PAP signal. Experiments occurred between 7:00 and 13:00 and rat did not have access to water and food during the sessions. Data were expressed as mean±*S.E.M.* of MAP and HR variation. Mepyramine microinjections at doses of 50, 100 and 200 nmol promoted dose-dependent blockade of the restraint stress-evoked hypertensive response. Cimetidine (100 and 200 nmol) attenuated the hypertensive response to stress only at the highest dose administered. The anti-hypertensive response was bigger on animals which received mepyramine than cimetidine. Neither drugs altered the typical stress-evoked tachycardiac responses. Indeed, mepyramine or cimetidina were unable to modify the MAP or HR of freely moving rats on basal conditionals (non-stressed rats). These data suggest that histaminergic pathways in MeA mediates pressor responses without modifying the tachycardia promoted by restraint stress, activating preferentially H<sub>1</sub> receptors. Besides, data corroborate to the hypothesis that histaminergic pathways in MeA do not plays tonic modulation of the cardiovascular system. Additional information acquired about physiologic role of central histaminergic receptor on the cardiovascular functions is important to biological science and to medical practice, especially when linked to the stress factor. These data contribute to clarify the role of these receptors on cardiovascular functions.

**Key-words:** medial amygdala nucleus, histamine, arterial blood pressure, stress.

# 1 INTRODUÇÃO

É de consenso geral que, durante a evolução, circuitos neurais específicos foram surgindo e permitiram ao organismo responder rápida e estrategicamente às ameaças ambientais. Vias específicas do sistema nervoso central são ativadas durante o estresse e induzem várias respostas comportamentais, autonômicas e endócrinas, facilitando a sobrevivência dos seres em seu meio (DIMICCO et al, 2006; FONTES et al, 2001; HORIUCHI; WAKABAYASHI, DAMPNEY, 2005; SZCZEPANSKA-SADOWSKA, 2008). Dentre as estruturas envolvidas com as respostas ao estresse, a amígdala tem se mostrado a região encefálica de extrema importância na detecção e processamento de estímulos externos e na coordenação de sinais para outras regiões cerebrais, de forma a integrar as respostas adaptativas necessárias à sobrevivência do organismo frente às adversidades (DOLAN; VUILLEUMIER, 2003). As respostas comportamentais ao estresse envolvem aumento do estado de alerta e da reatividade do organismo, enquanto que as respostas biológicas incluem aumento da perfusão sanguínea para músculo esquelético, cérebro e coração, permitindo melhor performance do organismo para combater ou se esquivar das adversidades do meio externo (POWLEY, 1999).

A amígdala é essencial para as respostas metabólicas e comportamentais imediatas frente ao estressor. Conexões desta área com o hipocampo permitem a consolidação da memória que envolve componente psicológico: a memória emocional (ROOZENDAAL; McEWEN; CHATARJI, 2009; SAH et al, 2003). Quando uma experiência vivenciada promove uma resposta emocional, seja ela aversiva ou hedônica, a mesma é memorizada e servirá para promover reações a experiências semelhantes futuras. Isto tem um importante valor na sobrevivência, visto que o indivíduo pode evocar respostas comportamentais compatíveis para melhor desempenho funcional frente a desafios previamente vivenciados. Além disto, a memória emocional evita o gasto energético frente a situações que não põe a vida em risco.

Muitos estudos têm mostrado a participação da histamina neuronal na modulação do estado comportamental, nos ritmos circadianos, na locomoção, no metabolismo energético, no controle cardiovascular, e, finalmente, nas respostas adaptativas ao estresse (HAAS; SERGEEVA; SELBACH, 2008). Fibras histaminérgicas provenientes dos núcleos tuberomamílares do hipotálamo se projetam amplamente para as estruturas envolvidas com emoção, memória e controle autonômico e neuroendócrino, em especial, para a amígdala, o



hipocampo e o próprio hipotálamo (INAGAKI et al, 1988). Observa-se liberação de histamina em diversas regiões cerebrais após condições estressantes. Além disto, dados da literatura mostram que a liberação de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e vasopressina (AVP), hormônios estes liberados no plasma tipicamente em resposta a situações de estresse, é mediada pela ação histaminérgica central (HAAS; SERGEEVA; SELBACH, 2008). Entretanto, nenhum estudo verificou o papel das vias histaminérgicas nos núcleos amígdalóides sobre controle das funções cardiovasculares em situações de estresse.

Drogas anti-histaminérgicas são utilizadas na clínica como antialérgicos e no tratamento de distúrbios do sistema digestivo, como úlceras gastro-esofágicas. Muitas destas drogas são capazes de passar pela barreira hemato-encefálica, promovendo efeitos sedativos indesejados (HAAS; SERGEEVA; SELBACH, 2008; PASSANI; BLANDINA, 2011). Visto a ampla gama de funções que a histamina exerce no sistema nervoso central, é de se questionar se as drogas anti-histaminícas podem afetar colateralmente os sistemas neurais responsáveis em efetuar as respostas adaptativas frente aos estressores.

A vida em sociedade propicia situações de estresse de forma cotidiana, exigindo constante ativação das vias neuronais e dos sistemas compensatórios de adaptação, além de aumentar o risco dos seres humanos de desenvolverem diversos distúrbios, principalmente cardiovasculares (LOURES et al, 2002; SZCZEPANSKA-SADOWSKA, 2008). Entretanto, apesar do extenso volume de trabalhos existentes, o circuito neural envolvido com as respostas hipertensivas e taquicárdicas ao estresse ainda não estão totalmente esclarecidos. Dessa forma, torna-se importante a realização de estudos que auxiliem a compreensão das respostas cardiovasculares e da participação de áreas cerebrais específicas envolvidas com as alterações evocadas pelo estresse emocional. Visto a importância clínica das drogas anti-histaminérgicas, a frequência das vivências das situações de estresse e os crescentes índices de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares na atualidade, o presente estudo pode contribuir com o avanço médico, científico e tecnológico.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 HISTAMINA E VIAS HISTAMINÉRGICAS CENTRAIS**

A histamina é uma monoamina biogênica sintetizada e liberada por diversas células, tais como mastócitos, plaquetas, linfócitos, células enterocromafins e neurônios (CRIADO et al, 2010; SILVEIRA, 2007). Inicialmente descoberta nos tecidos periféricos, promovendo contração de músculos lisos do intestino, vasodilatação, estimulação da secreção gástrica e broncoconstricção em episódios de choque anafilático, a histamina também foi detectada no sistema nervoso central em neurônios e mastócitos. Como mastócitos são escassos no cérebro, liberando histamina apenas em situações que envolvem lesão e trauma cerebral, as vias histaminérgicas neuronais são mais importantes para a atividade da histamina cerebral (HAAS; SERGEEVA; SELBACH, 2008; SHIMADA et al, 2012).

A ação da histamina como neurotransmissor e neuromodulador, parece ser importante no controle de diversos comportamentos, no ciclo sono/vigília, no estado de alerta, aprendizagem, consolidação da memória, humor, atividade motora espontânea, ritmo biológico, comportamento alimentar, peso corporal, metabolismo energético, termorregulação, balanço hídrico, controle cardiovascular, estresse, e modula a secreção de hormônios do eixo tireóideo, somatotrópico e daqueles envolvidos com a reprodução (hormônio liberador de gonadotrofinas e hormônio luteinizante) (BANANEJ et al, 2011; BRISTOW; BENNETT, 1988; HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008; KÖHLER et al, 2011; PHILIPPU; PRAST, 2001).

#### **2.1.1 Vias Histaminérgicas**

Os neurônios produtores de histamina estão localizados nas células magnocelulares dos núcleos tuberomamillares do hipotálamo (TMN) e projetam-se essencialmente para todas as regiões do sistema nervoso central. Mesmo sem estímulo, os neurônios do TMN liberam a histamina numa frequência de disparo lenta e regular em torno de 3Hz. Essa frequência, no entanto, é aumentada no período ativo dos organismos, podendo variar de acordo com o estado comportamental (maior disparo quanto maior o estado de alerta), e reduzido, ou

praticamente nulo, no período inativo (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001). Isso reflete a importância da histamina na manutenção dos estados que dependem dos ciclos circadianos como o sono-vigília, alimentação e metabolismo energético.

Graças a métodos de imunohistoquímica de alta sensibilidade e especificidade à enzima histidina-descarboxilase (HDC), foi possível detectar a distribuição e a densidade de fibras histaminérgicas em diversas áreas do sistema nervoso central. Áreas que recebem densas projeções de fibras histaminérgicas são: hipotálamo (principalmente os núcleos supraóptico, paraventricular e ventromedial), bulbo olfatório, córtex cerebral, área septal e complexo amigdalóide. Vale salientar que dos núcleos amigdalóides, o núcleo medial da amígdala (MeA) é o que possui maior densidade de fibras histaminérgicas oriunda dos TMN. Projeções para o bulbo e medula espinhal também foram visualizadas (BEN-ARI et al, 1977, INAGAKI et al, 1988; PANULA et al, 1989; WADA et al, 1991). Estas regiões que recebem as projeções histaminérgicas estão intrinsecamente envolvidas, não apenas com os estados comportamentais e ciclos circadianos previamente citados, mas também com o controle simpático e parassimpático, e com a produção e liberação de hormônios hipotálamo/hipofisário – sistema este intensamente ativado sob situações de estresse (HAAS; PANULA, 2003; PHILIPPU; PRAST, 2001). Dessa forma, é possível compreender o papel da histamina na modulação destes sistemas e sua participação nas respostas comportamentais, autonômicas e neuroendócrinas frente a estressores. A figura 1 ilustra o desenho esquemático das projeções histaminérgicas e a distribuição dos receptores histaminérgicos em diversas regiões do cérebro.

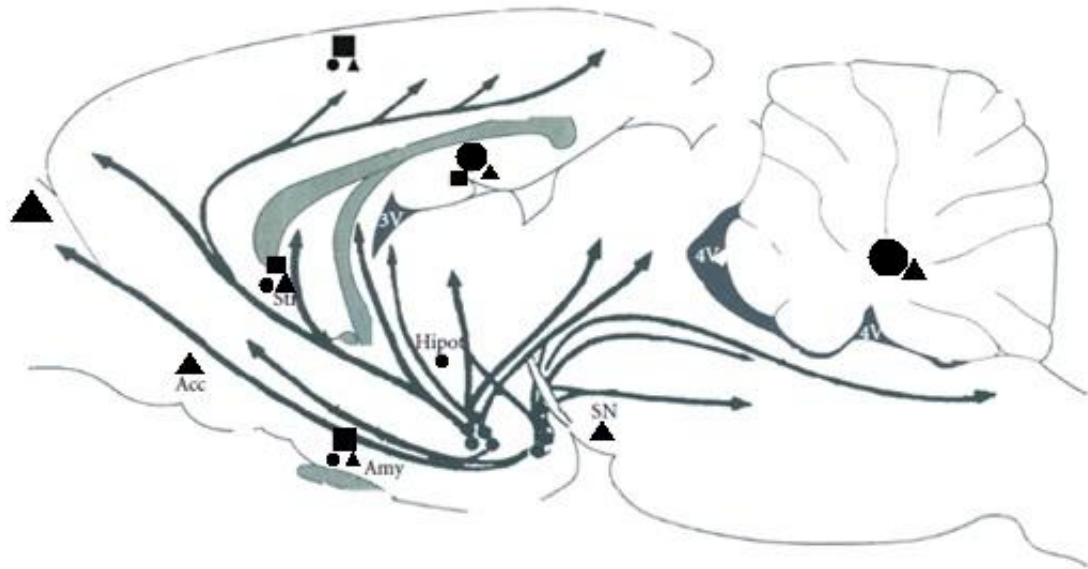


FIGURA 1. Principais projeções histaminérgicas e distribuição de receptores histaminérgicos no cérebro de ratos. As formas marcam os principais sítios onde cada subtipo de receptor está localizado. Em áreas que possuem mais de um subtipo de receptor (● = H<sub>1</sub>; ■ = H<sub>2</sub>; e ▲ = H<sub>3</sub>), a forma que possui maior tamanho indica qual é o receptor predominante. *Acc*: núcleo acumbens; *Amy*: amígdala; *Hipot*: hipotálamo; *Str*: striatum; *SN*: substância negra. Adaptado de Köhler *et al*, 2011.

A histamina é um composto imidazoletilamínico, sintetizada a partir do aminoácido L-histidina. Para a síntese da histamina nas células nervosas, é necessário que a L-histidina seja transportada para o neurônio através da proteína transportadora de L-aminoácidos presente na membrana celular. No citoplasma, a L-histidina é descarboxilada pela enzima HDC transformando-se em histamina, a qual é transportada para o interior de vesículas através da proteína vesicular transportadora de monoaminas tipo 2 (VMAT-2) presente na membrana vesicular. A VMAT-2 age transportando ativamente monoaminas presentes livremente no citosol (dentre elas, a serotonina, dopamina, noradrenalina e histamina) para o interior das vesículas sinápticas. A energia para tal processo é oriunda do gradiente de prótons, mantidos por toda membrana vesicular sináptica graças a ação da Próton/ATPase, que permite o antiporte  $2H^+$ /monoamina pela VMAT-2 (EIDEN *et al*, 2003). Assim, VMAT-2 tem importante função na neurotransmissão e na atividade funcional do neurônio monoaminérgico, pois retira do citosol essas aminas que, ali presentes, são neurotóxicas. As vesículas histaminérgicas encontram-se especialmente nas varicosidades axônais (ALBERTS *et al*, 2004; CRIADO *et al*, 2010; SURRACATA, 1993). Quando o neurônio histaminérgico é despolarizado, as vesículas histaminérgicas liberam seu conteúdo na fenda sináptica (SURRACATA, 1993).

Como não foi relatado nenhum mecanismo de alta afinidade que permita a recaptação da histamina por neurônios pré-sinápticos, o término da ação da histamina na fenda sináptica depende de sua inativação através do processo de metilação. A enzima que metila a histamina

é a histamina N-metiltransferase (HNMT) e o produto final é a tele-metil-histamina, um metabólito sem atividade biológica conhecida. A tele-metil-histamina ainda é degradada a ácido tele-metil-imidazolacético, por uma ação combinada da monoamina oxidase B e uma enzima aldeído-desidrogenase. Por isso, a velocidade de renovação da histamina neuronal é alta, e sua meia-vida normalmente gira em torno de 30 minutos em condições basais (CRIADO et al, 2010; HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008). Vale salientar que em situações de estresse (como na restrição de movimentos e choque hipovolêmico) a taxa de renovação é aumentada (HAAS; PANULA, 2003). A figura 2 mostra o desenho esquemático da síntese e metabolismo da histamina no neurônio histaminérgico.

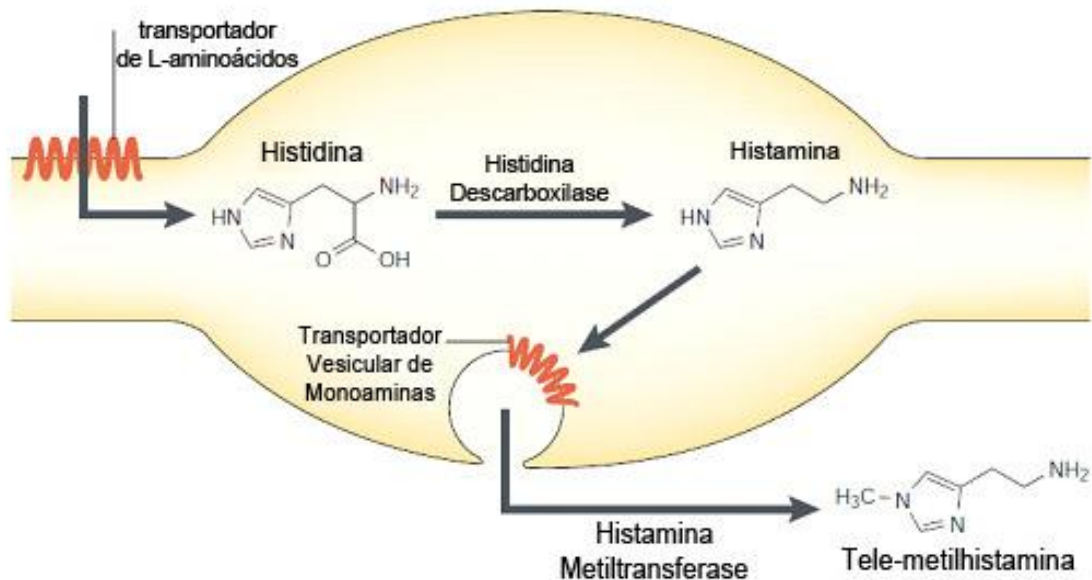


FIGURA 2. Síntese e metabolismo da histamina. L-histidina é captada, transformada em histamina pela histidina-descarboxilase; a histamina é transportada para dentro das vesículas e liberada na fenda sináptica e posteriormente inativada por metilação. *Figura adaptada de Haas e Panula, 2003.*

A histamina exerce seus efeitos através da ativação de quatro tipos de receptores histaminérgicos: H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> e H<sub>4</sub>. Os receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> são excitatórios, permitindo reações bioquímicas intracelulares que desencadeiam na ativação neuronal, enquanto que os receptores H<sub>3</sub> e H<sub>4</sub> inibem essas reações. Os receptores H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> são expressos em abundância no cérebro (HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008). Recentemente foi detectada a presença dos receptores H<sub>4</sub> em diversas áreas do cérebro, no entanto seu papel funcional ainda não foi estabelecido (STRAKHOVA et al, 2009). Os receptores histaminérgicos são metabotrópicos acoplados à proteína G. Cada receptor é composto por sete alças

transmembranares abrangendo elementos com sítio específico de ligação com agonista, sítio para acoplamento da proteína G, bem como modificações covalentes, por exemplo, fosforilação por proteína quinases (HAAS; PANULA, 2003; SILVEIRA, 2007; ZHOU et al 2006).

O receptor do tipo  $H_1$  é o receptor histaminérgico clássico e sua ação periférica leva a contração do músculo liso, tanto das vias aéreas quanto intestinal e tem grande importância nas condições alérgicas (VAN DER GOOT; TIMMERMAN, 2000). No sistema nervoso central (SNC), estes receptores estão largamente distribuídos apresentando alta densidade no hipotálamo, na área septal, no núcleo medial da amígdala e em áreas hipocámpais (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; HAAS; SERVEEGA; SEBACH, 2008).

A ativação do receptor  $H_1$  estimula a atividade da fosfolipase C, que hidroliza o composto fosfatidil-4,5-bifosfato gerando dois segundos-mensageiros, o inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) e diacilglicerol (DAG). A formação do DAG estimula a atividade da proteína cinase C (PKC) que facilita a ativação dos receptores glutamatérgicos NMDA. O  $IP_3$  age em receptores do retículo endoplasmático, estimulando a liberação de  $Ca^{+2}$  no citosol. O aumento de  $Ca^{+2}$  intracelular, aumenta a atividade do trocador de  $Na^+/Ca^{+2}$  e também induz a produção de óxido nítrico (neuromodulador da atividade pré-sináptica). Ainda, a proteína G ativada pelo receptor  $H_1$  é capaz de bloquear a abertura dos canais de  $K^+$  de dois poros, responsáveis pela hiperpolarização, mantendo o neurônio em estado ativado por um período prolongado. O efeito final após a estimulação deste receptor é a intensa despolarização celular, ou seja, há estimulação neuronal (Figura 3) (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; SILVEIRA, 2007).

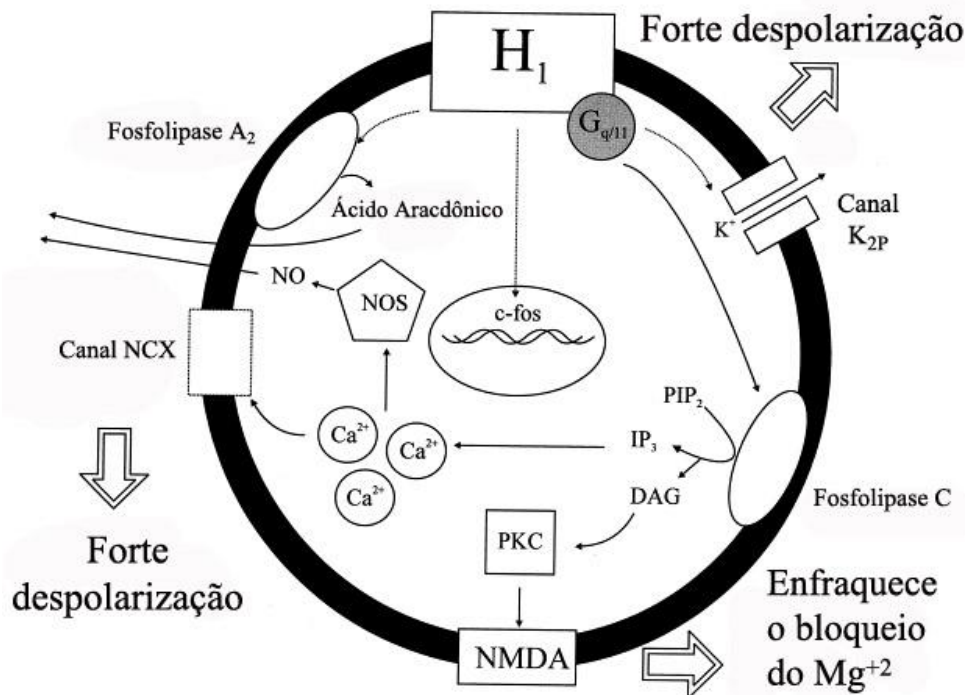


FIGURA 3. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor histaminérgico  $H_1$  na célula neuronal.  $H_1$ : receptor histaminérgico  $H_1$ ;  $G_{q/11}$ : proteína G estimulatória;  $IP_3$ : fosfatidilinositol trifosfato;  $K_{2p}$ : canal potássio de dois póros;  $NCX$ : trocador de  $Na^+/Ca^{2+}$ ;  $NMDA$ : receptor ionotrópico glutamatérgico;  $NO$ : óxido nítrico;  $NOS$ , óxido nítrico sintase;  $PIP_2$ : fosfatidil-inositol bifosfato;  $PKC$ : proteína cinase C. *Figura adaptada de Brown et al, 2001.*

Ao se verificar que a secreção gástrica causada pela histamina não era inibida por antagonistas dos receptores histaminérgicos tipo  $H_1$ , outro receptor clássico histaminérgico foi descoberto: o receptor  $H_2$  (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; PARSONS; GANELLIN, 2006). No SNC, os receptores  $H_2$  estão presentes em alta densidade nos ganglios da base e em algumas áreas do sistema límbico, como a formação hipocampal e amígdala. Porém em contraste com os recetores  $H_1$ , os receptores  $H_2$  encontram-se em baixas densidades nos nucleos septais, hipotalâmicos e talâmicos. Além disto, os receptores  $H_2$  agem sinergicamente com os receptores  $H_1$  na excitação neuronal (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001).

O receptor  $H_2$  se acopla à proteína G para estimular a adenilato ciclase e aumentar as concentrações de AMPc intracelular que, por sua vez, ativa a proteína cinase A (PKA). As subunidades ativada da PKA são translocadas para o núcleo, estimula a atividade do fator CREB, culminando em transcrição de proteínas. Este fator é importante regulador da neurofisiologia e da plasticidade neuronal. Além disto, as sub-unidades ativas da PKA, bloqueia a condutância dos canais de  $K^+$  ativados pelo influxo de  $Ca^{2+}$ , que são os responsáveis pela repolarização e pelo prolongamento da hiperpolarização pós-potencial de ação nestes neurônios. Finalmente, o AMPc produzido também é capaz de modificar a

sensibilidade da voltagem dos canais HCN permitindo sua ativação em voltagens mais positivas, o que facilita a despolarização neuronal subsequente. Dessa forma, a estimulação dos receptores  $H_2$  também leva à excitação neuronal, porém por mecanismos diferentes daqueles gerados pela estimulação dos receptores  $H_1$  (Figura 4) (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; SILVEIRA, 2007).

