



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE HISTAMINA E METIL-HISTAMINA
NO NÚCLEO PÓSTERO-DORSAL DA AMÍGDALA MEDIAL SOBRE O
CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS**

EDSON QUAGLIOTTO

**PORTO ALEGRE
2006**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE HISTAMINA E METIL-HISTAMINA
NO NÚCLEO PÓSTERO-DORSAL DA AMÍGDALA MEDIAL SOBRE O
CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS**

Edson Quagliotto

**Orientador: Prof. Dr. Alberto Antônio Rasia Filho
Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Dall'Ago**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

**PORTO ALEGRE
2006**

“Mais vale o homem que vence a si mesmo, do que aquele que vence mil homens em batalha”.

Buda

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Alberto Rasia Filho e Prof. Dr. Pedro Dall'Ago, minha total gratidão pelo incentivo, oportunidade, paciência, confiança e orientação.

Aos meus colegas do laboratório de Fisiologia da FFFCMPA, em especial Aline Dal'Oglio, Carolina Böttge, Diego F. Mendes Riveiro, Helinton Neckel e Simone Marcuzzo pelas sugestões, colaboração e, principalmente, a amizade.

À Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen por proporcionar sua colaboração técnica na realização da avaliação cardiovascular.

À Karina Kasali por se disponibilizar na colaboração técnica na realização da análise espectral.

Ao Prof. Dr. Airton Scheneider pela oportunidade de uso do laboratório de Ciências Morfológicas da UFRGS.

À Profa. Dra. Matilde Achaval pela colaboração no empréstimo do vibrátomo e pelo uso do laboratório de Histofisiologia Comparada do Departamento de Ciências Morfológicas da UFRGS .

Às técnicas do laboratório de Fisiologia e Bioquímica Carmen Rocha e Rosângela Bjerck no preparo de alguns dos materiais empregados.

A todas as amigas que fizeram parte e que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento do trabalho e participaram da convivência durante esses anos.

À minha família pela total dedicação e compreensão tanto nas horas boas quanto nas difíceis, principalmente pelo apoio recebido.

Ao PPG em Neurociências e seus professores pela oportunidade e ensinamentos.

À comunidade científica da UFRGS e da FFFCMPA com que tive contato, pela oportunidade acolhedora e incentivadora durante todo o desenvolvimento técnico deste trabalho.

Ao CNPq e à FAPERGS pelas bolsas e financiamento para execução deste trabalho.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	11
RESUMO.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 AMÍGDALA	16
1.2 CONTROLE NEURAL DO SISTEMA CARDIOVASCULAR	28
1.3 NEURÔNIOS HISTAMINÉRGICOS	36
2 OBJETIVOS.....	43
2.1 GERAIS	43
2.2 ESPECÍFICOS	44
3 MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.1 ANIMAIS.....	45
3.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA	45
3.3 CANULAÇÃO ARTERIAL E VENOSA.....	46
3.4 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS BARORRECEPTORES	48
3.5 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS QUIMIORRECEPTORES	49
3.6 VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA (ANÁLISE ESPECTRAL MODELAMENTO AUTO-REGRESSIVO)	50
3.7 PERFUSÃO CARDÍACA E ANÁLISE HISTOLÓGICA:.....	50
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
5 RESULTADOS	55
6 DISCUSSÃO.....	79
7 CONCLUSÃO.....	87

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:88

ABREVIATURAS

AA	Amígdala anterior
AAP	Área amigdalár piriforme
ABL	Amígdala basolateral
ABLa	Amígdala basolateral anterior
ABLp	Amígdala basolateral posterior
ABMa	Amígdala basomedial anterior
ABMp	Amígdala basomedial posterior
ACe	Amígdala central
ACh	Acetilcolina
ACOa	Amígdala cortical anterior
ACOm	Amígdala cortical medial
ACOl	Amígdala cortical lateral
ACOp	Amígdala cortical posterior
ACOpm	Amígdala cortical póstero-medial
ACOpl	Amígdala cortical póstero-lateral
ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
AL	Amígdala lateral
AMe	Amígdala medial

AMeAD	Amígdala medial ântero-dorsal
AMeAV	Amígdala medial ântero-ventral
AMePD	Amígdala medial pósterio-dorsal
AMePDI	Amígdala medial pósterio-dorsal lateral
AMePDi	Amígdala medial pósterio-dorsal intermediária
AMePDM	Amígdala medial pósterio-dorsal medial
AMePV	Amígdala medial pósterio-ventral
AOB	Bulbo olfativo acessório
Arc	Núcleo arqueado
AVPV	Núcleo periventricular ântero-ventral
Bpm	“batimentos” por minuto
BST	Núcleo próprio da estria terminal
BSTMP	Núcleo próprio da estria terminal, porção medial
BSTpi	Porção pósterio-intermediária do núcleo próprio da estria terminal
BSTpm	Porção pósterio-medial do núcleo próprio da estria terminal
BVL	Bulbo ventrolateral
BVLc	Bulbo ventrolateral caudal
BVml	Bulbo ventromedial lateral
BVLr	Bulbo ventrolateral rostral
DMV	Núcleo motor dorsal do vago
DP	Desvio padrão
Epm	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
HA	Histamina
HF	Componente de alta frequência do sistograma
Hist 10 nM	Histamina na dose de 10 nM
Hist 100 nM	Histamina na dose de 100 nM

HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
LF	Componente de baixa frequência do sistograma
Metil-Hist 10 μ M	Metil-histamina na dose de 10 μ M
NA	Núcleo ambíguo
NPB	Núcleo parabraquial
NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
Pa	Núcleo paraventricular
Pe	Núcleo periventricular
PM	Núcleo pré-mamilar
PMV	Núcleo pré-mamilar ventral
POA	Área pré-óptica
SN	Sistema nervoso
ST	Estria terminal
SON	Núcleo supra óptico
TM	Núcleo túbero-mamilar
TMMm	Núcleo túbero-mamilar medial
TMMd	Núcleo túbero-mamilar dorsal
TMMv	Núcleo túbero-mamilar ventral
TMVr	Núcleo túbero-mamilar ventral rostral
TMVc	Núcleo túbero-mamilar ventral caudal
TO	Trato óptico
VMH	Núcleo ventromedial hipotalâmico
VMHvl	Núcleo ventromedial hipotalâmico, parte ventrolateral
VMN	Núcleo ventromedial hipotalâmico
OV	Órgão vascular da lâmina terminal

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Classificação dos núcleos que compõe a amígdala do rato com suas subdivisões anatômicas e seus componentes principais 19
- FIGURA 2** Representação esquemática de cortes coronais do encéfalo do rato onde se pode observar os quatros subnúcleos da amígdala medial 22
- FIGURA 3** Esquema representativo de corte coronal do encéfalo do rato onde se observa a íntima relação existente entre a amígdala medial póstero-dorsal, o trato óptico e a estria terminal 27
- FIGURA 4** Representação esquemática do processo de síntese e de degradação da histamina no sistema nervoso de mamíferos 37
- FIGURA 5** Esquema de mecanismos de controle e da interação de diversas aferências em neurônios histaminérgicos do núcleo túbero-mamilar hipotalâmico de ratos 41
- FIGURA 6** Corte coronal de 60 μm de espessura do encéfalo do rato para identificação do trajeto da cânula implantada para microinjeções na porção superior da amígdala medial póstero-dorsal..... 52
- FIGURA 7** Média (\pm DP) da variação da frequência cardíaca nos grupos estudados em situação basal, pré-microinjeção, e após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina na dose de 10 μM , na amígdala medial póstero-dorsal de ratos..... 61
- FIGURA 8** Média (\pm DP) da variação da pressão arterial sistólica nos grupos estudados em situação basal, pré-microinjeção, e após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina na dose de 10 μM , na amígdala medial póstero-dorsal de ratos..... 62
- FIGURA 9** Média (\pm DP) da variação da pressão arterial diastólica nos grupos estudados em situação basal, pré-microinjeção, e após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina na dose de 10 μM , na amígdala medial póstero-dorsal de ratos..... 63

- FIGURA 10** Média (\pm DP) da variação da pressão arterial média nos grupos estudados em situação basal, pré-microinjeção, e após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos..... 64
- FIGURA 11** Média (\pm DP) da variação da frequência cardíaca obtidos após injeção sistêmica de diferentes doses de KCN nos animais microinjetados com salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos 65
- FIGURA 12** Média (\pm DP) da variação da pressão arterial média obtidos após injeção sistêmica de diferentes doses de KCN nos animais microinjetados com salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos..... 66
- FIGURA 13** Média (\pm DP) da variação da diferença do valor de PA no ponto de maior inclinação da curva (PA₅₀) obtida após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos. 67
- FIGURA 14** Média (\pm DP) da variação da diferença entre a resposta de queda máxima da FC (em bpm) induzido pelo aumento da PA (em mmHg; platô de bradicardia) obtida após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos 68
- FIGURA 15** Média (\pm DP) da variação da diferença entre a resposta de aumento máxima da FC (em bpm) induzido pelo decréscimo da PA (em mmHg; platô de taquicardia) obtida após a microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos 69
- FIGURA 16** Média (\pm DP) da variação da diferença da sensibilidade média do barorreflexo (Ganho bpm/mmHg) obtida após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos..... 70
- FIGURA 17** Média (\pm DP) da variação da diferença da amplitude da FC (em bpm) obtida após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos 71
- FIGURA 18** Análise da curva da modificação da pressão arterial média de acordo com a variação da frequência cardíaca, como teste da resposta reflexa mediada pelos pressorreceptores, após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterodorsal de ratos..... 72

- FIGURA 19** Média (\pm DP) da variabilidade da frequência cardíaca estudada no tacograma, e gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos..... 73
- FIGURA 20** Média (\pm DP) da variabilidade da pressão arterial sistólica média estudada no sistograma, e gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos..... 74
- FIGURA 21** Média (\pm DP) da variabilidade da pressão arterial sistólica gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃ da histamina, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos 75
- FIGURA 22** Média (\pm DP) da variabilidade do componente de baixa frequência do tacograma (LF) gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos..... 76
- FIGURA 23** Média (\pm DP) da variabilidade do componente de alta frequência do tacograma, (HF) gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos..... 77
- FIGURA 24** Média (\pm DP) da variabilidade do índice do componente de baixa frequência e alta frequência do tacograma (balanço simpático-vagal, relação LF/HF) gerada após microinjeção de salina, histamina nas doses de 10 nM ou 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina na dose de 10 μ M, na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos 78

RESUMO

INTRODUÇÃO: A amígdala medial (AMe) modula comportamentos sociais, como o reprodutivo, e respostas a estímulos estressantes. Para tanto são necessários ajustes homeostáticos concomitantes da função cardiovascular. Dada sua notável presença na AMe, a histamina (HA) poderia estar envolvida em tais atividades. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da microinjeção de HA e de agonista dos receptores H_3 , metil-histamina, no núcleo medial pósterodorsal (AMePD de ratos não anestesiados) sobre o controle cardiovascular em situação basal e após modificação desencadeada pela estimulação dos barorreceptores e quimiorreceptores. **MÉTODOS:** Ratos machos Wistar (3 meses de idade) foram mantidos em condições padrão de biotério e cuidados éticos. Os animais foram anestesiados e submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânula na AMePD direita. No quinto dia pós-cirúrgico, os animais foram novamente anestesiados e submetidos à colocação de cateter de polietileno no interior da artéria aorta abdominal e da veia cava inferior. Um dia após a canulação dos vasos, os animais foram microinjetados na AMePD com solução salina (0,3 μ l, n = 10), histamina nas doses de 10 nM/0,3 μ l (n = 8) e de 100 nM/0,3 μ l (n = 8) ou com o agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina, na dose de 10 μ M/0,3 μ l (n = 7). Dados de frequência cardíaca (FC) e de pressão arterial (PA) foram gravados por 3 minutos em período basal controle e, a seguir, foram microinjetadas as substâncias mencionadas e testadas as variáveis de interesse. Os reflexos pressores foram testados pela injeção de fenilefrina (doses crescentes desde 0,25 até 32 μ g/kg) e nitroprussiato de sódio (doses crescentes desde 2,5 até 100 μ g/kg) e os quimiorreceptores, pelo cianeto de potássio (doses crescentes desde 60 até 180 μ g/kg). O modelo autoregressivo de análise espectral foi utilizado para avaliar a variabilidade da FC e da PA e as atividades simpática e vagal. Os dados foram comparados pelo teste da análise da variância (ANOVA) de duas vias

para medidas repetidas e pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls ou pela ANOVA de uma via e pelo teste de Tukey, conforme apropriado. O nível de significância estatística foi estabelecido em $p < 0,05$. **RESULTADOS:** Não houve diferença entre os grupos estudados nos valores de FC, PA sistólica, PA diastólica e PA média em situação basal ou após as diferentes microinjeções nos grupos estudados ($p > 0,05$). Histamina na dose de 10 nM e metil-histamina na dose de 10 μ M microinjetadas na AMePD geraram diminuição reflexa maior na FC após a estimulação dos quimiorreceptores com KCN na dose de 100 μ g/kg ($p < 0,05$). Os valores referentes ao ponto de maior inclinação da curva referente aos barorreceptores, (PA_{50}), após injeções de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, foram maiores nos ratos que receberam histamina na dose de 10 nM na AMePD ($p < 0,05$). Houve maior variabilidade na PA sistólica, no componente de baixa e de alta frequência do tacograma e no índice de atividade simpático-vagal nos grupos que receberam histamina na dose de 100 nM e metil-histamina na dose de 10 μ M na AMePD ($p < 0,05$). **CONCLUSÃO:** A AMePD, por ação da histamina e de agonista dos receptores H_3 modula respostas pressóricas reflexas e participa do controle central da PA. Tais dados, ainda inéditos, podem indicar que a AMePD se vale de sua atividade histaminérgica local por circuitaria própria ou devido à aferências neurais, para modificar variáveis cardiovasculares provavelmente concomitantemente à organização de comportamentos.

1 INTRODUÇÃO

1.1 AMÍGDALA

A amígdala, ou complexo amigdaliano¹, constitui-se de núcleos subcorticais interconectados que se situam no lobo temporal, lateral ao hipotálamo e ventral ao estriado no encéfalo de primatas (ALHEID *et al.*, 1999; EVERITT *et al.*, 1995; SWANSON; PETROVICH, 1998; OLMOS *et al.*, 2004). Em ratos situa-se lateralmente ao trato óptico (TO), na parte ventral do telencéfalo, tendo como limite rostral uma região pouco definida próxima do núcleo do trato olfativo lateral e, caudalmente, limítrofe à zona de transição amígdalo-hipocampal (de OLMOS *et al.*, 2004).

O termo amígdala adveio de estudos anatômicos nos quais vários núcleos colocados rostralmente à cauda do núcleo caudado, ao hipocampo e ao corno temporal do ventrículo lateral pareciam, agrupadamente, ter uma conformação esferóide e alongada, a qual lembrava a forma de uma amêndoa (do grego adveio seu nome, embora não tenha esse mesmo aspecto em todos os animais estudados até o momento). Há, no entanto, considerável debate sobre sua subdivisão em núcleos em várias espécies animais e, por isso, são comuns referências ao núcleo inteiro como complexo amigdaliano (SWANSON *et al.*, 1998; NEWMAN, 1999, PITKÄNEN *et al.*, 2000; RASIA-FILHO *et al.*, 2000, 2004a).

¹ Embora a terminologia anatômica nomeie esta estrutura como “corpo amigdalóide” na parte basilar do telencéfalo, por definição encontrada em dicionário da língua portuguesa, “amigdaliano” é algo relativo ou pertencente à amígdala, enquanto amigdalóide é semelhante à amígdala (RASIA-FILHO; HILBIG, 2005).

Alguns dos primeiros estudos descreveram que a amígdala representava a maior via de ligação entre as regiões médio-basais do telencéfalo (conforme descrito por KAMAL e TÖMBÖL, 1975). Historicamente, um dos primeiros indícios do envolvimento da amígdala na modulação do comportamento emocional foi obtido com sua ablação bilateral e de tecido nervoso nas adjacências em macacos, ocorrendo, a partir disso, perda da agressividade e as manifestações comportamentais relacionadas com medo, alteração da percepção de estímulos nocivos, comportamento sexual inapropriado e tendência a investigar com a boca toda a sorte de objetos colocados ao alcance do animal (KLÜVER e BUCY, 1939). Atualmente sabe-se que a amígdala não tem função unitária simples, mas sim um papel de integração das atividades comportamentais, endócrinas, simpáticas e parassimpáticas que são importantes para a relação dos animais com seu ambiente (LEDOUX, 1992; DAVIS, 2000; RASIA-FILHO *et al.*, 2000).

Em ratos, a amígdala é composta por núcleos e subnúcleos que formam uma complexa rede estrutural inter-relacionada e multifuncional, anatomicamente e funcionalmente heterogênea, uma vez que está envolvida na modulação de diversos comportamentos e ajustes de variáveis orgânicas (ALHEID *et al.*, 1995; EVERITT, 1995; PAXINOS E WATSON, 1998; SWASON *et al.*, 1998; PETROVICH *et al.*, 2001; RASIA FILHO *et al.*, 2000, 2004a). A amígdala foi dividida de diversas maneiras por diferentes autores ao longo do tempo. Prince e colaboradores (1987) propuseram um esquema único de classificação dos núcleos amigdalóides de ratos, gatos e macacos dividindo a amígdala desses animais em três grandes porções: núcleo basolateral (ABL), do qual fariam parte os subnúcleos lateral, basal, e basal acessório e que estariam amplamente interconectados com o neocórtex; núcleo amigdalor cortical medial (ACOM), que corresponderia aos subnúcleos cortical, medial, córtex periamigdalóide, e núcleo do trato olfativo lateral, relacionados com o sistema olfativo principal e acessório; e, por último, núcleo central (ACe) e área amigdalóide anterior (AA), que estariam envolvidos com atividades “vegetativas” que neste texto, serão tratadas como simpáticas e parassimpáticas (para comentário sobre o termo “vegetativo”, veja-se RASIA-FILHO, 2006).

Swanson e Petrovich (1998) sugeriram que a amígdala pudesse agrupar um número de núcleos que parecem ser partes diferenciadas do córtex cerebral, do claustró e do estriado e pertencendo a quatro sistemas funcionais: simpático e parassimpático, composto pela ACe; cortical fronto-temporal, composto pelos núcleos ABL e ABLa e lateral; bulbo olfativo acessório (AOB) formada pela amígdala medial (AMe), tema desta dissertação e para a qual

dar-se-á maior atenção a seguir; e, olfativo principal, relacionado com os demais núcleos. Com mais detalhes, estruturalmente, a amígdala poderia se consistir de uma divisão estriatal, constituída pela AA e pela AMe e a ACe, e de uma divisão cortical que corresponderia à ABLa e posterior (ABLp), aos núcleos basomedial anterior (ABMa) e posterior (ABMp), cortical póstero-medial (ACOpM) e póstero-lateral (ACOpL), cortical anterior (ACOA), lateral (ACOL) e posterior (ACOP), área amigdalóide piriforme (AAP) e área piriforme de transição (SWANSON *et al.*, 1998; PETROVICH *et al.*, 2001).

Em descrição anatômica recente da amígdala do rato propôs-se que ela fosse classificada em quatro regiões (Figura 1), segundo a sua disposição citoarquitetônica e hodológica: 1) amígdala “expandida”, assim denominada por se estender além de seus limites anatômicos e subdividindo-se nos núcleos da ACe e da AMe; 2) amígdala cortical, subdividida em complexo basolateral (BL) e em porções que se ligam às vias olfativas e vomeronasal; 3) áreas de transição, localizadas entre a porção ventral dos núcleos da base e a amígdala “expandida”; 4) núcleos ainda não classificados, constituídos por um grande grupo de células dispersas na substância branca, substância *inominata* e porções do núcleo próprio da estria terminal (BST; ALHEID *et al.*, 1995; de OLMOS *et al.*, 2004). Os limites anatômicos extremos da amígdala e a classificação de suas subdivisões permanecem, no entanto, ainda controversos (SWANSON *et al.*, 1998; de OLMOS *et al.*, 1999; NEWMAN, 1999; de OLMOS *et al.*, 2004).

Com base na sua anatomia e hodologia, funcionalmente, a amígdala parece fazer parte de três grandes sistemas: um relacionado com respostas hipotalâmicas e do tronco encefálico e mediada por eferências da ACe; o frontotemporal, que compreende a amígdala lateral (AL) e o ABL; e, o sistema relacionado com as vias olfativas principal e acessória, onde estão envolvidos os demais núcleos amigdalóides e onde está a AMe (SWANSON *et al.*, 1998; PETROVICH *et al.*, 2001). Com base nisso, algumas funções foram descritas para o complexo amigdaliano de ratos. Por exemplo, alguns desses núcleos, principalmente a AL e o ABL, possuem um papel importante na modulação do medo, pois suas aferências e eferências associam informações e desencadeiam respostas comportamentais, endócrinas, simpáticas e parassimpáticas frente a estímulos ameaçadores inatos e condicionados (DAVIS, 1992; DAVIS *et al.*, 2001). Para tanto, tais núcleos da amígdala recebem aferências de diferentes

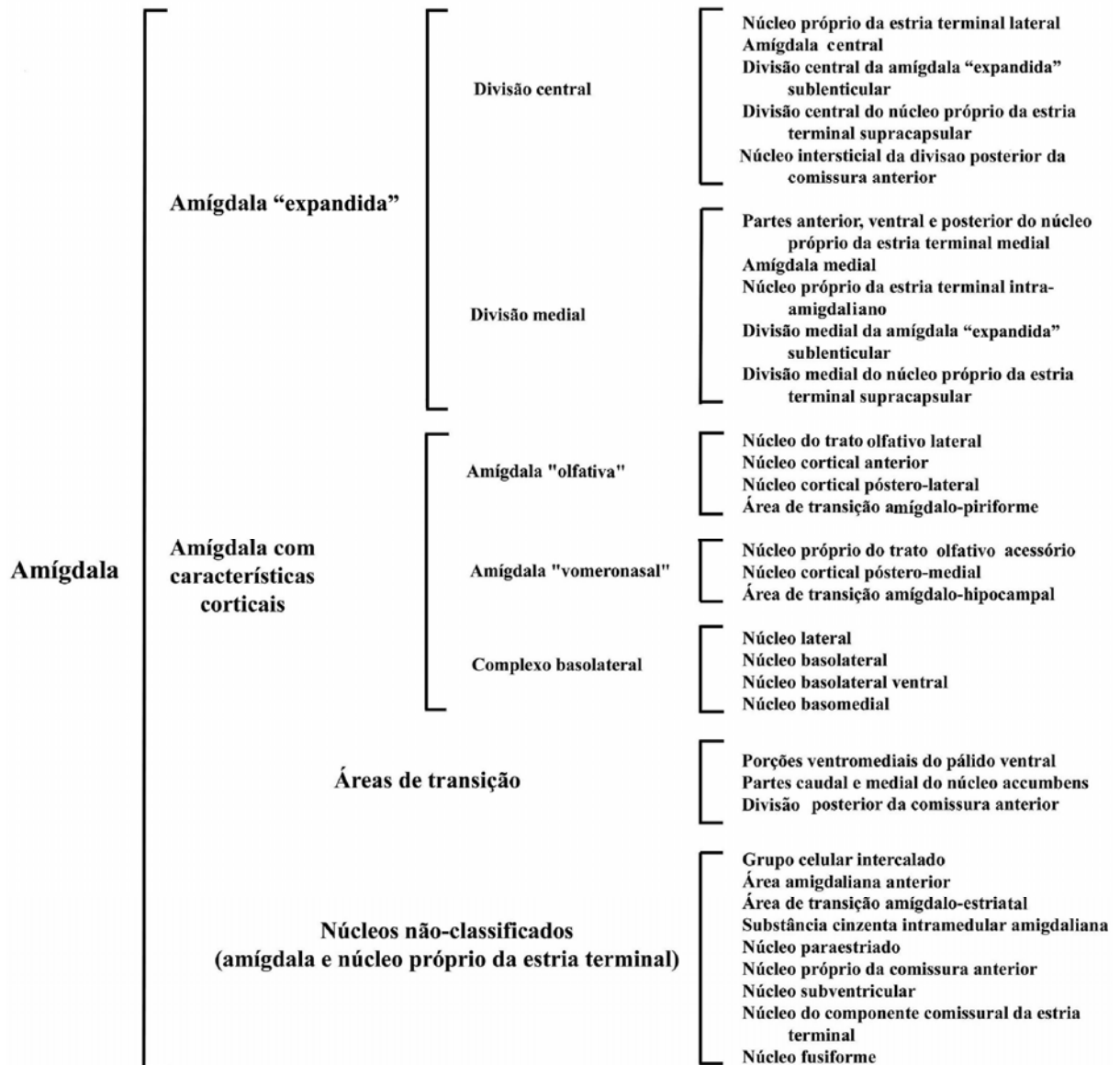


Figura 1 Classificação dos núcleos que compõe a amígdala do rato com suas subdivisões anatômicas e seus componentes principais, conforme descrito por Alheid e colaboradores (1995) e modificado por Rasia-Filho e colaboradores (2000).

modalidades sensoriais: olfativa, gustativa, auditiva, visual, somatosensorial e visceral (SAH *et al.*, 2003), ou seja, para participar dessas atividades, os núcleos amigdalianos recebem vários tipos de informações sensoriais interoceptivas e exteroceptivas, modificam sua própria atividade no que se supõe seja uma etapa na apreciação emocional da informação recebida, e estimulam diversas regiões do sistema nervoso (SN) central para que se inicie a resposta ao estímulo inicial (KNUEPEFER *et al.*, 1995; QUIRK *et al.*, 1995). Circuitos intra-amigdalianos complexos permitem que se associem ajustes homeostáticos com a emissão de comportamentos específicos (PITKÄNEN *et al.*, 1998, 2001).

Esse papel da amígdala tornou-se mais claro nas últimas décadas (DAVIS, 1992; KLING *et al.*, 1992; LeDOUX, 1992; DAYAS *et al.*, 1999; RASIA-FILHO *et al.*, 2000). Por exemplo, frente a um estímulo aversivo visual ou auditivo, impulsos nervosos provenientes do tálamo e do córtex cerebral chegam às regiões amigdalianas da AL e da ABL. A seguir são transmitidos principalmente à ACe e esta emite eferências para vários núcleos do hipotálamo e do tronco encefálico, onde as respostas comportamentais relacionadas com medo e as respostas simpáticas e parassimpáticas são organizadas concomitantemente. Isso faz com que o animal pare os demais comportamentos que vinha fazendo e fique preferentemente em posição imóvel, aumente sua atenção em relação ao ambiente, fique taquipnéico e taquicárdico, tenha elevação da PA, possa defecar e urinar ou, ainda aumentar a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH; AGGLETON *et al.*, 1989; DAVIS, 1992; BENNETT, 1985; BEAULIEU, 1986; ADAMEC *et al.*, 1994; AGUILERA, 1998).