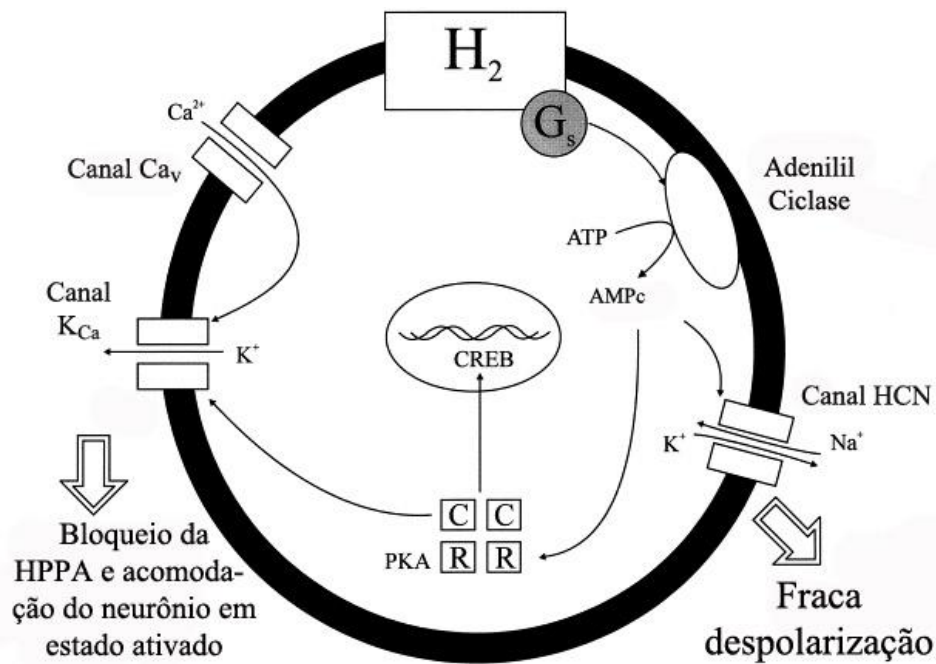


FIGURA 4. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor histaminérgico  $H_2$ . AMPc: adenosina monofosfato; ATP: adenosina trifosfato;  $Ca_v$ : canal de cálcio dependente de voltagem; CREB: proteína ligante ao elemento de resposta ao AMPc;  $G_s$ : proteína G estimulatória;  $H_2$ : receptor histaminérgico  $H_2$ ; HCN: canal ativado por hiperpolarização e dependente de nucleotídeos cíclicos; HPPA: hiperpolarização pós-potencial de ação;  $K_{Ca}$ : canal de potássio dependente de cálcio; PKA: proteína quinase A. *Figura adaptada de Brown et al, 2001.*

Tanto os receptores  $H_1$  quanto os  $H_2$  têm papel na plasticidade neuronal durante o desenvolvimento cerebral na infância. Quando ativados pela histamina, os receptores  $H_1$  promovem aumento intracelular de  $Ca^{+2}$  e PKC, e os receptores  $H_2$  aumentam a expressão de AMPc e PKA. Estes compostos potencializam a ativação do receptor glutamatérgico NMDA, importante efetor da plasticidade neuronal (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; KÖHLER et al 2011). Além disso, a histamina pode agir diretamente nos receptores NMDA, através de seu sítio de ligação poliamínico, contribuindo diretamente para essa neuroplasticidade (KÖHLER et al, 2011).

Os receptores  $H_3$  estão presentes não só nos terminais sinápticos dos neurônios do TMN, como também em diversas regiões cerebrais, tais como córtex, hipocampo, giro



denteado, gânglios da base, cerebelo e substância negra. No entanto os receptores  $H_3$  encontrados no complexo amigdalóide e nos núcleos do tronco cerebral, como rafe e *locus coeruleus*, não estão localizados nos corpos neuronais destes núcleos, mas sim nos terminais sinápticos oriundos do TMN (PILLOT et al, 2002). Atuando como autorreceptor em neurônios histaminérgicos, os receptores  $H_3$  têm função na regulação da síntese e secreção da histamina.

Diferentes dos subtipos já citados, o receptor  $H_3$  é acoplado a proteína G inibitória e sua estimulação leva a inibição da formação do AMPc. A ativação da proteína G inibitória também reduz a atividade dos canais de  $Ca^{+2}$  de alta voltagem, e consequentemente, reduz a fusão das membranas vesiculares e plasmática, prejudicando, dessa forma, a neurotransmissão (Figura 5) (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001).

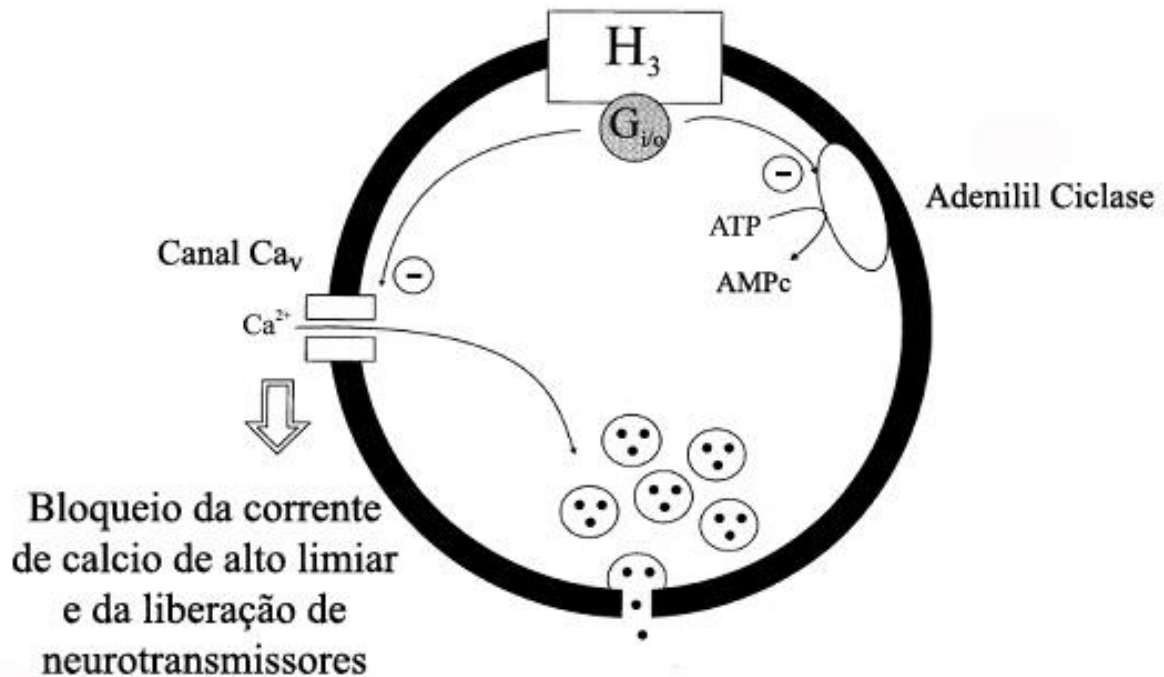


FIGURA 5. Desenho esquemático das respostas celulares e de membrana após ativação do receptor histaminérgico  $H_3$ . AMPc: adenosina monofosfato; ATP: adenosina trifosfato;  $Ca_v$ : Canais de  $Ca^{+2}$  de alta voltagem;  $G_{i/o}$ : proteína G inibitória;  $H_3$ : receptor histaminérgico  $H_3$ . *Figura adaptada de Brown et al, 2001.*

Os receptores  $H_3$  também podem atuar como heteroceptores, inibindo a liberação de outros neurotransmissores como glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), noradrenalina, dopamina, acetilcolina, serotonina e vários peptídeos, aparentemente pela inibição dos canais de cálcio pré-sinápticos (KÖHLER et al, 2011). Da mesma forma, a secreção de histamina também pode ser inibida por outros neurotransmissores ativando os

receptores muscarínicos do tipo  $M_1$ ,  $\alpha_2$ -adrenérgicos, serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub>,  $\kappa$ -opiídeos e os receptores de galanina. Ao contrário, os receptores do tipo  $\mu$ -opiídeos e leptina parecem facilitar a liberação da histamina (KÖHLER et al, 2011; RAO; DUNBAR, 2005).

Os receptores H<sub>4</sub> são expressos principalmente em células de origem hematopoiética, como eosinófilos e mastócitos, tendo função associada a processos inflamatórios e alérgicos (HAAS; SERCEEVA; SEBACH, 2008; NEUMANN; BEERMANN; SEIFERT, 2010). Estes receptores foram identificados recentemente no sistema nervoso central através da detecção do seu RNAm na amígdala, no cerebelo, no corpo caloso, no córtex pré-frontal e tálamo, tanto em humanos, quanto em ratos. Em ambas as espécies, este receptor encontra-se em alta densidade na medula espinhal e nos gânglios da raiz dorsal, sugerindo uma possível função na mediação da nocicepção. Connely e cols (2009) também detectaram presença destes receptores no córtex somatosensorial em camundongos e humanos. Posteriormente, Moya-García e cols (2011) verificaram atividade funcional dos receptores H<sub>4</sub> neuronais, observando hiperpolarização e inibição dos disparos neuronais, após microinfusão de agonista seletivo para este receptor. Vale salientar que os receptores H<sub>4</sub> exibem estrutura molecular semelhante a dos receptores H<sub>3</sub>, no entanto os processos bioquímicos intracelulares gerados pela ativação destes receptores ainda não estão estabelecidos (HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008). Visto que o receptor H<sub>4</sub> mostrou ter mais afinidade pela histamina do que os receptores H<sub>1</sub>, e sendo preferencialmente ativados em condições de baixa concentração de histamina, tem sido sugerido que os receptores H<sub>4</sub> têm maior importância durante as fases de baixa liberação de histamina (MOYA-GARCÍA et al, 2011). Uma vez que a histamina é liberada de forma fásica ao longo do dia, é possível que os receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> atuem na fase de alta concentração de histamina, enquanto que os receptores H<sub>4</sub> atuem durante a fase de baixa concentração, contribuindo, desta forma, com a modulação de diferentes ritmos biológicos, como por exemplo, o ciclo sono/vigília.

### **2.1.2 Participação das Vias Histaminérgicas Centrais no Controle Cardiovascular e no Estresse**

As pesquisas sobre o papel da histamina no controle e modulação do sistema cardiovascular iniciaram-se com a observação de que núcleos cerebrais importantes para a regulação autonômica e neuroendócrina tais como área septal medial/banda diagonal de Broca (ASM/DBB), núcleo supra óptico (SON), paraventricular (PVN), núcleo do leito da estria

terminal (BST) e núcleos amigdalóides, recebiam densa projeção histaminérgica (BEALER, 1999; HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008; WADA et al, 1991). Entretanto, o papel das vias histaminérgicas neste processo ainda não é claro.

Tem sido demonstrado que a histamina e seus agonistas, quando injetados centralmente, podem modular as funções cardiovasculares e a atividade simpática em ratos (BEALER, 1999; JOCHEM, 2004; KLEIN; GERTNER, 1981; POULAKOS; GERTNER, 1989; TRENDELEMBURG, 1957). Os primeiros estudos na década de 50 (TRENDELEMBURG, 1957) demonstraram que histamina microinjetada no ventrículo lateral promove aumento na pressão arterial (PA) em gatos. Estudos posteriores confirmaram o efeito hipertensivo da histamina em ratos acordados e anestesiados (JOCHEM, 2004; KLEIN; GERTNER, 1981). A depender do local de ação, o mecanismo pressor da histamina pode ser tanto por ativação simpática (AKINS; BEALER, 1991), quanto por aumento das concentrações plasmáticas de vasopressina, catecolaminas e angiotensina II (BEALER, 1999; BEALER; ABELL, 1995; NISHIBORI et al, 1990).

Além da resposta hipertensiva, Poulakos e Gertner (1989) observaram também redução da frequência cardíaca (FC) quando havia ativação dos receptores histaminérgicos centrais em ratos acordados. No entanto, o efeito cardíaco da histamina é mais complexo, visto que sua administração intracerebroventricular (i.c.v.) em animais anestesiados ou em algumas áreas cerebrais específicas em ratos acordados induz taquicardia (BEALER; ABELL, 1995; FINCH; HICKS, 1977).

A ação central da histamina, levando a hipertensão e bradicardia, parece ser específica dos receptores histaminérgicos  $H_1$  e  $H_2$ , desde que a microinjeção de antagonistas dos receptores  $H_1$ , tanto i.c.v., quanto em áreas cerebrais específicas inibe a resposta hipertensora provocada pela histamina microinjetada no mesmo local (FINCH; HICKS, 1976, 1977; POULAKOS; GERTNER, 1989). De forma semelhante, a injeção i.c.v. do antagonista dos receptores  $H_2$ , BMY-25405, também é capaz de bloquear a resposta pressora e bradicardia do agonista  $H_2$  impromidina (IMP), injetado na mesma região (POULAKOS; GERTNER, 1989).

Como fibras histaminérgicas se projetam para estruturas relacionadas com o controle do sistema cardiovascular e com o processamento emocional, pode-se inferir a participação desta via nas respostas comportamentais, autonômicas e neuroendócrinas em situações de estresse. De fato, estudos demonstraram aumento do *turnover* da histamina no diencéfalo, no núcleo acumbens e no striatum de ratos submetidos ao estresse agudo e crônico (ITO, 2000). Ainda, foi sugerido que a liberação de histamina pode ser utilizada como um indicador de

estresse (HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008), visto que vários tipos de estressores são capazes de ativar os neurônios histaminérgicos do TMN (MIKLOS; KOVACS, 2003). Observa-se que após 1 ou 2 horas de exposição ao estresse de restrição, frio extremo ou combinação de ambos, há depleção das concentrações de histamina de até 40% no hipotálamo, tálamo, mesencéfalo e no córtex cerebral, indicando que estes estressores aumentam a liberação deste neurotransmissor pelas terminações nervosas do TMN (TAYLOR; SNYDER, 1971). Tem sido sugerido também que a histamina modula a resposta analgésica ao estresse nociceptivo: o pinçamento da cauda de camundongos e ratos aumenta a concentração de tele-metil-histamina em áreas talâmicas e telencefálicas (áreas responsáveis pela transmissão e percepção do estímulo doloroso) (ITOH et al, 1989). Além disto, choque elétrico na pata de ratos reduz a densidade dos receptores H<sub>2</sub> no córtex, o que é revertido pelo pré-tratamento com amitriptilina (antidepressivo) (GHI et al, 1995). Este último estudo demonstra interação entre histamina e os neurotransmissores serotonina e noradrenalina, sugerindo a participação dos receptores histaminérgicos também no comportamento depressivo pós-estresse.

## **2.2 SISTEMA CARDIOVASCULAR E RESPOSTAS AO ESTRESSE**

A regulação da pressão sanguínea depende do controle da resistência vascular periférica e do débito cardíaco, permitindo o suprimento sanguíneo adequado para órgãos e tecidos de acordo com sua demanda metabólica. Situações que exijam maior metabolismo celular, como por exemplo, infecção ou exercício físico, promovem aumento de pressão sanguínea. Este aumento de pressão leva ao aumento da perfusão sanguínea para as regiões que permitem o organismo melhor reagir a estes estímulos, seja combatendo à infecção ou melhorando sua performance durante o exercício. Ao contrário, no período de sono, o fluxo aumentado para os leitos mesentéricos, com conseqüente redução da resistência vascular periférica, permite a redução da pressão sanguínea. Dessa forma, para a manutenção da homeostase, os níveis pressóricos devem ser estritamente monitorados e controlados (POWLEY, 1999; TURNER; STOCK; GANTEN, 1986).

O controle da pressão sanguínea é realizado por mecanismos neurais e hormonais. O SNC, através de neurônios sensitivos, recebe informações periféricas, que são processadas em seus núcleos e enviam comandos através dos neurônios autonômicos no intuito de modular as funções cardiovasculares, seja através da ação direta de fibras nervosas nos vasos sanguíneos

e no coração, ou via mensageiros hormonais, que podem agir tanto no calibre vascular quanto no volume de sangue circulante (ACCORSI-MENDONÇA et al, 2005; DAMPNEY, 1994). Dessa forma, o controle central da função cardiovascular é seletivo e específico, envolvendo uma gama de núcleos centrais capazes de responder de forma diferenciada a depender do estímulo que esteja provocando alterações na homeostasia.

Dados da literatura identificaram a participação de diferentes núcleos cerebrais, em especial em regiões rombencefálicas, responsáveis pelo controle do sistema cardiovascular (DAMPNEY, 1994). No entanto, outros estudos vêm identificando áreas cerebrais em níveis mais superiores do cérebro, mostrando que uma complexa rede de núcleos, conexões e vias neurotransmissoras é responsável pelo controle cardiovascular e suas adaptações homeostáticas (GUYENET, 2006; HAGIWARA et al, 2005; HERMAN et al, 2005; LOWRY et al, 2003; McDOUGALL; WIDDOP; LAWRENCE, 2005; YILMAZ; MILLINGTON; FELEDER, 2008).

Na região rombencefálica, os núcleos rostroventrolateral do bulbo (RVLM), trato solitário (NTS), ventrolateralcaudal do bulbo (CVLM), ambíguo (NA) e dorsomotor do vago (DMV) estão intrinsecamente relacionados com o controle cardiovascular. A ativação de neurônios do RVLM envia sinais excitatórios para os neurônios pré-ganglionares simpáticos, presentes na coluna intermediolateral da medula espinhal (IML), levando à vasoconstrição de diversos leitos vasculares, incluindo leitos renais, mesentérico e esplênico, e consequente aumento de pressão sanguínea. Vale notar que a inibição deste núcleo leva a uma grande redução na PA, mostrando que o nível de atividade deste núcleo é rigorosamente controlado de forma a evitar grandes flutuações nos níveis pressóricos sanguíneos (GUYENET, 2006; DAMPNEY, 1994).

O NTS é o núcleo bulbar identificado como centro integrador das informações sensoriais provindas dos tecidos periféricos. Os barorreceptores, localizados no arco aórtico e seio carotídeo, são estimulados pelo estiramento da parede arterial causado pelo aumento da PA e enviam sinais excitatórios por via monossináptica glutamatérgica para o NTS. O NTS envia sinais excitatórios para o CVLM, e deste, sinais inibitórios GABAérgicos são enviados para o RVLM. Desta forma, há redução da PA. A ativação do NTS também promove excitação de dois núcleos conhecidos pela atividade parassimpática cardíaca, o NA e o DMV, que, quando ativados, enviam sinais para o coração, reduzindo a força de contração e a FC. Este reflexo de redução da atividade simpática vascular e aumento da atividade parassimpática cardíaca oriunda do NTS, frente aos sinais enviados pelos barorreceptores, é conhecido como barorreflexo, que é um mecanismo neural de regulação da pressão arterial a

curto prazo (ACCORSI-MENDONÇA et al, 2005; MOHRMAN; HELLER, 2007). Glutamato e GABA são os principais agentes do circuito neural envolvido com as respostas barorreflexas (SVED, 1999). Sinapses nervosas de neurônios noradrenérgicos, serotoninérgicos (oriundos de outros núcleos do tronco cerebral ou de regiões prosencefálicas) e neurotransmissores como acetilcolina, angiotensina, vasopressina, ATP e substância P no RVLm e/ou na IML parecem exercer papel excitatório, ativando a via simpática. Juntamente com o GABA, a glicina, a encefalina, e outros opióides parece exercer papel inibitório na via simpática (DAMPNEY, 1994).

Como o bloqueio dos neurônios do RVLm não levava à redução tão acentuada da pressão sanguínea quanto a administração endovenosa de bloqueadores simpáticos, cientistas estudaram a participação de outros núcleos cerebrais na modulação da atividade simpática (SVED, 1999). Os núcleos da rafe têm projeções diretas para o IML, sendo via de convergência de sinais oriundas de núcleos prosencefálicos que promovem taquicardia (DAMPNEY, 1994; MCDOUGALL et al, 2005). Entretanto, tanto a rafe, quanto a substância cinzenta periaquedutal (PAG), áreas situadas no mesencéfalo, podem promover simpato-excitação ou inibição a depender da área ativada (DAMPNEY, 1994; VILLELA; SILVA JUNIOR; FONTES, 2009). Da mesma forma, os núcleos pontinos *locus coeruleus* e o complexo parabraquial (PB) também parecem ser importantes na modulação cardiovascular, promovendo efeitos diferenciados a depender da sub-região ativada (DÍAS-CASARES et al, 2009). A área postrema e a área tegmental ventral (VTA) parecem contribuir com a resposta simpática e facilitar as respostas barorreflexas, respectivamente (DAMPNEY, 1994).

Os núcleos prosencefálicos modulam a atividade do sistema nervoso autônomo de forma a promover a interação entre homeostasia térmica, hidrossalina, endócrina e emocional com o sistema cardiovascular (DIMICCO et al, 2006; NALIVAICO; SGOIFO, 2009; PACÁK; PALKOVITS, 2001; VAN DE KAR; BLAIR, 1999). O hipotálamo, localizado no diencéfalo, é conhecido por ser o principal componente central na adequação das respostas viscerais frente às adversas informações sensoriais, sejam elas de caráter físico ou emocional (NOLTE, 2008).

O hipotálamo apresenta grande número de conexões intra-hipotalâmicas e projeções de diferentes núcleos hipotalâmicos, especialmente PVN e núcleo dorsomedial do hipotálamo (DMH) para o tronco cerebral, permitindo a sua participação no controle autonômico cardiovascular, em diferentes situações, tal como o estresse (HERMAN et al, 2005). As conexões diretas PVN e do DMH com IML, RVLm, NTS, PAG e rafe, confere aos núcleos hipotalâmicos papel de destaque na modulação da atividade do sistema nervoso autonômico

(GUYENET, 2006; LOWRY et al 2003; McDOUGALL; WIDDOP; LAWRENCE, 2005). Além disto, o PVN possui células produtoras de neuro-hormônios extremamente importantes no controle do sistema cardiovascular em situações de estresse, sendo a via neuroendócrina da modulação deste sistema.

Outras áreas prosencefálicas conectadas ao hipotálamo são a área septal, o núcleo do BST, o hipocampo e os núcleos amigdalóides. Estas áreas estão envolvidas com o processamento das emoções e vêm se mostrando de grande importância na modulação cardiovascular frente às condições emocionais diversas (ALVES et al, 2007; DAMPNEY, 1994; FELDMAN; CONFORTI; WEIDENFELD, 1995; FORTALEZA; TAVARES; CORRÊA, 2009; HERMAN et al, 2005; McDOUGALL; WIDDOP; LAWRENCE, 2005; SCOPINHO et al, 2006; URZEDO-RODRIGUES et al, 2011). A amígdala recebe as informações sensoriais tanto do ambiente externo, quanto do ambiente interno e desencadeia respostas autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais adequadas àquelas informações. Os núcleos da amígdala respondem de forma diferenciada e seletiva aos diversos tipos de estressores, mas dentre eles, os núcleos central, medial e basomedial (CeA, MeA e BMA, respectivamente) têm-se mostrado relevantes na modulação cardiovascular frente a estes estressores (DAYAS; BULLER; DAY, 1999, DAYAS et al, 2001; FORTALEZA; TAVARES; CORRÊA, 2009; SAHA, 2005). Ainda, disfunções nos núcleos amgdalóides estão envolvidas não só com o desenvolvimento de diversos distúrbios psiquiátricos, mas também com a hipertensão de origem neural (YOSHIDA et al, 2002; DAVERN; HEAD, 2011; HERMAN, 2005).

Diversas situações as quais o indivíduo se expõe podem mudar seu equilíbrio homeostático, tais como exercício físico, hemorragia, doenças infecciosas e relações com outros seres vivos (CHROUSOS, 2009). Segundo Van de Kar e Blair (1999), estressores podem ser definidos como perigo ou percepção de perigo para a sobrevivência do indivíduo. Estes autores classificam os diversos tipos de estressores em três grandes grupos: 1) físico (introspectivo), quando envolve alteração homeostática independente do estado de consciência do indivíduo (hemorragia, infecção); 2) emocional (psicológico, exteroceptivo), quando há percepção real ou imaginada do perigo à sua sobrevivência (medo, ansiedade, novidade, barulho); e 3) misto, que envolve o aspecto físico com forte componente emocional (dor, restrição, nado forçado). Dayas e cols (2001), no entanto, observaram em estudo com expressão de c-fos, que, apesar das diversas categorizações dadas aos estressores, o cérebro é capaz de diferenciá-los em apenas dois grandes grupos: o estresse físico e o estresse emocional; os estressores mistos são compreendidos pelo cérebro apenas como estressor

emocional. Para Dayas e cols (1999), estressor emocional é um estímulo ou situação que sinaliza uma real ou potencial ameaça ao bem-estar de um animal e que, se aplicada ao ser humano, pode produzir efeitos negativos na esfera afetiva, podendo haver componente físico presente ou não.