Em ratos, a AMe é uma estrutura heterogênea e é um dos núcleos superficiais do complexo amigdaliano que, ao longo de sua extensão, está em contato direto com a região lateral do TO, ventral à estria terminal (ST) em sua parte mais posterior, em posição medial e posterior ao núcleo do trato olfativo e, tendo como limite posterior, aproximadamente onde surgem os ventrículos cerebrais (de OLMOS *et al.*, 2004; Figura 2). A AMe é considerada parte da amígdala “expandida”, embora ainda haja controvérsias se a mesma é uma continuação ventral do estriado ou não (CANTERAS *et al.*, 1995; SWANSON *et al.*, 1998; de OLMOS *et al.*, 1999; NEWMAN, 2002). A AMe é uma estrutura complexa que apresenta subnúcleos com citoarquitetura, conexões e características neuroquímicas e funcionais diferentes, classificados em quatro partes, a saber: ântero-dorsal (AMeAD), ântero-ventral (AMeAV), pósterodorsal (AMePD) e póstero-ventral (AMePV; Figura 1.2; ALHEID *et al.*, 1995; CANTERAS *et al.*, 1995; PETROVICH *et al.*, 2000; de OLMOS *et al.*, 2004; RASIA-

FILHO *et al.*, 2004). De acordo com suas conexões, a AMe pode ser também organizada em uma região anterior ou rostral, da qual fazem parte a AMeAD, a AMeAV e a AMePV, e em uma região posterior ou caudal, da qual faz parte a AMePD, embora grandemente interconectada com os demais subnúcleos (CANTERAS *et al.*, 1995). A AMe dorsalmente é separada da porção medial da ACe por uma região pobre em células, a qual é substituída mais ventralmente e caudalmente pelo BST (ALHEID *et al.*, 1995). Caudalmente, o grupo de núcleos intercalados da amígdala separa a AMe da ABL. Também caudalmente, e em posição dorsal, grupos de fibras que ascendem dentro da ST são interpostos entre a AMe e outros núcleos amigdalianos (ALHEID *et al.*, 1995; PETROVICH *et al.*, 2000; PITKÄNEN, 2000; de OLMOS *et al.*, 2004).

A AMe de ratos possui uma ampla rede de conexões neurais entre seus subnúcleos, com outros núcleos da amígdala e também com núcleos extra-amigdalianos (CANTERAS *et al.*, 1995), o que parece dar sua condição de modular diversos comportamentos e ajustes homeostáticos ou alostáticos (ALHEID *et al.*, 1995; CANTERAS *et al.*, 1995; SWANSON, 1995; McDONALD *et al.*, 1999). A maioria das aferências neuronais que chegam à AMe são provenientes diretamente do AOB, que envolve estímulos dos ferômonios que atuam no órgão vomeronasal. Há ainda, aferências mais modestas de regiões do telencéfalo basal, as quais possuem conexões recíprocas com a AMe, e do tálamo, da região dorsal da ponte relacionada com informações somáticas e viscerais, de grupos celulares da rafe mesencefálica e do locus *ceruleus* (JONES *et al.*, 1977, 1999; AZMITIA *et al.*, 1978; OTTERSEN *et al.*, 1979, 1980, 1981; GROOVE, 1988; OHTAKE *et al.*, 1989; HERBERT *et al.*, 1990). Basicamente, outras aferências são provenientes do córtex cerebral pré-frontal, do BST e de vários núcleos do hipotálamo envolvidos com a modulação da atividade neuroendócrina e da emissão de vários comportamentos (CANTERAS *et al.*, 1995; PITKÄNEN, 2000; ALHEID *et al.*, 1995), como é o caso da atividade sexual e de aprendizado onde o componente emocional está envolvido (RASIA-FILHO *et al.*, 1991; CANTERAS *et al.*, 1995; NEWMAN, 2002). Para isso, a AMe estabelece conexões intra-amigdalianos com a AA, a ACe, o ABL, os núcleos corticais, a AL, o núcleo posterior, a AAP e o trato olfatório acessório. E conexões extra-amigdalóides com o AOB, núcleo olfativo anterior, córtex pré-frontal, córtex piriforme, núcleo endopiriforme, a faixa diagonal de Broca, o estriado e o cláustro, o núcleo *accumbens*, a área septal, área entorrinal e o subículo, a substância *inominata*, o BST, vários núcleos hipotalâmicos (pré-óptico, anterior, ventromedial, dorsomedial, lateral, arqueado, periventricular, posterior e pré-mamilar ventral), vários núcleos do tálamo, a substância cinzenta central mesencefálica,

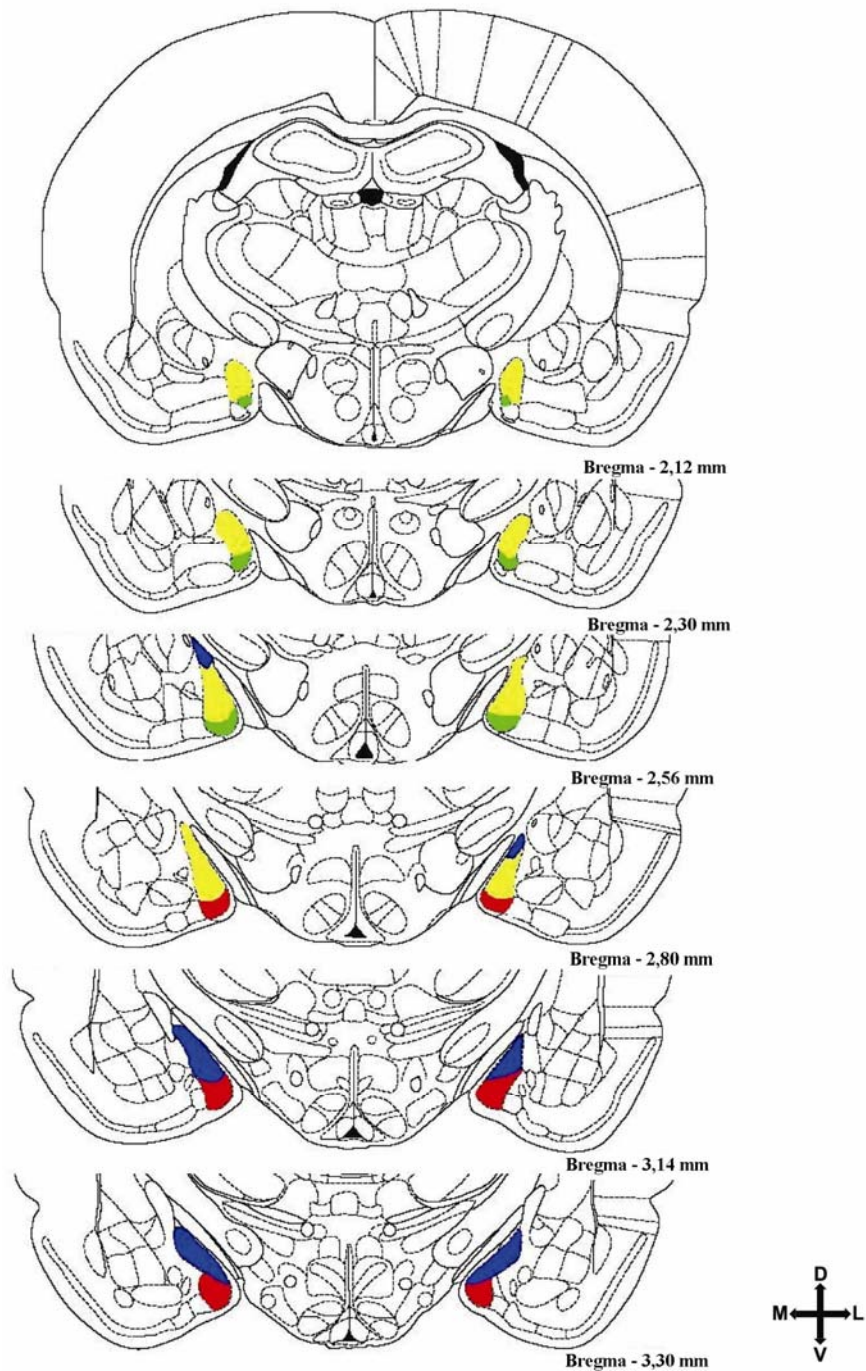


Figura 2 Representação esquemática de cortes coronais do encéfalo do rato onde se pode observar os quatro subnúcleos da amígdala medial, a saber: ântero dorsal (AMeAD, em amarelo), ântero-ventral (AMeAV, em verde), pósterodorsal (AMePD, em azul) e póstero-ventral (AMePV, em vermelho). Os valores em mm colocados no lado direito das imagens referem-se às distâncias posteriores ao bregma. As coordenadas espaciais referem-se ao hemisfério direito e são dorsal (D), ventral (V), medial (M) e lateral (L). Figuras e abreviaturas baseadas no atlas do encéfalo do rato de Paxinos e Watson (1998).

a área tegmental ventral e os núcleos da rafe (CANTERAS *et al.*, 1995; GUILLAMÓN *et al.*, 1988; NEWMAN, 2002; SAHA, 2005).

A maioria dos axônios de projeção extra-amigdalóide deixa a AMe via ST ou pela “ansa peduncularis” (via amígdalo-fugal) indo, a seguir, em direção a regiões telecefálicas ou diencefálicas. A AMeAD e a AMePV utilizam como via principal a “ansa peduncularis”, enquanto a AMePD utiliza-se da ST como via eferente proponderante (SWANSON *et al.*, 1979; BENNETT, 1985; CANTERAS, 1992; de OLMOS *et al.*, 2004; SIERLY, 2004).

Wood e Newman (1995) propuseram que a região anterior da AMe estaria principalmente sendo influenciada por informações olfativas e a região posterior, pelos hormônios gonadais. Essa divisão anátomo-funcional não é absolutamente restritiva, porque há receptores para esteróides sexuais e conexões sinápticas recíprocas em ambas as regiões da AMe (LEHMAN *et al.*, 1982; ÖSTERLUND *et al.*, 1998; NEWMAN, 2002; SIERLY *et al.*, 2004). Mesmo assim, poder-se-ia sugerir que as regiões anterior e posterior da AMe fossem estudadas separadamente a fim de que particularidades tanto morfológicas quanto funcionais dessas duas porções pudessem ser melhor detectadas. Isto é, ao contrário de identificar propriedades únicas para uma mesma estrutura heterogênea, com esse maior detalhamento é possível que diferenças sutis entre subnúcleos da AMe possam ser encontradas (LEHMAN *et al.*, 1982; NEWMAN, 1995; MAREN, 1996; ÖSTERLUND *et al.*, 1998; RASIA-FILHO *et al.*, 1999, 2002, 2004a; SIERLY, 2004).

Estudos em ratos indicam que os subnúcleos da AMe projetam-se para núcleos hipotalâmicos envolvidos com diversos comportamentos por via direta ou, indiretamente, via hipocampo ventral que, por sua vez, projeta eferências para o hipotálamo medial (PETROVICH *et al.*, 2001). Com isso, a AMe pode modular respostas a estímulos estressantes que são seguidas por respostas neuroendócrinas de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e, ao mesmo tempo com a ação das catecolaminas circulantes e com a corticosterona, alterando o funcionamento do complexo amigdaliano. A presença das catecolaminas liberadas pela adrenal na circulação sanguínea é percebida por terminações vagais que atingem o núcleo do trato solitário (NTS) e, deste chega, ao complexo amigdaliano (McGAUGH *et al.*, 1996). Isto modifica a ação da AMe e da ABL na consolidação de memórias condicionadas conjugando, em paralelo, atividades inatas e aprendidas (ALLEN *et al.*, 1974; BENNETT *et al.*, 1985; BEALIEU *et al.*, 1987; AGLETON *et al.*, 1989; McGAUGH, 1992; CANTERAS, 1995; ROOZENDAAL, 1996; SAJDYK *et al.*, 1997;

DAVIS *et al.*, 1998; HATFIELD *et al.*, 1999; SINGEWALD *et al.*, 2000). Isto foi notavelmente observado em situações emocionais como a exposição do animal ao seu predador natural (HARVEY *et al.*, 1984; KLING *et al.*, 1992; KNUEPFERLOET *et al.*, 1995; McGAUGH, 1992; MARTINA, 1999; ROOZENDAAL, 1996). É interessante que, em ratos, a lesão da ACe, da AMe e do ACo aumentou a investigação social em seus próprios predadores (BLANCHARD, 1972; YOUNG, 1996) e gerou uma perda total da retenção da informação necessária para a adaptação comportamental relacionada com a dominação social (BOLHUIS *et al.*, 1984). A AMe constitui o primeiro componente facilitatório do sistema límbico para a expressão do comportamento defensivo e o ataque predatório (QUIRK *et al.*, 1995; PREWITT *et al.*, 1997; RADLEY., 2005). De forma concordante, lesões excitotóxicas na AMe de ratos suprimiram respostas do eixo HPA quando os animais foram expostos a um evento estressor (isolamento social do animal estudado), bloqueando também a liberação de ocitocina nos núcleos supra-óptico e paraventricular do hipotálamo (ITOH, 1991; MIYATA, 1995; DAYAS *et al.*, 1999). Os achados deste último estudo mostraram, de forma muito importante, que a AMe é o primeiro local dentro da amígdala responsável pelo controle do HPA e pelas respostas secretórias ocitocinérgicas frente a um evento estressor emocional incondicionado (DAYAS *et al.*, 1999). Como observado em testes de esquiva inibitória (BEAULIEU, 1987; McGAUGH, 1992; ROOZENDAAL, 1996), nas respostas neuroendócrinas a um evento estressor, e em uma série de testes de comportamentos sociais, tais como o agressivo, defensivo e sexual, há modificações marcantes nas atividades cardiovasculares basal e em suas respostas reflexas, o que indica a necessidade de ajustes homeostáticos serem concomitantes à emissão de comportamentos (HARVEY *et al.*, 1984; GESELMA, 1987; TIMO-IARIA, 1988; McGAUGH, 1992; ROOZENDAAL, 1996; RASIA-FILHO *et al.*, 2000; RASIA-FILHO 2006).

O papel da AMe no comportamento sexual e a própria atividade reprodutiva podem ser influenciados por hormônios gonadais (MASCÓ *et al.*, 1980; RASIA-FILHO *et al.*, 1991; CANTERAS *et al.*, 1995; KONDO *et al.*, 1995; NEWMAN, 1995; ROBBINS *et al.*, 1996; GUILLAMÓN *et al.*, 1997; VINADER-CAEROLS *et al.*, 1998). Ainda sob o ponto de vista funcional, a lesão da parte anterior da AMe e da ACO diminuiu a ocorrência de comportamento sexual em ratas. A estimulação dessas mesmas regiões promoveu o efeito oposto (MASCÓ *et al.*, 1980). Em machos, a lesão da AMe prejudicou a ocorrência de ejaculação (HARRIS *et al.*, 1975; VCHTELLO *et al.*, 1987). Já a estimulação levou a comportamento e atividade eletroencefalográfica praticamente indistinguíveis do período de

inatividade motora observada em períodos pós-ejaculatório (KONDO *et al.*, 1998; SMOCK *et al.*, 1992). Recentemente relatou-se, mais especificamente, que a AMePD apresenta grande papel na modulação do comportamento sexual em ratos (de CASTILHOS *et al.*, 2006).

Notavelmente, a AMePD, além de ter conexão sináptica com a AL, a ABL e a ACe dentro do próprio complexo amigdaliano, estabelece conexões sinápticas recíprocas com o córtex entorrinal, o qual envia conexões para os componentes do sistema olfativo, inclusive a ABL (CANTERAS *et al.*, 1995; SMITH *et al.*, 1996; VINADER-CAEROLS *et al.*, 1998; PETROVICH *et al.*, 2001). Isso poderia colocar a ABL em condição direta para modular o circuito que emite projeções entre o hipocampo, outros núcleos amigdalianos e a formação de memória declarativa de longa-duração (CANTERAS *et al.*, 1995; PETROVICH *et al.*, 2001). Ainda, a AMePD é influenciada por informações vomeronasal provenientes do AOB que chega na AMeAD (BRESSLER, 1996; GUILLAMÓN *et al.*, 1997; McDONALD, 1998; BACCIOTTINI, 2002; MEREDITH *et al.*, 2004). Esta, por sua vez, reconhece a relevância social do estímulo olfativo e, vias núcleos intercalados da amígdala, determinam se a AMePD será estimulada ou não (BRESSLER *et al.*, 1996; GUILLAMÓN *et al.*, 1997; McDONALD, 1998; MEREDITH *et al.*, 2004). No AMe, principalmente a AMeAD e a AMePD processam informações olfativas oriundas do órgão vomeronasal e do bulbo olfativo, as quais são enviadas para áreas motoras e neuroendócrinas do hipotálamo e também para o tronco encefálico (LEHMAN *et al.*, 1982; LOEWY, 1990; CANTERAS *et al.*, 1995; KONDO *et al.*, 1995; DOMÍNGUEZ *et al.*, 2001; PETROVICH *et al.*, 2001).

Assim, a existência de uma circuitaria neural que estaria envolvida com a geração de comportamentos defensivos e a elaboração de estados emocionais aversivos, poderia envolver o hipotálamo medial, a AMe e outros núcleos amigdalianos, a substância cinzenta periqueadutal dorsal, o colículo inferior e algumas camadas do colículo superior (HATIFIELD, 1999). Este circuito processaria principalmente estímulos incondicionados, produzindo um aumento da atividade dirigida para o ataque ou a fuga, além de estímulos condicionados que produziriam comportamentos de esquiva ou de “freezing” (HATIFIELD, 1999). A estimulação elétrica em várias dessas estruturas produz um padrão característico de respostas com atividade motora intensa, incluindo corridas e saltos nas caixas de observação, além de aumento da frequência cardíaca (FC) e da pressão arterial (PA) (GESELMA *et al.*, 1987; COLLEN, 1998; CHEN, 1995). A reação de defesa é o resultado de alterações do padrão comportamental e cardiovascular frente a estímulos ameaçadores ou estressantes. É interessante notar que respostas condicionadas como aumento da PA, bradicardia e

antinocicepção ficam muito diminuídas após lesão ampla da amígdala (IWATA *et al.*, 1987; KAPLAN, 2001). Diferentes projeções eferentes amigdalianas parecem mediar diferentes respostas de medo. Projeções para o núcleo pontino caudal medeiam o sobressalto potencializado pelo medo, eferências para o hipotálamo lateral e para o bulbo relacionam-se às respostas cardiovasculares e, projeções para a substância cinzenta periqueadutal são críticas para comportamentos de “freezing”, à “fuga ou luta” e à antinocicepção (LeDOUX, 1994). Ademais, as áreas do SN central envolvidas nessas atividades relacionam-se com aferências espinais somáticas, com as que trafegam em conjunto com o simpático à medula espinal ou com as regiões que integram informação visceral aferente por via vagal e glossofaríngea (DAVIS *et al.*, 1992; LeDOUX, 1994; LAWRENCE, 1994; TAKENAKA *et al.*, 1996; SCHAFFAR *et al.*, 1997; OBERTO *et al.*, 2001; PAULA *et al.*, 2001).

Neste contexto, então, inclui-se a participação da AMe na regulação da FC e na PA em ratos. E dentre seus subnúcleos, um possível candidato a ser um dos responsáveis por tal contribuição é a AMePD. Conforme já descrito, mas com mais detalhes, a AMePD localiza-se adjacente ao TO e ventralmente à ST na parte do telencéfalo ventral (Figura 3). Em cortes histológicos coronais corados pela técnica de Nissl, a AMePD aparece com a forma de um triângulo alongado, com uma base ventral que se estende no terço caudal da AMe (ALHEID, 1995; de OLMOS *et al.*, 2004). A AMePD apresenta, como característica citoarquitetônica, uma região de células densas medialmente que se estende superficialmente e profundamente, separada por uma região intermediária de células esparsas e, novamente, uma terceira coluna de células orientada paralelamente e mais lateralmente (ALHEID, 1995; de OLMOS *et al.*, 2004; Figura 3). A parte celular da AMe é rodeada, no seu lado ventral e medial, por uma “camada molecular” constituída de poucas células dispersas e que se estreita dorsalmente e rostralmente até desaparecer por completo na AMeAD (de OLMOS *et al.*, 2004), o que corresponde ao feixe de axônios que formam a via eferente do núcleo próprio da via olfativa acessória (de OLMOS *et al.*, 2004). Na AMePD pode-se encontrar vários neurotransmissores e neuromoduladores como glutamato, GABA, histamina, colecistoquinina, encefalinas, somatostatina, substância P e angiotensina II, por exemplo (KAKINOKI, 1998; FLODD, 1998; HERBERT *et al.*, 1990; JONES *et al.*, 1999; MATSUMURA *et al.*, 1999; AVERILL *et al.*, 2000; DAMPNEY *et al.*, 2002; YILMAZER *et al.*, 2003; JIANG *et al.*, 2005). Por toda esta hodologia e, em especial, com a presença de histamina na AMe, esta dissertação buscou esclarecer se a AMePD participa do controle neural da FC e da PA.

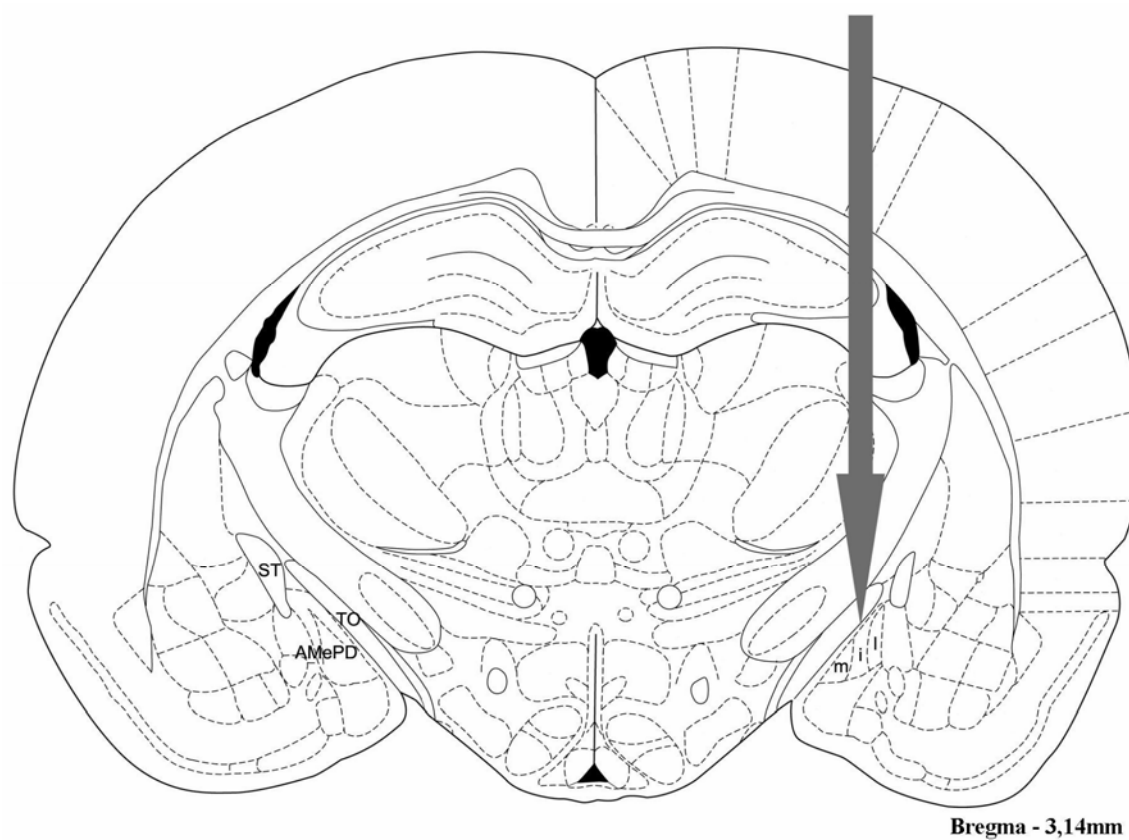


Figura 3 Esquema representativo de corte coronal do encéfalo do rato, 3,14 mm posterior à sutura bregmática, onde se observa a íntima relação existente entre a amígdala medial pósterodorsal (AMePD), o trato óptico (TO) e a estria terminal (ST), demonstrando sua localização, e suas camadas celulares medial (m), intermediária (i) e lateral (l). Adaptada de Paxinos e Watson (1998).

1.2 CONTROLE NEURAL DO SISTEMA CARDIOVASCULAR

Os animais, guardadas suas características próprias, estão submetidos a situações tanto de origem interna como advindas do meio externo que requerem modificações homeostáticas ou adaptativas, imediatas ou a longo prazo, na atividade cardiovascular. Neste sentido, a PA para os diversos órgãos deve ser ajustada, a partir de um valor basal, de acordo com necessidades variáveis e pode se encontrar em níveis fisiológicos ou patológicos. Os ajustes cardiovasculares podem ocorrer por respostas reflexas (ajustados por mecanismo de retroação) e/ou por mudanças que precedem ou são concomitantes à ocorrência dos mais diversos reflexos e comportamentos (TIMO-IARIA, 1988; LONGHURST, 2003; RASIA-FILHO, 2006).

Historicamente, o bulbo foi considerado como o principal local de integração de informações para uma ação tônica ou fásica sobre o sistema cardiovascular. Isso fez com que se cunhasse, em certo período, o termo “centro”. O conceito de “centro”, que sugere que uma função está restrita a uma única região e que a periferia tem ação menos importante, pode fazer com que não se compreenda a organização longitudinal e integrada das diversas áreas do SN central e periférico necessárias para a elaboração de um resultado final adequado a cada momento. Preferentemente, há estruturas interconectadas na direção rostro-caudal formando circuitos, pois que não seriam poucos os “centros” nomeados assim com o sentido de “local de convergência” de informação (TURNER *et al.*, 1986; DALL’AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004b).

A concepção sobre o mecanismo de controle neural da atividade cardiovascular modificou-se nas últimas décadas. Atualmente aceita-se que existam dois mecanismos interativos geradores e/ou reguladores da PA: um que consiste de áreas do SN central que mantêm uma atividade tônica ou basal (com células marca-passo ou em circuitos geradores de atividade) e que, pelos sistemas parassimpático e simpático, influenciam continuamente o coração e os vasos sanguíneos e, outro, que atua de maneira fásica e individualizada nos órgãos-alvo, como nos reflexos cardiovasculares. Ademais, as áreas do SN central envolvidas nessas atividades relacionam-se com aferências espinais somáticas, como as que trafegam conjuntamente com o simpático à medula espinal, ou em regiões que integram informação visceral aferente vagal e glossofaríngea (LONGHURST, 2003). Há como considerar que o primeiro mediador da PA seja a função renal e sua capacidade de excreção diária de sódio, cloro e água, para o que importa a hemodinâmica renal e as ações neurais e hormonais sobre

este órgão (HALL, 1999). Este ponto não será explorado nesta dissertação, embora seja muito relevante.

Já está bem estabelecido que vias neurais que chegam ao encéfalo são capazes de modificar a atividade cardiovascular, compor circuitos envolvidos com reflexos somáticos e viscerais e gerar atividade integrada comportamental no indivíduo (TIMO-IARIA, 1988,1999). Por exemplo, as vias nociceptivas que ascendem pelo feixe espino-talâmico ântero-lateral, espino-reticular, espino-mesencefálico e espino-solitário, dentre outras, geram colaterais ou terminam-se em áreas do tronco encefálico e tálamo que promovem respostas simpáticas e parassimpáticas relacionadas com o estímulo percebido (ALMEIDA *et al.*, 2004). Neurônios do feixe espino-reticular são sensíveis a estímulos químicos (bradicinina) ou mecânicos ventriculares (sístoles “prematuras”) e projetam-se indiretamente para a região intralaminar do tálamo, a qual está relacionada com a elaboração de emoções (LONGHURST, 2003). O feixe espino-mesencefálico atua, em parte, na região cinzenta periaquedutal onde estão neurônios relacionados com resposta de fuga ou imobilidade comportamental mais os ajustes cardiovasculares necessários para tanto (BLANDER *et al.*, 2000). Outras regiões do SN central estão envolvidas com a modulação das emoções e sua estimulação cursa com alterações comportamentais e cardiovasculares como é o caso do córtex límbico e sua relação com vários núcleos hipotalâmicos (GANONG, 2003). Da mesma forma, a estimulação de alguns núcleos na amígdala pode também gerar taquicardia em ratos e no ser humano, dentro de um conjunto de manifestações relacionadas com medo (RASIA-FILHO *et al.*, 2000). Adicionalmente, a atividade cardiovascular participa da plena e adequada elaboração da motricidade voluntária, como na execução de um exercício, onde atuam o córtex motor, pré-motor e motor suplementar e os campos H1 e H2 de Forel (no subtálamo) juntamente com informações proprioceptivas e de quimiorreceptores da musculatura esquelética (LONGHURST, 2003).

É, todavia, no NTS que chegam fibras mielinizadas e não mielinizadas provenientes dos barorreceptores, quimiorreceptores e receptores cardiopulmonares (MICHELINI, 1999) e que parecem utilizar glutamato como neurotransmissor (ou também catecolaminas, acetilcolina, GABA, substância P, angiotensina, óxido nítrico e opióides). O NTS recebe informações convergentes, para serem integradas no tempo e no espaço, sobre grandes vasos sanguíneos, sobre a atividade cardíaca, os pulmões e o trato gastrointestinal (TIMO-IARIA, 1988; MATSUMURA *et al.*, 1999; MIYAWAKI *et al.*, 2002; DALL’AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004b). Associam-se outras áreas do tronco encefálico para a gênese e o controle da PA, a saber: um grupo neuronal localizado na região bulbar ventrolateral caudal

(BVLc, que contém neurônios noradrenérgicos na região A1, mas também de outros tipos na região retro-periambigual e periambigual caudal), outro na região bulbar ventrolateral rostral (BVLr, igualmente chamado de núcleo retrofacial e cuja localização coincide com a dos neurônios adrenérgicos da região C1), o núcleo parabraquial na ponte, o campo tegmental lateral, a área postrema e os núcleos vestibulares (LONGHURST, 2003). O NTS estimula diretamente o BVLc (por ação do glutamato e da angiotensina II) e este, por sua vez, inibe o BVLr e o grupamento celular A5 na parte rostral do bulbo ventro-lateral. A região BVLr emite projeções diretas para as regiões da medula espinal (é a principal origem dos axônios da via simpática retículo-espinal e que se termina principalmente na coluna intermédio-lateral da medula espinal) que, em conjunto, são tônicas na atividade simpática responsável pela manutenção da PA e críticas para a ocorrência dos reflexos cardiovasculares (VASQUEZ *et al.*, 1997; MICHELINI, 1999; LONGHURST, 2003; DALL'AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004b). É notável que neurônios nesta região tenham potenciais de ação marca-passo e sincronizados com o ritmo cardíaco. Coadjuvantes na gênese da atividade simpática estão outros agrupamentos de neurônios na região bulbar ventromedial rostral, na região noradrenérgica A5 na ponte, na região da rafe caudal e no núcleo paraventricular hipotalâmico. Apresentando atividade marca-passo em circuito estão o BVLr, o núcleo da rafe caudal, as regiões pontinas caudal ventro-lateral e dorso-lateral, o campo tegmental lateral e, possivelmente, o BVLc servindo para manter a atividade tônica simpática (LONGHURST, 2003).

A estimulação da região BVLr promove aumento da FC, do volume de ejeção e da resistência periférica total (RPT), o que deve aumentar a PA. Das várias aferências que chegam ao BVLr, a proveniente da região BVLc é capaz de reduzir o tônus simpático e a PA e utiliza como neurotransmissor o GABA (LONGHURST, 2003). Ademais, o NTS também estabelece conexão com os núcleos da rafe, a ACE, núcleos hipotalâmicos como o paraventricular (e dele com a região ântero-ventral do terceiro ventrículo) e supra-óptico (supostamente para regulação da liberação de vasopressina, conjuntamente com a atividade do grupo celular A1), a região hipotalâmica lateral, a substância cinzenta mesencefálica e o *locus ceruleus*. Por outro lado, em situações de aumento súbito da PA, e por aumento da excitação dos barorreceptores, o NTS é excitado e estimula o núcleo dorsal do vago (DMV) e o núcleo ambíguo os quais, por sua vez, geram aumento do tônus parassimpático. Alguns neurônios desses núcleos têm atividade sincronizada com o ciclo cardíaco; estão sob ação do GABA, da galanina, da serotonina, de opióides e do peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; e, recebem aferências dos barorreceptores, quimiorreceptores periféricos, receptores cardíacos e

do nervo trigêmeo. É interessante notar que a estimulação elétrica do núcleo ambíguo no lado direito é capaz de diminuir a atividade sinusal enquanto no lado esquerdo inibe a condução pelo nodo átrio-ventricular (VIARD *et al.*, 2002; LONGHURST, 2003).

Dessa forma, nesse circuito, quando a PA aumenta, excitam-se os núcleos relacionados com a resposta mediada pelo sistema parassimpático no coração e, via BVLc, inibe-se o BVLr reduzindo-se, assim, ao mesmo tempo e de maneira colaboradora para um resultado final, a atividade simpática sobre coração e vasos sanguíneos (MICHELINI, 1999; DALL'AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004b; e, para comentário adicional, veja-se RASIA-FILHO, 2006). E o oposto é verdadeiro quando há diminuição da PA, necessitando-se, portanto, que ocorra aumento da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática (esta provavelmente também por ação do neuropeptídeo Y que é co-liberado nas terminações simpáticas; GANONG, 2003). Para uma resposta completa e eficaz, os barorreceptores também afetam a liberação de vários hormônios que modulam a PA. É o caso, por exemplo, da liberação de adrenalina pela medula adrenal, da vasopressina e do aumento dos níveis plasmáticos de renina (em parte por ação simpática). Assim, por efeito das catecolaminas circulantes há aumento do débito cardíaco (e veja-se a ação da adrenalina e da noradrenalina sobre os receptores α_1 , α_2 , β_1 , β_2 e β_3), mas diferentes efeitos sobre os diversos leitos vasculares (DALL'AGO *et al.*, 2003).

Outros estudos têm demonstrado que a estimulação elétrica e química da AMe desencadeia mudanças na FC e PA em animais normotensos e hipertensos (GALENO *et al.*, 1983; GESELMA *et al.*, 1987; IWATA *et al.*, 1987; SHARMA *et al.*, 1995). A AMe, em conjunto com o septo lateral, a área pré-óptica medial (MPOA), o hipotálamo anterior, o VMN e o hipotálamo ventrolateral, a substância cinzenta periqueadutal e o tegmento adjacente formam um circuito integrado que influencia uma variedade de atividades que dependem de ajustes cardiovasculares amplos para sua ocorrência (SWANSON *et al.*, 1979; MARAGOS *et al.*, 1989; CANTERAS *et al.*, 1995; SWANSON, 1998; COLEEN *et al.*, 1998; SIERLY *et al.*, 2004). Como exemplo, a administração intra-amigdaliana de fenilefrina, substância simpático-mimética, causa aumento da PA e é capaz de gerar respostas simpáticas sistêmicas implicando os diversos núcleos da amígdala na patogênese da hipertensão arterial em ratos (SINGEWALD *et al.*, 2000).

Da mesma forma, estudos anteriores com estimulação elétrica da amígdala em gatos e macacos geraram freqüentemente diminuição na PA, mas provocavam-se aumentos na PA quando as freqüências dos estímulos passavam a ser mais altas (CECHETTO, 2001).

Ademais, em gatos anestesiados, um estímulo de baixa intensidade produzia aumento na PA quando os eletrodos estavam localizados na sua região dorso-medial, enquanto uma resposta hipotensora era evocada na região lateral da amígdala (REIS, 1964; GALENO, 1983; FRISINGER, 1984; RANDALL, 1984; SHARMA *et al.*, 1995; GESELMA, 1987; IWATA, 1987; SATO, 2001; CECHETTO, 2001; TAREK *et al.*, 2002). Em macacos, a estimulação da ACe primariamente produzia um aumento na FC e na PA, já a ativação da ABL provocava bradicardia (REIS, 1964; GALENO, 1983; FRISINGER, 1984; IWATA, 1987; GESELMA, 1987; SATO, 2001; CECHETTO, 2001).

Conjuntamente com a AMe, dela recebendo aferências, a ACe projeta extensivamente para o núcleo dorsal medial do tálamo, o qual se conecta com o córtex infralímbico e insular, formando um completo circuito responsável pela integração ou mesmo iniciação de respostas homeostáticas ou adaptativas em muitas variáveis orgânicas (REIS, 1964; GALENO, 1983; DAVIS, 1992; CECHETTO, 2001). De fato, a ACe envia projeções para vários núcleos hipotalâmicos e núcleos bulbares envolvidos nas funções cardiovasculares como, por exemplo, a região do bulbo ventrolateral (BVL) (SAHA *et al.*, 2000; SAHA, 2005a, 2005b). O BVLr e o BVLc têm um importante papel no controle do reflexo e PA e FC (SAHA *et al.*, 2000; SAHA, 2005a, 2005b). Além das projeções da AMe, direta ou indiretamente para núcleos do hipotálamo relacionados com o controle cardiovascular, há conexões com o NPB, o NTS e o DMV, estruturas que promovem o controle da atividade do coração, vasos sanguíneos e rins (SILVERMAN *et al.*, 1981; TRIBOLLETT *et al.*, 1981; DAVIS, 1992; MACHADO *et al.*, 1992; ONAT *et al.*, 1998; KARSON *et al.*, 1999; TSUCHIHASHI *et al.*, 2000; CECHETTO, 2001; SAHA *et al.*, 2000; SAHA, 2005a, 2005b).

Em coelhos, injeções de antagonista dos receptores α -adrenérgicos no interior da AMe induziu resposta bradicárdica em teste de medo condicionado, sugerindo uma importante interação entre a AMe, a ACe e a área hipotalâmica lateral na resposta cardiovascular para estímulos condicionados (DAVIS, 1992; CECHETTO, 2001). Experimentos em ratos não sedados têm demonstrado que a estimulação elétrica da ACe resulta em um aumento na FC e na PA, enquanto em ratos anestesiados obtêm-se uma diminuição de ambos os parâmetros (REIS, 1964; GALENO, 1983; FRISINGER, 1984; GESELMA, 1987; IWATA, 1987; ARNOLDA *et al.*, 1992; VARDHAN *et al.*, 1993; BURNSTOCK, 1995; CECHETTO, 2001; RAU *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2002). A dependência de estado do animal para o tipo de resposta cardiovascular evocada é adicionalmente demonstrado pelo achado de que a resposta

pressora promovida pela estimulação ampla da amígdala é extremamente atenuada durante o sono nesses animais (FRISINGER, 1984; IWATA, 1987; CECETTO, 2001).

As regiões do seio carotídeo e também do arco aórtico apresentam grande número de estruturas sensíveis a mudanças de pressão no interior destes vasos. Tais estruturas se comportam como mecanorreceptores estimulados pela deformação da parede do vaso, e, com isso, percebem modificações da tensão sobre sua parede (DALL'AGO *et al.*, 1999). O reflexo mediado pelos barorreceptores é responsável por controlar alterações abruptas da PA e, desta forma, manter os níveis dentro de limites estreitos para gerar perfusão tecidual de maneira adequada, assegurando o metabolismo local em função da necessidade de cada tecido (HALL, 1999; GANONG, 2003).

As informações originadas nos barorreceptores são transmitidas pelo nervo glossofaríngeo, no caso dos receptores carotídeos, e pelo nervo vago, no caso dos receptores aórticos, até o NTS (LONGHURST, 2003). Desta forma, aumentos na PA resultam em aumentos na frequência de potenciais de ação ao longo dessas vias e reduções na PA geram o efeito oposto. A partir do NTS os neurônios de segunda-ordem nesta via se projetam para várias regiões encefálicas incluindo-se vários núcleos do hipotálamo, regiões do mesencéfalo e outros grupos de neurônios bulbares, como anteriormente discutido. Todas essas estruturas são importantes locais de controle da atividade simpática e parassimpática. Os barorreceptores arteriais geram um efeito inibitório tônico sobre o tônus simpático, controlando desta forma a RPT e o débito cardíaco (TIMM *et al.*, 2003). Outras evidências, no entanto, demonstram que a modulação da FC pelos barorreceptores é devida primariamente à estimulação de neurônios vagais localizados no núcleo ambíguo e no DMV (SPYER, 2002). Conseqüentemente, a disfunção dos barorreceptores associa-se com aumentos da atividade simpática e principalmente, reduções da atividade parassimpática, aumentando a FC e elevando a variabilidade da PA, o que tem conseqüências importantes no controle cardiovascular. É interessante notar que a sensibilidade do barorreflexo pode ser modificada durante a ocorrência de diversos comportamentos, como no sono, notavelmente nas execuções de comportamentos de defesa ou em exercícios físicos (RASIA-FILHO, 2006). Por exemplo, durante o sono sincronizado profundo (de ondas lentas), a PA, a FC e a atividade simpática normalmente diminuem. Por outro lado, nos períodos do sono paradoxal ou dessincronizado ocorre um aumento da FC e da atividade simpática, juntamente com variações que podem ser amplas da PA e da respiração (THAMES *et al.*, 1994; SAHA *et al.*, 2000; MIFFLIN, 2001; DAMPNEY, 2002; MCKINLEY *et al.*, 2003; SAHA, 2005a, 2005b).

Outro aspecto importante a ser considerado é o papel dos barorreceptores carotídeos em comparação com os aórticos. Estudos em seres humanos indicam que os barorreceptores aórticos têm participação dominante (70%) no controle da resposta da FC durante a ativação do barorreflexo, enquanto os barorreceptores carotídeos participam com os outros 30% da resposta (MANCIA *et al.*, 1977) em situações onde o estímulo para os receptores carotídeos permaneceu constante. Por outro lado, a estimulação dos receptores carotídeos simultaneamente com a diminuição da ativação dos barorreceptores aórticos demonstrou que os barorreceptores carotídeos são os principais contribuintes para a modificação da FC (FADEL *et al.*, 2003). Parece haver, portanto, diferentes níveis de resposta dos barorreceptores, dependendo da interação entre os dois grupos (aórticos e carotídeos).

Os quimiorreceptores periféricos localizados no corpo carotídeo e no arco aórtico são importantes para ajustes ventilatórios em resposta à hipercapnia, à hipoxemia e a quedas do pH plasmático. Além disso, essas respostas são mediadas pela interação entre os quimiorreceptores periféricos e centrais. Hipercapnia e acidose também aumentam a atividade dos quimiorreceptores periféricos e essas condições potencializam o efeito da hipóxia. As aferências dos quimiorreceptores carotídeos e aórticos chegam ao NTS pelos nervos glossofaríngeo e vago, respectivamente. No bulbo essas aferências desencadeiam aumento da ventilação, aumento da atividade simpática periférica e aumento da atividade vagal no coração (THAMES, 1994). A resultante disso promove uma menor FC, mas um volume de ejeção maior por aumento da força contrátil cardíaca. O papel funcional dessas adaptações envolve a manutenção das trocas gasosas (aumento da ventilação), manutenção da perfusão em órgãos vitais como o coração e o SN, o que pode causar vasoconstrição em leitos vasculares momentaneamente não tão vitais como músculos esqueléticos, mesentério e rins, juntamente com vasodilatação coronariana (por ativação vagal cardíaca) e vasodilatação em território nervoso (por causa metabólica). A ativação dos quimiorreceptores carotídeos é inibida pela ativação dos barorreceptores aórticos em situações de aumento da PA e a desativação dos barorreceptores potencializam a resposta ventilatória e vasoconstritora dos quimiorreceptores (como revisado em DALL'AGO *et al.*, 1999). Em quimiorreceptores centrais, no bulbo pode ainda ocorrer estimulação direta de resposta cardiovascular feita pela quantidade de gás carbônico local e por variação na composição do líquido cefalorraquidiano (GANONG, 2003).

Além disso, quando se analisa detalhadamente o traçado eletrocardiográfico, observam-se variações da FC de “batimento a batimento”, o que pode ser facilmente evidenciado medindo os intervalos R-R. Essas variações são resultados da ação dos sistemas

simpáticos e parassimpáticos sobre o nodo sinusal, ou seja, modulando a FC por estímulos simpáticos ou vagal, os quais se apresentam como componentes distintos. Desta forma, o grau de variabilidade da FC, em relação à FC média, pode ser utilizada para avaliar as funções simpáticas e parassimpáticas, embora seja preciso cuidado na interpretação dos dados pois pode haver interferência de uma na outra nas medidas obtidas (SALGADO *et al.*, 2006). As medidas de variabilidade da FC são fáceis de serem realizadas, não invasivas e têm boa reprodutibilidade. São elas: cálculo de índices baseados em operações estatísticas sobre os intervalos R-R (análise no domínio do tempo) ou análise espectral de uma série de intervalos R-R (análise no domínio da frequência). A maioria dos índices de domínio do tempo e da frequência correlacionam-se muito bem com o tônus cardíaco vagal em repouso (HAYANO *et al.*, 1991), o que indica que eles provêm medida acurada deste tônus. Mas, a análise espectral da FC também é método sensível, e permite melhor discriminação das influências vagais e simpáticas do que a análise no domínio do tempo (MALPAS *et al.*, 1990; SPALLONE *et al.*, 1997).

Assim como a FC, também a PA apresenta variações em relação a medidas, o que é igualmente importante fonte de informação quanto aos mecanismos de regulação cardiovascular. A variabilidade da PA tem sido avaliada pelo cálculo da média dos desvios padrões da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) obtida da análise, batimento a batimento, de medidas de PA obtidos. E, nesta dissertação, utilizar-se-á a análise espectral para avaliar a variabilidade da FC e da PA (MALPAS *et al.*, 1990; HAYANO *et al.*, 1991; PARATI, 1995; SPALLONE *et al.*, 1997; PAGANI *et al.*, 1996; PAGANI *et al.*, 1997; JULIEN *et al.*, 2001; MALPAS *et al.*, 2001; MALPAS, 2002; SALGADO *et al.*, 2006) após microinjeção de substâncias na AMePD, como será descrito adiante no texto.

1.3 NEURÔNIOS HISTAMINÉRGICOS

A histamina (HA) é liberada por neurônios localizados exclusivamente no núcleo tuberomamilar (TM) do hipotálamo e que emitem projeções para várias regiões do encéfalo (REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN; STEVENS; HASS, 2000). O nome dado ao TM deriva do termo anatômico *tuber cinerum*, localizado rostralmente aos corpos mamilares e caudalmente ao quiasma óptico, formando o assoalho do terceiro ventrículo no hipotálamo (SCHWARTZ *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000). A presença da HA é relativamente baixa no SN em comparação com outros tecidos e a função está pouco esclarecida até o presente momento. Marcadas diferenças na densidade de muitas células histaminérgicas ocorrem de acordo com a espécie, o sexo e de acordo com estado fisiológico do animal estudado (REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000).

A HA é sintetizado a partir da descarboxilação do aminoácido L-histidina pela histidina descarboxilase (HDC). Isoladamente não existe nenhum mecanismo de captação para a histamina, sendo sua ação interrompida por metilação enzimática, pela ação da histamina N-metiltransferase (HNMT) para catabolizá-la em tele-metil-histamina. Esta é degradada pelo ácido tele-metil-imidazoleacético pela monoamina oxidase e por ação da aldeído desidrogenase (REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000; Figura 4).

Neurônios histaminérgicos são geralmente células de aproximadamente 25-30 µm de diâmetro somático, as quais contêm outras substâncias neuroativas ou, pelo menos, enzimas para sua síntese, incluindo-se: GABA, adenosina, met-enkefalina, galanina e substância P (RYOZO, 1983; HUSZTI *et al.*, 1998; GABARG *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000). Como avaliado por microdiálise no TM e em outros núcleos hipotalâmicos adjacentes, a liberação da HA em ratos segue um ritmo circadiano, diminuindo durante o dia e aumentando durante a noite (DOGTEROM, 1976; FINCH, 1976; FOLKOW *et al.*, 1982; ERICSON, 1991; CACABELOS *et al.*, 1995; TAKESHITA *et al.*, 1988; FLODD, 1998; FRANK, 1998; SCHWARTZ *et al.*, 1991; DI CARLO, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000; CANGIOLI *et al.*, 2002; ALVAREZ *et al.*, 2002). De fato, Mochizuki *et al.* (1992) relataram que os níveis de HA no hipotálamo anterior de ratos eram mais elevados durante o período escuro, do dia quando a atividade locomotora do animal está elevada. As concentrações extracelulares da HA no hipotálamo medial de ratos foram medidas por microdiálise como sendo, em média, de 7,8 nM (ITOH *et al.*, 1990). Já as concentrações de HA extracelular nos

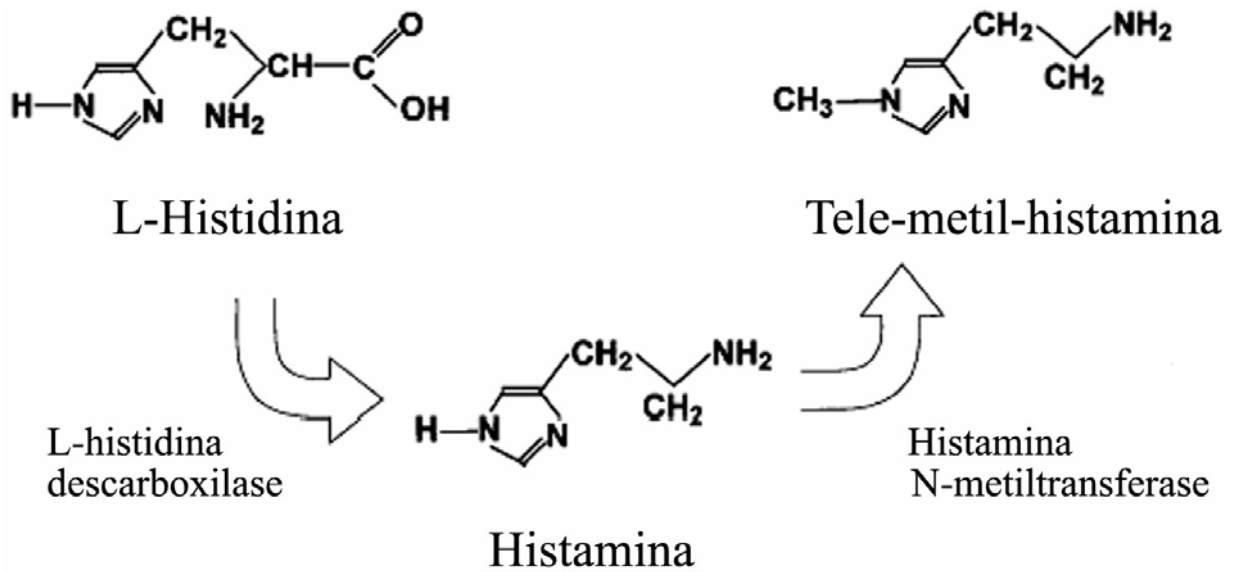


Figura 4 Representação esquemática da síntese da histamina (lado esquerdo da figura) e de sua degradação (lado direito da figura) no sistema nervoso de mamíferos. As substâncias precursora e final estão no topo da figura e as enzimas necessárias para as etapas bioquímicas na sua parte inferior. Adaptada de Reitchie et al. (2000).

núcleos da base de ratos acordados e com livre deambulação foi medido como sendo de 6,2 nM (GRANATA *et al.*, 1987; CHIKAI, *et al.*, 1993; CHU *et al.*, 2004).

Os neurônios histaminérgicos no TM enviam axônios que inervam praticamente todo o encéfalo e partes da medula espinal (HELMUNT, 1996; REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000). Técnicas anatômicas têm permitido observar que o TM recebe aferências do córtex pré-frontal, córtex infralímbico, de várias regiões septais e de vários grupos celulares do hipotálamo, particularmente da área pré-óptica (POA) e áreas da região anterior (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Duas vias eferentes ascendentes e uma via eferente descendente têm sido identificadas a partir do TM. As vias ascendentes ventrais fornecem a inervação para vários núcleos hipotalâmicos, para a banda diagonal de Broca, para a área septal e para o bulbo olfativo, enquanto a via dorsal deixa o TM dorsalmente, seguindo a parte lateral do terceiro ventrículo, para inervar diversos núcleos do tálamo, do hipocampo, da amígdala e outras estruturas rostrais do cérebro (GABARD *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000). A via descendente em ratos é associada com o fascículo longitudinal medial e fornece axônios para o tronco encefálico e à medula espinal, assim relacionado-se com o controle cardiovascular (GABARD *et al.*, 1991; BROWN *et al.*, 2000). Neste sentido, axônios que liberam HA projetam-se do TM para o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e o BST e há, também, moderada inervação na ACe (BEALER *et al.*, 1999). Ademais, a ABL é inervada densamente por fibras histaminérgicas (POLLARD *et al.*, 1993; RYU *et al.*, 1995; PANULA *et al.*, 1984; BROWN *et al.*, 2001; PASSANI, 2001; PILLOT *et al.*, 2002; PASCALE, 2004). Mas é, no entanto, nos subnúcleos da AMe que existe a maior concentração de terminais histaminérgicos e, principalmente, de receptores do tipo H₃, descritos a seguir (PILLOT *et al.*, 2002).