Os estressores provocam respostas biológicas (autônomicas e neuroendócrinas) e comportamentais no organismo conhecidas como “respostas ao estresse”, que dão suporte às novas demandas metabólicas e à sobrevivência a essa nova condição (VAN DE KAR; BLAIR, 1999). Os principais mediadores periféricos do estresse são os glicocorticóides (cortisol e corticosterona), liberados graças à ativação da via neuroendócrina hipotálamo-pituitária-adrenal (eixo HPA) e as catecolaminas liberadas pela medula das glândulas adrenais sob o controle do sistema nervoso simpático (CHROUSOS, 2009; McDOUGALL; WIDDOP; LAWRENCE, 2005; VAN DE KAR; BLAIR, 1999). No eixo HPA, células hipotálâmicas presentes no PVN secretam o hormônio liberador de corticotropinas (CRH) a nível da adenohipófise, estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) na circulação, que por sua vez age no córtex das glândulas adrenais para secreção de corticosterona (BUSNARDO et al, 2010; HERMAN et al, 2005; LIGHTMAN, 2008). Outro hormônio típico do estresse produzido pelo PVN e armazenado na neurohipófise é a vasopressina (AVP), que, liberada na circulação sanguínea, age diretamente nos vasos arteriais promovendo vasoconstrição, aumento da resistência vascular periférica e consequente aumento da pressão sanguínea (HOLMES; LANDRY; GRANTON, 2004). No âmbito comportamental, as alterações englobam estados cognitivos como vigilância, ansiedade e raiva levando ao indivíduo partir para a luta ou para a fuga (CHROUSOS, 2009).

As alterações nesses sistemas neuroendócrinos, que visam promover adaptações homeostáticas no organismo – processo denominado de *alostasia* – são respostas favoráveis à vida frente às situações estressantes (SZCZEPANSKA-SADOWSKA, 2008). Sistemas que não tem envolvimento direto com a sobrevivência imediata do organismo, como o crescimento, a reprodução e a digestão, são inibidos. Os sistemas respiratório, cardiovascular e imunológico, que envolvem melhor performance física e maior estado de alerta, são ativados (CHROUSOS, 2009). Dessa forma, focando o sistema cardiovascular, ocorre aumento da PA, da FC, da força de contração, do débito cardíaco e da perfusão sanguínea nos leitos cardíaco e músculo esquelético, enquanto que os leitos vasculares cutâneo, renal e digestivo têm perfusão sanguínea reduzida (TURNER; STOCK, GANTEN, 1986).

Uma gama de neurotransmissores ativa o sistema nervoso autônomico e permite a secreção dos hormônios do estresse (CHROUSOS, 2009). Os neurotransmissores que



participam das respostas cardiovasculares ao estresse têm sido alvo de estudos de pesquisadores em todo o mundo. Demonstrou-se a participação da serotonina, noradrenalina, dopamina, vasopressina, angiotensina, ocitocina e histamina nestas respostas (BEALER, 1999; BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; FERREIRA et al, 2004, 2005; LOWRY et al, 2003; MIKLÓS; KOVÁCS, 2003; MRAVEC et al, 2007; NALIVAIKO; SGOIFO, 2009; STOJČIĆ et al, 2008; VAN DE KAR; BLAIR, 1999).

As respostas biológicas e comportamentais evocadas pelo estresse são extremamente importantes para a sobrevivência de qualquer ser vivo, logo, disfunções nos sistemas compensatórios do estresse – seja por uma exposição excessiva aos estressores (estresse crônico) ou por predisposições genéticas – podem levar a distúrbios cardiovasculares, respiratórios, imunológicos e psiquiátricos (CHROUSOS, 2009; SZCZEPANSKA-SADOWSKA, 2008). Da mesma forma, alteração ou disfunção dos núcleos cerebrais responsáveis pelo controle das respostas cardiovasculares adaptativas pode levar a condições patológicas no indivíduo, como hipertensão ou hipotensão, prejudicando a manutenção da homeostase. A sociedade contemporânea expõe os seres humanos a situações de estresse de forma cotidiana, e o estudo das vias nervosas que controlam o sistema cardiovascular frente a estas situações contribui para a clínica médica no diagnóstico e tratamento de disfunções neurológicas e/ou cardiovasculares.

### **2.3 O COMPLEXO AMIGDALÓIDE**

Conhecido por ser o “centro das emoções”, muitos trabalhos vêm mostrando que o complexo amigdalóide, também denominado apenas de amígdala, é extremamente importante no reconhecimento de estímulos lesivos ou potencialmente lesivos para a sobrevivência do indivíduo e na integração e adequação das respostas autonômicas e comportamentais frente a estes estímulos. (DAVERN; HEAD, 2011; DOLAN; VUILLEUMIER, 2003; FERGUSON et al, 2001; SHEKAR et al, 2003; SIEGEL; SCHUBERT; SHAIKH, 1997).

O complexo amigdalóide está localizado no lobo temporal do encéfalo sendo composto por aproximadamente 13 núcleos (SAH et al, 2003). Três grandes regiões formam o complexo amigdalóide: (1) amígdala basolateral, que inclui os núcleos basal, lateral e basal acessório, (2) amígdala cortical, que inclui o núcleo cortical e o trato olfatório lateral, e (3) amígdala centromedial, que abrange os núcleos medial e central. Ainda existem alguns núcleos que não se encaixam em nenhuma classificação, que são: os núcleos intercalados, que

são pequenos agrupamentos de neurônios encontrados no interior dos feixes de fibras que separam os diferentes núcleos amigdalóides; a área amigdalohipocampal; e a área amigdalóide anterior (SAH et al, 2003). Por apresentarem citoarquitecturas semelhantes e serem anatomicamente associados, a amígdala centromedial, juntamente com o BST, são referidos como amígdala estendida (McDONALD, 2003; SWANSON, 2003).

Diferentes núcleos da amígdala estão envolvidos com as respostas autonômicas evocadas por situações de ameaça à sobrevivência do indivíduo, seja esta real ou imaginada. O complexo amigdalóide é a região responsável por processar, categorizar e estocar as sensações e emoções geradas pelas experiências cotidianas. As sensações de medo e ansiedade e a consolidação de memórias aversivas ativam de maneira seletiva estes núcleos amigdalóides (BANANEJ et al 2011; DIELEMBERG; HUNT; MCGREGOR, 2001; PASSANI et al, 2007; ROOZENDAAL; McEWEN; CHATTARJI, 2009; SAH et al, 2003; SHEKAR et al, 2003). Embora muitas subregiões da amígdala pareçam exercer importante papel no comportamento emocional, o MeA vem se mostrando de extrema relevância na participação da modulação dos comportamentos sociais e na adaptação da função homeostática a desafios (DAYAS et al, 2001; FORTALEZA; SCOPINHO; CORRÊA, 2009; SAMUELSEN; MEREDITH, 2009; SIEGEL; SCHUBERT; SHAIKH, 1997).

O MeA é um núcleo bilateral, localizado na superfície basal do lobo temporal limitado medialmente pelo trato óptico (SAH et al, 2003). O MeA é uma estrutura complexa, dividida em subnúcleos, conforme suas características citoarquitectônicas, claramente identificados como anteroventral (MeA<sub>av</sub>), anterodorsal (MeA<sub>ad</sub>), posteroventral (MeA<sub>pv</sub>) e posterodorsal (MeA<sub>pd</sub>). Apesar de haver pequenas diferenças na distribuição e densidade das fibras, estes subnúcleos enviam projeções para núcleos hipotalâmicos através de duas vias principais: estria terminal (st) e via amigdalofugal (ap). Na via amigdalofugal, o MeA conecta-se com a substância inominada (SI) e com o hipotálamo lateral (LH), e, através deste último, envia projeções para regiões do tronco cerebral como a VTA e rafe mediana. Através da estria terminal, MeA conecta-se com os núcleos da área septal, BST, DMH, MPOA, núcleo ventromedial (VMH), com a região anterior do hipotálamo, que inclui os núcleos supraquiasmático, retroquiasmático, PVN e a área hipotalâmica anterior (AHA), e com a região mamilar do hipotálamo, que inclui a área hipotalâmica posterior (PHA), e os núcleos premamilares, mamilares e tuberomamilares. Indiretamente, passando pelos núcleo DMH e área posterior (PHA), o MeA envia projeções para PAG e rafe dorsal. Finalmente, via PVN e PAG, o MeA envia projeções para RVLm (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995;

SIMERLY, 2004). A figura 6 mostra o diagrama das conexões do MeA com núcleos e áreas corticais, hipotalâmicas, septais, mesencefálicas e rombencefálicas.

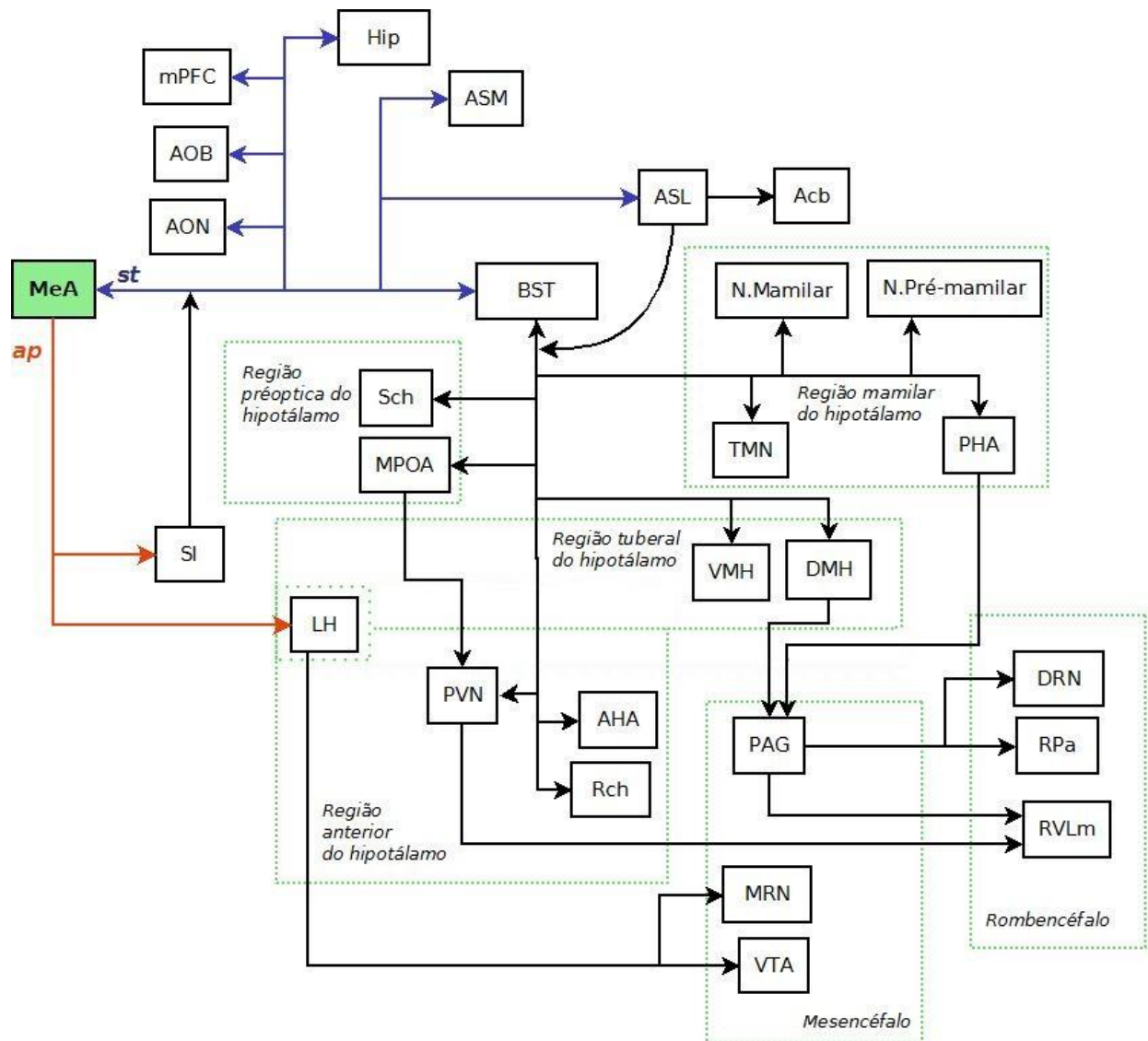


FIGURA 6. Diagrama das conexões do MeA com áreas do sistema nervoso central. As setas indicam o fluxo dos sinais neurais. Duas vias permitem a conexão bidirecional do MeA com as demais áreas encefálicas: a estria terminal (*st*) e a via amígdalofugal (*ap*). Legenda: *Acb*, núcleo acumbens; *AHA*, área hipotalâmica anterior; *AOB*, bulbo olfatório acessório; *AON*, núcleo olfatório acessório; *ASL*, área septal lateral; *ASM*, área septal medial; *BST*, núcleo do leito da estria terminal; *DMH*, núcleo dorsomedial do hipotálamo; *DRN*, núcleo dorsolateral da rafe; *Hip*, hipocampo; *LH*: hipotálamo lateral; *mPFC*: córtex prefrontal medial; *MPOA*: área pré-óptica medial do hipotálamo; *MRN*, núcleo mediano da rafe; *PAG*, substância cinzenta periaquedutal; *PHA*, área hipotalâmica posterior; *PVN*: núcleo paraventricular do hipotálamo; *Rch*: núcleo retroquiasmático; *RPa*, rafe pávida; *RVLm*, núcleo rostroventrolateral do bulbo; *Sch*, núcleo supraquiasmático; *SI*, substância inominada; *TMN*, núcleo tuberomamilar do hipotálamo; *VMH*, núcleo ventromedial do hipotálamo; *VTA*, área tegmental ventral.

Dados recentes evidenciam a participação do MeA na integração entre o estresse emocional e reprodução, ao observar supressão de liberação dos hormônios sexuais e gonadotrofinas em fêmeas submetidas a diversos tipos de estressores (LIN et al, 2011). Ainda, a resposta agressiva como um comportamento de defesa contra ameaças, depende da ativação e integridade das células do MeA (SHIBATA; YAMAMOTO; UEKI, 1982; SIEGEL; SCHUBERT; SHAIKH, 1997).

Estudos evidenciam também a participação de alguns núcleos do complexo amigdalóide na modulação do sistema cardiovascular, entre eles o BMA, o CeA e o MeA. Yoshida e cols (2002) mostraram que neurônios GABAérgicos exercem inibição tônica do BMA, visto que a microinjeção de bicuculina (antagonista GABA<sub>A</sub>) nesta área, promove aumento da pressão arterial e frequência cardíaca em ratos anestesiados. Por outro lado, a estimulação química dos neurônios do CeA com aminoácido excitatório L-glutamado promove hipertensão e taquicardia em ratos não-anestesiados (SAHA, 2005), enquanto que a lesão eletrolítica no CeA previne a hipertensão e atenua a resposta pressora provocada por estresse psicológico agudo em ratos hipertensos *borderline* (SANDERS et al, 1994). Além disso, Kalin e cols (1994) mostraram que há aumento de atividade metabólica em neurônios liberadores de CRH no CeA em animais submetidos a estresse de contenção. Contudo, alguns estudos sugerem que a participação do CeA na modulação cardiovascular, especialmente quando envolve estresse emocional, seja de maneira indireta, atuando como via de passagem para as informações oriundas do MeA (DAYAS; BULLER; DAY, 1999).

São relativamente recentes as informações referentes à participação do MeA na modulação das respostas cardiovasculares, em especial, frente a situações de estresse (KUBO et al, 2004; HAGIWARA et al, 2005; DAYAS; BULLER; DAY, 1999; FORTALEZA; SCOPINHO; CORRÊA, 2009). O MeA parece ter envolvimento também na hipertensão neurogênica, visto que maior atividade neuronal é observada nesta área em camundongos geneticamente hipertensos (linhagem BPH/2J) e que a lesão de células do MeA atenua a hipertensão em ratos SHR (DAVERN et al, 2009; FUKUMORI et al, 2004).

### 2.3.1 MeA e as Vias Histaminérgicas

Apesar da distribuição irregular, uma grande variedade neurotransmissores está presente nas células do MeA, assim como uma variedade de fibras nervosas se projeta para o MeA. Por muitos anos, o MeA estava associado ao comportamento sexual visto a grande quantidade de receptores para estrogênio e androgênio presentes em suas células, em especial no subnúcleo posterodorsal (MARAS; PETRULIS, 2010; TREZZA; CAMPOLONGO, 2009). Receptores para glutamato estão presentes no MeA e, quando ativados, aumentam a frequência de disparo dos neurônios angiotensinérgicos presentes neste núcleo (HAGIWARA et al, 2005). Além disto, este núcleo possui células produtoras de somatostatina, neuropeptídeo Y, podendo apresentar neurônios com colocalização destes neurotransmissores. Outros neurotransmissores encontrados no MeA são substância P, pró-dinorfina, CRF, angiotensina e óxido nítrico (DE OLIVEIRA et al, 2000; HAGIWARA et al, 2005; KRUKOFF; KHALILI, 1997; ROBERTS, 1992). O MeA recebe densa projeção de fibras serotoninérgicas, moderada projeção de fibras noradrenérgicas e escassa projeção dopaminérgica e adrenérgica. Ainda, o MeA apresenta relativamente pouca densidade das enzimas tirosina-hidroxilase, dopamina B-hidroxilase (FREEDMAN; SHI, 2001; FALLON; CIOFI, 1992). Dessa forma, a variedade de neurotransmissores e de receptores distribuídos no MeA em conjunto com as diversas combinações de vias neurais que podem ser ativadas pelo MeA possivelmente reflete as variadas respostas comportamentais e biológicas que o organismo pode adotar frente aos diversos tipos de estressores. As conexões com núcleos hipotalâmicos (MPOA, AHA, PVN, DMH) e rombencefálicos (rafe, PAG, RVLm) permitem que o MeA exerça controle sobre o sistema cardiovascular.

O MeA recebe intensa projeção histaminérgica proveniente do TMN através do feixe prosencefálico medial (PANULA et al, 1989; WADA et al, 1991) e possui grande atividade da enzima HDC (BEN-ARI et al, 1977). Os receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> estão distribuídos por todo o complexo amigdalóide, sendo que o MeA apresenta alta densidade dos receptores H<sub>1</sub> e pouca densidade dos receptores H<sub>2</sub>, enquanto que os núcleos lateral, basal e basal acessório apresentam maior densidade do receptor H<sub>2</sub> (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; KARLSTEDT et al, 2001; PALACIOS; WAMSLEY; KUHAR, 1981; TRAIFFORT et al, 1992; VIZUETE et al, 1997).

Foi observado que a estimulação elétrica do MeA reduz a liberação de histamina pelo TMN na PHA ipsilateral, porém, contra-lateralmente, promove aumento na liberação de

histamina a nível do LH (PRAST; WALSER; PHILIPPU, 1989). Isto mostra que o MeA não apenas recebe projeções do TMN como também envia projeções para este núcleo, influenciando a liberação de histamina em outras áreas. Este dado pode ser importante na compreensão do papel do MeA nas respostas ao estresse e a participação das vias histaminérgicas neste processo.

Estudo recente mostra que a microinjeção unilateral de histamina no MeApd promove aumento de pressão arterial média (PAM) e redução do componente parassimpático do barorreflexo, aumentando assim o balanço simpato-vagal de ratos em condições basais (QUAGLIOTTO et al, 2008). Este estudo dá suporte à idéia de que os receptores histaminérgicos no MeA modulam respostas hemodinâmicas reflexas. Com base nestes estudos, faz-se considerar a relevância das vias histaminérgicas no MeA para as respostas cardiovasculares, implicando na necessidade de mais estudos para compreender a função destes receptores nas condições de estresse emocional.

Tendo em vista 1) que o estresse é importante fator que desencadeia diversas condições patológicas, incluindo a hipertensão, 2) que as vias histaminérgicas centrais são ativadas durante condições aversivas e estressoras, e 3) que a amígdala é importante área cerebral envolvida em respostas emocionais diversas, nossa hipótese foi que o estresse leva a ativação de vias histaminérgicas direcionadas ao MeA e que a ativação dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> nesta área module as respostas cardiovasculares ao estresse.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Estudar o papel dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> presentes no núcleo medial da amígdala (MeA) sobre as respostas cardiovasculares em ratos estressados e não-estressados.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- 3.2.1 Verificar o efeito do bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> presentes no MeA sobre a pressão sanguínea e a frequência cardíaca em ratos submetidos ao estresse de restrição de movimentos.
- 3.2.2 Verificar o efeito do bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>2</sub> presentes no MeA sobre a pressão sanguínea e a frequência cardíaca em ratos submetidos ao estresse de restrição de movimentos.
- 3.2.3 Verificar o efeito do bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> presentes no MeA sobre a pressão sanguínea e a frequência cardíaca em ratos acordados em condições basais e em livre movimento.
- 3.2.4 Verificar o efeito do bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>2</sub> presentes no MeA sobre a pressão sanguínea e a frequência cardíaca em ratos acordados em condições basais e em livre movimento.

## **4 HIPÓTESES**

### **4.1 HIPÓTESES TESTES**

- 4.1.1 Em condições de desafio cardiovascular, como o estresse de restrição de movimentos, o bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA altera a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse em ratos.
- 4.1.2 Em condições cardiovasculares basais (não-estresse), o bloqueio dos receptores histaminérgicos dos tipos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA não altera a PA e a FC em ratos.

### **4.2 HIPÓTESES NULAS**

- 4.2.1 Em condições de desafio cardiovascular, como o estresse de restrição de movimentos, o bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA não altera a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse em ratos.
- 4.2.2 Em condições cardiovasculares basais (não-estresse), o bloqueio dos receptores histaminérgicos dos tipos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA altera a PA e a FC em ratos.



## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar adultos, pesando entre 280-320g (em torno de 15 semanas), fornecidos pelo Biotério Setorial do Laboratório de Neurociências, Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, mantidos em condições controladas de temperatura ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e de ciclo claro/escuro (7h00min às 19h00min), com água e ração *ad libitum*.

### 5.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

Cinco dias antes das sessões experimentais, os animais foram anestesiados com cetamina (80mg/kg) e xilazina (11,5mg/kg) via intraperitoneal, sendo o estado anestésico avaliado pela ausência dos reflexos corneal, respiratório e de retirada de pata por pressão. Após a tricotomia da região da cabeça, os animais foram colocados no aparelho estereotáxico. O crânio foi exposto com uma incisão na pele e remoção de tecido subcutâneo, e a cabeça do animal foi nivelada de modo que as suturas cranianas bregma e lambda estivessem na mesma altura. As coordenadas para implante bilateral das cânulas no MeA foram definidas de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson (1998): *anteroposterior* – 2,5 mm posterior ao bregma; *vertical* – 8,3 mm abaixo da calota craniana; e *lateral* – 3,4 mm à direita e à esquerda da linha sagital.

A trepanação óssea foi realizada utilizando-se uma broca odontológica nº7 e motor de baixa rotação. Dois parafusos foram fixados na calota craniana e recobertos com acrílico dental autopolimerizante para fixação e estabilização das cânulas.

As cânulas guias foram confeccionadas com agulhas de aço inoxidável com 0,5mm de diâmetro interno, 0,7mm de diâmetro externo e comprimento padronizado em 15mm. Para prevenir obstrução, as cânulas foram ocluídas com mandris removíveis de 15mm, confeccionados de fios de aço inoxidável.

Após a cirurgia foram administrados pentabiótico (benzilpenicilina benzatina 24.000UI; benzilpenicilina procaína 12.000UI; benzilpenicilina potássica 12.000UI;

diidroestreptomicina base 10 mg estreptomicina base 10 mg - 0,2 ml/rato; i.m.) e antiinflamatório (flunixin meglumina 2,5mg/kg; i.m.), como medidas profiláticas contra infecção, inflamação e dor.

Em seguida, os animais foram acomodados em caixas plásticas individuais e mantidos em salas com temperatura em torno de  $23 \pm 2$  °C, ciclo claro\escuro (luzes das 07h00min às 19h00min), água e ração disponíveis *ad libitum*. Nos cinco dias consecutivos à cirurgia, os animais foram observados quanto a sinais de dor e desconforto, sendo realizada outra administração de flunixin meglumina via i.m. quando necessário. Durante este período, os animais foram manipulados diariamente simulando as condições experimentais, no intuito de acostumá-los ao momento da microinjeção central. Dessa forma, os mandris foram trocados diariamente, evitando também a obstrução das cânulas.