A HA atua em três receptores distintos. Todos os três tipos de receptores histaminérgicos possuem sete regiões transmembrana, com associação intracelular e acoplados à proteína G (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Receptores H₁ exibem localização principalmente pós-sináptica e causam resposta excitatória, estão acoplados à fosfolipase C e a sua ativação leva à formação de inositol trifosfato (IP₃) e de diacilglicerol a partir de fosfolípidios da membrana celular (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). O IP₃ gera uma rápida liberação do Ca⁺² do retículo endoplasmático liso, os diacilgliceróis e o Ca⁺² ativam as cinases da proteína C, enquanto o Ca⁺² igualmente ativa a cinase da proteína dependente de Ca⁺² / calmodulina na célula-alvo (TISHIBASHI *et al.*,

1988; BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Maiores concentrações do receptor H₁ estão presentes em certos núcleos do tálamo, no córtex cerebral, no tegmento mesencefálico, no locus *ceruleus* e nos núcleos da rafe (SCHWARTZ *et al.*, 1991; BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Também estão presentes em áreas do sistema límbico, incluindo muitos núcleos do hipotálamo, na AMe e várias áreas do hipocampo, no núcleo *accumbens*, nas camadas moleculares do cerebelo, nos núcleos dos nervos cranianos, na área postrema e no NTS (SCHWARTZ *et al.*, 1991; BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Como os receptores H₁ geram uma despolarização e um aumento da frequência de potenciais de ação, parece ser que no córtex cerebral e no tronco encefálico eles contribuem para o estado de vigília e atenção, enquanto antagonistas do receptor H₁ produzem sedação (FOLKOW *et al.*, 1982; TAKESHITA *et al.*, 1988; SCHWARTZ *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000).

Os receptores H₂ são inibitórios na região pós-sináptica (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Maiores concentrações de receptores do tipo H₂ são encontradas nos núcleos da base e em partes do córtex cerebral, tanto nas células de Purkinje como em células granulares no córtex cerebelar e, no sistema límbico, na formação hipocampal e na amígdala. Em contraste com os receptores H₁, os receptores H₂ estão presentes em baixa densidade na área septal e nos diversos núcleos hipotalâmicos e talâmicos (FOLKOW *et al.*, 1982; TAKESHITA *et al.*, 1988; SCHWARTZ *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000).

Os receptores H₃ são autoreceptores inibitórios que atuam no neurônio pré-sináptico e regulam a liberação da HA (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Postula-se que, nas células do TM, a HA não aumente a condutância ao potássio, mas, mais provavelmente, atue inibindo uma corrente de influxo de Ca⁺² para as células. Esta inibição da corrente de Ca⁺² reduziria a frequência dos potenciais de ação nesses neurônios (FOLKOW *et al.*, 1982; TAKESHITA *et al.*, 1988; FLODD, 1998; SCHWARTZ *et al.*, 1991; REITCHIE *et al.*, 2000; BROWN *et al.*, 2000; CANGIOLI *et al.*, 2002). Altas densidades de receptores H₃ são encontradas no núcleo *accumbens*, nos núcleos da base, no tubérculo olfativo, na substância nigra, na ABL, e, na AMe e, moderadamente, em alguns núcleos do hipotálamo (DI CARLO, 2000; CANGIOLI *et al.*, 2002). É interessante que fármacos agonistas dos receptores H₃ reduzem a liberação de HA, noradrenalina, dopamina e 5-HT em ratos (CANGIOLI *et al.*, 2002). Em outro estudo onde foi usada a técnica de microdiálise em ratos e com a administração diretamente na ABL de agonista dos receptores H₃, metil-histamina (metil-histamina) houve maior liberação de acetilcolina localmente (STEPHEN, 1999; CANGIOLI *et al.*, 2002; JOCHEM, 2004). De uma forma interrelacionada, a síntese e a liberação da HA

estão sob controle do autoreceptor inibitório H_3 localizados no corpo celular e terminais dos axônios de neurônios histaminérgicos, embora a liberação de HA em regiões-alvo também possa estar sob controle de receptores colinérgicos M_1 , adrenoreceptores α_2 , receptores $5-HT_{1A}$, receptores para opióides endógenos κ e μ , e por ação da galanina (VAN de KAR, 1991; OISHI *et al.*, 1994; KAKINOKI, 1998; STEPHEN, 1999; REITCHIE *et al.*, 2000; DI CARLO, 2000; Figura 5).

No SN central, há evidências de que a HA atue na gênese e no controle de processos cognitivos e de memória, da modulação do medo e da ansiedade, do ciclo de sono e vigília e, para tanto, de mecanismos homeostáticos concomitantes como os da atividade do sistema cardiovascular (WADA *et al.*, 1991; BEALER *et al.*, 1999; CANGIOLI *et al.*, 2002). Vários estudos sobre o efeito da HA sobre a atividade neuroendócrina sugerem que a HA central pode elevar os níveis de ACTH, do hormônio luteinizante (LH), da prolactina e da vasopressina, diminuindo os níveis dos hormônios do crescimento e da tireotrofina e induzindo hipotermia, elevando a PA e gerando hiperglicemia (DOGTEROM *et al.*, 1976; FINCH *et al.*, 1976; DONOSO *et al.*, 1978; CACABELOS *et al.*, 1985; TAKATOSHI, 1996; KENNEY, 1993; SAPOLSKY, 1999; KUBO, 2004).

A administração intracerebroventricular de HA aumenta a PA, acompanha-se de bradicardia em ratos acordados e não sedados ou gera taquicardia em animais anestesiados (FINK *et al.*, 1976; RYU *et al.*, 1995; BROWN *et al.*, 2000). De fato, centralmente, a injeção de HA causa aumento na PAM e uma queda na FC, o que pode ser mediado por ambos os receptores H_1 e H_2 (AKINS; BEALER, 1991; FUKUMORI, 2004). A ação hipertensiva da HA resulta de uma estimulação da atividade simpática e da participação da vasopressina (FINK *et al.*, 1976; RYU *et al.*, 1995; TOYOTA, 1998; BROWN *et al.*, 2000; PASSANI *et al.*, 2002; CANGIOLI *et al.*, 2002). O PVN recebe densa inervação histaminérgica que é relevante para a regulação do sistema cardiovascular, podendo ocorrer aumento da FC e da PA (BEALER, 1999). Microinjeções de HA nas regiões hipotalâmicas posterior ou anterior produziram aumento da resposta cardiovascular (BEALER, 1999). Da mesma forma, microinjeção de HA nas regiões BVLr em ratos despertos provoca um aumento da FC e da PA, enquanto a mesma administração em ratos anestesiados provocou uma bradicardia e hipotensão (BEALER, 1999).

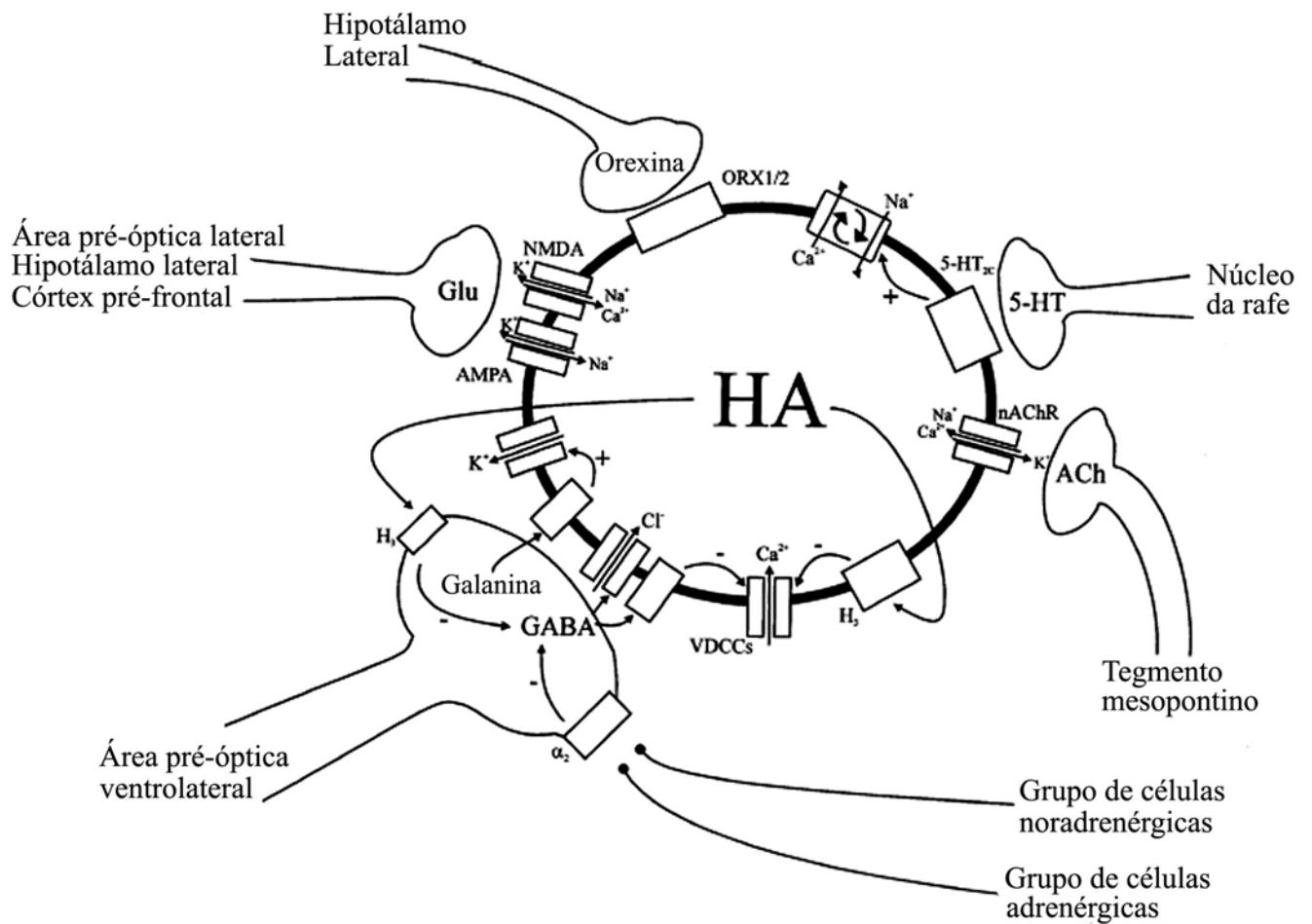


Figura 5 Esquema do mecanismo de controle e da interação de diversas eferências em neurônios histaminérgicos do núcleo túbulo-mamilar hipotalâmico de ratos. As abreviaturas referem-se a: 5-HT (serotonina), ACh (acetilcolina), Glu (glutamato), GABA (ácido gama-aminobutírico), nAChR (receptor nicotínico para acetilcolina) e VDCCs (canais de cálcio dependentes de voltagem). Adaptada de Reitchie et al. (2000).

O papel da HA na ativação do sistema nervoso simpático tem sido avaliado pelas medidas de concentração plasmática de catecolaminas depois da administração de HA no SN central. A depleção de HA no hipotálamo de ratos gera bradicardia e respostas pressóricas diminuídas (AKINS, 1991; BEALER, 1999). Estimulação dos corpos celulares histaminérgicos no TM aumenta a concentração plasmática de noradrenalina, o que indica que os receptores histaminérgicos centrais podem aumentar a atividade dos nervos simpáticos periféricos e a secreção de catecolaminas da medula adrenal e, assim, das variáveis cardiovasculares (BEALER, 1999). Como a HA central é um potente estímulo para liberação de vasopressina via receptor H_1 (DOGTEROM *et al.*, 1976), pode haver uma conjugação entre o sistema nervoso simpático e a ação pressórica da vasopressina (DOGTEROM *et al.*, 1976; BEALER, 1999). Além disso, injeções intracerebroventricular de HA também aumentaram a concentração de renina no plasma e, conseqüentemente, os níveis circulatórios do hormônio vasoconstritor angiotensina II (BEALER, 1999; DOGTEROM *et al.*, 1976). Outros experimentos têm mostrado que a liberação da HA e o metabolismo da HA são alterados em animais hipertensos (DOGTEROM *et al.*, 1976; BEALER, 1999). Com isso, constituem-se evidências para sugerir que a HA possa estar envolvida na regulação de balanços hidro-eletrolítico e sua repercussão, juntamente com a atividade simpática, no sistema cardiovascular (GALENO, 1983; APPEGATE *et al.*, 1988; AKINS, 1991; BEALER, 1999).

É importante ressaltar, no entanto, que não há estudos que demonstrem qual a participação da atividade histaminérgica da AMe sobre o controle cardiovascular até o momento. E isto passa a ser um dado relevante dado a presença marcada de HA e de receptores H_3 nos subnúcleos da AMe, da modulação de comportamentos que necessitam de ajustes de FC e PA concomitantes para sua ocorrência e para o que a AMe é parte integrante importante. Como esses dados ainda são inéditos na literatura, mas há um embasamento teórico que permite aceitar sua interrelação, os objetivos desta dissertação foram os de estudar, de forma inédita, o papel da AMePD e sua inervação histaminérgica na atividade cardiovascular e nas resposta reflexas mediadas por barorreceptores e quimiorreceptores periféricos. Os presentes dados podem muito bem contribuir para o estudo da neurofisiologia envolvida com o controle neural central da PA e, teoricamente, serem aplicáveis também à fisiopatologia de diversos distúrbios cardiovasculares.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAIS

Baseados em dados experimentais que demonstraram que a AMePD é região encefálica relacionado com a modulação de diversos comportamentos e que igualmente pode estar envolvida no controle da atividade cardiovascular por causa de suas eferências com a ACe e com núcleos hipotalâmicos necessários para as respostas endócrinas, simpáticas e parassimpáticas, a hipótese inicial deste trabalho é de que a abundante presença da HA na AMePD possa estar relacionada com a gênese e/ou modulação do controle central da atividade cardiovascular, bem como modular as respostas reflexas geradas pelos barorreceptores e pelos quimiorreceptores.

Em sentido amplo, busca-se estudar qual a participação de uma área específica do SN central, a AMePD, no controle da FC e da PA e seus ajustes homeostáticos relacionando-os com a atividade histaminérgica local. Os resultados advindos do presente estudo podem contribuir para avançar o conhecimento sobre a base neural de controle de tais parâmetros. Ademais, busca-se revelar qual a base neuroquímica dessa atividade, colaborando com os dados existentes na literatura, mas desvendando algo ainda inédito que é a contribuição da histamina e de seus receptores H₃ na AMePD no controle da atividade cardiovascular basal e na faixa de atuação reflexa mediada por estimulação barorreceptora e quimiorreceptora.

2.2 ESPECÍFICOS

1- Estudar a atividade cardiovascular quanto aos parâmetros de FC e PA em animais não anestesiados após microinjeção diretamente na AMePD de salina, histamina (em duas doses) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃.

2 - Avaliar a resposta cardiovascular reflexa de FC e PA desencadeada pela estimulação dos barorreceptores e quimiorreceptores em animais não anestesiados após microinjeção diretamente na AMePD de salina, histamina (em duas doses) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃.

3 – Determinar a variabilidade nas respostas cardiovasculares de FC e PA desencadeados pela microinjeção diretamente na AMePD de salina, histamina (em duas doses) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, pela análise espectral dos dados obtidos dos animais estudados na condição 1, acima mencionado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Ratos Wistar machos com três meses de idade e pesando entre 250 a 300 g foram utilizados neste experimento. Os animais foram mantidos em condições padrão de biotério, com água e comida *ad libitum*, temperatura em torno de 22° C e ciclo claro/escuro de 12 h cada.

Como regra, procurou-se minimizar o número de animais estudados e seu sofrimento. Para isso, todos os animais foram estudados de acordo com as leis internacionais de cuidado e ética em experimentação científica (Diretrizes do Conselho Europeu de 24 de novembro de 1986, 86/609/EEC) e as normas brasileiras vigentes de ética para experimentação animal. O projeto relacionado a esta dissertação foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre sob o número 078/03.

3.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

Seis dias antes do registro da PA, os animais foram anestesiados com cetamina (Dopalen®, Vetbrands, Brasil; 80 mg/kg) e xilasina (Dorcipec®, Vallée, Brasil; 10 mg/kg) por via intramuscular e submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação unilateral (no lado direito, conforme ADAMEC *et al.*, 1994) de cânula na AMePD. As coordenadas para tal propósito foram adaptadas a partir dos dados apresentados no atlas do encéfalo de rato de Paxinos e Watson (1998). Ou seja, para a AMePD, foram utilizados os seguintes parâmetros: 3,4 mm posterior à sutura bregmática; 3,6 mm lateral à sutura sagital; e, 5,7 mm abaixo da

dura-máter, respeitando-se o fato que a cânula-guia deveria ficar 2,0 mm acima do local desejado para que, posteriormente, a agulha de microinjeção fosse introduzida (até 2 mm abaixo da parte inferior da cânula implantada) na parte superior do núcleo “alvo”, sem lesá-lo mecanicamente (Figura 6).

3.3 CANULAÇÃO ARTERIAL E VENOSA

Cinco dias após a cirurgia estereotáxica, o que corresponde também ao dia anterior ao registro da PA, os animais foram anestesiados novamente com cetamina (80 mg/kg) e xilasina (10 mg/kg) para colocação de cateteres de polietileno (PE-10, Austrália, com diâmetro interno de 0,28 mm e que foi conectado a outro PE-50, Austrália, com diâmetro interno de 0,5 mm) em dois acessos vasculares periféricos. As cânulas foram preenchidas com solução isotônica de NaCl e posicionadas no interior da artéria aorta abdominal e da veia cava inferior, através da artéria e veia femural esquerdas, respectivamente, ou seja, por meio de uma pequena incisão na pele da região inguinal esquerda, em direção ao feixe vâsculo-nervoso femural, foram introduzidas as cânulas com menor calibre (PE-10) na artéria e na veia femurais. As cânulas foram fixadas com fio de algodão em ambos os vasos, as extremidades mais calibrosas das cânulas foram passadas por via subcutânea e exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele. Isso serviu para registro da FC e da PA (por via arterial) e administração de fármacos (por via venosa), respectivamente. Após o término da cirurgia, os animais receberam uma única injeção intramuscular de gentamicina (Gentrin®, Brasil 20 mg/ml administrado 0,1 ml por rato).

Um dia após a colocação dos cateteres para registro da FC e da PA, conforme descrito, os animais tiveram suas cânulas testadas para comprovar que não estavam obstruídas. Em seguida, com os animais não anestesiados, uma agulha de menor diâmetro conectada em uma microseringa de Hamilton (Hamilton Company, EUA) foi introduzida pela cânula até atingir a parte superior da AMePD. Os registros da atividade cardiovascular foram feitos na manhã de cada dia de experimento. A microinjeção estereotáxica durava 1 minuto e a agulha permanecia por outro minuto adicional após isso para diminuir a possibilidade de refluxo da substância a ser testada. Para se ter certeza do processo em si, observava-se o deslocamento de uma bolha de ar no interior da microseringa e testava-se a saída de líquido desta antes e após o procedimento no animal (conforme de CASTILHOS *et al.*, 2006).

Neste momento os ratos foram divididos em diferentes grupos experimentais: 1) animais microinjetados com salina (0,3 μ l; n = 10) para servir como controle, 2) animais microinjetados com histamina (Sigma Chemical Company, EUA) na dose de 10 nM dissolvido em 0,3 μ l de salina (n = 8), 3) animais microinjetados com histamina (Sigma Chemical Company, EUA) na dose de 100 nM dissolvido em 0,3 μ l de salina (n = 8) e, 4) animais microinjetados com agonista dos receptores H₃ da histamina, metil-histamina (Sigma Chemical Company, EUA) na dose de 10 μ M dissolvidos em 0,3 μ l de salina (n = 7).

Cada animal foi mantido em uma caixa individual (Plexiglas, 25x15x10 cm) durante o registro das variáveis cardiovasculares em período pré-microinjeção, controle, e pós-microinjeção, teste. A cânula arterial foi conectada a uma extensão de 40 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do registro. A extensão em uma das extremidades foi conectada com a cânula arterial e a outra, com um transdutor eletromagnético (P23 Db, Gould-Statham, EUA) que, por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Hewlet-Packard 8805C, Puerto Rico, EUA). O sistema de transdução de sinal estava conectado a um microcomputador equipado com sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, DATAQ Instruments, Akron, EUA) permitindo análise dos pulsos de PA momento-a-momento, com uma frequência de amostragem de 1000 Hz por canal, para estudo dos valores de FC e PAS, PAD e PAM.

Sinais de FC e da PA foram gravados durante um período de 3 minutos de atividade cardiovascular basal, como registro controle basal, pré-microinjeção de substâncias na AMePD. A seguir era microinjetada uma primeira dose da substância em estudo (salina, histamina 10 nM, histamina 100 nM ou metil-histamina 10 μ M) e, 5 minutos após, eram testadas as variáveis cardiovasculares de interesse por 20 minutos. Antes de avaliar a sensibilidade dos barorreceptores ou dos quimiorreceptores, fazia-se novamente a microinjeção da substância em estudo na AMePD, totalizando, assim, 3 microinjeções de salina, histamina 10 nM ou histamina 100 nM ou de metil-histamina 10 μ M durante todo o experimento. As respostas mediadas pelos barorreceptores ou pelos quimiorreceptores foram testados aleatoriamente entre os animais, iniciando-se com um ou outro reflexo a ser estudado, com doses crescentes de KCN, fenilefrina ou nitroprussiato de sódio conforme detalhados a seguir.

3.4 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS BARORRECEPTORES

Após 5 minutos da microinjeção de salina, de histamina (10 nM e 100 nM) ou de metil-histamina, a sensibilidade dos barorreceptores foi testada pela infusão endovenosa de fenilefrina (Sigma Chemical Company, EUA) em doses crescentes desde 0,25 µg/ml até 10 µg/ml, e de nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, EUA) em doses crescentes desde 2,5 µg/ml até 100 µg/ml (de acordo com FRANCHINI *et al.*, 1996). Essas substâncias também foram infundidas aleatoriamente entre os animais e em cada grupo experimental. Fenilefrina serviu como um potente estimulador dos receptores α_1 adrenérgicos cuja ação predominante se dá nas arteríolas periféricas causando vasoconstrição. Esta substância foi usada para provocar aumento da PA. Esse aumento da PA deveria ser seguido de uma bradicardia reflexa comandada pelos barorreceptores. Nitroprussiato de sódio serviu como um potente vasodilatador tanto de arteríolas como de veias e cuja ação ocorre por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3', 5'- guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa de vasos e outros tecidos. Tal substância foi usada para provocar queda da PA, o que deveria ser seguida por uma resposta taquicárdica reflexa comandada pelos barorreceptores. Cada dose subsequente de fenilefrina e nitroprussiato de sódio foi administrada com intervalos de pelo menos 5 min entre as mesmas e somente após os parâmetros cardiovasculares terem retornado aos níveis basais, estando o animal em repouso.

Posteriormente, os valores de FC correspondentes aos valores de PAM no período basal, bem como durante aumentos ou quedas da PA, foram tomados para análise das respostas do reflexo mediado pelos barorreceptores. Essas respostas da FC foram avaliadas por um programa de computador específico para ajustes de curva sigmoidais (Sigma Plot, EUA), de acordo com o modelo matemático adaptado por Head e Mccarty (1987), conforme a fórmula:

$$FC = Pb + (Pt - Pb) / [1 + \exp(-4,56 \cdot G) / (Pt - Pb) \cdot (PA_{50} - PAM)],$$

onde:

FC = frequência cardíaca;

Pb = platô de bradicardia que significa a resposta máxima da queda na FC (em bpm) induzido pelo aumento da PA (em mmHg);

Pt = platô de taquicardia, que significa a resposta máxima do aumento da FC (em bpm) induzido pelo decréscimo da PA (em mmHg);

Pt – Pb = (em bpm) = corresponde à amplitude da faixa operacional do reflexo mediado pelos barorreceptores;

G = ganho (bpm/mmHg) médio ou sensibilidade média do barorreflexo;

PA₅₀ = corresponde ao valor de PA (em mmHg) no ponto de maior inclinação (“slope”) da curva de PA. Ou seja, o nível de PA no qual o baroreflexo mostra o ganho máximo;

PAM = pressão arterial média, conforme descrito anteriormente.

3.5 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DOS QUIMIORRECEPTORES

Da mesma forma que para testar a sensibilidade dos barorreceptores, guardada a metodologia empregada de injeção aleatória dos fármacos para testar as respostas reflexas, 5 minutos após a microinjeção de salina, histamina nas duas doses ou metil-histamina, o reflexo comandado pelos quimiorreceptores foi testado pelo uso de injeções endovenosas de cianeto de potássio (KCN, Merck, EUA). KCN produz hipóxia histotóxica pela inibição da enzima citocromo oxidase e conseqüente diminuição da produção de ATP. Isso estimula os quimiorreceptores periféricos a desencadear uma resposta reflexa com componente parassimpático, representado por uma intensa bradicardia, e simpático com aumento da força de contração miocárdia seguida de aumento da PA. Nesta etapa experimental foram feitas injeções em doses crescentes de KCN (60, 100, 140 e 180 µg/kg, de acordo com DALL’AGO *et al.*, 1999). O volume injetado em cada dose foi de 0,06 até 0,18 ml, variando conforme o peso do rato. A FC e a PA foram registradas por um período de 15 s antes da injeção da droga e por um período de 45 s após a injeção de cada dose acima mencionada. A bradicardia imediatamente antes do aumento da PA, bem como os valores máximos de PA, obtidos pela comparação entre os valores basais e os valores após a injeção do KCN foram usados para quantificar as respostas de FC e de PA desencadeadas pela ativação dos quimiorreceptores. Cada dose subsequente de KCN foi administrada com intervalos de pelo menos 5 min entre as mesmas e somente após os parâmetros cardiovasculares terem retornado aos níveis basais, estando o animal em repouso.