### **5.3 CATETERIZAÇÃO DA ARTÉRIA CARÓTIDA**

Vinte e quatro horas antes do experimento (cinco dias após a implantação da cânula-guia), os animais foram anestesiados com cetamina (80mg/kg) e xilazina (11,5mg/kg) via intraperitoneal. Sob completa anestesia, foi realizada a tricotomia do pescoço e de parte do dorso do animal. O acesso à artéria carótida esquerda foi realizado através da incisão no pescoço e afastamento dos músculos traqueal e esternocleidomastóideo. Após pequena incisão na artéria, 2,7 cm do catéter (PE-50) foi inserido e fixado por amarraduras com linha de sutura. A outra parte do cateter (10,4 cm) foi exteriorizada por via subcutânea no dorso do animal. Após a cirurgia foram administrados o antibiótico e o antiinflamatório já citados, e os animais foram recolocados em caixas individuais.

### **5.4 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL**

No dia do experimento, foi registrada a pressão arterial pulsátil (PAP) através da conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão (BP1 – faixa de pressão: 50-300 mmHg, sensibilidade de  $5\mu\text{V}/\text{VE}/(\text{V}/\text{D}) = \text{volume}/\text{displacement} = 0,01$ , World Precision Instrument – Sarasota- Flórida) capaz de conduzir o sinal para o sistema computadorizado de aquisição de dados (AqDados versão 5.0 – Lynx Tecnologia Eletrônica Ltda). Os dados de

pressão sistólica, diastólica, pressão arterial média (PAM) e de frequência cardíaca (FC) foram calculados através do programa Biopac Systems AcqKnowledge for Windows.

## 5.5 DROGAS E MICROINJEÇÕES

Microrinjeções bilaterais no MeA foram realizadas com auxílio de uma seringa Hamilton de 10 µl, conectada por um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora 1.0 mm mais longa do que a cânula guia, em animais acordados em livre movimento em suas caixas. As drogas foram diluídas em salina isotônica estéril e injetadas num volume de 0,2 µL. As drogas utilizadas foram as seguintes:

**Veículo** – cloreto de sódio isotônico (NaCl 0,9%).

**Antagonista dos receptores H<sub>1</sub>** – mepiramina (SIGMA) nas doses de 50nmol, 100nmol e 200nmol.

**Antagonista dos receptores H<sub>2</sub>** – cimetidina (SIGMA) nas doses de 100nmol e 200nmol.

## 5.6 ESTRESSE DE RESTRIÇÃO DE MOVIMENTOS

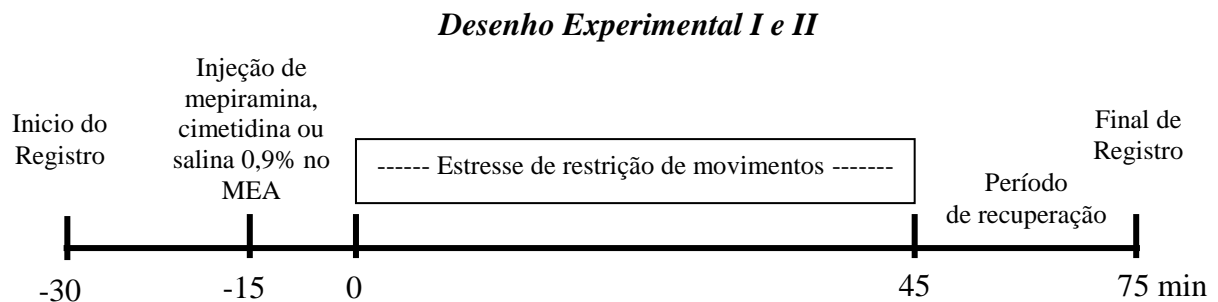
Para a realização do estresse de restrição de movimentos, os animais foram colocados, em tubos de polivinil de 6 cm de diâmetro e 26 cm de comprimento, e mantidos em posição horizontal (0° em relação à superfície) sem promover sinal aparente de dor. Os tubos são providos de vários orifícios ao longo do seu comprimento para permitir a dissipação de calor durante o estresse, além de aberturas na parte anterior e posterior para exteriorizar o focinho e a cauda dos animais, respectivamente. Na parte frontal e superior de cada tubo, existe uma abertura que permite o acesso ao cateter arterial, tornando possível sua conexão ao transdutor de pressão. Os animais foram mantidos nos tubos de restrição de movimento durante 45 min. Este tempo de estresse foi escolhido por ser suficiente para promover alterações autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais, alterações estas que também são moduladas pelas vias histaminérgicas centrais (BUYNITSKY; MOSTOFSKY, 2009; HAAS, SERGEEVA; SELBACH, 2008).

## 5.7 GRUPOS EXPERIMENTAIS

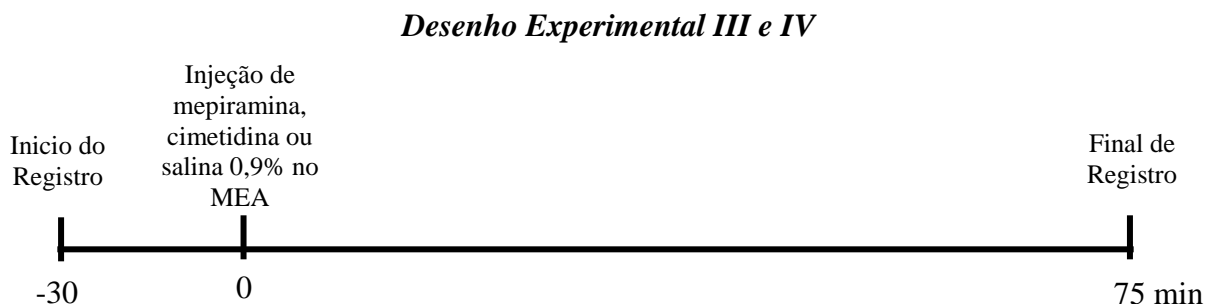
<b>GRUPOS EXPERIMENTAIS</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO</b>	<b>BASE RACIONAL</b>
<b>GRUPO I</b> <i>estresse e receptor H<sub>1</sub></i>	Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina, antagonista H <sub>1</sub> , no MeA nas doses de 50, 100 e 200 nmol ou de salina 0,9% sobre a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse de restrição	<i>Foi observado que a liberação de histamina pelos terminais sinápticos do TMN está aumentada em situações de estresse (ITO, 2000). Além disto, a amígdala é importante para o reconhecimento de estímulos aversivos (DOLAN; VUILLEUMIER, 2003) e coordena as informações para áreas responsáveis pelas respostas adaptativas ao estresse (CANTERAS; SIMERLY, SWANSON, 1995; DAMPNEY, 1994). Dessa forma, torna-se importante a investigação do papel dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA nas respostas cardiovasculares ao estresse.</i>
<b>GRUPO II</b> <i>estresse e receptor H<sub>2</sub></i>	Efeito da microinjeção bilateral de cimetidina, antagonista H <sub>2</sub> , no MeA nas doses de 100 e 200 nmol ou de salina 0,9% sobre a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse de restrição	
<b>GRUPO III</b> <i>não-estresse receptor H<sub>1</sub></i>	Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina, antagonista H <sub>1</sub> , no MeA na dose de 200 nmol ou de salina 0,9% sobre a PAM e FC de ratos acordados, em condições basais e livre movimento.	<i>Na homeostasia cardiovascular, as vias histaminérgicas são ativadas tipicamente em condições aversivas e ou prejudiciais à sobrevivência (JOCHEM, 2003). Se as vias histaminérgicas não apresentam tônus regulatório significativo em condições basais, testamos a suposição de que o bloqueio dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA não promove qualquer alteração na PAM ou FC de animais em condições basais (não estressados).</i>
<b>GRUPO IV</b> <i>não-estresse receptor H<sub>2</sub></i>	Efeito da microinjeção bilateral de cimetidina, antagonista H <sub>2</sub> , no MeA na dose de 200 nmol ou salina 0,9% sobre o sistema cardiovascular em ratos acordados, em condições basais e livre movimento.	

#### 4.8 PROTOCOLOS E DESENHOS EXPERIMENTAIS

Em todos os grupos experimentais (I, II, III e IV) no início das sessões experimentais, 24 h após a segunda cirurgia com os animais em suas caixas individuais, o cateter da carótida foi conectado ao transdutor de pressão e a PAP foi registrada por aproximadamente 30 min. Em seguida, os animais receberam microinjeções no MeA de antagonista dos receptores H<sub>1</sub> ou H<sub>2</sub> (mepiramina ou cimetidina, respectivamente), em diferentes doses. Os animais controles receberam microinjeções de salina (0,9%) nas mesmas condições experimentais. Após 15 minutos de administradas as drogas, os animais do grupo experimental I e II foram submetidos ao estresse de restrição de movimentos por 45 min. Após este período, os animais foram realocados em suas caixas individuais para recuperação de seu estado basal durante 30 min. Durante todo o período experimental, a PAP foi continuamente registrada.



Nos grupos experimentais III e IV, os animais não foram submetidos ao estresse de restrição, permaneceram por todo o tempo em suas caixas individuais com livre movimento. Após as microinjeções centrais, a PAP continuou sendo registrada por um período de 75 minutos.



Ao final da sessão experimental, todos os animais foram anestesiados e submetidos a perfusão transcardíaca com salina 0,9% seguida de formalina 10% para retirada dos cérebros e posterior análise histológica dos mesmos. Os experimentos foram realizados entre 7h00min e 13h00min e os animais não tiveram acesso a água ou ração durante este período.

## 5.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após perfusão, os cérebros foram removidos e conservados em solução de formolglucosado (10% de formol, 30% de glicose) por pelo menos 72h. Após este período, os cérebros foram seccionados em cortes coronais de 40  $\mu\text{m}$  de espessura em micrótomo de congelamento. Os cortes cerebrais foram corados com cresil violeta 2% para posterior análise do posicionamento das cânulas e do local das microinjeções. Somente os cortes cerebrais nos quais as duas microinjeções estavam localizadas no MeA foram considerados positivos para análise. Os cortes cujas microinjeções ficaram localizadas em outras áreas, foram analisados à parte.

## 5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados, expressos como média  $\pm$  E.P.M., foram analisados pelo *software* GraphPad-Prism V.5 (L2 Jolla-CA-USA). Inicialmente foi realizada a análise de variância (ANOVA) *two-way* para medidas repetidas seguida do pós-teste de Bonferroni, sendo considerados valores de significância de  $p < 0.05$ . Para análise de comparação da eficácia do bloqueio da resposta pressora entre os antagonistas dos receptores  $H_1$  e  $H_2$ , foi utilizada a ANOVA *one-way*, seguida pelo pós-teste de Newman-Keuls, sendo considerados os valores de significância de  $p < 0.05$ .

## 5.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A manipulação e procedimentos experimentais que foram utilizados nos animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEUA-ICS) com número de protocolo 018/2011.

O critério para o estabelecimento do número amostral por grupo experimental foi baseado em dois fatores: o primeiro foi de acordo com os dados encontrados na literatura internacional e o segundo foi de acordo com cálculos matemáticos. Cálculo do tamanho da amostra foi realizado com o auxílio do programa *Signaplot* versão 12, considerando uma diferença significativa de 10 mmHg entre os grupos controles e experimentais, com um desvio padrão de 3 mmHg, poder do teste em 95% e um p de 0,05, estimando o tamanho da amostra para 5 animais (80 animais no total).

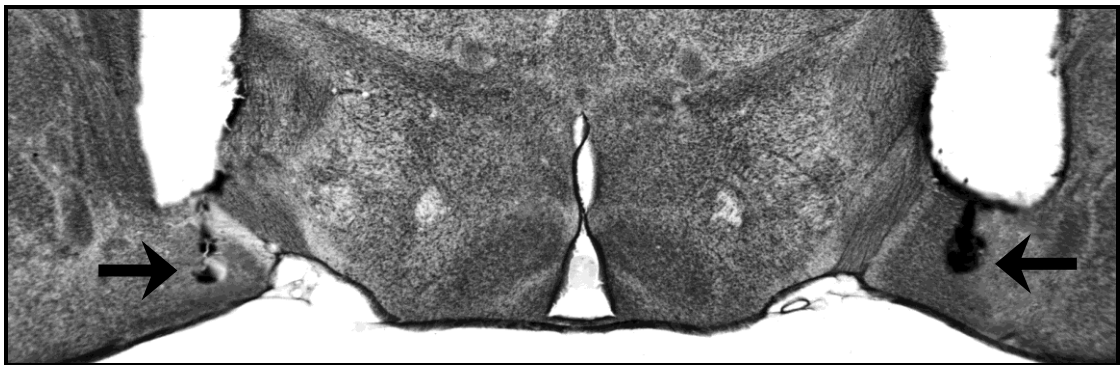
O número total de animais utilizados foi de 137 animais. Deste total, 86 animais (62,8%) foram considerados positivos; 19 animais (13,9%) foram referentes aos animais cujas cânulas atingiram áreas circunvizinhas ao MeA (MGP, BMA, CoA e LH); 10 animais (7,3%) foram utilizados como pilotos para treinamento de técnicas; e 22 animais (16,5%) não foram utilizados devido a morte após procedimentos cirúrgicos.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A figura 7 no painel A mostra uma fotomicrografia típica de corte coronal de cérebro (40  $\mu$ m) com coloração de cresil violeta. Somente os animais que apresentaram microinjeções localizadas no MeA, de forma bilateral, foram considerados positivos. O painel B representa um diagrama, adaptado do Atlas Estereotático de Paxinos & Watson (1998), mostrando a localização das injeções no MeA (●) ou em áreas circunvizinhas (x). Os animais que apresentaram microinjeções em áreas circunvizinhas ao MeA foram analisados à parte.

A



B

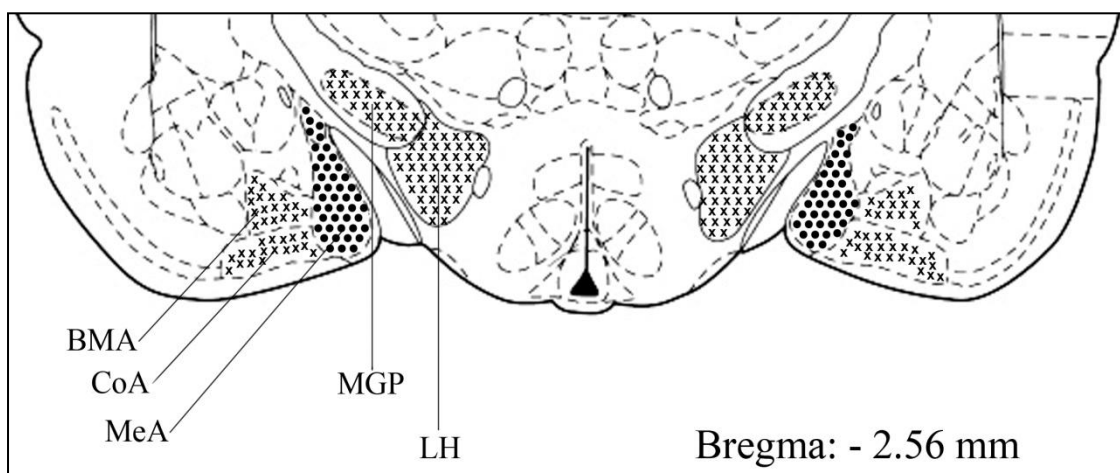


FIGURA 7. Fotomicrografia (painel A) de corte coronal (40  $\mu$ m) e desenho esquemático (painel B, adaptado do Atlas de Paxinos & Watson, 1998) de cérebro de rato indicando local da microinjeção bilateral no MeA. As setas indicam o local da microinjeção. Os símbolos representam: (●) microinjeções bilaterais no MeA; (x) microinjeções em áreas circunvizinhas. BMA: *núcleo basomedial da amígdala*; CoA: *núcleo cortical da amígdala*; LH: *hipotálamo lateral*; MeA: *núcleo medial da amígdala*; MGP: *globo pálido medial*.



## 6.2 EFEITO DO BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS DO TIPO H<sub>1</sub> PRESENTES NO MEA SOBRE A RESPOSTA HIPERTENSIVA E TAQUICÁRDICA EVOCADA PELO ESTRESSE DE RESTRIÇÃO

No primeiro protocolo experimental realizado, investigamos o papel dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> no MeA sobre o controle cardiovascular em situação de estresse. A figura 8, painel A, ilustra o  $\Delta$ PAM após microinjeções bilaterais de mepiramina no MeA em diferentes doses (50, 100 e 200 nmol) ou salina 0,9% em animais submetidos ao estresse de restrição. O tratamento com mepiramina inibe de forma dose-dependente a resposta hipertensiva induzida pelo estresse. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da PAM indica que há interação significativa entre os fatores tempo e tratamento [ $F(64,493) = 4,55, p < 0,0001$ ] e que também há diferença significativa ao longo do tempo [ $F(16,493) = 40,93, p < 0,0001$ ] e entre os tratamentos [ $F(4,493) = 148,85, p < 0,0001$ ]. A PAM basal de cada grupo, que foi utilizada para o cálculo do  $\Delta$ PAM ao longo do experimento, encontra-se na tabela 1. Como esperado, observa-se que animais tratados com salina submetidos a estresse de restrição apresentam resposta hipertensiva significativa ao longo de todo o período de estresse, sendo que nos primeiros 5 min após seu início o  $\Delta$ PAM foi  $30 \pm 2$  mmHg, enquanto nos animais não-estressados tratados com salina o  $\Delta$ PAM foi de  $1 \pm 2$  mmHg e, aos 45 min, final do estresse, o  $\Delta$ PAM foi de  $25 \pm 2$  mmHg e de  $-1 \pm 2$  mmHg, respectivamente. Na dose de 200 nmol, a mepiramina leva ao bloqueio quase completo da resposta hipertensiva ao estresse, diferindo estatisticamente do grupo controle não-estressado apenas nos primeiros 5 min de estresse ( $\Delta$ PAM =  $12 \pm 2$ ). O  $\Delta$ PAM dos animais tratados com a dose de 200 nmol nos tempos 10 min e 45 min de estresse foi de  $9 \pm 3$  e  $6 \pm 3$  mmHg, respectivamente. Os animais tratados com mepiramina na dose de 100 nmol apresentam  $\Delta$ PAM diferente estatisticamente tanto em relação ao grupo controle estressado, quanto ao grupo controle não-estressado, sendo seus valores de  $\Delta$ PAM nos tempos 5 e 45 min  $14 \pm 2$  e  $17 \pm 2$  mmHg, respectivamente. A dose de 50 nmol foi inefetiva em bloquear a resposta hipertensiva ao estresse; a análise estatística mostra que o  $\Delta$ PAM deste grupo não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle (salina) estressado. Além disso, observa-se que a resposta hipertensiva ao estresse em animais tratados com mepiramina na dose de 50 nmol foi significativamente diferente daquelas apresentadas pelos animais tratados com a dose de 200 nmol e pelos animais tratados com salina não-estressados.

No painel B da figura 8 apresenta-se os resultados do  $\Delta FC$  após microinjeção bilateral no MeA de mepiramina em diferentes doses (50, 100 e 200 nmol) ou salina 0,9% em animais submetidos ao estresse de restrição. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da FC indica que há diferença estatística significativa ao longo do tempo [ $F(16,464) = 55,62, p < 0,0001$ ], e que há interação significativa entre os tratamentos [ $F(4,464) = 10,79, p < 0,0001$ ] e entre tempo e tratamento [ $F(64,464) = 3,26, p < 0,0001$ ]. A FC basal, de cada grupo, que foi utilizada para o cálculo do delta da FC ( $\Delta FC$ ), encontra-se na tabela 2. Verifica-se que, nos animais tratados com salina submetidos ao estresse de restrição, houve aumento significativo na FC por todo o período de estresse quando comparados ao grupo tratado com salina não-estressado, sendo que, no início do estresse (5 min), o  $\Delta FC$  foi de  $142 \pm 22$  bpm nos ratos estressados e de  $9 \pm 16$  bpm nos ratos não-estressados, e, ao final do estresse (45 min), o  $\Delta FC$  foi de  $112 \pm 11$  e  $6 \pm 8$  bpm respectivamente. A administração de mepiramina nas doses de 50, 100 ou 200 nmol não produz qualquer alteração no  $\Delta FC$  induzida pelo estresse de restrição, não diferindo do grupo controle estressado. Dessa forma, a única diferença significativa detectada pelo teste estatístico foi entre o grupo controle não-estressado e os grupos de animais estressados, tanto os tratados com salina (controle estressado), quanto os animais tratados com mepiramina nas diferentes doses.

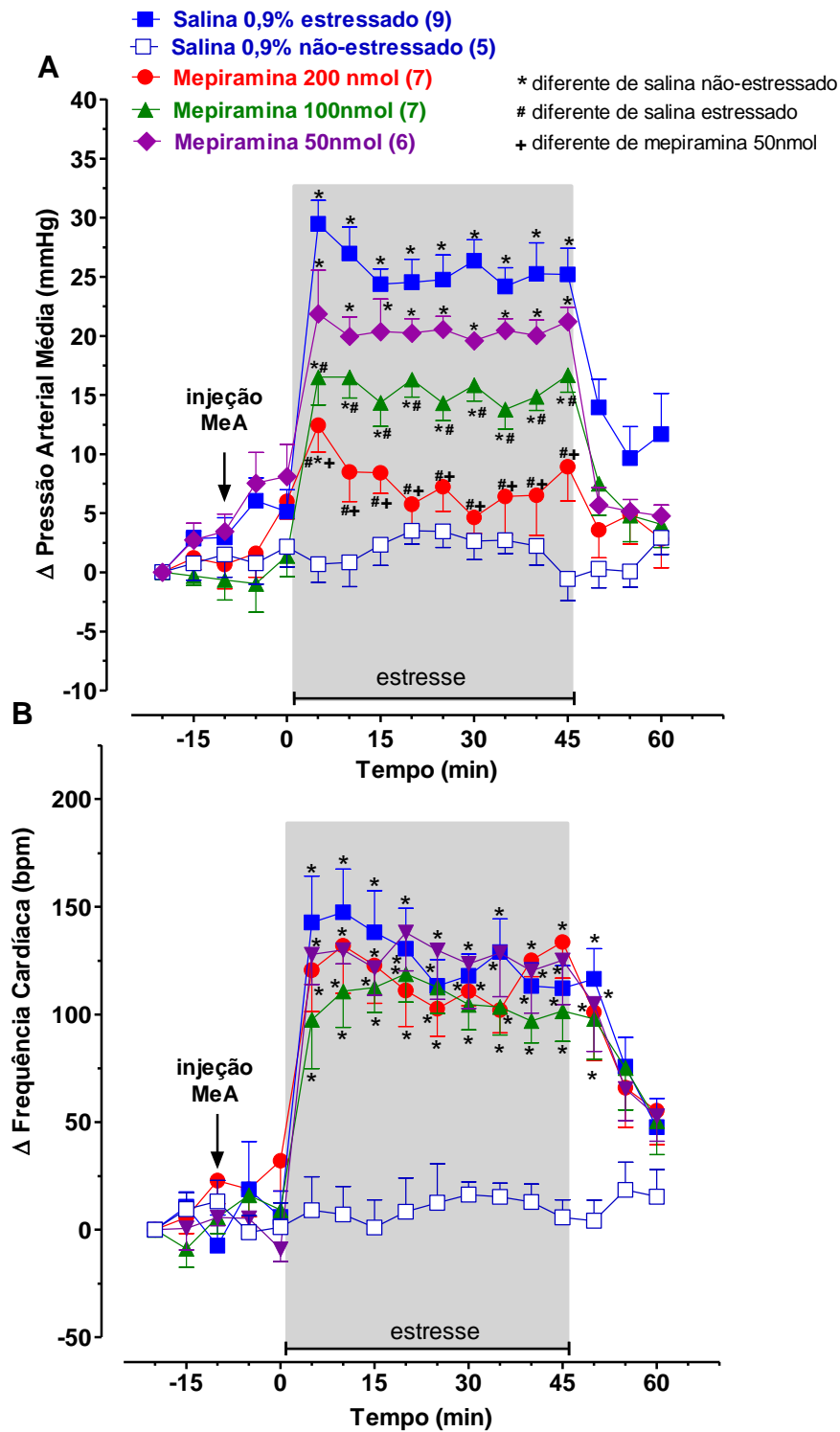


FIGURA 8. Alteração da PAM (A) e FC (B) durante o estresse de restrição em ratos após a administração de mepiramina no MeA. Os animais receberam as doses de 50 (◆; n=6), 100 (▲; n=5) e 200 (●; n=7) nmol ou salina 0,9% (■; n=9) e após 15min foram submetidos ao estresse de restrição. Outro grupo de animais não submetido ao estresse e tratados com salina no MeA (□; n=5) foi usado como controle para o estresse. Dados estão apresentados como média±SEM. ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,0001$ . Os símbolos representam: \*diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina que não foi submetido ao estresse de restrição; #diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina submetido ao estresse de restrição; +diferença estatística entre os grupos tratados com as doses de 50 e 200 nmol.