3.6 VARIABILIDADE NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA (ANÁLISE ESPECTRAL MODELAMENTO AUTO-REGRESSIVO)

Cada “batimento cardíaco” foi identificado através da utilização de algoritmo implementado no Windaq/DATAQ, que automaticamente realizou a detecção dos intervalos de pulso, do evento sistólico da onda do sinal de PA. Após esta leitura automática foi realizada uma verificação por inspeção visual, para identificar e/ou corrigir alguma marcação não correta. Em seguida foi gerada a série temporal de cada sinal a ser estudado, isto é, o intervalo de pulso cardíaco (tacograma) e da pressão arterial sistólica (sistograma). Quando necessário, utilizou-se a interpolação linear da série tacograma e sistograma, para retirar as distorções indesejáveis. Os dados foram armazenados em arquivos em formato texto e utilizados, posteriormente, em um programa de análise espectral autorregressiva linear, o qual detectou a frequência central, número e potência de cada componente. A faixa de frequência de interesse para análise espectral no rato encontra-se no intervalo que vai de 0 até 3Hz. A potência espectral foi integrada em duas faixas de frequência de interesse: altas frequências (HF), entre 0,75 e 3,0 Hz e, baixas frequências (LF), entre 0,20 e 0,75 Hz (MALPAS *et al.*, 1990; HAYANO *et al.*, 1991; PARATI, 1995; PAGANI *et al.*, 1996, PAGANI *et al.*, 1997; SPALLONE *et al.*, 1997; JULIEN *et al.*, 2001; MALPAS *et al.*, 2001; MALPAS, 2002; SALGADO *et al.*, 2006), os quais serviram para estudar a variabilidade nos dados obtidos.

3.7 PERFUSÃO CARDÍACA E ANÁLISE HISTOLÓGICA:

Imediatamente após o término de cada experimento, os animais foram novamente anestesiados com cetamina (80 ml/kg) e xilasina (10 ml/kg) e submetidos a uma incisão abdominal transversa para, pelo diafragma, adentrar-se à caixa torácica. O ventrículo esquerdo era identificado, injetava-se heparina (5000 UI) e era feita a perfusão por via transcardíaca com 150 ml de formol a 8% (Reagen®, Brasil) como substância fixadora histológica. O encéfalo do rato foi retirado da caixa craniana e permaneceu em solução de perfusão com a mesma composição por no mínimo 5 dias.

A seguir, os encéfalos foram seccionados em vibrátomo (Leica, Alemanha) em secções coronais seqüenciais de 60 µm de espessura para identificação do trajeto da cânula implantada e, na maioria dos casos, do trajeto da agulha de microinjeção. Os cortes foram colocados em lâminas gelatinizadas, secos em estufa e foi feita a coloração dos cortes pelo

emprego da corriqueira técnica histológica de hematoxilina-eosina. A seguir, foram imediatamente mergulhados em soluções com concentrações crescentes de álcool, em carboxilol para clareamento, e cobertos com bálsamo do Canadá e lamínula. Após secagem, os cortes foram analisados em estereomicroscópio (Olympus, Japão) para identificação precisa da localização das cânulas e do trajeto provável da agulha de microinjeção das substâncias estudadas na AMePD. Somente os animais onde as cânulas foram colocadas em local adequado foram considerados para posterior análise dos dados e comparações dentro de cada grupo e entre os grupos experimentais. Da mesma forma, todos os animais que apresentavam evidências histológicas de sangramento excessivo no parênquima nervoso ou lesão mecânica devido à microinjeção diretamente na AMePD ou na ST foram descartados do presente estudo. Via de regra, as microinjeções classificadas como válidas atingiram a parte lateral do TO ou superior da ST, de onde a difusão das substâncias injetadas deve ter atingida a AMePD sem, no entanto, lesioná-la diretamente (Figura 6).

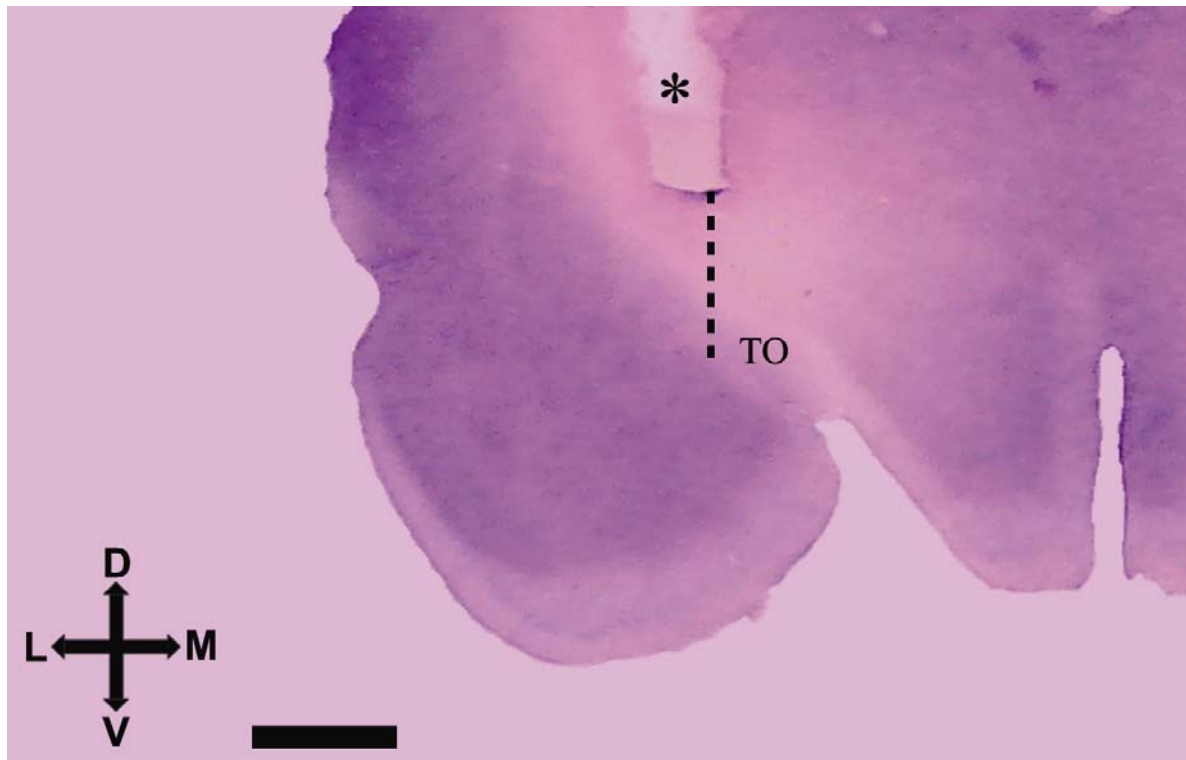


Figura 6 Corte coronal de 60 μm de espessura da parte médio-ventral do encéfalo do rato para identificação do trajeto da cânula implantada e, na maioria dos casos, do trajeto provável da cânula-guia (*) e, em pontilhado, o trajeto provável muito mais discreto da agulha de microinjeção até a parte superior da amígdala medial póstero-dorsal direita. Técnica da hematoxilina-eosina. Para comparações com a figura esquemática de atlas, vejam-se as Figuras 2 e 3. A escala equivale a 1,5 mm e as coordenadas especiais estão colocados na parte inferior esquerda da figura.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Por terem preenchido os requisitos formais para a utilização de testes estatísticos paramétricos, os dados de FC, PAS, PAD e PAM e os dados provenientes dos testes da resposta reflexa quimiorreceptora (FC e PA após doses diferentes de KCN) foram analisados pelo teste da análise da variância (ANOVA) de duas vias para medidas repetidas, ou seja, nesses parâmetros, os valores pré-microinjeção, como registro controle e os dados após microinjeção na AMePD de salina, histamina nas doses de 10 nM ou de 100 nM e de metil-histamina na dose de 10 μ M foram comparados dentro de cada grupo experimental respectivo e entre os grupos experimentais estudados. Com isso, pela estrutura do teste empregado, comparam-se os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção entre os grupos experimentais, os dados dentro os grupos estudados e, igualmente, a interação entre esses fatores. Em todos os casos o teste *post hoc* de Newman-Keuls para comparações múltiplas foi empregado quando apropriado.

Para os demais dados obtidos nos quatro grupos experimentais microinjetados na AMePD que corresponde ao valor de PA_{50} após estimulação dos barorreceptores, o Pb após estimulação dos barorreceptores, o Pt após estimulação dos barorreceptores, o G após estimulação dos barorreceptores e a amplitude da faixa operacional do reflexo barorreceptor (Pt – Pb) foram submetidos ao teste da ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls para comparações entre os grupos experimentais.

Por fim, os dados referentes à análise espectral dos componentes dos dados obtidos após microinjeção das substâncias testadas na AMePD e que dizem respeito à FC, PAS média, à variabilidade da PAS, ao componente de baixa frequência do tacograma (LF), a

componente de alta frequência do tacograma (HF) e à relação entre esses dois componentes do tacograma foram comparados pelo teste da ANOVA de uma via e, a seguir, pelo teste de Tukey para comparações múltiplas, entre os 4 grupos experimentais testados.

5 RESULTADOS

Os dados estão apresentados nas Figuras 7-24 e, quando preciso, como média \pm desvio padrão (DP). Nos grupos experimentais estudados após microinjeção na AMePD de salina, histamina na dose de 10 nM e na dose de 100 nM ou de agonista dos receptores H₃, histaminérgicos, metil-histamina, os resultados obtidos foram os seguintes:

1 - Não houve diferenças estatisticamente significantes nos valores de FC entre os grupos estudados. A rigor, pela estrutura do teste estatístico empregado, os valores de FC na comparação dos valores pré-microinjeção e pós-microinjeção são diferentes entre si [F (1,29) = 7,551; p = 0,01]. Entre os grupos houve tendência para significância estatística [F (3,29) = 2,778; p = 0,058], mas não se alcançou o nível de significância estatística quando testada a interação entre período de estudo *versus* grupos experimentais [F (3,29) = 2,218; p = 0,10]. Pelo teste *post hoc*, nenhuma comparação em cada grupo ou entre os grupos estudados mostrou-se estatisticamente significativa (teste de Newman-Keuls, p > 0,05 em todos os casos; Figura 7), com exceção da comparação entre os valores pós-microinjeção de salina e pré-microinjeção de histamina 10 nM (teste de Newman-Keuls, p < 0,01), o que não apresenta relevância biológica no presente estudo. Isto indica que a interpretação dos primeiros resultados é problemática e, portanto, considera-se como não estatisticamente diferentes entre si os valores obtidos para FC. O mesmo tipo de raciocínio será empregado nos demais parâmetros se ocorrer a mesma situação na análise dos dados.

2 - Os valores de PAS apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção [F (1,29) = 7,565; p < 0,05], mas não entre os grupos experimentais [F (3,29) = 1,709; p = 0,187]. Como a interação entre esses

fatores (momento dos registros *versus* grupos estudados) também se mostrou estatisticamente significativa [$F(3,29) = 7,565$; $p < 0,001$], a interpretação dos valores de P para as duas comparações anteriores é muito problemática. Por outro lado, está-se autorizado a seguir com as comparações *post hoc* e neste caso, nenhuma comparação pertinente entre os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção em cada grupo experimental ou entre os grupos mostrou-se estatisticamente significativa (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$ em todos os casos, Figura 8).

3 - Para os valores de PAD ocorreu o mesmo que acima mencionado, ou seja, houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas pré-microinjeção e pós-microinjeção [$F(1,29) = 8,391$; $p < 0,01$], mas não entre os grupos estudados [$F(3,29) = 0,6116$; $p = 0,61$]. A interação entre os fatores (momento dos registros *versus* grupos estudados) também se mostrou estatisticamente significativa [$F(3,29) = 4,513$; $p = 0,01$], o que torna igualmente a interpretação dos dois resultados anteriores problemática. O teste *post hoc* novamente não mostrou haver diferenças estatisticamente significativas nas comparações cabíveis entre os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção em cada grupo experimental ou entre os grupos estudados ($p > 0,05$ em todos os casos; Figura 9).

4 - Com base nos resultados anteriores, a análise estatística empregada e sua interpretação, os valores de PAM apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as medidas pré-microinjeção e pós-microinjeção [$F(1,29) = 7,585$; $p = 0,01$], mas não entre os grupos experimentais [$F(3,29) = 0,929$; $p = 0,43$]. A interação entre esses dois fatores mostrou-se estatisticamente significativa [$F(3,29) = 6,08$; $p < 0,01$], mas, de fato, nenhuma comparação pertinente *post hoc* teve valor abaixo do relacionado como nível crítico de significância (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$ em todos os casos; Figura 10).

5 - Os valores de FC após injeção de diferentes doses de KCN, na avaliação da resposta reflexa relacionada com os quimiorreceptores, apresentaram diferença estatisticamente significativa nos dados pré-microinjeção e pós-microinjeção das substâncias testadas na AMePD [$F(3,87) = 43,03$; $p < 0,01$], com uma clara tendência à significância estatística quando comparados os grupos experimentais [$F(3,87) = 2,70$; $p = 0,06$], e diferença estatisticamente significativa na interação entre esses dois fatores [$F(9,87) = 2,45$; $p = 0,01$]. Pelas comparações posteriores feitas (vide Figura 11), foi possível identificar as seguintes diferenças pertinentes:

5.1 - No grupo de animais microinjetados com salina na AMePD, os valores mais próximos do basal foram obtidos com a menor dose de KCN (60 µg/kg) e ocorreu, conforme o esperado, uma redução estatisticamente significativa maior na FC quando foram aumentadas as doses injetadas de KCN para 100 µg/kg, 140 µg/kg e 180 µg/kg (teste de Newman-Keuls, $p < 0,001$ em todos os casos, quando comparadas com a menor dose injetada). Essas três doses produziram respostas similares entre si (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$).

5.2 - No grupo de animais microinjetados com histamina 10 nM na AMePD, não se obteve o mesmo efeito observado no grupo que recebeu salina na AMePD acima descrito. Não há diferença estatisticamente significativa entre os dados após a comparação dos resultados de qualquer uma das quatro doses de KCN empregadas (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$).

5.3 - No grupo de animais microinjetados com histamina 100 nM na AMePD, não houve diferença nos dados obtidos após injeção de KCN nas doses de 60 e 100 µg/kg (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$), mas ocorreu maior redução da FC quando se compararam os resultados após a injeção de 140 µg/kg (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$) e de 180 µg/kg (teste de Newman-Keuls, $p < 0,001$) em relação à menor dose empregada (60 µg/kg). Ademais, houve diferença estatisticamente significativa quando foram comparados os resultados após injeção da maior dose de KCN (180 µg/kg) com os da dose de 100 µg/kg (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$) neste mesmo grupo.

5.4 - Na comparação dos resultados entre todos os grupos experimentais nas doses equivalentes de KCN, não houve diferença estatisticamente significativa nos valores obtidos após injeção de 60, 140 e 180 µg/kg de KCN (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$ em todos os casos). Embora comparativamente com os dados obtidos no grupo microinjetado com salina não tenha ocorrido diferenças (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$), a redução da FC após a injeção de KCN 100 µg/kg é maior no grupo de animais microinjetados com histamina 10 nM e com metil-histamina 10 µM do que nos microinjetados com histamina 100 nM (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$ em ambos os casos).

6 - Os valores de PAM após injeção de diferentes doses de KCN para testar a resposta reflexa cardiovascular medida pelos quimiorreceptores sugerem que houve diferença estatisticamente significativa nos valores pré-microinjeção e pós-microinjeção das quatro substâncias testadas na AMePD [$F(3,87) = 20,86$; $p < 0,01$], mas não nas comparações entre os grupos experimentais [$F(3,87) = 1,614$; $p = 0,20$] nem na interação desses dois fatores (comparando-

se momento dos registros *versus* grupos estudados) [$F(9,87) = 0,50$; $p = 0,874$]. O teste *post hoc* não demonstrou existir diferença estatisticamente significativa nas comparações pertinentes entre os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção nos quatro grupos experimentais estudados (teste de Newman-Keuls, $p > 0,05$ em todos os casos; Figura 12).

7 – Com relação ao reflexo mediado pelos barorreceptores mostramos que os valores referentes ao ponto de maior inclinação da curva da PA (PA_{50}), que representa o nível de PA no qual o barorreflexo mostra ganho máximo, após estímulo de sua resposta reflexa pelas injeções de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio, foram estatisticamente diferentes quando os dados dos grupos foram comparados entre si [$F(3,29) = 4,594$; $p = 0,009$] e o teste *post hoc* de Newman-Keuls mostrou que o grupo microinjetado com histamina 10 nM apresentou maior aumento do que nos grupos que receberam salina ou metil-histamina microinjetadas na AMePD (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$ em ambos os casos; Figura 13).

8 - Os valores referentes à queda máxima da FC induzida pelo aumento da PA, platô de bradicardia após a estimulação da resposta reflexa mediada pelos barorreceptores, não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados os dados dos quatro grupos experimentais entre si [$F(3,29) = 0,644$; $p = 0,593$; Figura 14]. O mesmo ocorreu para a comparação dos resultados da resposta máxima da FC induzida pelo decréscimo da PA, platô de taquicardia, após estimulação reflexa mediada pelos barorreceptores [$F(3,29) = 1,144$; $p = 0,348$; Figura 15]. Da mesma forma, para a variação do ganho médio ou sensibilidade média do barorreflexo, após estimulação reflexa mediada pelos barorreceptores [$F(3,29) = 0,506$; $p = 0,680$; Figura 16] e à amplitude da FC, que corresponde à faixa operacional do reflexo barorreceptor [$F(3,29) = 1,132$; $p = 0,352$; Figura 17, respectivamente], não houve diferenças. Os valores correspondentes à curva da modificação de PAM de acordo com a variação da FC foram estatisticamente diferentes entre os grupos estudados, como descritos anteriormente [$F(3,29) = 4,594$; $p = 0,009$], sendo que a curva após a microinjeção de 10 nM na AMePD foi diferente dos demais grupos ($p < 0,05$) e provocou um desvio à direita nos resultados (Figura 18).

9 - Pela análise espectral da variabilidade da FC e da PA nos quatro grupos experimentais após microinjeção na AMePD de salina, das duas doses de histamina (10 nM e 100 nM) e de agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina na dose de 10 μ M, foi possível identificar os seguintes resultados estatísticos relevantes:

9.1 - Quanto à análise da variabilidade da FC do tacograma, houve clara tendência à significância estatística dos dados, embora o nível pré-estabelecido não tenha sido atingido [F (3,17) = 2,942; p = 0,062; Figura 19].

9.2 - Os dados referentes à média da PAS do sistograma não foram diferentes entre os grupos estudados [F (3,17) = 1,695; p = 0,205; Figura 20].

9.3 - Houve diferença estatisticamente significativa na variabilidade da PAS do sistograma entre os grupos experimentais [F (3,20) = 8,681; p = 0,001] sendo que, quando comparados com os animais que receberam microinjeção de salina na AMePD, as microinjeções de histamina na dose de 100 nM e de metil-histamina na dose de 10 µM geraram os maiores valores de variabilidade nestes parâmetros (teste de Tukey, p < 0,05 e p < 0,01; respectivamente), sem que a microinjeção de histamina na dose de 10 nM tenha gerado o mesmo efeito (teste de Tukey, p > 0,05). De fato, houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos animais do grupo que recebeu microinjeção de histamina na dose de 100 nM (teste de Tukey, p < 0,05) e metil-histamina na dose de 10 µM na AMePD (teste de Tukey, p < 0,01) comparativamente com os obtidos após microinjeção de histamina 10 nM. Os valores dos grupos microinjetados na AMePD com histamina 100 nM e metil-histamina 10 µM são similares entre si (teste de Tukey, p > 0,05; Figura 21).

9.4 - Quanto à análise do componente de baixa frequência do tacograma houve diferença estatisticamente significativa neste parâmetro quando comparados os dados entre os grupos experimentais [F (3,17) = 6,371; p = 0,004]. O teste *post hoc* de Tukey evidenciou que os valores obtidos nos grupos que receberam microinjeção na AMePD de histamina na dose de 100 nM ou metil-histamina na dose de 10 µM são maiores que no grupo controle microinjetado com salina (teste de Tukey, p < 0,01 em ambos os casos). O mesmo não ocorreu após microinjeção da dose de 10 nM de histamina na AMePD (teste de Tukey, p > 0,05). Os tais valores após microinjeção da menor dose de histamina são menores do que os obtidos após o emprego da dose de 100 nM nas mesmas condições experimentais (teste de Tukey, p < 0,05; Figura 22).

9.5 - Quanto à análise do componente de alta frequência do tacograma houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os dados entre os grupos experimentais [F (3,17) = 6,574; p = 0,003]. Neste parâmetro, a microinjeção de metil-histamina na dose de 10 µM promoveu a maior variação dentre todos os grupos (teste de Tukey; p < 0,01 quando

comparado aos valores obtidos após microinjeção de salina $p < 0,05$ quando comparado aos valores após microinjeção de histamina em ambas as doses de 10 nM e de 100 nM na AMePD; Figura 23).

9.6 - Quando foi estabelecido o índice entre os componentes de baixa frequência e alta frequência do tacograma, dito balanço simpático-vagal, houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os dados entre os grupos experimentais [$F(3,17) = 5,880$; $p = 0,006$]. O teste *post hoc* de Tukey demonstrou que o valor obtido para o grupo microinjetado com histamina na dose de 100 nM é maior do que o obtido nos animais que receberam salina na AMePD ($p < 0,01$; Figura 24).

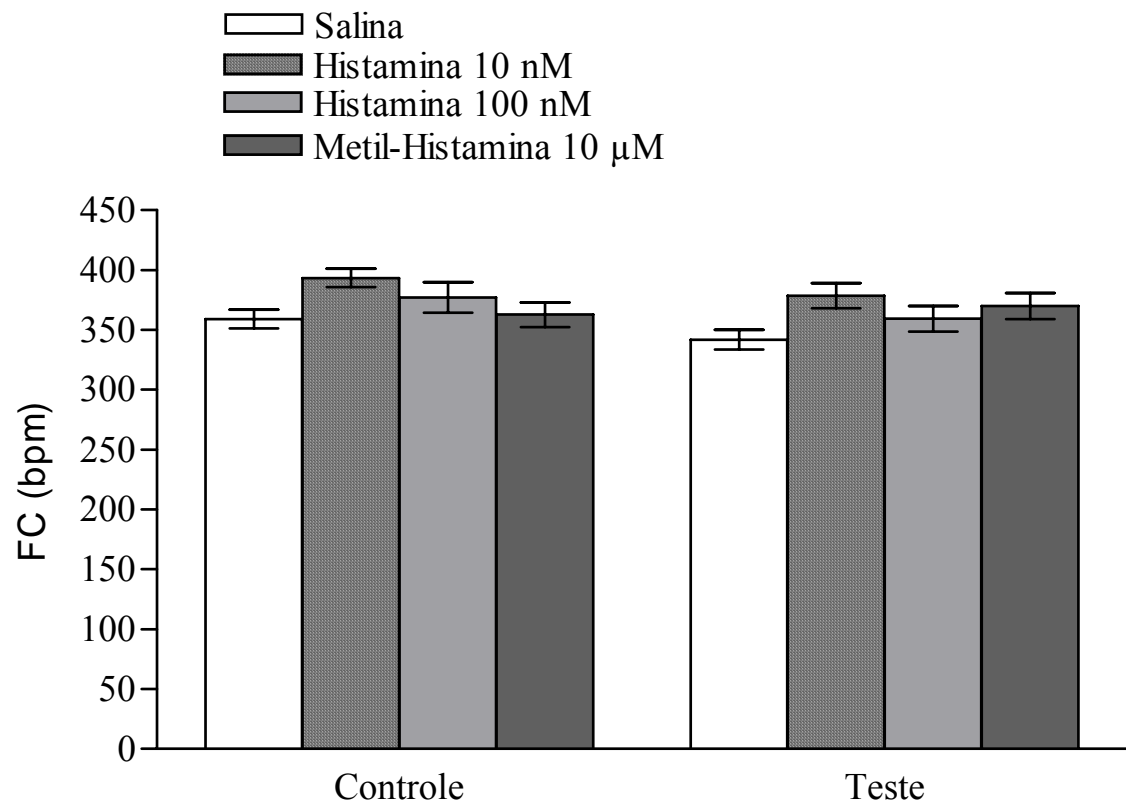


Figura 7 Média (\pm DP) da variação da frequência cardíaca (FC em bpm) nos grupos estudados em situação basal antes da microinjeção (Controle) e após a microinjeção (Teste) de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina na dose de 10 nM/0,3 μ l (n = 8), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (10 μ M/0,3 μ l, n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção ou entre cada grupo experimental estudado ($p > 0,05$ em todos os casos).

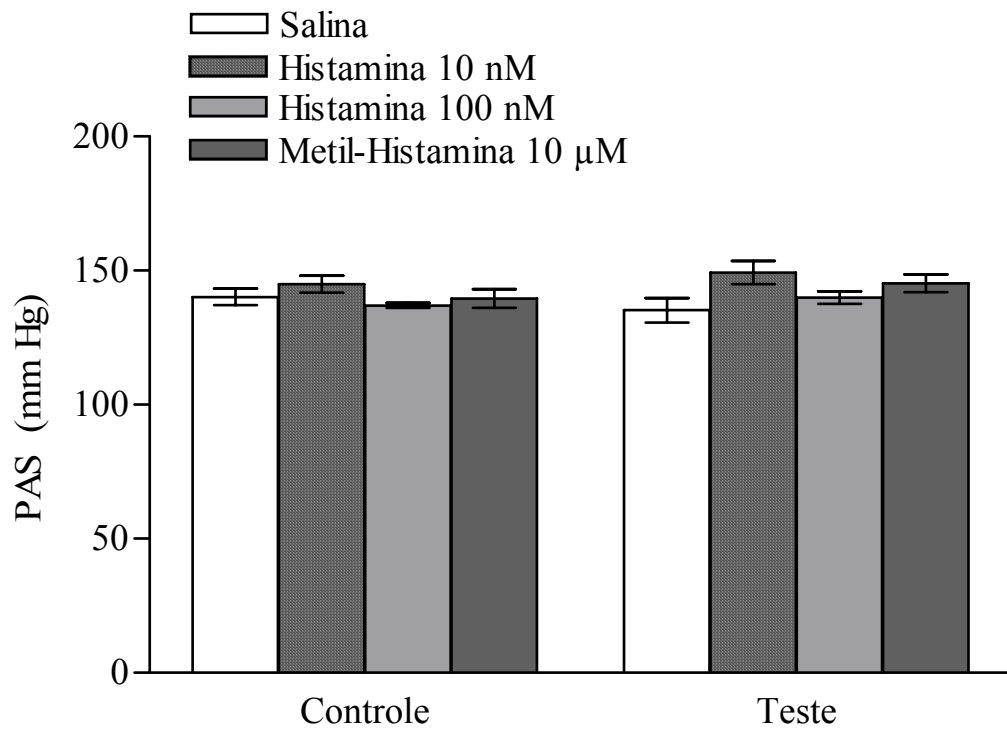


Figura 8 Média (\pm DP) da variação da pressão arterial sistólica (PAS em mmHg) nos grupos estudados em situação basal antes da microinjeção (Controle) e após a microinjeção (Teste) de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina na dose de 10 nM/0,3 μ l (n = 8), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H_3 , metil-histamina (10 μ M/0,3 μ l, n = 7), na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção ou entre cada grupo experimental estudado ($p > 0,05$).

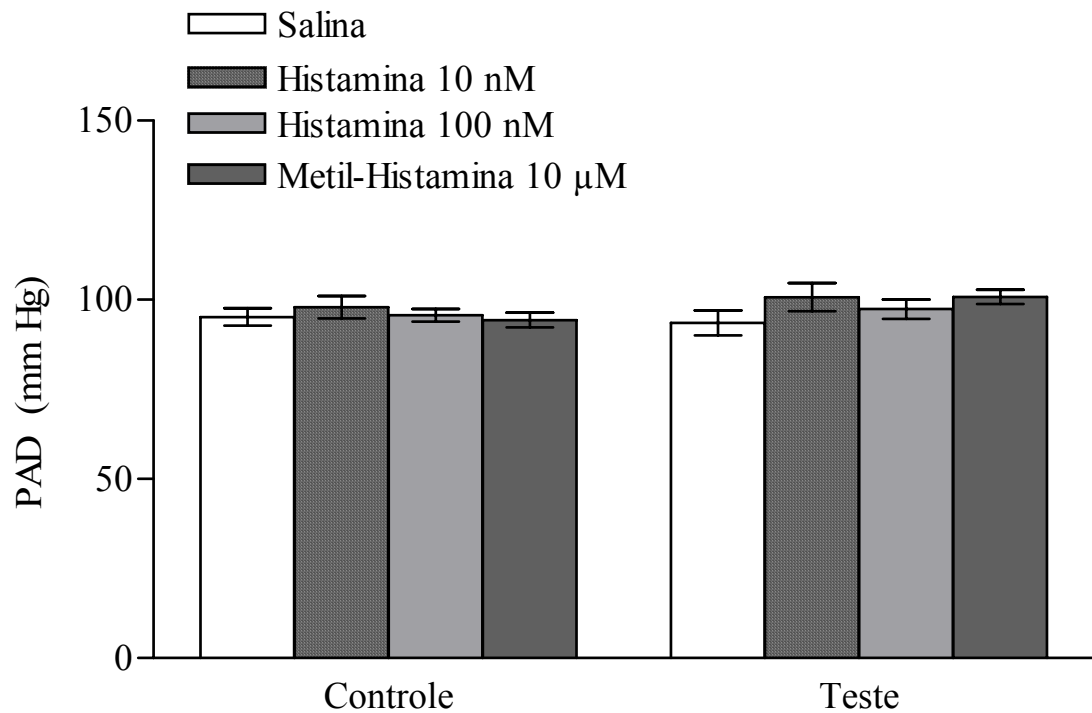


Figura 9 Média (\pm DP) da variação da pressão arterial diastólica (PAD em mmHg) nos grupos estudados em situação basal antes da microinjeção (Controle) e após a microinjeção (Teste) de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina na dose de 10 nM/0,3 μ l (n = 8), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (10 μ M/0,3 μ l, n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significante quando comparados os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção ou entre cada grupo experimental estudado ($p > 0,05$).

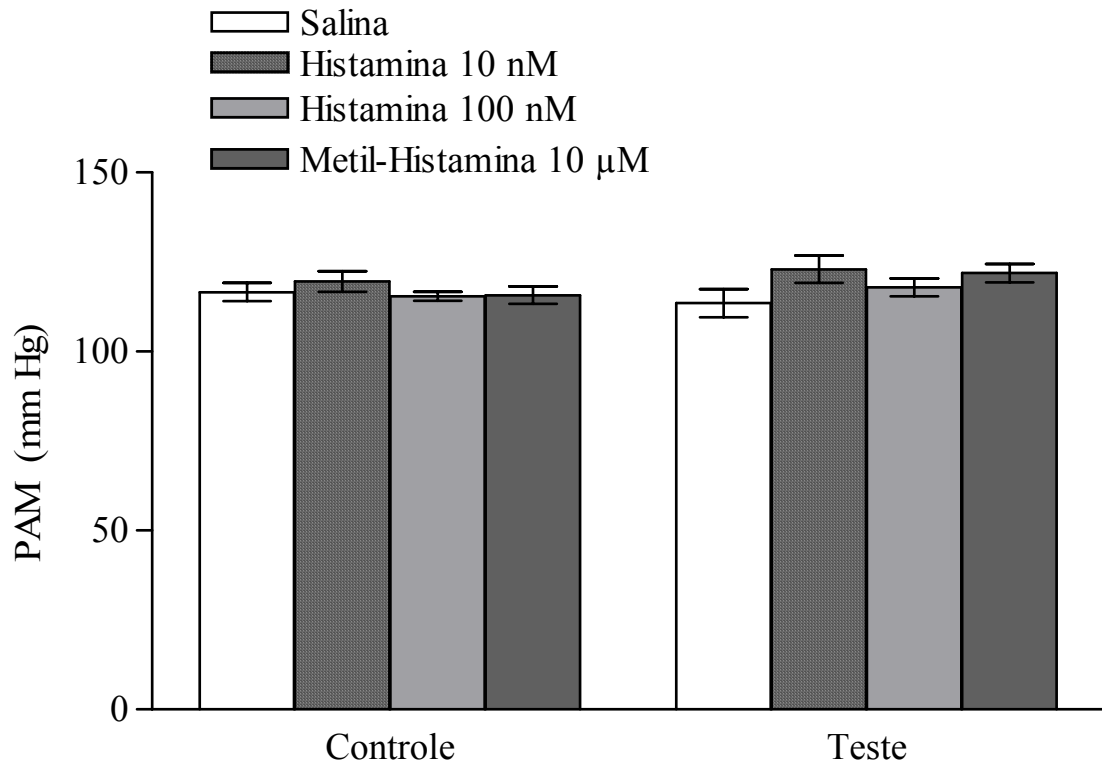


Figura 10 Média (\pm DP) da variação da pressão arterial média (PAM em mmHg) nos grupos estudados em situação basal antes da microinjeção (Controle) e após a microinjeção (Teste) de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina na dose de 10 nM/0,3 μ l (n = 8), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 8) e de agonista do receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (10 μ M/0,3 μ l, n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores pré-microinjeção e pós-microinjeção ou entre cada grupo experimental estudado ($p > 0,05$).

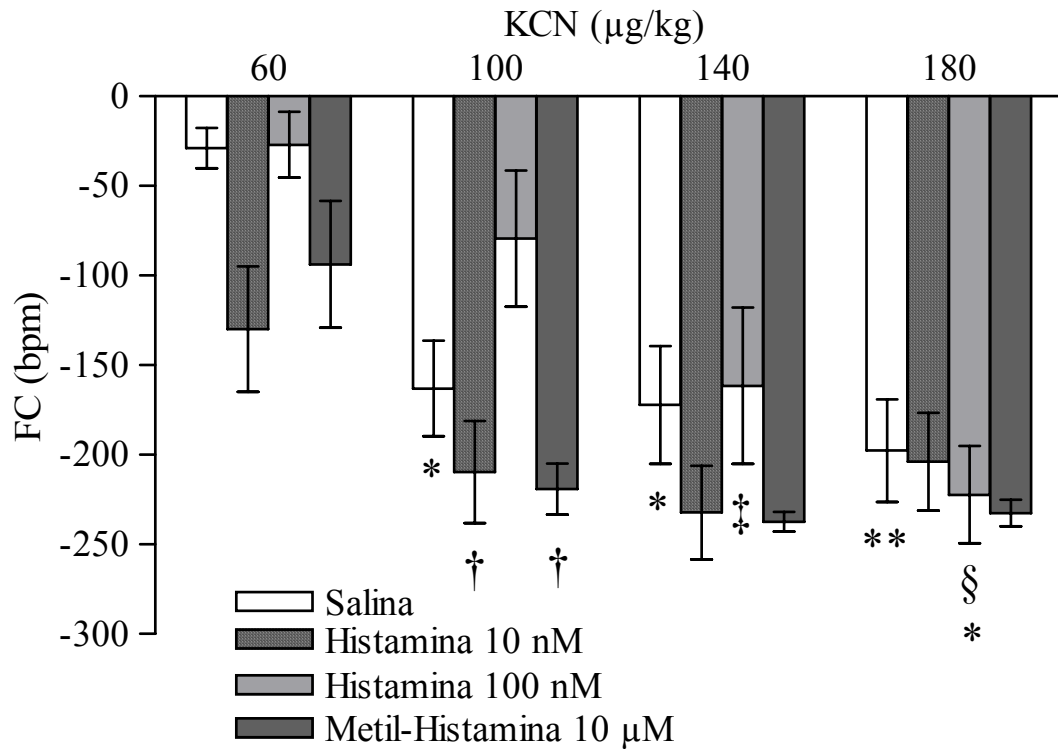


Figura 11 Média (\pm DP) da variação da frequência cardíaca (FC em bpm) obtidas após injeção sistêmica de diferentes doses de KCN nos animais microinjetados com salina (0,3 μ l; n = 10), com histamina na dose de 10 nM (n = 8), com histamina na dose de 100 nM (n = 8) ou com o agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina 10 μ M (n = 7), na amígdala medial póstero-dorsal de ratos. As doses de KCN correspondem a 60, 100, 140 e 180 μ g/kg.

* p < 0,01 quando comparado com o valor obtido com a dose de 60 μ g/kg no grupo microinjetado com salina.

** p < 0,01 quando comparado com o valor obtido com a dose 60 μ g/kg no grupo microinjetado com salina.

‡ p < 0,05 quando comparado com o valor obtido com a dose de 60 μ g/kg no grupo microinjetado com histamina 100 nM.

§ p < 0,001 quando comparado com o valor obtido com a dose de 100 μ g/kg no grupo microinjetado com histamina 100 nM.

§* p < 0,05 quando comparado com o valor obtido com a dose de 100 μ g/kg no grupo microinjetado com histamina 100 nM.

† p < 0,05 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com histamina 100 nM nesta mesma dose de KCN.

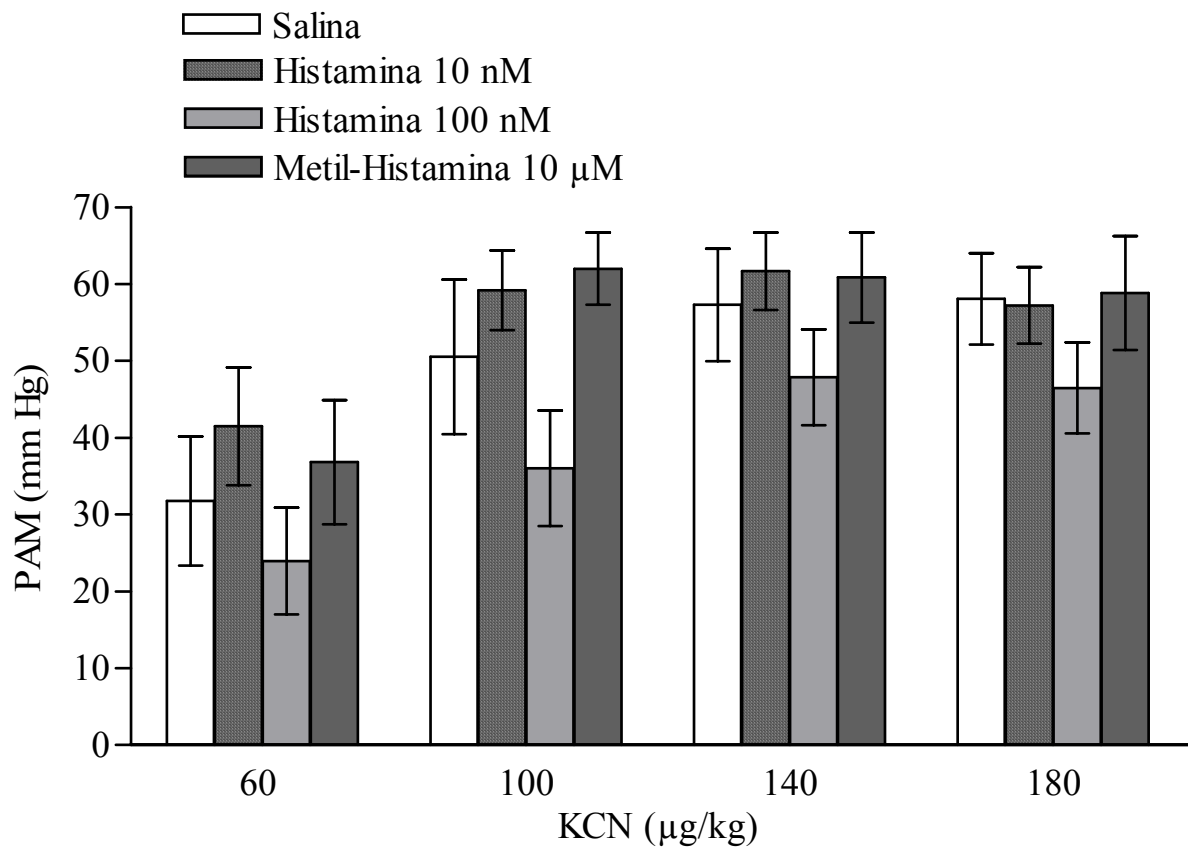


Figura 12 Média (\pm DP) da variação da pressão arterial média (PAM em mmHg) obtidas após injeção sistêmica de diferentes doses de KCN nos animais microinjetados com salina (0,3 µl; n = 10), com histamina na dose de 10 nM (n = 8), com histamina na dose de 100 nM (n = 8) ou com agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina 10 µM (n = 7), na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos. As doses do KCN correspondem a 60, 100, 140 e 180 µg/kg. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores, entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

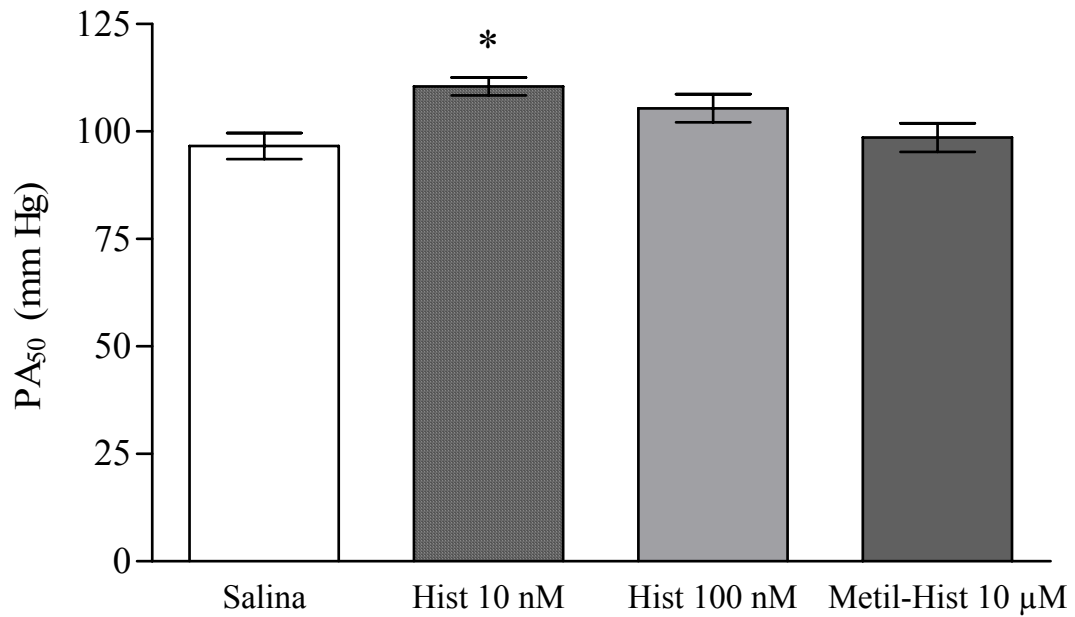


Figura 13 Média (\pm DP) da variação do valor de (PA em mmHg) no ponto de maior inclinação da curva (PA₅₀) obtida após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 7), na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos.

* p < 0,05 quando comparado com o valor obtido após microinjeção de salina e de metil-histamina.

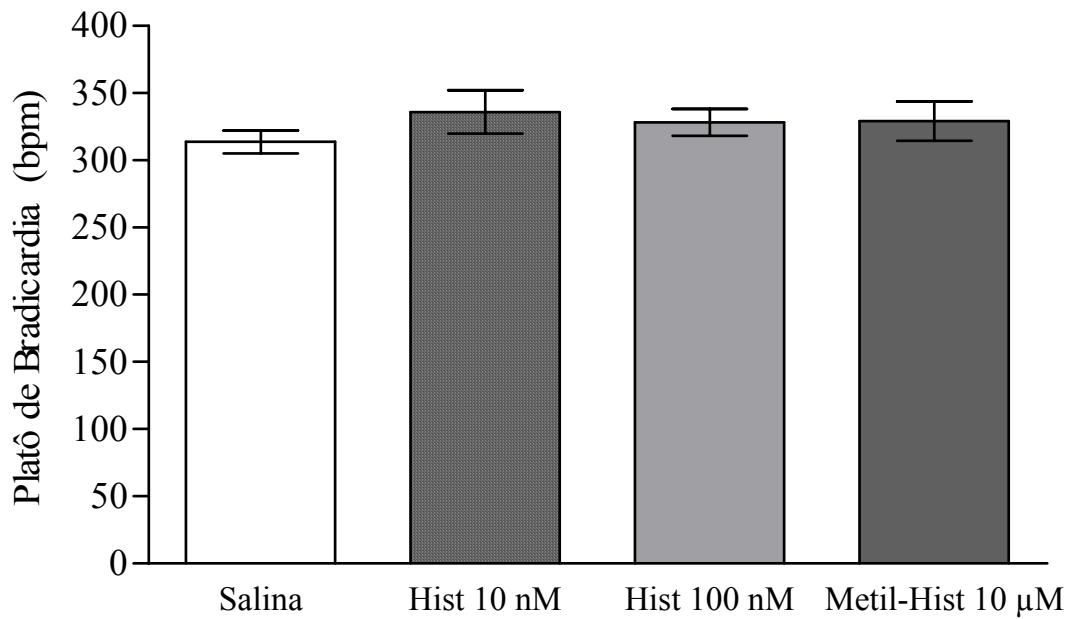


Figura 14 Média (\pm DP) da variação da diferença da resposta máxima da queda na (FC em bpm) induzida pelo aumento da (PA em mmHg; platô de bradicardia, Pb) obtida após a microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgico H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 7), na amígdala medial póstero-dorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

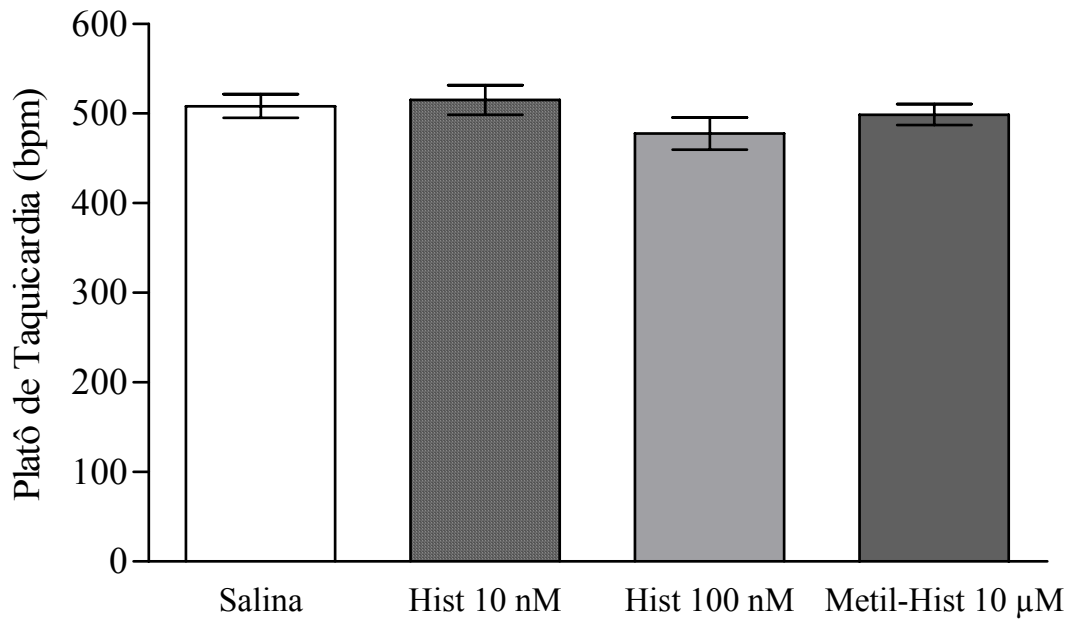


Figura 15 Média (\pm DP) da variação da diferença do aumento da resposta máxima na FC (em bpm) induzida pelo decréscimo da (PA em mmHg; platô de taquicardia, Pt) obtida após a microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 7), na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

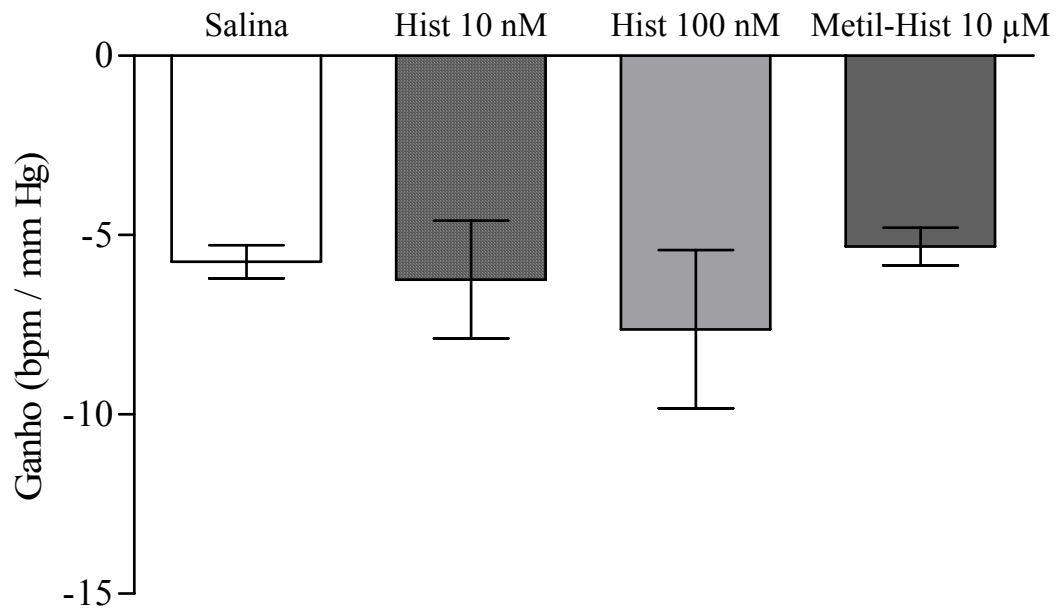


Figura 16 Média (\pm DP) da variação da sensibilidade média do barorreflexo (Ganho bpm/mmHg) obtida após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores entre os grupos experimentais (p > 0,05).