TABELA 1. Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina e cimetidina em diferentes doses sobre a PAM em diferentes momentos do período experimental. As doses utilizadas de mepiramina foram 50, 100 e 200 nmol e de cimetidina foram 100 e 200 nmol. Os animais controles estressados e não-estressados receberam microinjeções de salina 0,9% no MeA.

Grupos Experimentais	PAM ± EPM (mmHg)	Δ PAM ± EPM (mmHg)			
	basal - 20 min	microinjeção 0 min	estresse 5 min	estresse 25 min	estresse 45 min
<i>Salina estressado</i>	103 ± 3	5 ± 2	30 ± 2*	25 ± 2*	25 ± 2*
<b>I</b> <i>Mepiramina 200 nmol</i>	111 ± 5	6 ± 2	12 ± 2*#+	7 ± 2#+	9 ± 3#+
<i>Mepiramina 100 nmol</i>	105 ± 1	1 ± 2	14 ± 2*#	14 ± 2*#	17 ± 2*#
<i>Mepiramina 50 nmol</i>	110 ± 2	8 ± 3	22 ± 4*	21 ± 1*	21 ± 1*
<i>Salina não-estressado</i>	114 ± 6	2 ± 2	1 ± 2	4 ± 1	-1 ± 2
<i>Salina estressado</i>	104 ± 4	7 ± 2	27 ± 2*	24 ± 1*	23 ± 1*
<b>II</b> <i>Cimetidina 200 nmol</i>	108 ± 4	1 ± 2	20 ± 1*#	15 ± 1*#	12 ± 2*#
<i>Cimetidina 100 nmol</i>	107 ± 2	7 ± 3	24 ± 3*	21 ± 2*	25 ± 2*
<i>Salina não-estressado</i>	110 ± 6	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 3

Dados estão apresentados como média±EPM. Os valores de PAM basal estão expressos em números absolutos. Após as microinjeções, os valores estão expressos como ΔPAM. A análise estatística realizada foi ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,0001$ . \*Diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina que não foi submetido ao estresse de restrição. #Diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina submetido ao estresse de restrição. +Diferença estatística entre os grupos tratados com mepiramina nas doses de 50 e 200 nmol.

TABELA 2. Efeito da microinjeção bilateral de mepiramina e cimetidina em diferentes doses sobre a FC em diferentes momentos do período experimental. As doses utilizadas de mepiramina foram 50, 100 e 200 nmol e de cimetidina foram 100 e 200 nmol. Os animais controles estressados e não-estressados receberam microinjeções de salina 0,9% no MeA.

Grupos Experimentais	FC ± EPM (bpm)	Δ FC ± EPM (bpm)			
	basal - 20 min	microinjeção 0 min	estresse 5 min	estresse 25 min	estresse 45 min
<i>Salina estressado</i>	342 ± 19	6 ± 12	143 ± 22*	147 ± 20*	112 ± 11*
<b>I</b> <i>Mepiramina 200 nmol</i>	345 ± 9	32 ± 14	121 ± 19*	132 ± 22*	134 ± 17*
<i>Mepiramina 100 nmol</i>	339 ± 7	9 ± 9	98 ± 23*	111 ± 17*	102 ± 14*
<i>Mepiramina 50 nmol</i>	340 ± 11	-9 ± 6	128 ± 14*	130 ± 6*	125 ± 21*
<i>Salina não-estressado</i>	373 ± 10	1 ± 11	9 ± 16	7 ± 13	6 ± 8
<i>Salina estressado</i>	326 ± 10	14 ± 9	177 ± 17*	155 ± 10*	139 ± 10*
<b>II</b> <i>Cimetidina 200 nmol</i>	361 ± 14	-1 ± 5	129 ± 23*	135 ± 11*	112 ± 11*
<i>Cimetidina 100 nmol</i>	355 ± 18	21 ± 27	136 ± 22*	118 ± 17*	129 ± 15*
<i>Salina não-estressado</i>	355 ± 26	-6 ± 7	10 ± 17	13 ± 12	14 ± 8

Dados estão apresentados como média±EPM. Os valores de FC basal estão expressos em números absolutos. Após as microinjeções, os valores estão expressos como ΔFC. \*Diferença estatística significativa (ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni,  $p < 0,0001$ ) quando comparado ao grupo tratado com salina que não foi submetido ao estresse de restrição.

### 6.3 EFEITO DO BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS DO TIPO H<sub>2</sub> PRESENTES NO MEA SOBRE A RESPOSTA HIPERTENSIVA E TAQUICÁRDICA EVOCADA PELO ESTRESSE DE RESTRIÇÃO

Dando continuidade aos estudos sobre o papel das vias histaminérgicas presente no MeA no controle cardiovascular em animais em situação de estresse, realizamos o segundo protocolo experimental, no qual investigamos o papel dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>2</sub> no MeA sobre o referido sistema. A figura 9, painel A, ilustra o  $\Delta$ PAM após microinjeção bilateral no MeA de cimetidina nas doses de 100 e 200 nmol ou salina 0,9% em animais submetidos ao estresse de restrição. Verifica-se que o tratamento com cimetidina promove inibição parcial da resposta hipertensiva induzida pelo estresse apenas na maior dose utilizada. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da PAM indica que há interação significativa entre os fatores tempo e tratamento [ $F(48,336) = 7,88, p < 0,0001$ ] e que também há diferença significativa ao longo do tempo [ $F(16,336) = 62,70, p < 0,0001$ ] e entre os tratamentos [ $F(3,336) = 35,36, p < 0,0001$ ]. A PAM basal de cada grupo, a qual foi utilizada para o cálculo do  $\Delta$ PAM ao longo do experimento, encontra-se na tabela 1. Semelhante ao grupo experimental I, observa-se que animais tratados com salina submetidos a estresse de restrição apresentam resposta hipertensiva significativa ao longo de todo o período de estresse, sendo que nos primeiros 5 min após seu início o  $\Delta$ PAM foi  $27 \pm 2$  mmHg, enquanto nos animais não-estressados tratados com salina o  $\Delta$ PAM foi de  $2 \pm 1$  mmHg; no final do estresse (45 min), o  $\Delta$ PAM foi de  $23 \pm 1$  mmHg e de  $2 \pm 3$  mmHg, respectivamente. Na dose de 200 nmol, a cimetidina atenuou o aumento da PAM no período de estresse, sendo que o valor do  $\Delta$ PAM nos 5 min foi de  $20 \pm 1$  mmHg e nos 45 min foi de  $12 \pm 2$  mmHg. A dose de 100nmol de cimetidina foi ineficaz em alterar a hipertensão evocada pelo estresse, não havendo diferença estatística no valor do  $\Delta$ PAM quando comparado aos animais tratados com salina submetidos ao estresse (tabela 1).

No painel B da figura 9, apresenta-se os resultados do  $\Delta$ FC após microinjeção bilateral no MeA de cimetidina (100 e 200 nmol) ou salina 0,9% em ratos submetidos ao estresse de restrição. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da FC indicou que há interação significativa entre os fatores tempo e tratamento [ $F(48,336) = 6,13, p < 0,0001$ ]. Há também diferença significativa ao longo do tempo [ $F(16,336) = 68,11, p < 0,0001$ ] e entre os tratamentos [ $F(3,336) = 26,40, p < 0,0001$ ]. A FC basal, de cada grupo, que foi utilizada para o cálculo do delta da FC ( $\Delta$ FC), encontra-se na tabela 2. Verifica-se que, nos animais tratados

com salina submetidos ao estresse de restrição, houve aumento significativo na FC por todo o período de estresse quando comparados ao grupo tratado com salina não-estressado ( $p < 0.0001$ ), sendo que, no início do estresse (5 min), o  $\Delta FC$  foi de  $177 \pm 17$  bpm nos animais submetidos ao estresse e de  $10 \pm 17$  nos animais não-estressados; no final do período de estresse (45 min), o  $\Delta FC$  foi de  $139 \pm 10$  e  $14 \pm 8$  bpm, respectivamente. A administração de cimetidina nas doses de 100 ou 200 nmol no MeA não produziu qualquer alteração no  $\Delta FC$  induzida pelo estresse de restrição, não diferindo estatisticamente do grupo controle estressado. Igualmente aos resultados do grupo experimental I, a única diferença significativa detectada foi entre o grupo controle não-estressado e os grupos de animais estressados, tanto os tratados com salina (controle estressado), quanto os animais tratados com mepiramina nas diferentes doses.

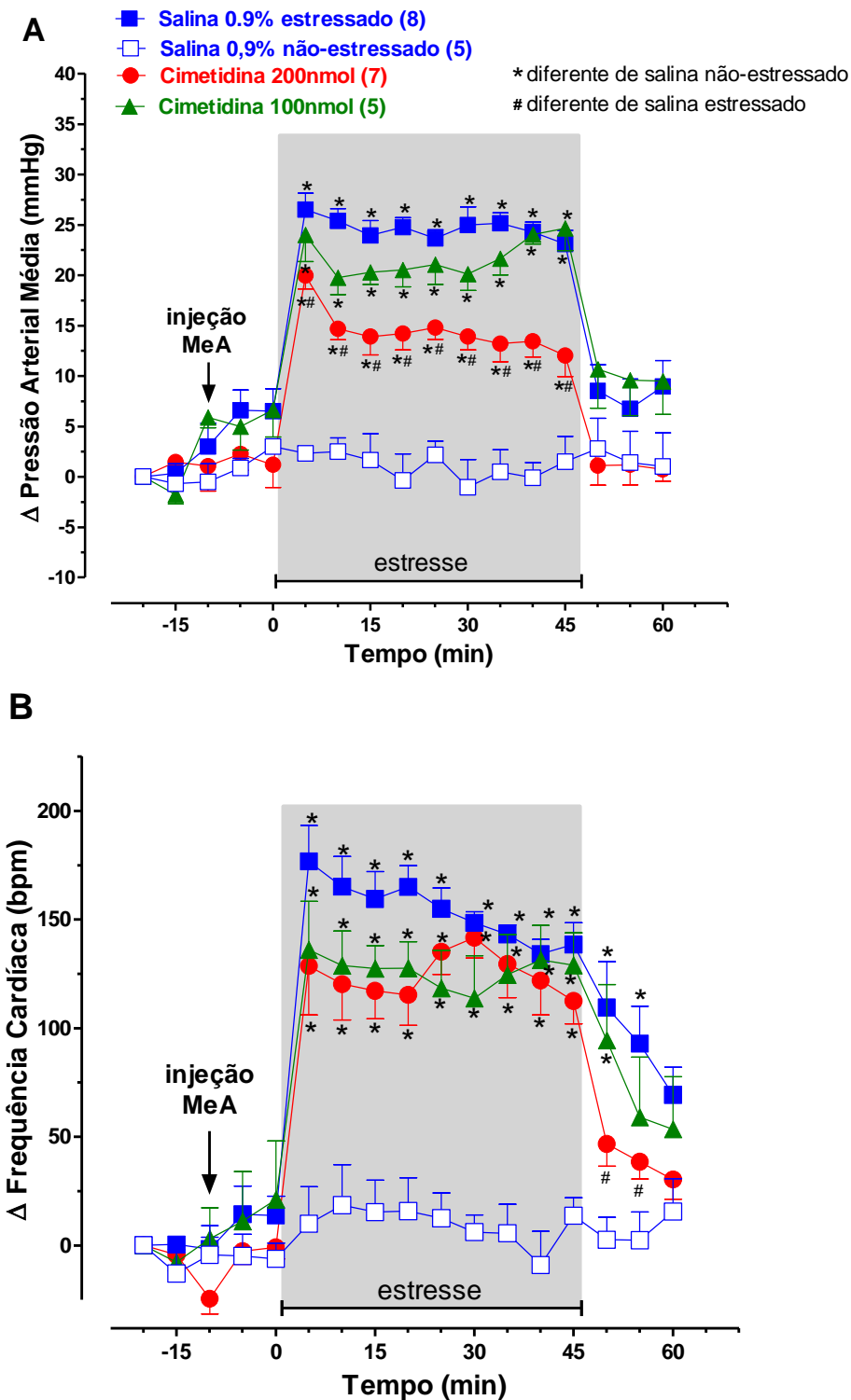


FIGURA 9. Alteração da PAM (A) e FC (B) durante o estresse de restrição em ratos após a administração de cimetidina no MeA. Os animais receberam as doses de 100 (▲; n=5) e 200 (●; n=7) nmol ou salina 0,9% (■; n=8) e após 15min foram submetidos ao estresse de restrição. Outro grupo de animais não submetido ao estresse e tratados com salina no MeA (□; n=5) foi usado como controle para o estresse. Dados estão apresentados como média±SEM. A análise estatística realizada foi ANOVA *two-way* seguido pelo pós-teste de Bonferroni ( $p < 0,0001$ ). Os símbolos representam: \*diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina que não foi submetido ao estresse de restrição; #diferença estatística significativa quando comparado ao grupo tratado com salina submetido ao estresse de restrição.

#### 6.4 COMPARAÇÃO DO EFEITO ANTI-HIPERTENSIVO DA MEPIRAMINA E CIMETIDINA ADMINISTRADAS NO MeA EM RATOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE DE RESTRIÇÃO

Ao observarmos que a intensidade da resposta anti-hipertensiva era diferente após o antagonismo dos receptores  $H_1$  e  $H_2$ , induzido pela administração de mepiramina e cimetidina respectivamente, fizemos outra abordagem estatística com os valores do  $\Delta$ PAM obtidos do registro original dos grupos experimentais I e II.

A figura 10 ilustra a comparação do bloqueio da resposta pressora causada pela administração de mepiramina e cimetidina nas doses de 0, 100 e 200 nmol no MeA de ratos aos 25 min de estresse de restrição. A dose de 0 nmol representa o  $\Delta$ PAM dos animais controles (salina 0,9%) submetidos ao estresse de restrição. A análise de variância *one-way* para medidas repetidas da PAM indicou que há diferença significativa entre os antagonistas e as doses utilizadas [ $F(5,39) = 17,96$ ,  $p < 0,0001$ ]. Mepiramina na dose de 200 e 100 nmol inibiu significativamente a resposta pressora em 70,9% e 42,1%, respectivamente, quando comparados aos animais controles. Cimetidina na dose de 200 nmol inibiu significativamente a resposta pressora em 39,4%, enquanto que a dose de 100 nmol promoveu redução de 10,6% na resposta pressora induzida pelo estresse, não se diferenciando dos animais controles de forma significativa. Quando comparados os grupos tratados com mepiramina com os grupos tratados com cimetidina em doses equimolares, verifica-se diferença estatística significativa tanto na dose de 100 nmol quanto na dose de 200 nmol (*one-way* ANOVA seguido do pós-teste de Newman-Keuls;  $p < 0,0001$ ). Isto indica que a mepiramina foi bloqueou de forma mais acentuada a resposta pressora evocada pelo estresse de restrição, quando comparada à cimetidina na mesma dose.



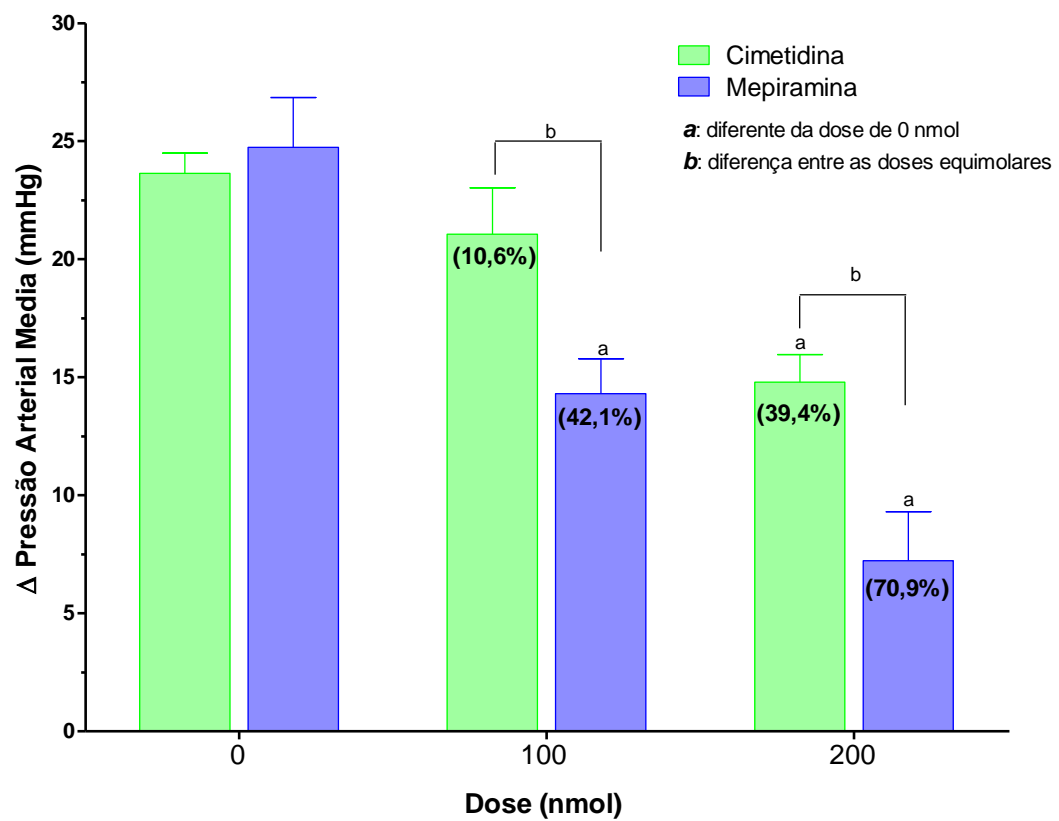


FIGURA 10. Comparação do efeito anti-hipertensivo aos 25 min de estresse de restrição provocado pela administração de mepiramina e cimetidina no MeA em animais estressados. As doses utilizadas para a análise foram de 0, 100 e 200 nmol de ambas as drogas. A dose de 0 nmol representa os animais controles tratados com salina 0,9% submetidos ao estresse de restrição. Os parênteses indicam a percentagem de inibição da resposta pressora quando comparada ao  $\Delta$ PAM do grupo controle. Análise estatística foi feita por ANOVA *one-way*, seguido do pós-teste de Newman-Keuls ( $p < 0,0001$ ). *a*: diferença estatística significativa em relação ao controle. *b*: diferença estatística significativa, quando comparados os grupos tratados com cimetidina e com mepiramina nas mesmas doses.

## 6.5 EFEITO DO BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS DO TIPO H<sub>1</sub> E H<sub>2</sub> PRESENTES NO MEA SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FREQUENCIA CARDÍACA EM ANIMAIS SOB CONDIÇÕES BASAIS E LIVRE MOVIMENTO (NÃO ESTRESSADOS)

Visto que o antagonismo dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA foi capaz de bloquear e atenuar a resposta hipertensiva evocada pelo estresse, respectivamente, realizamos os protocolos experimentais III e IV com o objetivo de avaliar se a administração de mepiramina e cimetidina era capaz de levar à hipotensão em animais em condições basais não estressados. Como a maior resposta anti-hipertensiva observada nos grupos experimentais I e II foi obtida após a administração da dose de 200 nmol em ambas as drogas antagonistas, nos experimentos com os grupos experimentais III e IV utilizamos apenas esta dosagem.

A figura 11 ilustra alteração do  $\Delta$ PAM (painel A) e do  $\Delta$ FC (painel B) em animais sob condições basais e em livre movimento que receberam microinjeção bilateral de mepiramina na dose de 200 nmol ou salina 0,9% no MeA. No painel A, análise de variância *two-way* para medidas repetidas da PAM indica que não há alteração significativa nas variáveis tempo [ $F(16,192) = 1,69$ ,  $p = 0,0513$ ], entre os tratamentos [ $F(1,192) = 1,90$ ,  $p = 0,1929$ ] e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(16,192) = 1,04$ ,  $p = 0,4122$ ]. A PAM basal nos ratos tratados com mepiramina foi de  $111 \pm 4$  mmHg e naqueles que receberam salina 0,9% foi de  $114 \pm 2$  mmHg. Não há alteração significativa no  $\Delta$ PAM dos animais após a administração de mepiramina quando comparados aos animais controles por todo o período experimental.

No painel B, a análise de variância *two-way* para medidas repetidas da FC indica que não há alteração significativa na variável tempo [ $F(16,192) = 0,4426$ ,  $p = 0,4426$ ], entre os tratamentos [ $F(1,192) = 1,98$ ,  $p = 0,1847$ ] e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(16,192) = 1,00$ ,  $p = 0,4619$ ]. A FC basal nos ratos tratados com mepiramina foi de  $364 \pm 23$  bpm e naqueles que receberam salina 0,9% foi de  $361 \pm 18$  bpm. Não houve alteração significativa no  $\Delta$ FC dos animais após a administração de mepiramina quando comparados aos animais controles por todo o período experimental.

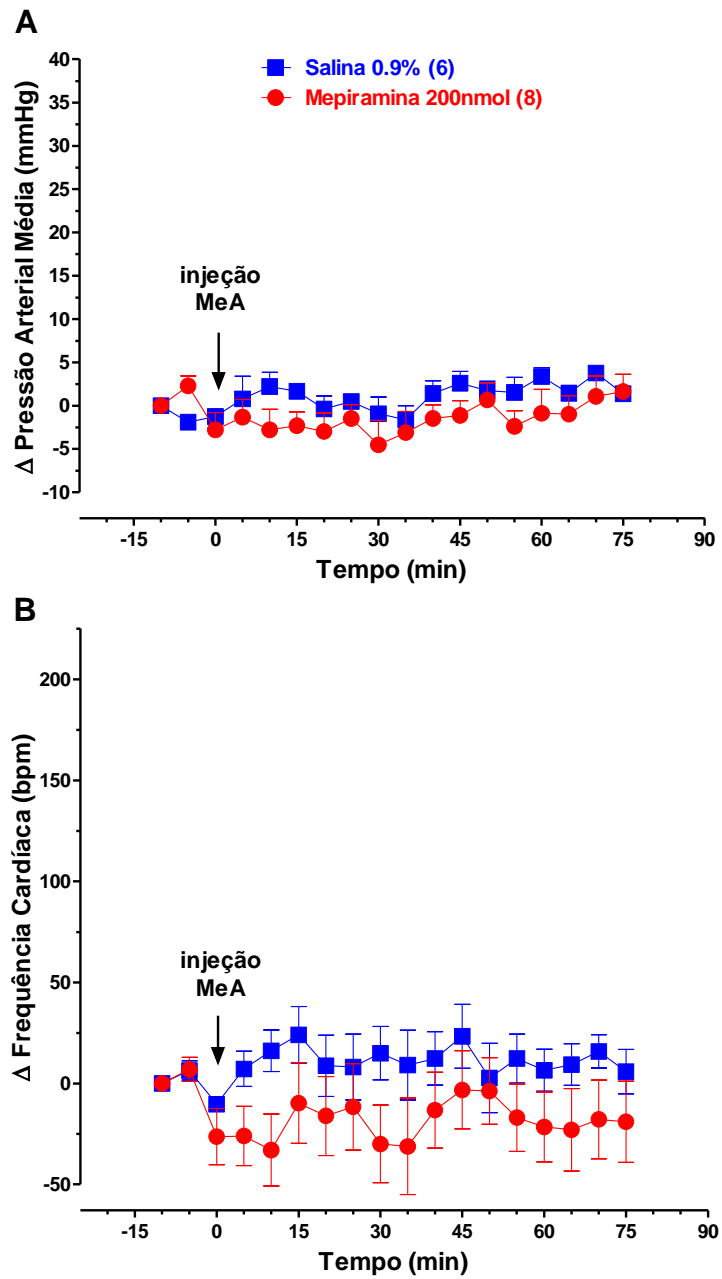


FIGURA 11. Alteração da PAM (A) e FC (B) após a administração bilateral de mepiramina no MeA em ratos não estressados. Os animais receberam a dose de 200 nmol (●; n=8) ou salina 0,9% (■; n=6) no MeA e foram mantidos em condições basais e em livre movimento durante todo o período experimental. Os dados estão apresentados como média±SEM. A ANOVA *two-way* não detectou significância estatística no ΔPAM e nem no ΔFC entre os dois grupos de tratamento.

A figura 12 ilustra alteração do  $\Delta$ PAM (painel A) e do  $\Delta$ FC (painel B) em animais sob condições basais e livre movimento que receberam microinjeção bilateral de cimetidina na dose de 200 nmol ou salina 0,9% no MeA. No painel A, a análise de variância *two-way* para medidas repetidas da PAM indica que não há alteração significativa nas variáveis tempo [ $F(16,176) = 1,68$ ,  $p = 0,0546$ ], entre os tratamentos [ $F(1,176) = 0,16$ ,  $p = 0,6941$ ] e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(16,176) = 0,79$ ,  $p = 0,6941$ ]. A PAM basal nos ratos tratados com cimetidina foi de  $110 \pm 4$  mmHg e naqueles tratados com salina 0,9% foi de  $106 \pm 3$  mmHg. Não houve alteração significativa no  $\Delta$ PAM dos animais após a administração de cimetidina quando comparados aos animais controles por todo o período experimental.

No painel B, a análise de variância *two-way para* medidas repetidas da FC indicou que não houve alteração significativa na variável tempo [ $F(16,176) = 1,42$ ,  $p = 0,1355$ ], entre os tratamentos [ $F(1,176) = 0,29$ ,  $p = 0,5983$ ] e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(16,176) = 0,7$ ,  $p = 0,7882$ ; respectivamente]. A FC basal nos ratos tratados com cimetidina foi de  $362 \pm 14$  bpm e nos animais controles (salina) foi de  $349 \pm 13$  bpm. Não houve alteração significativa no  $\Delta$ FC dos animais após a administração de cimetidina quando comparados aos animais controles por todo o período experimental.

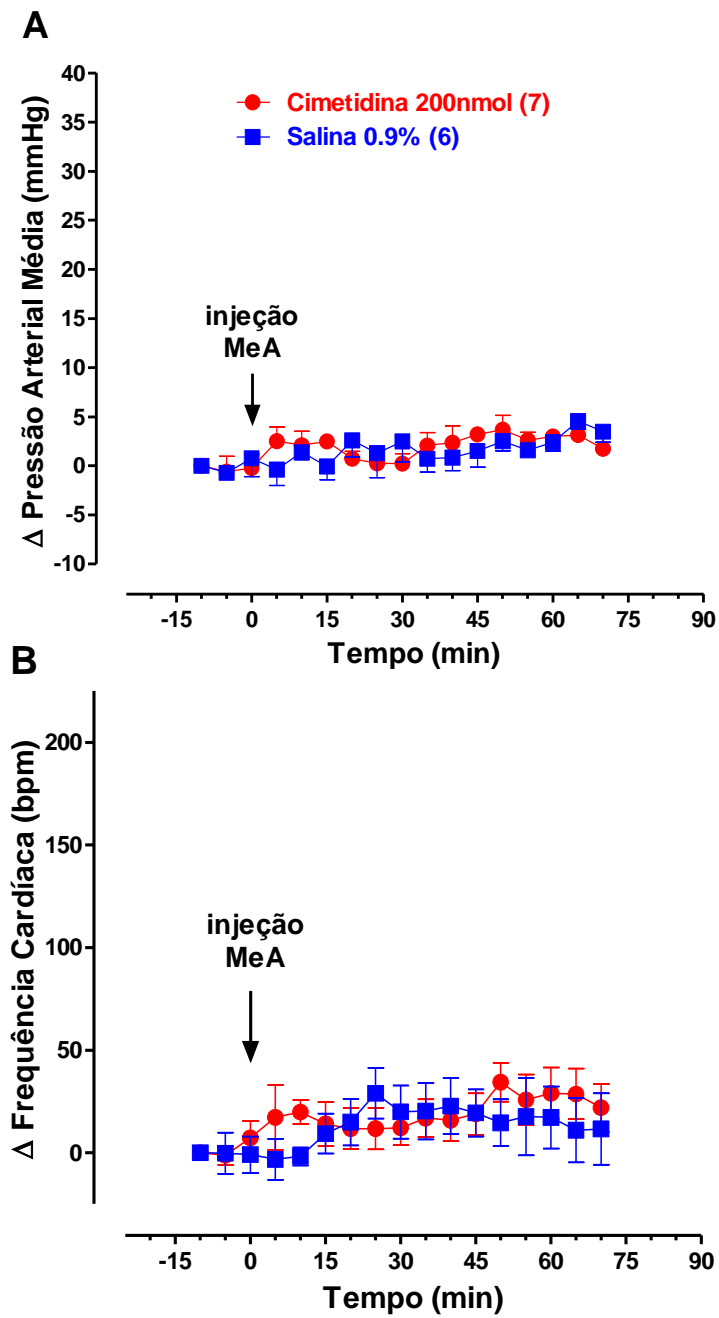


FIGURA 12: Alteração da PAM (A) e FC (B) após a administração bilateral de cimetidina no MeA em ratos não estressados. Os animais receberam a dose de 200 nmol (●; n=7) ou salina 0,9% (■; n=6) no MeA e foram mantidos em condições basais e em livre movimento durante todo o período experimental. Os dados estão apresentados como média $\pm$ SEM. A ANOVA *two-way* não detectou significância estatística no  $\Delta$ PAM e nem no  $\Delta$ FC entre os dois grupos de tratamento.

## 6.6 EFEITO NA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA E FREQUÊNCIA CARDÍACA APÓS MICROINJEÇÃO DE MEPIRAMINA E CIMETIDINA EM ÁREAS CIRCUNVIZINHAS AO MeA EM RATOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE DE RESTRIÇÃO

No intuito de verificar se o efeito anti-hipertensivo da mepiramina e da cimetidina era devido ao bloqueio dos receptores histaminérgicos  $H_1$  e  $H_2$  presentes no MeA, fizemos a análise dos registros da PAP dos animais cujas microinjeções atingiram áreas circunvinhas ao MeA, tais quais globo palido medial (MGP), núcleo basomedial da amígdala (BMA), núcleo cortical da amígdala (CoA) e hipotálamo lateral (LH). Além do  $\Delta$ PAM, também analisamos se as microinjeções das referidas drogas nestas áreas eram capazes de promover alteração no  $\Delta$ FC evocado pelo estresse de restrição.

A tabela 3 sumariza o efeito da microinjeção de mepiramina e cimetidina na dose de 200 nmol no  $\Delta$ PAM e no  $\Delta$ FC em áreas circunvizinhas ao MeA (MGP, BMA, CoA e LH) de animais submetidos ao estresse de restrição. Os tempos de 5, 25 e 45 min representam o período de estresse. A administração de 200 nmol de mepiramina ou cimetidina em áreas circunvizinhas ao MeA foi ineficaz em alterar a resposta hipertensiva e taquicárdica evocada pelo estresse de restrição. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da PAM indica que há alteração significativa ao longo do tempo entre o  $\Delta$ PAM no período basal e o  $\Delta$ PAM durante o estresse [ $F(16,256) = 64,04$ ;  $p < 0.0001$ ], entretando, não há alteração significativa entre os tratamentos [ $F(2,256) = 0,80$ ,  $p = 0,4650$ ], e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(32,256) = 1,25$ ,  $p = 0,1756$ ]. A PAM basal dos animais tratados com salina 0,9% foi de  $109 \pm 2$  mmHg; a dos animais tratados com mepiramina 200 nmol foi de  $107 \pm 5$  mmHg e a dos animais tratados com cimetidina 200 nmol foi de  $106 \pm 2$  mmHg. A análise de variância *two-way* para medidas repetidas da FC indicou que há alteração significativa ao longo do tempo entre o  $\Delta$ FC basal e o  $\Delta$ FC durante o estresse [ $F(16,256) = 76,86$ ;  $p < 0.0001$ ], entretando, não há alteração significativa entre os tratamentos [ $F(2,256) = 0,03$ ,  $p = 0,9725$ ], e nem na interação entre tempo e tratamento [ $F(32,256) = 0,64$ ,  $p = 0,9359$ ]. A FC basal dos animais tratados com salina 0,9% foi de  $340 \pm 9$  bpm; a dos animais tratados com mepiramina foi de  $344 \pm 10$  bpm, e a dos tratados com cimetidina foi de  $329 \pm 6$  bpm.

TABELA 3. Efeito da microinjeção de mepiramina e cimetidina na dose de 200 nmol ou salina 0,9% na PAM e na FC em áreas circunvizinhas ao MeA (MGP, BMA, CoA e LH) em animais submetidos ao estresse de restrição.

DROGAS	PARÂMETRO	VALOR BASAL  -20 min	PERÍODO EXPERIMENTAL $\Delta$ PAM (mmHg) e $\Delta$ FC (bpm)			
			microinjeção 0 min	estresse		
			5 min	25 min	45 min	
<i>Salina 0,9%</i> <i>n=8</i>	PAM (mmHg)	109 ± 2	5 ± 3	26 ± 3	23 ± 1	23 ± 3
	FC (bpm)	340 ± 9	-1 ± 4	135 ± 23	141 ± 16	137 ± 15
<i>Mepiramina</i> <i>200nmol</i> <i>n=5</i>	PAM (mmHg)	107 ± 5	6 ± 6	27 ± 3	19 ± 1	21 ± 3
	FC (bpm)	344 ± 10	2 ± 13	164 ± 16	137 ± 16	119 ± 14
<i>Cimetidina</i> <i>200 nmol</i> <i>n=6</i>	PAM (mmHg)	106 ± 2	3 ± 2	20 ± 2	17 ± 3	21 ± 3
	FC (bpm)	329 ± 6	15 ± 11	183 ± 12	132 ± 11	123 ± 12

Dados estão apresentados como média±EPM. Os valores basais da PAM e FC estão expressos em números absolutos e após as microinjeções os valores estão expressos em  $\Delta$ PAM e  $\Delta$ FC. Entre parênteses encontra-se o número de animais utilizados para cada tratamento. O teste estatístico realizado foi o ANOVA *two-way*, que não detectou diferença estatística significativa entre os tratamentos.

## 7 DISCUSSÃO

No presente estudo, demonstrou-se que a administração de mepiramina, antagonista dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub>, bloqueou a resposta hipertensiva ao estresse de forma dose-dependente, enquanto que o efeito anti-hipertensivo da cimetidina, antagonista dos receptores H<sub>2</sub>, foi menos intenso. Entretanto, a resposta taquicárdica ao estresse não foi alterada pelo bloqueio de ambos os receptores histaminérgicos. Além disto, verificou-se também que o bloqueio dos receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> foi incapaz de modificar a PA e a FC em animais sob condições basais e em livre movimento.

O estresse emocional envolve a percepção pelo indivíduo de ameaças reais ou potenciais à sua sobrevivência, enquanto que o estresse físico pode por em risco a sobrevivência do organismo sem envolver os aspectos cognitivos (VAN DE KAR; BLAIR 1999). O estresse de restrição de movimentos tem sido um dos paradigmas utilizados em laboratório para simular em ratos o estresse emocional de humanos. Apesar do componente físico, a restrição tem um componente emocional, desde que na biologia do animal, a restrição de movimentos pode levar a predação e a impossibilidade de obtenção de água e alimento (BUYNITSKY; MOSTOFISKY, 2009).

O MeA tem sido identificado como um componente importante do circuito neural envolvido na integração entre os estímulos estressores externos, que levam à ansiedade, medo e aversão, com as respostas comportamentais, autonômicas e endócrinas a estes estímulos (CANTERAS et al, 2010; DIELEMBERG; HUNT; MCGREGOR, 2001). Respostas autonômicas como aumento de atividade simpática e respostas neuroendócrinas, com ativação do eixo HPA e liberação de vasopressina e ocitocina, têm sido relacionadas com ativação neuronal do MeA. (DAVERN et al, 2009; DAYAS; BULLER; DAY, 1999; FELDMAN, CONFORTI; WEIDENFELD, 1995; FELDMAN; CONFORTI; SAPHIER, 1990; TOMAS, 1975). De fato, verifica-se aumento de expressão nuclear de c-fos e RNAm da enzima óxido nítrico sintase neuronal e de neurotransmissores, como a substância P, no MeA, em animais submetidos a situações de estresse (DAYAS; BULLER; DAY, 1999; DE OLIVEIRA et al, 2000; EBNER et al, 2004; KRUKOFF; KHALILI, 1997; KUBO et al, 2004).

Dayas e cols (1999) demonstraram que a intensa ativação dos núcleos PVN e SON em animais submetidos ao estresse emocional, depende da integridade do MeA. Posteriormente, observou-se que o cérebro é capaz de categorizar os diferentes estressores através da ativação seletiva de circuitos neurais: o MeA parece ser um destes circuitos a desencadear respostas



adaptativas frente ao estresse emocional (barulho, restrição e nado forçado), enquanto o CeA desencadeia respostas frente ao estresse físico (hemorragia e infecção) (DAYAS et al, 2001; HERMAN et al, 2005). Confirmando a capacidade de categorização dos agentes estressores pelo cérebro, Lin e cols (2011) demonstraram o papel inibitório do MeA no comportamento reprodutor frente a situação de estresse emocional, enquanto o CeA inibe este comportamento frente ao estresse físico.

Devido a importância do MeA nas respostas autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais ao estresse, esta foi a área de escolha para o presente estudo. Além disto, foi demonstrado que o MeA é o núcleo do complexo amigdalóide que recebe maior projeções de fibras histaminérgicas oriundas do TMN e possui maior densidade de receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> (PANULA et al, 1989; BROWN; STEVENS; HAAS, 2001). Estudos sugerem que a ativação do sistema histaminérgico está associada a estímulos aversivos, ou que potencialmente ponham em risco a homeostase circulatória (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; JOCHEM, 2004). Em adição, foi observada liberação de histamina em diversas situações de estresse, sendo o estresse de restrição o mais potente ativador de neurônios histaminérgicos no TMN, seguido do estresse metabólico (HASS; SERGEEVA; SELBACH 2008; MIKLÓS; KOVÁCS, 2003). Apesar disso, o papel dos receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA sobre o controle das funções cardiovasculares em situações de estresse não havia sido demonstrado até o presente estudo.

Verificamos que a administração de mepiramina, antagonista dos receptores H<sub>1</sub>, na dose de 200 nmol levou ao bloqueio quase completo da resposta hipertensiva ao estresse. Os animais tratados com mepiramina na dose de 100 nmol também apresentaram redução na resposta hipertensiva ao estresse, porém menos pronunciada em relação aos animais que receberam mepiramina na dose de 200 nmol. Por fim, a dose de 50 nmol foi inefetiva em bloquear esta resposta. Assim, a mepiramina reduziu de forma dose-dependente a resposta hipertensora evocada pelo estresse de restrição. Por outro lado, a administração de cimetidina, antagonista dos receptores H<sub>2</sub>, na dose de 200 nmol atenuou a resposta hipertensora ao estresse, enquanto que a dose de 100 nmol foi ineficaz em alterar esta resposta, sugerindo que a cimetidina seja menos eficaz do que a mepiramina em inibir a resposta hipertensiva ao estresse.

Além de possuir conexões com os outros núcleos amigdaloides, o MeA apresenta conexões diretas e indiretas com diversas áreas que participam da modulação cardiovascular tais como o BST, a área septal, áreas hipotalâmicas (em especial o PVN, MPOA e AHA) o PAG e o RVLM (CANTERAS, 1995; DONG; PETROVICH; SWANSON, 2001; EBNER et

al, 2004; HAGIWARA et al, 2005; SAH et al, 2003). As conexões do MeA com a AHA parecem participar da resposta pressora induzida pelo estresse de restrição através da ativação de receptores angiotensinérgicos do tipo AT<sub>1</sub> (HAGIWARA et al, 2005) e também podem contribuir com o desenvolvimento da hipertensão em SHR (FUKUMORI et al, 2004). Sendo o RVLm o principal centro regulador da atividade simpática vasomotora, as conexões do MeA com o RVLm, via indireta pelo AHA e, especialmente, pelo PVN, podem ser o principal circuito neural que leva ao aumento da PA oriundo da ativação neuronal do MeA (KUBO et al 2001; TAGAWA; DAMPNEY, 1999). Além do RVLm, o PAG é outro núcleo presente no tronco encefálico capaz de modular a função cardiovascular (DAMPNEY, 2004, VILLELA; SILVA JUNIOR; FONTES, 2009), e uma vez demonstrado que conexões entre MeA e a PAG dorsolateral estão envolvidas com a ansiogênese (DE OLIVEIRA et al, 2000), podemos questionar se o PAG também poderia fazer parte do circuito neural envolvido na resposta cardiovascular frente a situações de estresse oriunda da ativação neuronal do MeA. Já as respostas neuroendócrinas promovidas pela ativação do eixo HPA em situações de estresse emocional parecem depender das conexões do MeA com a MPOA (FELDMAN; CONFORTI; SAPHIER, 1990; FREEDMAN; SHI, 2001; LIN et al, 2011). De fato, há ativação neuronal do MeA, área septal, DMH, AHA, PVN, PAG, e rafe, após submeter ratos a estresse emocional (restrição e nado forçado) (CULLINAN et al, 1995). Assim, conexões do MeA com estas áreas e as evidências de atividade neuronal frente a situações aversivas indicam que este núcleo tem grande importância tanto na modulação da atividade simpática vasomotora, quanto na secreção de hormônios hipotalâmicos e adrenais, como a vasopressina, catecolaminas e corticóides, que contribuem com as respostas fisiológicas adaptativas ao estresse.

As vias histaminérgicas centrais, além de participar de funções neuroendócrinas e cognitivas (HAAS; SERGEEVA; SELBACH, 2008; KÖHLER, 2011), também parecem participar da modulação da atividade funcional do sistema cardiovascular. Dados da literatura demonstraram que a histamina, quando injetada nos ventrículos cerebrais de ratos não anestesiados, promove intensa hipertensão, bradicardia e aumento de atividade simpática dos leitos vasculares renal, ilíaco e mesentéricos (POULAKOS; GERTNER, 1989; KLEIN; GERTNER, 1981; RAO; DUNBAR, 2005). Além disto, microinjeções i.c.v. de clorfeniramina (CHL) e mepiramina, antagonistas dos receptores H<sub>1</sub>, bloquearam a resposta pressora à histamina em ratos e gatos (BEALER, 1999; FINCH; HICKS, 1976; POULAKOS; GERTNER, 1989) e a atividade simpática dos leitos vasculares ilíaco, renal e mesentérico em ratos (RAO; DUNBAR, 2005). Estudos em áreas cerebrais específicas mostraram que

microinjeções de histamina no PVN, na AHA, na PHA e no NTS promovem resposta pressora em ratos (BEALER; ABELL, 1995; BHUIYAN et al, 2011; FINCH; HICKS, 1977) e que o pré-tratamento com antagonistas dos receptores H<sub>1</sub> foi capaz de impedir estas respostas. Nestes estudos, demonstrou-se consistentemente a participação dos receptores H<sub>1</sub> na modulação das respostas cardiovasculares. O presente estudo condiz com os dados prévios da literatura, visto que a administração no MeA de mepiramina, antagonista do receptor H<sub>1</sub>, mostrou potente efeito inibidor da resposta hipertensiva ao estresse.

A participação dos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>2</sub> na modulação das respostas cardiovasculares da histamina também já foi demonstrada em estudos anteriores, os quais verificaram que a injeção i.c.v. de impromidina (agonista dos receptores H<sub>2</sub>) produz efeito semelhante ao da injeção de agonista H<sub>1</sub>: hipertensão e bradicardia (POULAKOS; GERTNER, 1989). Entretanto, em algumas regiões rombencefálicas, a microinjeção de histamina promove resposta hipotensiva e bradicárdica, que parece ser mediada pela estimulação dos receptores H<sub>2</sub>. O bloqueio dos receptores H<sub>2</sub> no RVLm, sítio importante na ativação simpática cardiovascular, inibe a hipotensão e bradicardia evocada pela microinjeção de histamina nesta área, enquanto que o antagonismo dos receptores H<sub>1</sub> não exerce qualquer efeito (GRANATA; REIS, 1987). O presente estudo corrobora com a hipótese de que as vias histaminérgicas centrais modulam as respostas cardiovasculares frente a desafios. Nossos resultados mostraram que a microinjeção bilateral de cimetidina no MeA atenuou a hipertensão induzida pelo estresse apenas na maior dose utilizada. Ao compararmos o efeito inibitório da mepiramina e cimetidina em doses equimolares sobre a hipertensão evocada pelo estresse de restrição, observamos que a mepiramina promoveu bloqueio mais potente do que a cimetidina. Enquanto a dose de 200 nmol de mepiramina promoveu bloqueio quase total da resposta hipertensiva ao estresse, a mesma dose de cimetidina apenas atenuou esta resposta. Na dose de 100 nmol, a mepiramina bloqueou parcialmente a resposta pressora dos animais submetidos ao estresse, e a mesma dose de cimetidina foi ineficaz em promover qualquer alteração neste parâmetro. O fato de que o MeA possui maior densidade de receptores H<sub>1</sub> do que de receptores H<sub>2</sub> (BROWN; STEVENS; HAAS, 2001; KARLSTEDT et al 2001; PALACIOS; WAMSLEY; KUCHAR, 1981; VIZUETE et al, 1997) poderia explicar a diferença na potência das respostas antihipertensivas destes dois antagonistas observada aqui.

Dados prévios da literatura mostraram que a microinjeção de histamina e antagonistas dos receptores H<sub>3</sub> no subnúcleo MeApd promove aumento de atividade simpática e do balanço simpato-vagal em animais sob condições basais, verificado através de análise espectral da variabilidade da PA e FC. A histamina no MeApd parece reduzir a sensibilidade

do barorreflexo, uma vez que desloca a curva de estimulação dos barorreceptores para níveis pressóricos mais elevados (QUAGLIOTTO et al, 2008). Este estudo, no entanto, não verificou a participação dos receptores tipo  $H_1$  e  $H_2$  nesta resposta. Nossos dados demonstram que os receptores histaminérgicos do tipo  $H_1$  e  $H_2$  presentes no MeA têm atividade funcional, modulando a resposta pressórica frente a desafios, como o estresse de restrição.

Quanto à frequência cardíaca, o efeito da histamina central se mostra mais complexo e com padrão de resposta variável, podendo levar à taquicardia, bradicardia ou sem efeito, a depender da espécie estudada e do uso de anestésicos (FINCH; HICKS, 1976 e 1977; JOCHEM, 2004; POULAKOS; GERTNER, 1989; TRENDELEMBURG, 1957). O presente trabalho não detectou alteração significativa da FC após a administração de ambos os antagonistas, mepiramina e cimetidina, em qualquer dose administrada no MeA. Os achados condizem com trabalhos anteriores da literatura, os quais não encontraram qualquer alteração significativa na FC após a administração i.c.v. e no RVLm de diferentes antagonistas dos receptores  $H_1$  (mepiramina e CHL) em ratos tanto acordados quanto anestesiados (GRANATA; REIS, 1987; POULAKOS; GERTNER, 1989). O MeA parece ter conexões com áreas responsáveis pela modulação da função cardíaca, desde que o bloqueio inespecífico da atividade neuronal com  $CoCl_2$  e o bloqueio seletivo dos receptores muscarínicos no MeA provocam taquicardia mais exacerbada ao estresse de restrição, quando comparada aos animais controles (FORTALEZA; TAVARES; CORRÊA, 2009). Este dado sugere que as vias colinérgicas no MeA parecem contribuir para a modulação inibitória da resposta taquicárdica ao estresse. Por outro lado, as vias histaminérgicas no MeA não parecem participar da resposta de taquicardia ao estresse, desde que os resultados do presente estudo mostram que tanto o bloqueio dos receptores  $H_1$ , quanto o bloqueio dos receptores  $H_2$  no MeA, não modificam este parâmetro cardiovascular ao estresse.