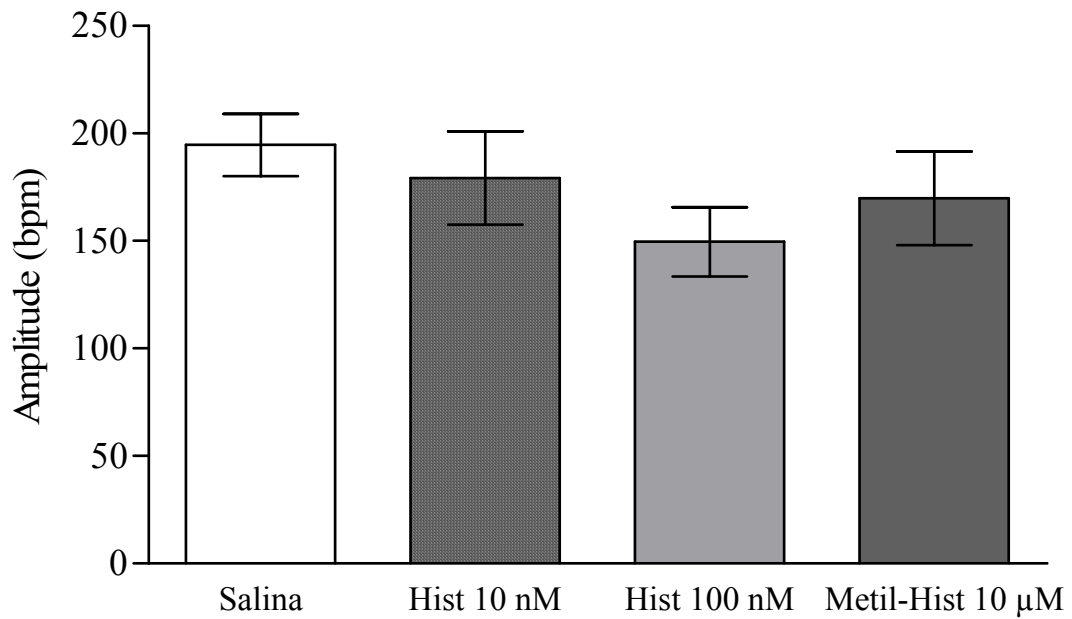


Figura 17 Média (\pm DP) da variação da amplitude da (FC em bpm), durante o reflexo barorreceptor, obtida após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 10), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

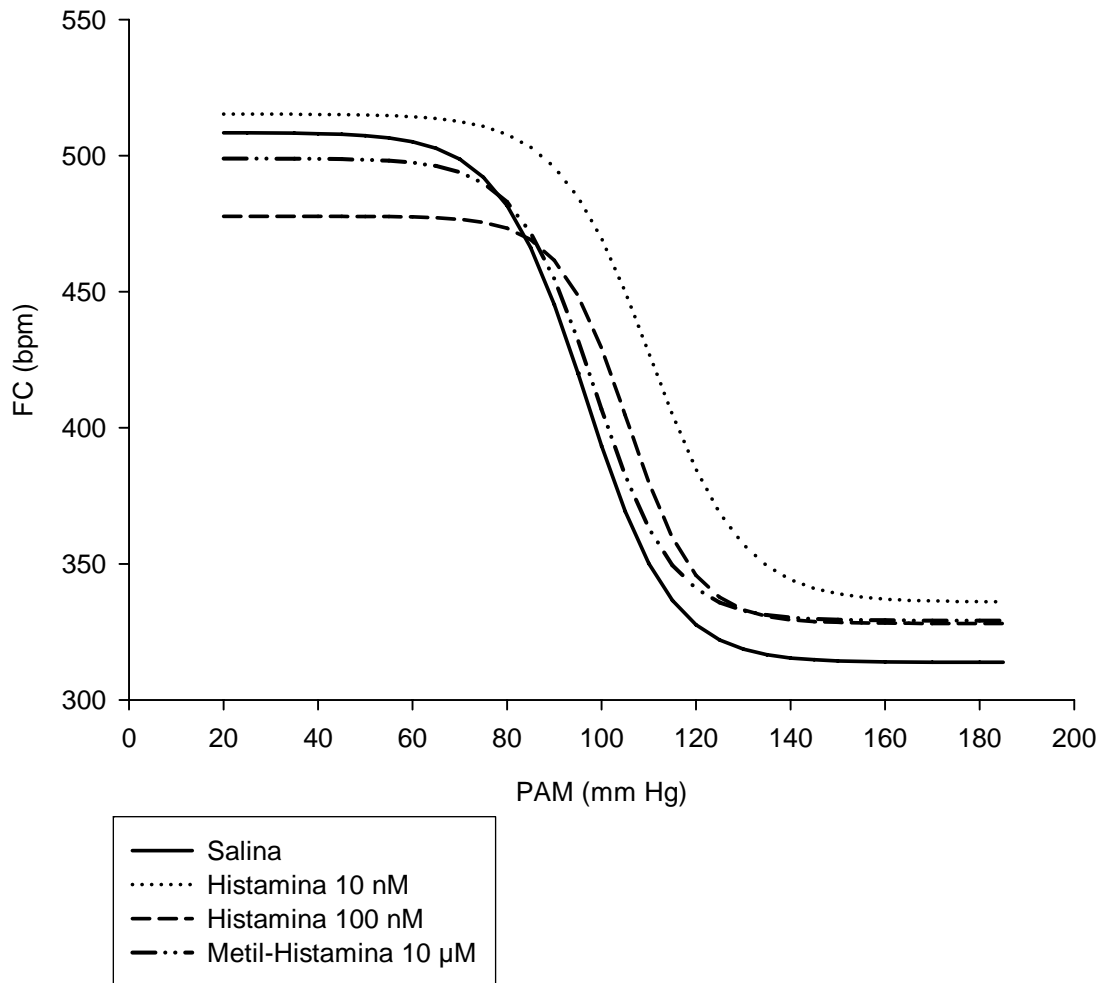


Figura 18 Análise da curva da modificação da pressão arterial média (PAM em mmHg) de acordo com a variação da frequência cardíaca (FC em bpm), como teste da resposta reflexa mediada pelos barorreceptores após microinjeção de salina (0,3 µl; n = 10), histamina na dose de 10 nM (n = 8), histamina na dose de 100 nM (n = 8) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina 10 µM (n = 7), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Houve diferença estatisticamente significativa entre o aumento promovido pela histamina na dose de 10 nM em relação à salina, como controle, quando comparados os valores pós-microinjeção (p = 0,0095). Observe o deslocamento para a direita na curva da histamina na dose de 10 nM que, para um mesmo valor de frequência cardíaca, gera mais resposta de pressão arterial média.

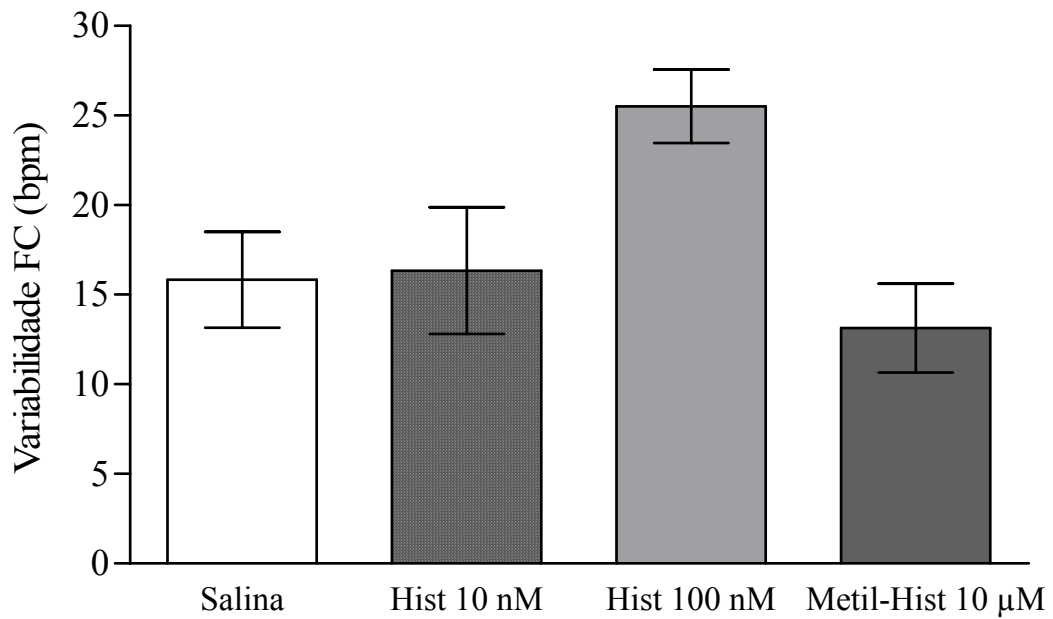


Figura 19 Média (\pm DP) da variabilidade da frequência cardíaca do tacograma gerada após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 4) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 5), na amígdala medial póstero-dorsal de ratos. Os valores dos grupos estudados apresentaram uma tendência para a significância, mas não se alcançou o nível de significância estatística ($p > 0,05$).

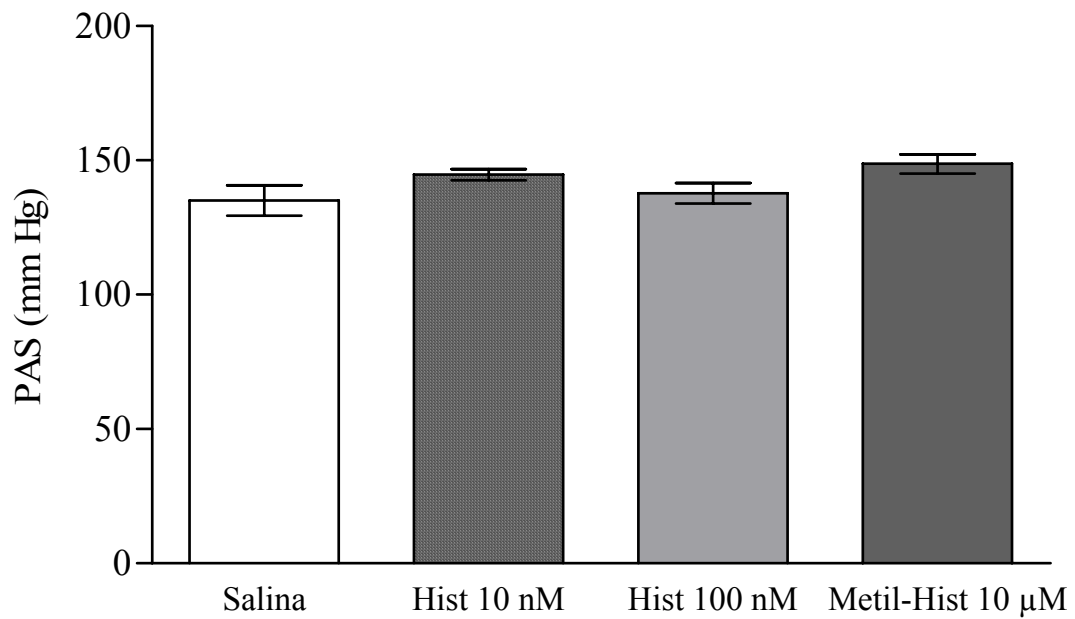


Figura 20 Média (\pm DP) da variabilidade da média da pressão arterial sistólica do sistograma gerada após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM/0,3 μ l (n = 4) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 5), na amígdala medial pósterodorsal de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

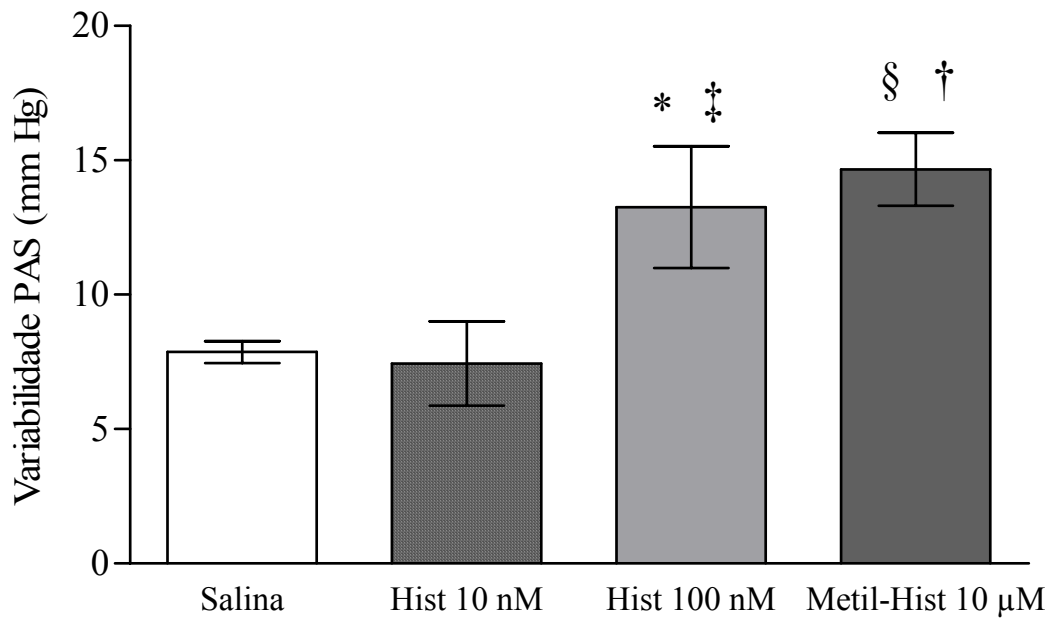


Figura 21 Média (\pm DP) da variabilidade da pressão arterial sistólica do sistograma (PAS) gerados após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM (n = 4) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina 10 μ M (n = 5) na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos.

* p < 0,05 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com salina.

† p < 0,01 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com salina.

‡ p < 0,05 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com histamina na dose de 10 nM.

§ p < 0,01 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com histamina na dose de 10 nM.

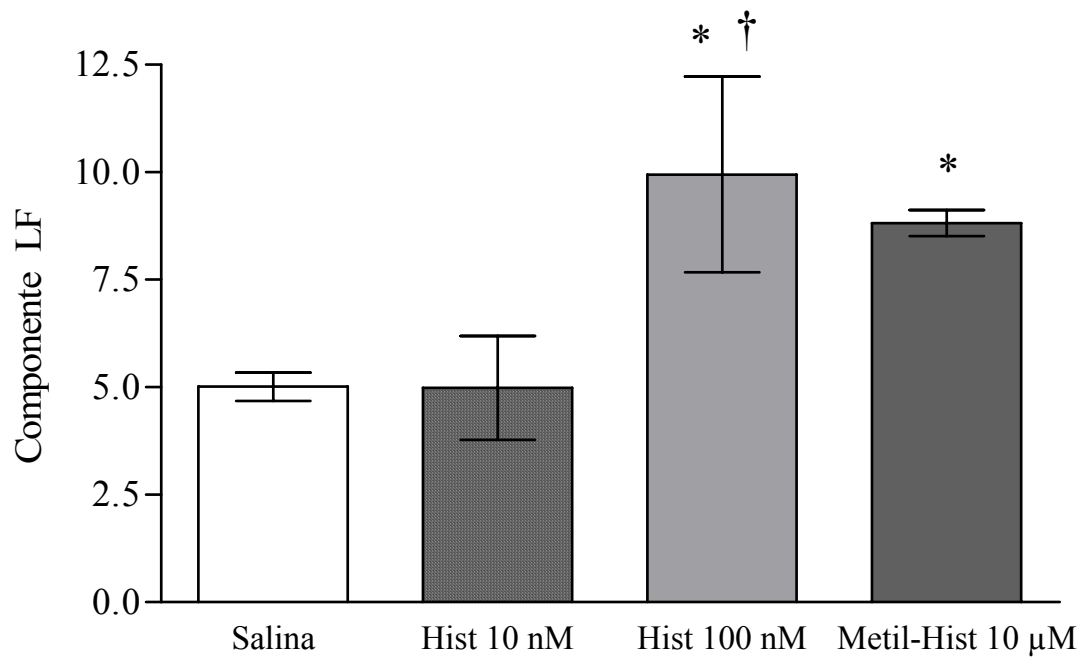


Figura 22 Média (\pm DP) da variabilidade do componente de baixa frequência do tacograma (LF) geradas após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM (n = 4) e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 5), na amígdala medial pósterodorsal de ratos.

* p < 0,05 quando comparado com valor obtido no grupo microinjetado com salina.

† p < 0,05 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com histamina na dose de 10 nM.

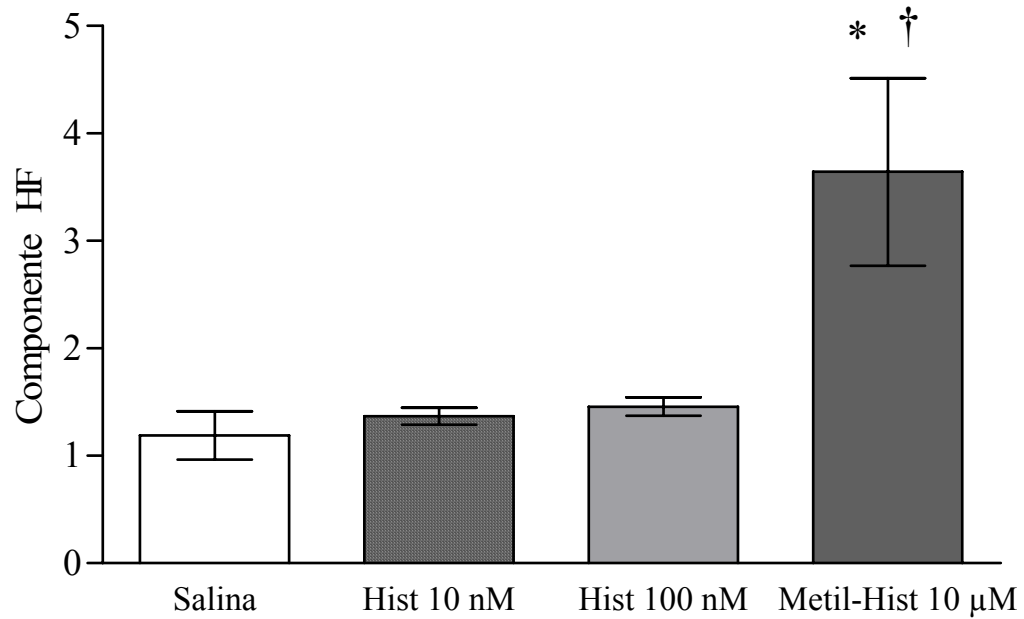


Figura 23 Média (\pm DP) da variabilidade do componente de alta frequência do tacograma (HF) geradas após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM (n = 4) e agonista dos receptores histaminérgicos H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 5), na amígdala medial pósterio-dorsal de ratos.

p < 0,01 quando comparado com os valores obtidos nos grupos microinjetados com salina e histamina na dose de 100 nM.

† p < 0,05 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com histamina na dose de 10 nM e 100 nM.

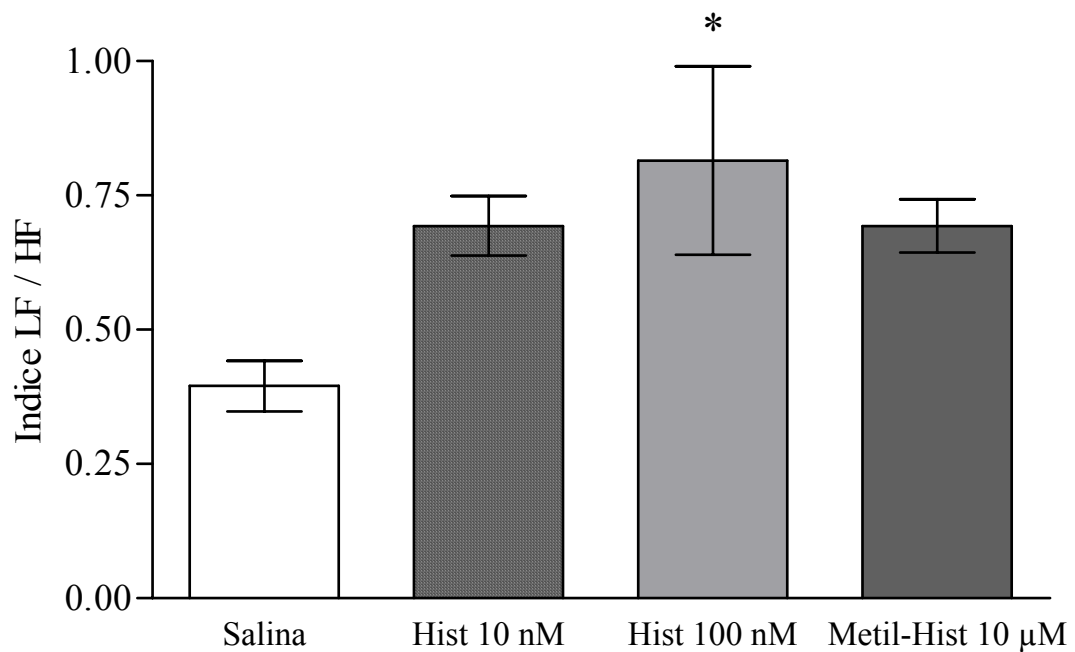


Figura 24 Média (\pm DP) da variabilidade do índice do componente de baixa frequência (LF) e de alta frequência (HF) do tacograma (balanço simpático-vagal, índice LF/HF) geradas após microinjeção de salina (0,3 μ l; n = 8), histamina (Hist) na dose de 10 nM (n = 4), histamina na dose de 100 nM (n = 4) e de agonista dos receptores histaminérgico H₃, metil-histamina (Metil-Hist) 10 μ M (n = 5), na amígdala medial póstero-dorsal de ratos.

* p < 0,01 quando comparado com o valor obtido no grupo microinjetado com salina.

6 DISCUSSÃO

É notável que a HA encontra-se presente em áreas do SN sabidamente envolvidas com o controle direto dos sistemas simpático e parassimpático, pelo controle da inervação renal, ou com o controle neuroendócrino, via liberação de vasopressina, relacionado com a regulação da atividade cardiovascular (BEALER, 1999). Um desses locais é, claramente, a ACe (BEALER, 1999), mas também chama muita a atenção que a AMe seja local onde ocorre mais síntese de HA no complexo amigdaliano (BEN-ARI *et al.*, 1977; OISHI *et al.*, 1984).

O presente estudo revelou que quando comparados os quatro grupos experimentais estudados após microinjeção na AMePD, não houve diferença estatisticamente significativa na FC, na PAS, na PAD, e na PAM nos valores pré-microinjeção e pós-microinjeção de HA em duas doses ou do agonista dos receptores histaminérgicos H₃ empregado. Por outro lado a HA na dose de 10 nM e metil-histamina na dose de 10 µM microinjetadas na AMePD geraram diminuição reflexa maior na FC após a estimulação dos quimiorreceptores com KCN na dose de (100 µg/kg). Os valores referentes ao ponto de maior inclinação da curva de resposta dos barorreceptores, PA₅₀, após injeções de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, foram maiores nos ratos que receberam HA na dose de 10 nM na AMePD. Houve maior variabilidade na PAS, no componente de baixa e de alta frequência do sistograma e no índice de atividade simpático-vagal nos grupos que receberam HA na dose de 100 nM e metil-histamina na dose de 10 µM na AMePD. Com isso, tais resultados sugerem um papel relevante para a HA na AMePD no controle neural da atividade cardiovascular em ratos. É muito importante e cabe ressaltar que a HA na dose de 10 nM está dentro de uma faixa fisiológica encontrada no SN central de ratos (ITOH *et al.*, 1987; CHIKAI *et al.*, 1993; CHU *et al.*, 2004), enquanto a dose de 100 nM representa quantidade que, a princípio, somente pode ser obtida

farmacologicamente. Se esta concentração maior pode igualmente ser obtida em ratos em diferentes condições fisiológicas ou em local no SN que tenham grande inervação histaminérgica ainda precisa ser determinado.

Já está bem descrito que diversas vias neurais aferentes e eferentes do encéfalo são capazes de modificar a atividade cardiovascular, no mesmo tempo que compõe circuitos envolvidos com reflexos somáticos e viscerais e gerar atividade integrada comportamental no indivíduo (como revisado em ALMEIDA *et al.*, 2004; DALL'AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004b). Experimentos em ratos acordados têm demonstrado que a estimulação elétrica de diferentes regiões do complexo amigdaliano resulta em um aumento na FC e na PA, enquanto em ratos anestesiados obtém-se uma diminuição da FC e da PA (REIS *et al.*, 1964; GALENO *et al.*, 1983; FRISINGER *et al.*, 1984; GESELMA *et al.*, 1987; IWATA *et al.*, 1987; ÖZKUTLU *et al.*, 1994; CECHETTO *et al.*, 2001). A depleção de HA no hipotálamo de ratos gera bradicardia e respostas pressóricas diminuídas (AKINS, 1991; BEALER, 1999). Outros experimentos têm mostrado que a liberação da HA e o metabolismo da HA são alterados em animais hipertensos (DOGTEROM *et al.*, 1976; AKINS, 1991; BEALER, 1999). Os resultados obtidos no presente estudo não só acrescentam-se a informações prévias, mas também confirmam a necessidade de ser dada uma maior importância para a contribuição da atividade histaminérgica na AMePD no controle cardiovascular. Há, no entanto, a necessidade de se determinar se a HA atua como tal e/ou devido as suas interações funcionais com outros neurotransmissores e neuromoduladores na AMePD. Da mesma forma, é preciso estabelecer se na AMePD os receptores histaminérgicos H₃ também atuam como auto-receptores (e, portanto, deveriam gerar efeito oposto ao da HA *per se*, o que não foi observado nos resultados) ou se são, mais provavelmente, receptores pós-sinápticos com propriedades funcionais diferentes daquelas descritas até o momento no TM (BROWN *et al.*, 2000; REITCHIE *et al.*, 2000). Ou ainda, se tais receptores histaminérgicos H₃ podem modular a liberação de outras substâncias que afetam o controle neural da FC e da PA diretamente na AMePD. Embora fuja ao escopo inicial desta dissertação, são todos esses dados importantes que estão relacionados aos presentes achados e que abrem temas para investigações futuras.

Os quimiorreceptores arteriais respondem a aumentos ou quedas da PaO₂, da PaCO₂ e/ou do pH desencadenando respostas homeostáticas dos sistemas cardiovascular e respiratório para corrigir essas variações. As respostas cardiovasculares caracterizam-se por aumento da resistência periférica em decorrência da ativação do sistema simpático e alterações na FC

caracterizadas por bradicardia, mas aumento da força de contração miocárdica. As respostas cardiovasculares ao quimiorreflexo ainda não tenham sido analisados em animais microinjetados com HA e com o agonista dos receptores histaminérgicos H₃.

No presente estudo, é preciso destacar que os valores de FC após injeção de diferentes doses de KCN (para testar a resposta reflexa cardiovascular relacionada com os quimiorreceptores) indicam que houve diferença estatisticamente significativa nos dados após microinjeção das substâncias estudadas na AMePD. No grupo de animais microinjetados com salina na AMePD, os valores mais próximos do basal são obtidos com a menor dose de KCN (60 µg/kg) e ocorreu uma redução estatisticamente significativa maior na FC quando foram aumentadas as doses injetadas de KCN para 100 µg/kg, 140 µg/kg e 180 µg/kg quando comparadas com a menor dose injetada. Essas três últimas doses produziram respostas similares entre si e tais dados estão de acordo com o que se esperava para testar a ação reflexa dos quimiorreceptores. No grupo de animais microinjetados com HA na dose de 100 nM na AMePD, não houve diferença nos dados obtidos após injeção de KCN nas doses 60 e 100 µg/kg, mas ocorreu maior redução da FC quando se comparam os resultados após a injeção de 140 µg/kg e de 180 µg/kg em relação à menor dose empregada (60 µg/kg). Já a redução da FC após a injeção de KCN 100 µg/kg é maior no grupo de animais microinjetados com HA na dose de 10 nM e com metil-histamina na dose de 10 µM do que nos microinjetados com HA na dose de 100 nM. Isto indica que ambas as doses de HA e a metil-histamina microinjetadas na AMePD são capazes de modificar a resposta reflexa dos quimiorreceptores, dependente da ativação vagal. Ou seja, HA na dose de 100 nM reduziu significativamente os valores de FC na concentração mais baixa de KCN (60 µg/kg), não repetindo o mesmo efeito gerado pela HA na dose de 10 nM ou pela metil-histamina na dose de 10 µM após injeção de dose intermediária (100 µg/kg) de KCN. Uma possível interpretação para esses dados é que a HA na dose de 100 nM na AMePD gera respostas mais intensas ao KCN em menor dose, sugerindo papel deste neurotransmissor no incremento desta resposta reflexa. Tais respostas complexas provavelmente podem estar associadas a uma maior ativação cardíaco-vagal ou a uma maior diminuição simpática desencadeada pelos quimiorreceptores. Estes dados são parcialmente corroborados pela análise espectral que mostrou maior atividade do componente HF no grupo que recebeu metil-histamina na dose de 10 µM e maior atividade no componente LF nos grupos que receberam metil-histamina na dose de 10 µM ou HA na dose de 100 nM.