Tendo em vista dados da literatura mostrando que a administração central de histamina resulta em hipertensão (BEALER, 1999; KLEIN; GERTNER, 1981; JOCHEM, 2004; POULAKOS; GERTNER, 1989; TRENDELEMBURG, 1957) e os resultados do presente estudo que demonstraram redução da resposta hipertensiva ao estresse após o bloqueio dos receptores  $H_1$  e  $H_2$  no MeA, decidimos investigar se, em condições basais (não-estresse), o bloqueio destes receptores promoveria alteração na PA, como a hipotensão. Como não encontramos qualquer alteração significativa na PA e na FC, após a microinjeção dos antagonistas  $H_1$  e  $H_2$  (mepiramina e cimetidina, respectivamente) no MeA em animais sob condições basais e em livre movimento, supomos que nesta área, a histamina não seja liberada de forma tônica com função modulatória cardiovascular, sendo liberada apenas em situações

de desafio e/ou estresse. Dessa forma, nossos dados sugerem que as vias histaminérgicas do MeA parecem não participar do controle cardiovascular no estado basal.

É possível que a histamina, liberada em situação de estresse, ative o MeA e, como consequência, sinais são enviados via estria terminal para BST, MPOA, AHA para finalmente chegar no PVN. Uma vez ativado, o PVN libera AVP, que pode agir como vasconstritor, e libera CRH ativando o eixo HPA. Além disso, PVN envia sinais para RVLm, aumentando a atividade simpática vascular, e também estimula a medula das glândulas adrenais a liberarem catecolaminas no sangue, obtendo o efeito geral de aumento da PA. Assim, as vias histaminérgicas do MeA podem ativar o circuito simpato-excitatório e modular a hipertensão induzida pelo estresse.

O DMH é outro núcleo hipotalâmico conhecido por ser o centro integrador cardiovascular do hipotálamo em situação de estresse (DIMICCO et al, 2002). Já foi demonstrado conexões do MeA com o DMH (CANTERAS et al, 1995), podendo este fazer parte da via eferente do MeA para desencadear a hipertensão típica do estresse. A ausência de influência dos receptores histaminérgicos presentes no MeA sobre a FC pode ser explicada pela existência de vias neuronais diferentes e independentes para o controle da FC para o controle da PA (POULAKOS; GERTNER, 1989; DAMPNEY et al, 2002). Pesquisadores sugerem que o DMH medeia as respostas pressora e taquicárdica no estresse por ativação diferenciada de núcleos do tronco cerebral: conexões do DMH com RVLm medeiam as respostas hipertensivas, enquanto que as conexões com a rafe palidus (RPa) medeiam as respostas taquicárdicas (DIMICCO et al, 2006; SAMUELS; ZARETSKY; DIMICCO, 2002). É provável que as vias histaminérgicas no MeA não estejam envolvidas com a ativação do circuito DMH-RPa-coração, mas sim com o circuito DMH-RVLm-vasos sanguíneos. Isto explicaria o bloqueio da resposta hipertensiva sem alterar a taquicardia evocada pelo estresse após a microinjeção dos antagonistas dos receptores  $H_1$  e  $H_2$  em nosso estudo.

Estudos prévios sobre o controle central das funções cardiovasculares em ratos acordados e anestesiados, já sugeriram função neuromoduladora da histamina influenciando a liberação de outros neurotransmissores, tais quais serotonina (JOCHM et al, 2007, 2008), angiotensina (JOCHM et al, 2006), acetilcolina (PRAST et al, 1999; YALCIN; JOCHM, 2009), opióides (JOCHM; ZWIRSKA-KORCZALA, 2004) e prostanóides (SHIMIZU et al, 2006). É pouco provável que os efeitos encontrados após bloqueio dos receptores histaminérgicos seja devido à alguma influência nas vias colinérgicas no MeA, desde que já foi observado previamente que a ativação de receptores colinérgicos neste núcleo evoca um padrão de resposta diferente do encontrado no presente estudo (FORTALEZA; TAVARES;

CORRÊA, 2009). No entanto, pode-se considerar a hipótese de que há liberação da noradrenalina (NE) e que esta medeia os efeitos cardiovasculares induzidos pela histamina em situação de estresse. Demonstrou-se a interação entre histamina e NE no SNC, mostrando, inclusive, que a histamina, via receptores  $H_1$  e  $H_2$ , promove liberação de NE (BEALER; CROWLEY, 1999; JOCHEM; IRMAN-FLORJANC; ZWIRSKA-KORCZALA, 2007; NOWAK et al, 1978). O MeA possui receptores adrenérgicos que, quando ativados, aumentam a PA por ação plasmática da vasopressina (FORTALEZA, SCOPINHO; CORRÊA, 2011).

Dessa forma, é possível que os receptores  $H_1$  e  $H_2$  presentes no MeA contribuam com hipertensão ao estresse de restrição por ativação de células do PVN, podendo levar à liberação de vasopressina na circulação. É possível também que ocorra ativação do componente simpático do RVLm, através de conexões indiretas do MeA via PVN e/ou DMH, visto que a hipertensão evocada pelo estresse é uma resposta imediata, predominantemente simpática. A figura 13 representa um desenho esquemático das possíveis conexões do MeA com áreas hipotalâmicas e rombencefálicas para a modulação cardiovascular ao estresse de restrição. Vale ressaltar que essa modulação cardiovascular parece ser, de fato, específica dos receptores  $H_1$  e  $H_2$  presentes no MeA, visto que, no presente estudo, a administração dos antagonistas mepiramina e cimetidina em áreas circunvizinhas ao MeA não promoveu qualquer alteração na resposta pressora ou taquicárdica típicas ao estresse.

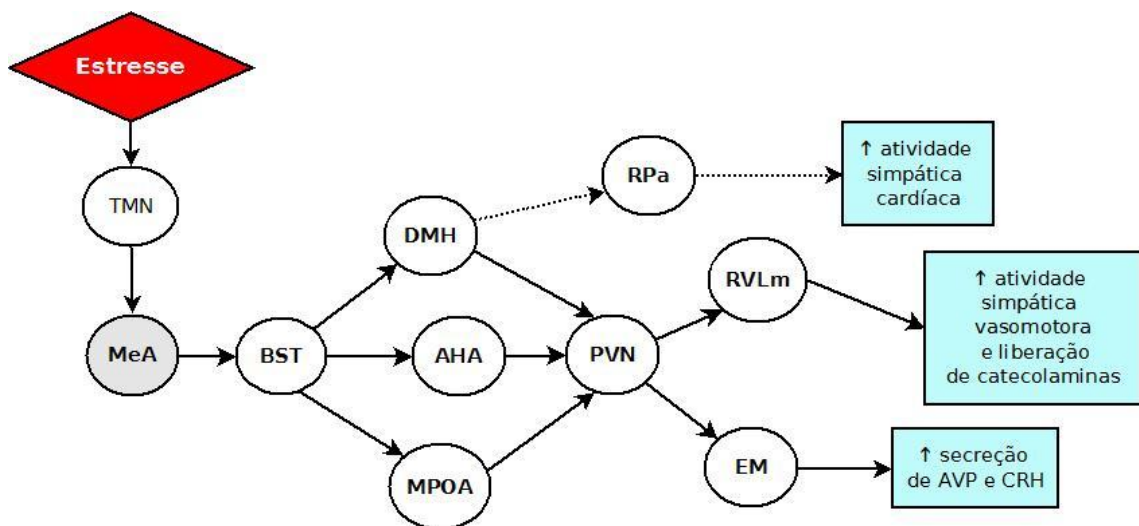


FIGURA 13. Diagrama esquemático indicando as possíveis conexões do MeA com áreas importantes no controle cardiovascular responsáveis pela resposta hipertensiva ao estresse emocional. A seta contínua representa o circuito neural possivelmente ativado pelos receptores histaminérgicos  $H_1$  e  $H_2$  durante o estresse de restrição. A seta pontilhada representa o circuito neural ativado independente da ativação destes receptores presentes no MeA. Legenda: *AHA*: área hipotalâmica anterior; *AVP*: vasopressina; *BST*: núcleo do leito da estria terminal; *CRH*: fator de liberação de corticotrofinas, *DMH*: núcleo dorsomedial do hipotálamo; *EM*: eminência média; *MeA*: núcleo medial da amígdala; *MPOA*: área pré-óptica medial; *PVN*: núcleo paraventricular do hipotálamo; *RPa*: rafe pálfida; *RVLm*: núcleo rostroventrolateral do bulbo.

Mais estudos são necessários para se elucidar o mecanismo periférico da inibição da resposta pressora causada pelo bloqueio histaminérgico no MeA. Estudos futuros com dosagem de hormônios, tais quais a vasopressina e catecolaminas plasmáticas, além de estudos com marcação de proteína FOS no cérebro, pode esclarecer o mecanismo periférico do bloqueio da resposta hipertensiva e as áreas envolvidas nessa resposta após a microinjeção dos antagonistas histaminérgicos mepiramina e cimetidina no MeA.

Drogas antihistamínicas são usadas na clínica médica no tratamento de processos alérgicos (antagonistas dos receptores  $H_1$ ) e no tratamento de distúrbios gastrointestinais (antagonista dos receptores  $H_2$ ) (VAN SCHOOR, 2008). Muitas drogas antihistamínicas são capazes de atravessar a barreira hemato-encefálica. Além disto, alguns medicamentos utilizados no tratamento de distúrbios psicológicos, tais como insônia, esquizofrenia, epilepsia e ansiedade, possuem fármacos com propriedades antihistamínicas em sua composição (STAHL, 2008). Dessa forma, nossos dados podem contribuir com informações adicionais sobre efeitos dessas drogas em outros sistemas do organismo, especialmente em relação ao antagonismo dos receptores  $H_2$ , que são menos conhecidos do que os dos receptores  $H_1$ . Observamos que a resposta adaptativa de aumento da pressão arterial frente a situação de estresse agudo é prejudicada quando os antihistamínicos mepiramina e cimetidina foram administrados no MeA. Entretanto, este efeito anti-hipertensivo pode ser benéfico em situações de estresse crônico, podendo ser útil no tratamento da hipertensão arterial. Para confirmação desta hipótese, novos experimentos com protocolos experimentais adequados e outra linhagem de ratos são necessários.

Em síntese, estudos anteriores já demonstraram a participação do MeA nas respostas frente ao estresse, como a ativação do eixo HPA e no aumento da pressão arterial (FELDMAN; CONFORTI; SAPHIER, 1990; KUBO et al, 2004). No entanto, a identificação dos neurotransmissores envolvidos nesta resposta ainda não está elucidada. Nossos dados vem a contribuir na demonstração de que as vias histaminérgicas fazem parte das sinapses excitatórias para o MeA, participando do circuito envolvido com a resposta hipertensiva do organismo à situações de estresse.

## 8 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

- **Quais áreas cerebrais estão ou não ativadas após a administração dos antagonistas H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA que possam ter promovido a alteração da hipertensão evocada pelo estresse de restrição?**

Estudos utilizando a técnica de imunohistoquímica para marcação do gene *c-fos* podem indicar as áreas cerebrais que participem ou não do circuito que modula a função cardiovascular das vias histaminérgicas do MeA em condições de estresse. Dessa forma, ficaria esclarecido a rede neural pela qual as vias histaminérgicas do MeA promovem a resposta hipertensiva ao estresse.

- **De que forma os receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> no MeA contribuem para o aumento da pressão arterial em situação de estresse?**

Visto que o MeA e que as vias histaminérgicas podem estimular o eixo HPA em situação de estresse (BEALER, 1999; BEALER; ABELL, 1995; FELDMAN; CONFORTI; SAPHIER, 1990; FORTALEZA, SCOPINHO; CORRÊA, 2011; NISHIBORI et al, 1990) e que nos nossos estudos verificamos redução da resposta hipertensiva nos animais submetidos ao estresse que receberam microinjeções no MeA de antagonistas dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub>, poderíamos investigar se ocorre alterações plasmáticas nos níveis de catecolaminas, angiotensina II e vasopressina, uma vez que estes neuro-hormônios são capazes de promover aumento da PA e são liberados no sangue em situações aversivas e estressantes.

- **O bloqueio da resposta hipertensiva ao estresse após microinjeção de mepiramina e cimetidina se dá pelo antagonismo dos receptores H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> presentes nos neurônios do MeA ou inibe a liberação de outro neurotransmissor que medeia este aumento de pressão?**

Dados da literatura demonstram que 1) há liberação de histamina em diversas áreas encefálicas em situações de estresse (HAAS; SERGEEVA; SEBACH, 2008; ITO, 2000; MIKLOS; KOVACS, 2003); 2) em outras regiões prosencefálicas, como no PVN, a histamina estimula a liberação de nor-adrenalina (BEALER; CROWLEY, 1999); e 3) a ativação de



receptores adrenérgicos no MeA promove aumento de PA (FORTALEZA, SCOPINHO; CORRÊA, 2011). Dessa forma, surgiu a hipótese de que frente ao estresse, as vias histaminérgicas ao nível do MeA poderiam influenciar a liberação de NE, que, por sua vez, ativa os receptores adrenérgicos presentes nos corpos neuronais do MeA, provocando a hipertensão. Para investigar esta hipótese, realizaríamos estudos com duplo tratamento utilizando antagonistas dos receptores adrenérgicos e agonistas dos receptores histaminérgicos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> para observar as alterações na PA e FC de ratos, tanto em situações de estresse, como em condições basais (não-estresse).

- **Qual a influência dos receptores histaminérgicos no MeA sobre o barorreflexo?**

Com base em estudos prévios que demonstraram alteração da sensibilidade barorreflexa após administração de histamina e de antagonista dos receptores H<sub>3</sub> no MeA (QUAGLIOTTO et al, 2008) e como no presente estudo não obtivemos alterações da FC após a administração dos antagonistas H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub>, podemos investigar se a atividade histaminérgica, através destes receptores no MeA, altere a resposta barorreflexa.

## 9 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que as vias histaminérgicas presentes no MeA parecem estar envolvidas com a resposta hipertensiva frente a situações de estresse emocional, e esta resposta parece ser preferencialmente via receptores H<sub>1</sub>. Além disto, as vias histaminérgicas do MeA não parecem exercer modulação tônica no controle cardiovascular basal, visto que, tanto o bloqueio dos receptores H<sub>1</sub> quanto dos receptores H<sub>2</sub> não promoveu qualquer efeito na PA ou na FC em ratos sob condições basais e em livre movimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCORSI-MENDONÇA, D.; ALMADO, C.E.L.; FERNANDES, L.G.; MACHADO, B.H. Controle Neural da Circulação e Hipertensão Arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, n. 4, p. 235-241, 2005.
- AKINS, V.F.; BEALER, S.L. Central Nervous System Histamine Regulates Peripheral Sympathetic Activity. **American Journal of Physiology**, v. 260, p. H218-H224, 1991.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M. ROBERTS, K.; WALTER, P. Tráfego Intracelular de Vesículas. **Biologia Molecular da Célula**, 4 ed, cap. 13. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 711-767.
- ALVES, F.H.F.; CRESTANI, C.C.; RESSTEL, L.B.M.; CÔRREA, F.M.A. Cardiovascular Effects of Carbachol Microinjected into the Bed Nucleus of Stria Terminalis of the Rat Brain. **Brain Research**, v. 1143, p. 161-168, 2007.
- BANANEJ, M.; KARIMI-SORI, A.; ZARRINDAST, M.R.; AHMADI, S. D1 and D2 dopaminergic systems in the rat basolateral amygdale are involved in anxiogenic-like effects induced by histamine. **Journal of Psychofarmacology**, v. 0, n. 0, p. 1-11, 2011.
- BEALER, S.L. Central Neuronal Histamine Contributes to Cardiovascular Regulation. **News in Physiological Sciences**, v. 14, p. 100-105, 1999.
- BEALER, S.L.; ABELL, S.O. Paraventricular nucleus histamine increases blood pressure by adrenoreceptor stimulation of vasopressine release. **America Journal Physiology – Heart Circulation Physiology**, v. 269, n. 38, p. H80-H85, 1995.
- BEALER, S.L.; CROWLEY, W.R. Stimulation of Central and Systemic Oxytocin Release by Histamine in the Paraventricular Hypothalamic Nucleus: evidence for an interaction with norepinephrine. **Endocrinology**, v. 140, n. 3, p. 1158-1164, 1999.
- BEN-ARI, Y; LE GAL LA SALLE, G; BARBIN, G; SCHWARTZ JC; GARBARG, M. Histamine synthesizing afferents within the amygdaloid complex and bed nucleus of the stria terminalis of the rat. **Brain Research**, v. 138, p. 285-294, 1977.
- BHUYIAN, M.E.; WAKI, H.; GOURAUD, S.S.; TAKAGASHI, M. KOHSAKA, A.; MAEDA, M. Histamine receptor H<sub>1</sub> in the nucleus tractus solitarii regulates arterial pressure and heart rate in rats. **American Journal Physiology – Heart Circulation Physiology**, v.301, p. H523-H529, 2011.
- BRISTOW, L.J.; BENNETT, G.W. Biphasic Effects of Intra-accumbens Histamine Administration on Spontaneous Motor Activity in the Rat: a role for central histamine receptors. **Brasilian Journal of Pharmacology**, v. 95, p. 1292-1302, 1988.
- BROWN, R.E.; STEVENS, D.R.; HAAS, H.L. The Physiology of Brains Histamine. **Progress in Neurobiology**, v. 63, n. 6, p. 637-672, 2001.

- BUSNARDO, C.; TAVARES, R.F.; RESSTEL, L.B.M.; ELIAS, L.L.K.; CORRÊA, F.M.A. Paraventricular Nucleus Modulates Autonomic and Neuroendocrine Responses to Acute Restraint Stress in Rats. **Autonomic Neuroscience, Basic and Clinical**, v. 158, p. 51-57, 2010.
- BUYNITSKY, T.; MOSTOFSKY, D.I. Restraint Stress in Behavioral Research: recent developments. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews**, v. 33, p.1089-1098, 2009.
- CANTERAS, N.S.; RESSTEL, L.B.; BERTOGLIO, L.J.; CAROBREZ ADE, P.; GUIMARÃES, F.S. Neuroanatomy of Anxiety. **Current Topics in Behavioral Neuroscience**, v. 2, p. 77-96, 2010.
- CANTERAS, N.S.; SIMERLY, R.B.; SWANSON, L.W. Organization of Projections from the Medial Nucleus of the Amygdala: a PHAL study in the Rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 360, p. 213-245, 1995.
- CHROUSOS, G.P. Stress and Disorders of the Stress System. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, p. 375-381, 2009.
- CONNELY, W.M.; SHENTON, F.C.; LETHBRIDGE, N.; LEURS, R.; WALDVOGET, H.J.; FAULL, R.L.M.; LEES, G.; CHAZOT, P.L. The histamine H4 receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS. **British Journal of Pharmacology**, v. 157, p. 55-63, 2009.
- CRIADO, P.R.; CRIADO, F.R.J.; MARUTA, C.W.; MACHADO FILHO, C.D'A. Histamina, Receptores de Histamina e Anti-histamínicos: novos conceitos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 2, p. 195-210, 2010.
- CULLINAN, W.E.; HERMAN, J.P.; BATTAGLIA, D.F.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. **Neuroscience**, v. 64, p. 477-505, 1995.
- DAMPNEY, R.A.L. Functional organization of central pathways regulating cardiovascular system. **Physiology Review**, v. 74, p. 323-364, 1994.
- 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, p. 261-268, 2002.
- DAVERN, P.J.; HEAD, G.A. Role of the medial amygdale in mediating responses to aversive stimuli leading to hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 38, p. 136-143, 2011.
- DAVERN, P.J.; NGUYEN-HUU, T-P.; LA GRECA, L.; ABDELKADER, A.; HEAD, G.A. Role of the Sympathetic Nervous System in Schlager Genetically Hypertensive Mice. **Hypertension**, v. 54, p.852-859, 2009.

DAYAS, C.V.; BULLER, K.M.; CRANE, Y.; DAY, T.A. Stressor Categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdale and in medullary noradrenergic cell groups. **European Journal of Neuroscience**, v. 14, p. 1143-1152, 2001.

DAYAS, C.V.; BULLER, K.M.; DAY, T.A. Neuroendocrine responses to an emotional stressor: evidence for involvement of the medial but not the central amygdale. **European Journal of Neuroscience**, v. 11, p.2312-2322, 1999.

DE OLIVEIRA, R. M. W.; DEL BEL, E. A.; MAMEDE-ROSA, M.L.N.; PADOVAN, C.M.;DEAKIN, J.F.W.; GUIMARÃES, F.S. Expression of neuronal nitric oxide synthase mRNA in stress-related brain areas after restraint in rats. **Neuroscience Letters**, v. 289, p. 123-126, 2000.

DÍAZ-CASARES, A.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, M.V.; PENADO-ARAGONÉS, C.A.; LARA, J.P.; GONZÁLEZ-BARÓN, S.; DAWID-MILNER, M.S. Role of the Parabrachial Complex in the Cardiorespiratory Response Evoked from Hypothalamic Defense Area Stimulation in the Anesthetized Rat. **Brain Research**, v. 1279, p. 58-70, 2009.

DIELEMBERG, R.A.; HUNT, G.E.; MCGREGOR, I.S. When a rat smells a cat' The distributions of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. **Neuroscience**, v. 104, p. 31-55, 2001.

DIMICCO, J.A.; SAMUELS, B.C.; ZARETSKAIA, M.V.; ZARETSKY, D.V. The Dorsomedial Hypothalamus and the Response to Stress: part renaissance, part revolution. **Pharmacology, Biochemistry and Behaviour**, v. 71, p. 469-480, 2002.

DIMICCO, J.A.; SARKAR, S.; ZARETSKAIA, M.V.; ZARETSKY, D.V. Stress-induced Cardiac Stimulation and Fever: common hypothalamic origins and brainstem mechanisms. **Autonomic Neuroscience basic and Clinical**, v. 126-127, p. 106-119, 2006.

DOLAN, R.J.; VUILLEUMIER, P. Amygdala Automacity in Emotional Processing. **Annals N.Y. Academic Science**, v. 1, p. 348-355, 2003.

DONG, H.W.; PETROVICH, G.D.; SWANSON, L.W. Topography of projections from amygdala to bed nuclei of the stria terminalis. **Brain Research Reviews**, v. 38, p. 192–246, 2001.

EBNER, K.; RUPNIAK, N.M.; SARIA, A.; SINGEWALD, N. Substance P in the medial amygdala: emotional stress-sensitive release and modulation of anxiety-related behavior in rats. **PNAS**, v. 101, n. 12, p. 4280–4285, 2004.

EIDEN, L.E.; SCHÄFER, M.K-H.; WEIHE, E.; SCHÜTZ, B. The Vesicular Amine Transporter Family (SLC18): amine/proton antiporters required for vesicular accumulation and regulated exocytotic secretion of monoamines and acetylcholine. **European Journal of Physiology**, v. 447, p. 636-640, 2003.

FALLON, J.H.; CIOFI, P. Distribution of Monoamines Within the Amygdala. **The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotional Memory, and Mental Dysfunction**. Chapter 3. Wiley-Liss, Inc. 1992. pp 97-114.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N.; SAPHIER, D. The preoptic area and bed nucleus of stria terminalis are involved in the effects of the amygdale on adrenocortical secretion. **Neuroscience**, v. 37, n. 3, p. 775-779, 1990.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N.; WEIDENFELD, J. Limbic Pathways and Hypothalamic Neurotransmitters Mediating Adrenocortical Responses to Neural Stimuli. **Neuroscience and Behavioural Reviews**, v. 19, n. 2, p. 235-240, 1995.

FERREIRA, H.S.; OLIVEIRA, E.; FAUSTINO, T.N.; SILVA EDE, C.; FREGONEZE, J.B. Effect of the activation of central 5-HT<sub>2C</sub> receptors by the 5-HT<sub>2C</sub> agonist mCPP on blood pressure and heart rate in rats. **Brain Research**, v. 1040, n. 1-2, p.64-72, 2005.

FERREIRA, H.S.; DE CASTRO E SILVA; E.; COINTEIRO, C.; FAUSTINO, T.N.; FREGONEZE, J.B. Role of central 5-HT<sub>3</sub> receptors in the control of blood pressure in the stressed and non-stressed rats. **Brain Research**, v. 1028, n. 1, p. 48-58, 2004.

FERGUSON, J.N.; ALDAG, J.M.; INSEL, T.R.; YOUNG, L.J. Oxitocin in the Medial Amygdala is Essential for Social Recognition in the Mouse. **The Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 20, p. 8278-9285, 2001.

FINCH, L.; HICKS, P.E. Central hypertensive action of histamine in conscious normotensive cats. **European Journal of Pharmacology**, n. 36, p. 263-266, 1976.

FINCH, L.; HICKS, P.E. Involvement of Hypothalamic Histamine-Receptors in the Central Cardiovascular Actions of Histamine. **Neuropharmacology**, v. 16, 211-218, 1977.

FONTES, M.A.P.; TAGAWA, T.; POLSON, J.W.; CAVANAGH, S.-J.; DAMPNEY, R.A.L. Descending Pathways Mediating Cardiovascular Response from Dorsomedial Hypothalamic Nucleus. **American Journal Physiology – Heart Circulation Physiology**, v. 280, p. H2891-2901, 2001.

FORTALEZA, E.A.; SCOPINHO, A.A.; CORRÊA, F.M.A. Cardiovascular responses to microinjection of noradrenaline into the medial amygdaloid nucleus of conscious rats result from  $\alpha_2$ -receptor activation and vasopressine release. **European Journal of Neuroscience**, v. 33, p. 1677-1684, 2011.

FORTALEZA, E.A.; TAVARES, R.F.; CORRÊA, F.M.A. The medial amygdaloid nucleus modulates cardiovascular responses to acute restraint in rats. **Neuroscience**, v. 159, p. 717-726, 2009.

FREEDMAN, L.J.; SHI, C. Monoaminergic innervations of the macaque extended amygdala. **Neuroscience**, v. 104, n. 4, p. 1067-1084, 2001.

FUKUMORI, R.; NISHIGORI, Y.; GOSHIMA, Y.; KUBO, T. Contribution of the medial amygdaloid nucleus to the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Neuroscience Letters**, v. 365, p. 128–131, 2004.

GHI, P.; FERRETI, C.; BLENGIO, M.; PORTALEONE, P. Stress-Induced Changes in Histaminergic System: Effects of Diazepam and Amitriptyline. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 51, n. 1, p. 65-68, 1995.

GRANATA, A.R.; REIS, D.J. Hypotension and bradycardia elicited by histamine into the C1 area of the rostral ventrolateral medulla. **European Journal of Pharmacology**, v. 136, p.157-162, 1987.

GRANATA, A.R.; YOSHINOBU, N.; KUMADA, M.; REIS, D.J. A1 Noradrenergic Neurons Tonicly Inhibit Sympathoexcitatory Neurons of C1 Area in Rat Brain Stem. **Brain Research**, v. 377, p. 127-146, 1986.

GUYENET, P.G. The Sympathetic Control of Blood Pressure. **Nature Reviews**, v. 7, p. 335-346, 2006.

HAAS, H.; PANULA, P. The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. **Nature Reviews**, v.4, p. 121-130, 2003.

HAAS, H.L.; SERGEEVA, O.A.; SEBACH, O. Histamine in the Nervous System. **Physiology Review**, v. 88, p. 1183–1241, 2008.

HAGIWARA, Y.; NISHIGORI, Y.; FUKUMORI, R.; KUBO, T. The medial amygdaloid area is involved in activation of angiotensin II-sensitive neurons in the anterior hypothalamic area. **Brain Research**, v. 1033, p. 128–134, 2005.

HERMAN, J.P.; OSTRANDER, M.M.; MUELLER, N.K.; FIGUEIREDO, H. Limbic System Mechanisms of Stress Regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **Progress In Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 29, p. 1201-1213, 2005.

HOLMES, C.L.; LANDRY, D.W.; GRANTON, J.T. Science Review: vasopressin and the cardiovascular system – clinical physiology. **Critical Care**, v. 8, p. 15-23, 2004.

HORIUCHI, J.; WAKABAYASHI, S.; DAMPNEY, R.A.L. Activation of 5-Hydroxytryptamine 1A Receptors Suppresses the Cardiovascular Response Evoked from the Dorsomedial Hypothalamic Nucleus. **Hypertension**, v. 46, p. 173-179, 2005.

INAGAKI, N; YAMATODANI, A; ANDO-YAMAMOTO M; TOHYAMA M; WATANABE T; WADA,H. Organization of histaminergic fibers in the rat brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 273, p. 283-300, 1988.

ITO, C. The role of brain histamine in acute and chronic stresses. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 54, p. 263-267, 2000.

ITOH, Y.; OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Effects of nociceptive stimuli on brain histamine dynamics. **Japan Journal of Pharmacology**, v. 49, p. 449-454, 1989.

JOCHEM, J. Endogenous Central Histamine-Induced Reversal of Critical Hemorrhagic Hypotension in Rats: studies with L-histidine. **Shock**, v. 20, n. 4, p. 332-337, 2003.

JOCHEM, J. Involvement of the sympathetic nervous system in the reversal of critical haemorrhagic hypotension by endogenous central histamine in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 369, p. 418-427, 2004.

- JOCHEM, J.; IRMAN-FLORJANC, T.; ZWIRSKA-KORCZALA, K. Influence of amitriptyline on central histamine-induced reversal of haemorrhagic shock in rats. **Inflammation Research**, v. 56, Supplement I, p. S27-S28, 2007.
- JOCHEM, J.; RYBCZYK, R.; IRMAN-FLORJANC, T.; ZWIRSKA-KORCZALA, K.; NIWECKA, A. Central serotonin-induced pressor effect in rats is mediated in part via the histaminergic system. **Inflammation Research**, v. 57, Supplement I, p. S35-S36, 2008.
- JOCHEM, J.; ZWIRSKA-KORCZALA, K. Interactions between the histaminergic and opioidergic systems in the central cardiovascular regulation – haemodynamic studies. **Inflammation Research**, v. 53, Supplement I, p. S63-S64, 2004.
- JOCHEM, J.; ZWIRSKA-KORCZALA, K.; SOWA, P.; BERDOWSKA, A. Interactions between the histaminergic and angiotensinergic systems in the central cardiovascular regulation in rats. **Inflammation Research**, v. 55, Supplement 1, p. S69-S70, 2006.
- KALIN, N.H.; TAKAHASHI, L.K.; CHEN, F-L. Restraint Stress Increases Corticotropin-releasing Hormone mRNA Content in the Amygdala and Paraventricular Nucleus. **Brain Research**, v. 656, p. 182-186, 1994.
- KARLSTEDT, K.; SENKAS, A.; AHMAN, M.; PANULA, P. Regional Expression of the Histamine H<sub>2</sub> Receptor in Adult and Developing Rat Brain. **Neuroscience**, v. 102, n. 1 p. 201-208, 2001.
- KENT, J.M.; RAUH, S.L. Neurocircuitry of Anxiety Disorders. **Current Psychiatry Reports**, v. 5, p. 266-273, 2003.
- KLEIN, M.C.; GERTNER, S.B. Evidence for a Role of Endogenous Histamine in Central Cardiovascular Regulation: inhibition of histamine-N-methyltransferase by SKF 91488. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 216, n. 2, p. 315-320, 1981.
- KÖHLER, C.A.; DA SILVA, W.C.; BENETTI, F.; BONINI, J.S. Histaminergic Mechanisms for Modulation of Memory Systems. **Neural Plasticity**, p. 1-16, 2011.
- KRUKOFF, T.; KHALILI, P. Stress-Induced Activation of Nitric Oxide-Producing Neurons in the Rat Brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 377, p. 509-519, 1997.
- KUBO, T.; NUMAKURA, H.; ENDO, S.; HAGIWARA, Y.; FUKUMORI, R. Angiotensin Receptor Blockade in the Anterior Hypothalamic Area Inhibits Stress-induced Pressor Responses in Rats. **Brain Research Bulletin**, v. 56, n. 6, p. 569-574, 2001.
- KUBO, T.; OKATANI, H.; NISHIGORI, Y.; HAGIWARA, Y.; FUKUMORI, R.; GOSHIMA, Y. Involvement of the medial amygdaloid nucleus in restraint stress-induced pressor responses in rats. **Neuroscience Letters**, v. 354, p. 84-86, 2004.
- LIGHTMAN, S.L. The Neuroendocrinology of Stress: a never ending story. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, p. 880-884, 2008.



LIN, Y.; LI, X.; LUPI, M.; KINSEY-JONES, J.S.; SHAO, B.; LIDHTMAN, S.L.; O'BYRNE, K.T. The role of the medial and central amygdala in the stress-induced suppression of pulsatile LH secretion in female rats. **Neuroendocrinology**, v. 152, n. 2, p. 545-555, 2011.

LOURES, D.L.; SANT'ANNA, I.; BALDOTTO, C.S.R.; SOUSA, E.B.; NÓBREGA, A.C.L. Estresse Mental e Sistema Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 78, n. 5, p. 525-530, 2002.

LOWRY, C.A.; PLANT, A.; SHANKS, N.; INGRAM, C.D.; LIGHTMAN, S.L. Anatomical and Functional Evidence for a Stress-responsive, Monoamine-Accumulating Area in the Dorsomedial Hypothalamus of Adult Rats. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 254-262, 2003.

MARAS, P.M.; PETRULIS, A. Anatomical Connections Between the Anterior and Posterodorsal Sub-regions of the Media Amygdala: integration of odors and hormone signals. **Neuroscience**, v. 170, p. 610-622, 2010.

MCDONALD, A.J. Is There an Amygdala and How Far Does It Goes: na anatomical perspective. **Annals of N.Y. Academic Science**, v. 985, p. 1-21, 2003.

MCDUGALL, S.J.; WIDDOP, R.E.; LAWRENCE, A.J. Central Autonomic Integration of Psychological Stressors: focus on cardiovascular modulation. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 123, p. 1-11, 2005.

MIKLÓS, I.H.; KOVÁCS, K.J. Functional heterogeneity of the responses of histaminergic neuron subpopulations to various stress challenges. **European Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 3069-3079, 2003.

MOHRMAN, D.E.; HELLER, L.J.. Visão Geral do Sistema Cardiovascular. **Fisiologia Cardiovascular**. 6 ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2007. p.1-17.

MOYA-GARCÍA, A.A.; RODRIGUEZ, C.E.; MORILLA, J.; SÁNCHEZ-JIMENEZ, F.; RANEA, J.A.J. The function of histamine receptor H4R in the brain revealed by interaction partners. **Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)**, v. 3, p. 1058-1066, 2011.

MRAVEC, B.; LUKACKOVA, R.; BODNAR, I.; KISS, A.; PACAK, K.; PALKOVITS, M.; KVETNANSKY, R. Stress-induced alterations in catecholamine enzymes gene expression in the hypothalamic dorsomedial nucleus are modulated by caudal brain and not hypothalamic paraventricular nucleus neurons. **Brain Research Bulletin**, v. 74, p. 147-154, 2007.

NALIVAIKO, E.; SGOIFO, A. Central 5-HT Receptors in Cardiovascular Control During Stress. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, p. 95-106, 2009.

NEUMANN, D.; BEERMANN, S.; SEIFERT, R. Does the Histamine H4 Receptor have a Pro- or Anti-Inflammatory Role in Murine Bronchial Asthma? **Pharmacology**, v. 85, p. 217-223, 2010.

- NISHIBORI, M.; ITOH, Y.; OISHI, R.; SAEKI, K. Effect of Microinjection of Histamine into the Brain on Plasma Levels of Epinephrine and Glucose in Freely Moving Rats. **Japan Journal of Pharmacology**, v. 54, p. 257-263, 1990.
- NOLTE, J.. Homeostase, Motivação e Emoção. **Neurociência** (tradução de Raimundo Rodrigues dos Santos), capítulo 18. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 195-211.
- PACÁK, K.; PALKOVITS, M. Stressor Specificity of Neuroendocrine Responses: implications for stress-related disorders. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 4, p. 502-548, 2001.
- PALACIOS, J.M.; WAMSLEY, J.K.; KUHAR, M.J. The distribution of Histamine H<sub>1</sub> Receptors in the Rat Brain: an autoradiographic study. **Neuroscience**, v. 6, p. 15-37, 1981.
- PANULA, P.; PIRVOLA, U.; AUVINEN, S.; AIRAKSINEN, M.S. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. **Neuroscience**, v. 28, n. 3, p. 585-610, 1989.
- PARSONS, M.E.; GANELLIN, C.R. Histamine and its Receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, p. S127-S135, 2006.
- PASSANI, M.B.; BLANDINA, P. Histamine Receptors in the CNS as Targets for Therapeutic Intervention. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 32, n. 4, p. 242-249, 2011.
- PASSANI, M.B.; GIANNONI, P.; BUCHERELLI, C.; BALDI, E.; BLANDINA, P. Histamine in the Brain: beyond sleep and memory. **Biochemical Pharmacology**, v. 73, p. 1113-1122, 2007.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. San Diego, California: Academic Press, 2001.
- PHILIPPU, A.; PRAST, H. Importance of histamine in modulatory processes, locomotion and memory. **Behavioural Brain Research**, v. 124, p. 151-159, 2001.
- PILLOT, C.; HERON, A.; COCHOIS, V.; TARDIVEL-LACOMBE, J.; LIGNEAU, X.; SCHWARTZ, J-C.; ARRANG, J-M. A Detailed Mapping of the Histamine H<sub>3</sub> Receptor and its Gene Transcripts in Rat Brain. **Neuroscience**, v. 114, n. 1, p.173-193, 2002.
- POULAKOS J.J.; GERTNER, S.B. Studies on the Cardiovascular Actions of Central Histamine H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> Receptors. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 250, n. 2, p. 500-507, 1989.
- POWLEY, T.L. Central Control of Autonomic Functions – The organization of autonomic nervous system. In ZIGMOND, M.J.; BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L.; SQUIRE, L.R. **Fundamental Neuroscience**, chapter 38, p. 1027-1050, Academic Press, 1999.
- PRAST, H.; TRAN, M.H.; LAMBERTI, C.; FISCHER, H.; KRAUS, M.; GRASS, K.; PHILIPPU, A. Histaminergic Neurons Modulate Acetylcholine Release in the Ventral Striatum: role of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptors **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 360, p. 552-557, 1999.

PRAST, H.; WALSER, S.; PHILIPPU A. The release of endogenous histamine in distinct brain areas is modified by electrical stimulation. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 339, p. 564-567, 1989.

QUAGLIOTTO, E.; NECKEL, H.; RIVEIRO, D.F.; CASALI, K.R.; MOSTARDA, C.; IRIGOYEN, M.C.; DALL'AGO, P.; RASIA-FILHO, A.A. Histamine in the posterodorsal medial amygdala modulates cardiovascular reflex responses in awake rats. **Neuroscience**, v. 157, p. 709-719, 2008.

RAO, S.P.; DUNBAR, J.C. A role for the central histaminergic system in the leptin-mediated increase in cardiovascular dynamics. **Brain Research Bulletin**, v. 64, p. 425-432, 2005.

ROBERTS, G.W. Neuropeptides: cellular morphology, major pathways, and functional considerations. **The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction**, Wiley-Liss, Inc, 1992. p. 115-142.

ROOZENDAAL, B.; MCEWEN, B.S.; CHATTARJI, S. Stress, Memory and Amygdala. **Nature Reviews**, v. 10, p. 423-433, 2009.

SAH, P.; FABER, E.S. L.; LOPEZ DE ARMENTIA, M.; POWER, J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. **Physiology Reviews**, v. 83, p. 803-834, 2003.

SAHA, S. Role of the Central Nucleus of the Amygdala in the Control of Blood Pressure: descending pathways to medullary cardiovascular nuclei. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, p. 450-456, 2005.

SAMUELS, B.C.; ZARETSKY, D.V.; DIMICCO, J.A. Tachycardia evoked by disinhibition of the dorsomedial hypothalamus in rats is mediated through medullary raphe. **Journal of Physiology**, v. 538, p. 941-946, 2002.

SAMUELSEN, C.L.; MEREDITH, M. Categorization of Biologically Relevant Chemical Signals in the Medial Amygdala. **Brain Research**, v. 1263, p. 33-42, 2009.

SANDERS, B.J.; WIRTZ-NOLE, C.; DEFORD, S.M.; ERLING, B.F. Central Amygdaloid Lesions Attenuate Cardiovascular Responses to Acute Stress in Rats with Borderline Hypertension. **Physiology & Behavior**, v. 56, n. 4, p. 709-713, 1994.

SCOPINHO, A.A.; RESSTEL, L.B.M.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CORRÊA, F.M.A. Pressor Effects of Noradrenaline Injected into Septal Area of Unanesthetized Rats. **Brain Research**, v. 1122, p. 126-134, 2006.

SHEKHAR, A.; SIJDYK, T.J.; GEHLERT, D.R. RAINNIE, D.G. The Amygdala, Panic Disorder, and Cardiovascular Responses. **Annals of N.Y. Academic Science**, v. 985, p. 308-325, 2003.

SHIBATA, S.; YAMAMOTO, T.; UEKI, S. Differential Effects of Medial, Central and Basolateral Amygdaloid Lesions on Four Models of Experimentally-Induced Aggression in Rats. **Physiology & Behaviour**, v. 28, n. 2, p. 289-294, 1982.

SHIMADA, R.; NAKAO, K-I.; FURUTANI, R.; KIBAYASHI, K. A Rat Models of Changes in Dural Mast Cells and Brain Histamine Receptor H<sub>3</sub> Expression Following Traumatic Brain Injury. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2012. (in press)

SHIMIZU, T.; OKADA, S.; YAMAGUCHI, N.; SASAKI, T.; LU, L.; YOKOTANI, K. Centrally administered histamine evokes the adrenal secretion of noradrenaline and adrenaline by brain cyclooxygenase-1 and thromboxane A<sub>2</sub>-mediated mechanisms in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 541, p. 152-157, 2006.

SIEGEL, A.; SCHUBERT, K.L.; SHAIKH, M.B. Neurotransmitters Regulating Defensive Rage Behavior in the Cat. **Neuroscience and Behavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 733-742, 1997.

SILVEIRA, C.K.B. **Papel dos Receptores Histaminérgicos Hipocâmpais na extinção de Memórias Aversivas (dissertação)**. Porto Alegre: Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2007.

SIMERLY, R.B. **Anatomical Substrates of Hypothalamic Integration**. In PAXINOS, G. The Rat Nervous System, 3<sup>th</sup> ed., chapter 14, Academic Press, San Diego, 2004. pp. 335-368.

STAHL, S.M. Selective Antihistamine H<sub>1</sub> Antagonism: novel hypnotic and pharmacologic actions challenge classical notions of antihistamines. **CNS Spectrums**, v. 13, n. 12, p.1027-1038, 2008.

STOJČIĆ, S.; MILUTINOVIĆ-SMILJANIĆ, S.; ŠARENAC, O.; MILOSAVLJEVIĆ, S.; PATON, J.F.R.; MURPHY, D.; JAPUNDŽIĆ-ŽIGON, N. Blockade of Central Vasopressin Receptors Reduces the Cardiovascular Response to Acute Stress in Freely Moving Rats. **Neuropharmacology**, v. 54, p. 824-836, 2008.

STRAKHOVA, M.I.; NIKKEL, A.L.; MANELLI, A.; HSIEH, T.A.E.; BRIONI, J.D.; BITNER, R.S. Localization of histamine H<sub>4</sub> receptors in the central nervous system of human and rat. **Brain Research**, v. 1250, p. 41-48, 2009.

SURRATTA, C.K. A human synaptic vesicle monoamine transporter cDNA predicts posttranslational modifications, reveals chromosome 10 gene localization and identifies *TaqI* RFLPs. **Federation of European Biochemical Societies**, v. 318, n. 3, p. 325-330, 1993.

SVED, A.F. Cardiovascular System. In ZIGMOND, M.J.; BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L.; SQUIRE, L.R. **Fundamental Neuroscience**, chapter 39, Academic Press, 1999. p. 1051-1062.

SWANSON, L.W. The amygdala and its place in the cerebral hemisphere. **Annals of N.Y. Academic Science**, v. 985, p. 174-184, 2003.

SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E. Role of Neuropeptides in Central Control of Cardiovascular Responses to Stress. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 59, suppl. 8, p. 61-89, 2008.

TAGAWA, T.; DAMPNEY, R.A.L. AT1 Receptors Mediate Excitatory Inputs to Rostral Ventrolateral Medulla Pressor Neurons From Hypothalamus. **Hypertension**, v. 34, p. 1301-1307, 1999.

TAYLOR, KM; SNYDER, SH. Brain Histamine: Rapid Turnover Altered by Restraint and Cold Stress. **Science**, v. 172, p. 1037-1039, 1971.

TOMAS, T. ADH Release from Cut Pituitary Stalk and Intact Pituitary Gland During Amygdala Stimulation at Various Frequencies in Rats. **Neuroendocrinology**, v. 17, n. 2, p. 139-146, 1975.

TRAIFFORT, E.; POLLARD, H.; MOREAU, J.; RUAT, M.; SCHWARTZ, J.C.; MARTINEZ-MIR, M.I.; PALACIOS, J.M. Pharmacological Characterization and Autoradiographic Localization of Histamine H<sub>2</sub> Receptors in Human Brain Identified with [<sup>125</sup>I]Iodoaminopotentidine. **Journal of Neurochemistry**, v. 59, n. 1, p. 290-299, 1992.

TRENDELENBURG, U. Stimulation of Sympathetic Centers by Histamine. **Circulation Research**, v. 5, p. 105-110, 1957.

TREZZA, V.; CAMPOLONGO, P. Toward Understanding the Neurobiology of Social Attachment: role of estrogen receptors in the medial amygdale. **The Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 1, p. 1-2, 2009.

TUOMISTO, L.; LOZEVA, V.; VALJAKKA, A.; LECKLIN, A. Modifying Effects of histamine on Circadian Rhythms and Neuronal Excitability. **Behavioral Brain Research**, v. 124, p. 129-135, 2001.

TURNER, S.A.; STOCK, G.; GANTEN, D. **Cardiovascular Regulation**. In LIGHTMAN, S.L.; EVERITT, B.J. Endocrinology, chapter 13, Black Well Scientific Publications, 1986. pp. 331-359.

URZEDO-RODRIGUES, L.S.; FERREIRA, H.S.; ALMEIDA, D.O.; MEDEIROS, J.P. BATISTA, A.; DE CASTRO E SILVA, E.; FREGONEZE, J.B. Blockade of 5-HT<sub>3</sub> receptors at septal area increase blood pressure in unanaesthetized rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 159, n. 1-2, p. 51-61, 2011.

VAN DE KAR, L.D.; BLAIR, M.L. Forebrain Pathways Mediating Stress-Induced Hormone Secretion. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 20, n. 1, p. 1-48, 1999.

VAN DER GOOT, H.; TIMMERMAN H. Selective ligands as tools to study histamine receptors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 5-20, 2000.

VAN SCHOOR, J. Antihistamines – a brief review. **SA Pharmaceutical Journal**, v. 75, n. 8, p. 23-30, 2008.

VILLELA, D.C.; DA SILVA JUNIOR, L.G.; FONTES, M.A.P. Activation of 5-HT Receptors in the Periaqueductal Gray Attenuates the Tachycardia Evoked from Dorsomedial Hypothalamus. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 148, pp. 36-43, 2009.

VIZUETE, M.L.; TRAIFFORT, E.; BOUTHENET, M.L.; RUAT, M.; SOUIL, E.; TARDIVEL-LACOMBE, J.; SCHWARTZ, J.-C. Detailed Mapping of the Histamine H<sub>2</sub> Receptor and its Gene Transcripts in Guinea-Pig Brain. **Neuroscience**, v. 80, n. 2, p. 321-343, 1997.

WADA, H.; INAGAKI, N.; ITOWI, N.; YAMATODANI, A. Histaminergic Neuron System in the Brain: distribution and possible functions. **Brain Research Bulletin**, v. 27, p. 367-370, 1991.

YALCIN, M.; JOCHEM, J. Involvement of the Cholinergic System in the Central Histamine-Induced Reversal of Critical Haemorrhagic Hypotension in Rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 2, p. 133-137, 2009.

YILMAZ, M.S.; MILLINGTON, W.R.; FELEDER, C. The Preoptic Anterior Hypothalamic Area Mediates Initiation of the Hypotensive Response Induced by LPS in Male Rats. **Shock**, v. 29, n. 2, p. 232-237, 2008.

YOSHIDA, S.; MATSUBARA, T.; UEMURA, A.; IGUCHI, A.; HOTTA, N. Role of Medial Amygdala in Controlling Hemodynamics via GABA<sub>A</sub> Receptor in Anesthetized Rats. **Circulation Journal**, v. 66, p. 197-203, 2002.

ZHOU, F-W.; XU, J-J; ZHAO, Y.; LEDOUX, M.S.; ZHOU, F-M.. Opposite Functions of Histamine H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> Receptors and H<sub>3</sub> Receptor in Substantia Nigra Pars Reticulata. **Journal of Neurophysiology**, v. 96, p. 1581-1591, 2006.