Adicionalmente, a atividade dos barorreceptores exerce um papel fundamental no controle homeostático do sistema cardiovascular e da mesma forma, ainda não existem estudos desenvolvidos para avaliar as respostas do barorreceptores nas situações experimentais deste estudo. Os resultados do presente mostram que os valores referentes ao ponto de maior inclinação da curva de PA (*set point*), após estímulo de sua resposta reflexa pelas injeções de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, foram estatisticamente diferentes quando os dados dos grupos foram comparados entre si, demonstrando que no grupo microinjetado com HA na dose de 10 nM houve um aumento maior que no grupo que recebeu salina ou metil-histamina na dose de 10 μ M microinjetadas na AMePD. Isto pode representar um ajuste do reflexo barorreceptor em um novo nível de PA. Os valores referentes ao platô de bradicardia após a estimulação da resposta reflexa mediada pelos barorreceptores não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados os dados dos quatro grupos experimentais entre si. O mesmo ocorreu para a comparação dos resultados da resposta do platô de taquicardia, após estimulação reflexa mediada pelos barorreceptores, para a variação da sensibilidade média do barorreflexo e a variação da amplitude do reflexo barorreceptor. Os valores correspondentes à curva da modificação de PAM de acordo com a variação da FC foram estatisticamente diferentes entre os grupos estudados quando os dados dos grupos foram comparados entre si sendo que, após a microinjeção de HA na dose de 10 nM na AMePD, gerou-se uma resposta diferente comparativamente com os demais grupos e provocou-se um desvio à direita nos resultados. Assim, a HA na AMePD pode estar ampliando os reflexos cardiovasculares que se relacionam com a modulação exercida pela AMePD, o que parece relacionado com o papel desta estrutura na modulação de comportamentos que também requerem ajustes cardiovasculares para sua ocorrência.

Ou seja, é muito plausível considerar que para a ocorrência adequada dos mais diversos comportamentos, além do que está sendo feito em repouso, as variáveis orgânicas mobilizadas possam apresentar-se com maior variabilidade do que a encontrada em animais sedados. Com isso não haveria uma limitação para a execução de comportamentos relevantes para a sobrevivência do animal e da espécie, dada por uma limitação nas variáveis orgânicas mobilizados conjuntamente antes de seus próprios limites. O limite máximo poderia passar agora a ser outro maior, mas de forma protetora, antes de chance de dano ao organismo. Assim, maior variabilidade nas respostas de FC e da PA, expandindo seus máximos e mínimos valores após atuação de barorreceptores e quimiorreceptores, podem ocorrer para permitir que comportamentos possam ser executados plenamente pelo animal. E há vários

desses exemplos na Fisiologia. Um deles é a modificação do momento de início do reflexo de Hering-Breuer de controle da expansão ou de retração da caixa torácica na inspiração e na expiração. Em gatos anestesiados, o início do reflexo ocorre ainda quando não há pleno estiramento da musculatura intercostal e distensão da estrutura ósteo-articular da caixa torácica, o que não ocorre quando tais animais estão em vigília e executando os mais diversos comportamentos. Da mesma forma, o reflexo do estiramento da musculatura estriada esquelética pode ficar momentaneamente abolido durante a execução das mais diversas atividades motoras corriqueiras. Em seres humanos, a sensibilidade dos quimiorreceptores periféricos diminui durante a execução do comportamento de comunicação da palavra falada (TIMO-IARIA, 1983; DALL'AGO *et al.*, 2003; RASIA-FILHO *et al.*, 2004; RASIA-FILHO, 2006).

Se forem tomadas em consideração as diferentes atividades que a AMePD pode executar, como é o caso da modulação do comportamento reprodutivo masculino, resposta (DAYAS *et al.*, 1999) ao estresse e comportamentos de defesa (RASIA-FILHO *et al.*, 2000), poder-se-ia especular que ajustes simpáticos e parassimpáticos cardiovasculares pudessem ser programados concomitantemente às alterações motoras e neuroendócrinas necessárias para a emissão adequada dessas atividades motoras e neuroendócrinas. A ativação e desativação reflexas de tais sistemas em condições fisiológicas determinam ajustes do débito cardíaco e da resistência vascular periférica, contribuindo para a estabilização e manutenção da PA sistêmica em diferentes situações, ampliando a capacidade de adaptação e sobrevivência do organismo (TIMO-IARIA, 1988; DALL'AGO *et al.*, 2004; RASIA-FILHO, 2006). O quanto isto está correto ainda precisa ser testado experimentalmente. É preciso considerar novamente que a PA para os diversos órgãos deve ser ajustada, a partir de um valor basal, de acordo com necessidades variáveis e que, em níveis fisiológicos, adequa-se à perfusão tecidual sistêmica (HALL, 1999). Com isso, os ajustes cardiovasculares poderiam ocorrer por respostas reflexas e/ou por mudanças que precedem ou são concomitantes à ocorrência dos mais diversos comportamentos onde a AMePD apresenta participação (RASIA-FILHO *et al.*, 2004).

Diferentes mecanismos de controle estão envolvidos não só na manutenção como na variação a cada instante da PA, regulando o calibre e a reatividade vascular, a distribuição de líquidos dentro e fora dos vasos e o débito cardíaco. O estudo dos mecanismos de controle da PA tem indicado grande número de substâncias e sistemas fisiológicos que interagem de maneira complexa e por vezes com redundância para garantir a PA em níveis adequados nas mais diversas situações (MICHELINI, *et al.*, 1994; IRIGOYEN *et al.*, 2001). Com o presente

trabalho buscou-se igualmente demonstrar que outra região no SN central de ratos, a AMePD, é coadjuvante no processo de controle da FC e da PA. Este sistema de controle complexo determina o grau de atividade dos sistemas simpático e do parassimpático, modulando a rápida resposta cardiovascular necessária momento a momento no animal em vigília. A amígdala já vem sendo implicada no controle de diversas variáveis orgânicas, incluindo-se aquelas fisiológicas do sistema cardiovascular ou, ainda, na resposta pressora homeostática ou alostática, como no caso de estresse de contenção em ratos (OTTERSEN, 1979,1980; OISHI *et al* 1983; RANDALL, 1984; MARSHALL, 1994; CARNEY *et al.*, 1995; COLEMAN *et al.*, 1998; GRASSI *et al.*, 1998; KUBO *et al.*, 2004; GUYENET *et al.*, 2004; GRIFFIOEN *et al.*, 2004; GAVA *et al.*, 2004; FUKUMORI, 2004). Neste sentido, estão bem demonstrados os efeitos do estresse na estimulação do sistema cardiovascular e subsequente ocorrência de hipertensão arterial sistêmica, o que se manifesta concomitantemente com o aumento da expressão da proteína *fos*, como marcador de atividade neuronal, em diversos núcleos da amígdala (OISHI *et al.*, 1983; ÖZKUTLU *et al.*, 1994; CHEN *et al.*, 1995; KUBO, 2004; FUKUMORI, 2004).

Diferentes experimentos realizados em ratos apontaram a AMe como uma das regiões envolvidas na percepção e nos processamentos neurais de estímulo estressante envolvendo, a partir dela, os sistemas simpático e parassimpático (AGUILERA, 1998; SAPOLSKY, 1999; RADLEY *et al.*, 2005). Eferências partem da AMe em direção ao núcleo paraventricular hipotalâmico onde se localizam as células que contêm o hormônio liberador de corticotrofina (SILVERMAN *et al.*, 1981; TRIBOLLET *et al.*, 1981; SWANSON *et al.*, 1998). Além de ativar o eixo HPA em ratos, a AMe parece reger respostas de liberação de ocitocina desencadeado pela exposição do animal a estresse emocional (McGAUGH *et al.*, 1992; DAYAS *et al.*, 1999). Isto sugere que, pelo menos para eventos estressores incondicionados, a AMe representa uma região crítica para a geração das respostas simpáticas, parassimpáticas e neuroendócrinas de ratos (DAYAS *et al.*, 1999). E, embora todos esses estudos não tenham dividido a AMe em subregiões, os presentes achados sugerem que a AMePD bem pode ter participação nessas respostas. De fato, recentemente demonstrou-se em nosso laboratório que estresse de contenção de 1h em ratos foi capaz de modificar a morfologia de neurônios da AMePD, diminuindo a densidade de espinhos dendríticos nesses animais e, supostamente, parte da transmissão sináptica local (MARCUIZZO, 2006). Sabe-se que o AOB envia aferências para a AMePD, juntamente com o BSTMP, e, esses, enviam eferências para vários núcleos hipotalâmicos (AVPV, Pa, Arc, Pe, MPO, PMV e VMH, por exemplo). Por via

neural ou hormonal, pode-se influenciar a atividade de regiões como o NTS, o órgão subfornical e regiões do sistema límbico que atuam nas alterações da FC e da PA (SWANSON *et al.*, 1979; CANTERAS *et al.*, 1992; SIERLY, 2004).

De forma complementar e relevante, a análise espectral dos dados obtidos serve para avaliar principalmente as variabilidades da FC e da PA. A análise espectral consiste de metodologia que permite a identificação dos componentes de ondas complexas, sua variabilidade, frequência de ocorrência e distribuições no tempo e no espaço. Pela análise espectral dos dados obtidos nos quatro grupos experimentais após microinjeção de salina, das duas doses de histamina e do agonista dos receptores histaminérgicos H₃ na AMePD foi possível identificar que houve diferença estatisticamente significativa na variabilidade da PAS com HA na dose de 100 nM e metil-histamina na dose de 10 µM, gerando os maiores valores de variabilidade, sem que a microinjeção de HA na dose de 10 nM tenha produzido o mesmo efeito. Quanto à análise do componente de baixa frequência do tacograma, o qual pode representar a variabilidade da atividade simpática e também parcialmente a parassimpática (MALPAS *et al.*, 1990; SPALLONE *et al.*, 1997; PAGANI *et al.*, 1996; PAGANI *et al.*, 1997; JULIEN *et al.*, 2001; MALPAS *et al.*, 2001; MALPAS, 2002; SALGADO *et al.*, 2006), os valores obtidos nos grupos que receberam microinjeção na AMePD de HA na dose de 100 nM ou de metil-histamina na dose de 10 µM são maiores que no grupo controle. Novamente, o mesmo não ocorreu após microinjeção da dose de 10 nM de HA na AMePD. Quanto à análise do componente de alta frequência do tacograma, o qual pode representar a variabilidade preferentemente da atividade parassimpática (MALPAS *et al.*, 1990; SPALLONE *et al.*, 1997; PAGANI *et al.*, 1996; PAGANI *et al.*, 1997; JULIEN *et al.*, 2001; MALPAS *et al.*, 2001; MALPAS, 2002; SALGADO *et al.*, 2006), a metil-histamina na dose de 10 µM microinjetada na AMePD promoveu a maior variação neste parâmetro dentre todos os grupos experimentais. Quando foi estabelecido o índice entre os componentes de baixa frequência e de alta frequência do tacograma, o grupo microinjetado com histamina na dose de 100 nM apresentou os maiores valores do que os obtidos nos animais que receberam salina na AMePD. Resultados prévios demonstraram que a redução da variabilidade do barorreflexo e do quimiorreflexo em controlar a PA pode resultar em um aumento da variabilidade desta e da FC (FRANCHINI *et al.*, 1993). Da mesma forma alterações na sensibilidade dos barorreceptores resultou em um aumento da variabilidade pressórica e exacerbação da reatividade da PA (AVERILL *et al.*, 2000; DAMPNEY *et al.*, 2002). Com isso, pode-se sugerir que HA na dose de 100 nM e que metil-histamina na dose de 10 µM na AMePD são

capazes de gerar modificações simpáticas e parassimpáticas nos limites das respostas de FC e PA, indicado que tais substâncias podem atuar na ampliação dos limites de controle das respostas cardiovasculares estudadas. A interpretação desses resultados novamente segue a mesma linha de raciocínio e vem ao encontro da hipótese sugerida de organização paralela da atividade cardiovascular com a gênese ou modulação de comportamentos executado pela AMePD.

7 CONCLUSÃO

A microinjeção de HA na AMePD na dose de 10 nM e metil-histamina na dose de 10 μ M é capaz de gerar uma diminuição reflexa maior na FC após a estimulação dos quimiorreceptores com KCN na dose de 100 μ g/kg; assim, a HA na AMePD pode estar ampliando os reflexos cardiovasculares que se relacionam com a modulação exercida pela AMePD, o que parece relacionado com o papel desta estrutura na modulação de comportamentos que também requerem ajustes cardiovasculares para sua ocorrência.

A microinjeção de HA na dose de 10nM na AMePD afeta o ponto de maior inclinação da curva após estimulação dos barorreceptores e é capaz de aumentar a resposta reflexa por desviar à direita a curva de relação entre FC e PA.

A microinjeção de HA na dose de 100 nM e de agonista dos receptores histaminérgicos H₃ na AMePD gerou uma maior variabilidade na PAS, no componente de baixa e de alta frequência do tacograma e no índice de atividade simpático-vagal, indicado que tais substâncias podem atuar na ampliação dos limites de controle das respostas cardiovasculares estudadas.

Neste presente estudo, os dados, ainda inéditos, podem indicar que a AMePD se vale de sua atividade histaminérgica local por circuitaria própria, ou devido a aferências neurais, para modificar variáveis cardiovasculares provavelmente concomitantemente à organização de comportamentos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADAMEC, R. E.; MORGAN, H. D. The effect of kindling of different nuclei in the left and right amygdala on anxiety in the rat. **Physiology and Behavior**, v. 55, p. 1-12, 1994.

AGGLETON, J. P.; BLINDT, M. S. Effects of the amygdaloid and amygdaloid-hipocampal lesions on object recognition and spatial working memory in rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, p. 962-974, 1989.

AGUILERA, G. Corticotropin releasing hormone, receptor regulation and stress response. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 9, n. 8, p.329-336, 1998.

AKINS, V. F. Central nervous system histamine regulates peripheral sympathetic activity. **American Journal of Physiology**, v.65, p. 218-224, 1991.

ALLEN, J. P.; ALLEN, C. F. Role of the amygdaloid complex in the estress-induced release of ACTH in the rat. **Neuroendocrinology**, v. 15, p. 220-230, 1974.

ALHEID, G. F.; HEIMER, L. New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal componemts of substantia innominata. **Neuroscience**, v.27, p. 1-39, 1988.

ALHEID, G. F.; DE OLMOS, J. S.; BELTRAMINO, C. A. Amygdala and extended amygdala. In: PAXINOS, G. **The Rat Nervous System**. San Diego: Academic Press, p. 495-598, 1995.

ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. **Brain Research Review**. v. 12, p. 40-56, 2004.

ALVAREZ, E. O.; RUARTE, M. B. Histaminerg neurons of the central hippocampus and the baso-lateral amygdala of the rat: functional interaction on memory and learning mechanisms. **Behavioural Brain Research**, v. 128, p. 81-90, 2002.

ANGELIS, K.; DALL'AGO, P.; SCHAAN, B.; MAEDA, C. Y.; WICHI, R. B.; IRIGOYEN, M. C. Cardiovascular control in experimental diabetes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 9, n.5, p. 1091-1100, 2002.

ANGELIS, K.; DALL'AGO, P.; GANDONSKI, G.; PEIXOTO, L. A.; FERNANDES, T. G.; IRIGOYEN, M. C. Exercise training improves cardiovascular and metabolic status in diabetic rats. **Hypertension**, v. 4, n. 33, p.1073-1073, 1999.

ANGELIS, K.; OLIVEIRA, A. R.; DALL'AGO, P.; PEIXOTO, L. R. A.; GANDONSKI, G. LACHINNI, S.; .FERNANDES, T. G.; IRIGOYEN, M. C. Effects of exercise training on autonomic and miocardial and disfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p.635-64, 2000.

ANGELIS, K.; CESTARI, I. A.; BARP, J.; DALL'AGO, P.; FERNANDES, T. G.; BITTENCOURT, I. H.; KLEIN, A. B.; BELLÓ, A. A.; LLESUY, S. F.; ARMONY, M. C.; SERUAN-SCHREIBER, D.; COHEN, J. D.; LeDOUX, J.E. An anatomically constrained neural network model of fear conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 109, n. 2 p. 246-257, 1995.

APPEGATE, G. D. A.; BURCHFIELD, J. L. Microinjections of GABA agonists into the amygdala complex attenuates kindled seizure expression in the rat. **Experimental Neurology**, v.102, p.185-189, 1988.

ARAÚJO, C. G. S. Fisiologia do exercício. In: ARAÚJO W. B. DE. **Ergometria e Cardiologia Desportiva**. Rio de Janeiro: MEDSI, v.1, p. 01-56, 1986.

AVERILL, D. B.; DIZ, D. I. Angiotensin peptides and baroreflex control of the sympathetic outflow: Pathways and mechanism in the medulla oblongata. **Brain Research Bulletin**, v.51, p.119-128, 2000.

AZMITIA, E. C.; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the diferencial ascending projections of the dorsal and median ráphe nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v.179, p.641-668, 1978.

BACCIOTTINI, L. Endogenous histamine in the medial septum-diagonal band complex increases the release of acetylcholine from the hippocampus: A dual-probe microdialysis study in the freely moving rat. **European Journal of Neuroscience**, v.15, p.1669-1680, 2002.

BANDLER, R.; KEAY, K. A.; FLOYD, N.; PRICE, J. Central circuits mediating patterned autonomic activity during active vs. passive emotional coping. **Brain Research Bulletin**, v..53, p. 95-104, 2000.

BAYER, S. A. Quantitative 3H-thymidine radiographic analyses of neurogenesis in the rat amygdala. **Journal of Comparative Neurology**, v.194, p.845-875, 1979.

BEALER, S. L. Central neuronal histamine contributes to cardiovascular regulation. **News in Physiological Sciences**, v.14, p.100-105, 1999.

BEAULIEU, S.; DI PAOLO, T.; COTE, J.; BARDEN, N. Participation of the central amygdaloid nucleus in the response of adrenocorticotropin secretion to immobilization stress: opposing roles of the noradrenergic and dopaminergic system. **Neuroendocrinology**, v.45, p.7-46, 1987.

BEAULIEU, S.; DI PAOLO, T.; COTE, J.; BARDEN, N. Control of ACTH secretion by the central nucleus of the amygdala: Implication of the serotonergic system and its relevance to

the glucocorticoid delayed negative feedback mechanism. **Neuroendocrinology**, v.44, p.247-254, 1986.

BEM-ARI, Y.; L E.; GAL LA SALLE, G.; BARBIN, G.; SCHWARTZ, J.C.; 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.

BENNETT, C.; LIANG, K. C.; McGAUGH, J. L. Depletion of adrenal catecholamines alters the amnesic effect of amygdala stimulation. **Behavioral Brain Research**, v.15, p.83-91, 1985.

BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J. Inate and conditioned reactions to thread in rats with amygdaloid lesions. **Journal of Comparative Physiology**, v.81, p.281-290, 1972.

BOLHUIS, J. J.; FITZGERALD, R. E.; DIJK, D. J. KOOLHAAS, J. M. The corticomedial amygdala and learning in an agonistic situation in the rat. **Physiology and Behavior**, v.32, p.575-579, 1984.

BRESSLER, S. C.; BAUM, M. J. Sex comparison of neuronal *Fos* immunoreactivity in the rat vomeronasal projection circuit after chemosensory stimulation. **Neuroscience**, v.71, p.1063-1072, 1996.

BROWN, R.; STEVENS, D.; HASS, H. The physiology of brain histamine. **Progress in Neurobiology**, v.63, p.637-672, 2000.

CACABELOS, R.; YAMATODANI, A.; FUKUI, H.; WATANABE, T.; HARIGUCHI, S.; NISHIMURA, T.; WADA, H. Nature of histaminergic neuromodulation of the release of the corticotropinergic system. **Biogenes Amines**, v.19, p.9-19, 1985.

CANGIOLI, I.; BALDI, E.; MANNAIONI, P. F.; BUCHARELLI, C.; BLANDINA, P.; PASSANI, M. B. Activation of histaminergic H₃ receptors in the rat basolateral amygdala improves expression of fear memory and enhances acetylcholine release. **European Journal of Neuroscience**, v.16, p.521- 528, 2002.

CANTERAS, N. S.; SIMERLY, R. B. SWANSON, L. W. Organization of projection from the medial nucleus of the amygdala: A PHAL study in the rat. **Journal of Neuroscience**, v.360, p.213-245, 1995.

CARNEY, R. M.; SAUNDERS, R. D.; FREEDLANDE, K. E.; STEIM, P.; RICH, M. W.; JAFFE, A. S. Association of depression with reduced heart rate variability in coronary artery disease. **American Journal of Cardiology**, v.76, p.562-564, 1995.

CECHETTO, D.; GELB, A. The amygdala and cardiovascular control. **Journal of Neurosurgery Anesthesiology**, v.13, p.285-287, 2001.

CHEN, X.; HERBERT, J. Regional changes in *c-fos* expression in the basal forebrain and brainstem during adaptation to repeated stress: correlations with cardiovascular, hypothermic and endocrine responses. **Neuroscience**, v.64, n. 3, p.675-85, 1995.

CHIKAI, T.; OISHI, R.; SAEKI, K. Microdialysis study of the effects of sedative drugs on extracellular histamine in the striatum of freely moving rats. **The Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics**, v.266, p. 1277-1281, 1993.

CHU, M.; HUANG, Z. L.; QUN, W. M.; EGUCHI, N. Extracellular histamine level in frontal cortex is positively correlated with the amount of wakefulness in rats. **Neuroscience Research**, v.49, p.417-420, 2004.

COLLEN, L. M.; WOOD, R. I. Bidirectional connections of the medial nucleus amygdaloid in the Syrian hamster brain: Simultaneous anterograde and retrograde tract tracing. **Journal of Comparative Neurology**, v.399, p.189-209, 1998.

COLEMAN, M. J.; DAMPNEY, R. A. L. Sympathoinhibition evoked from the caudal midline medulla is mediated by GABA receptors in the rostral VLM. **American Journal of Physiology**, v.274, p.318-323, 1998.

DALL'AGO, P.; FERNANDES, T. G.; MACHADO, U. F.; BELLÓ, A. A.; IRIGOYEN, M. C. Baroreflex and chemoreflex dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, p.119-124, 1997.

DALL'AGO, P.; OLIVEIRA, L. O. A.; ANGELIS, K.; SENNA, M. T.; FERNANDES, T. R. G.; BELLÓ, A. A.; BITTENCOURT, P. I. H.; IRIGOYEN, M. C. Contribution of depressed Na^+ K^+ and Ca^{2+} - ATPase activity for the hemodynamic changes in experimental diabetes. **Hypertension**, v.33, n.4, p.1073-1073, 1999.

DALL'AGO, P.; MAEDA, C. Y.; ANGELIS, K.; SCHANN, B. D.; IRIGOYEN, M. C. Controle reflexo da pressão arterial no diabetes experimental. **Revista Brasileira Hipertensão**, v.3, p.255-266, 1999.

DALL'AGO, P.; RASIA-FILHO, A. A. Bases fisiológicas da função cardiovascular. In: MICHELIN-FILHO, F. et al. **Doenças do coração**. São Paulo: Robe, v.3, p.77-98, 2003.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O. K.; ANGELIS, K.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN JUNIOR, R.; SALGADO, H. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.07, n.35, p.843-849, 2002.

DALL'AGO P.; MASCARENHAS, M.; CLAUSSEL, N. Aspectos genéticos da insuficiência cardíaca. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v.3, p.38-43, 2000.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O. K.; WERNER, J. FERNANDES, T. G.; IRIGOYEN, M. C. Low blood pressure in diabetic rats: Changes in glomerular filtration rate. **Hypertension**, v.1, n.1, p.13-13, 2001.

DALL'AGO, P.; RIGATTO, K. V.; GADONSKI, G.; FANG, J.; ALBURQUERQ, V. L. PEIXOTO, L. A.; FERNANDES, T. G.; IRIGOYEN, M. C. Exercise reverses periferic insulin resistance in trained L-Name hypertensive rats. **Hypertension**, v.4, n.33, p.1089-1089, 1999.

DALL'AGO, P.; D'AVILA, K. A.; GADONSKI, G.; FERNANDES, T. G.; PEIXOTO, L. A. Exercise training improving cardiac function in diabetic rats. **Circulation**, v.17,n.98, p.129-129, 1998.

DALL'AGO, P.; FERNANDES, T. R. G.; IRIGOYEN, M. C. Impairment of baroreflex and chemoreflex sensitivity in streptozotocin diabetic rats. **Hypertension**, v.3, n.29, p.859-859, 1997.

DALL'AGO, P.; MAEDA, C. Y.; FERNANDES, T. R. G.; IRIGOYEN, M. C. Chemoreflex dysfunction in short term diabetes induced by streptozotocin (STZ) in rats. **Journal of Hypertension**, v.1, n.14, p.189-189, 1996.

DALL'AGO, P.; MAEDA, C. Y.; FERNANDES, T. R. G.; SCHAAN, B.; IRIGOYEN, M. C. Disfunção autonômica precoce no diabetes experimental de curta duração. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.1, n.65, p.84-84, 1995.

D'AVILA, K. A. L.; GADONSKI, G.; FANG, J.; ALBURQUERQ, V. L.; DALL'AGO, P.; PEIXOTO, L. R. A.; FERNANDES, T. G.; IRIGOYEN, M. C. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-Name hypertensive rats. **Hypertension**, n.2, v.34, p.768-772, 1999.

DAMPNEY, R. A. L.; COLEMAN, M. J.; FONTES, M. A. P.; HIROOKA, Y.; HORIUCHI, Y- W.; POLSON, J. W. POTTS, P. D.; TAGAWA, T. Central mechanism underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.29, p.261- 268, 2002.

DAVIS, M. The role of the amygdala in conditioned fear. In: AGGLETON, J. P. **The Amygdala**. Wiley- Liss, New York: p.255-306, 2000.

DAVIS, M. The role of the amygdala in fear and anxiety. **Annual Reviews Neuroscience**, v. 15, p.353-375, 1992.

DAVIS, M.; WHALEN, P. J. The amygdala: vigilance and emotion. **Molecular and Psychiatry**. v.6, p.13– 34, 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 amygdala. **European Journal of Neuroscience**, v.11, p.2312-2322, 1999.

de CASTILHOS, J.; MARCUZZO, S.; FORTI, C. D.; FREY, R. M.; STEIN, D.; ACHAVAL, M.; RASIA-FILHO, A. A. Further studies on the rat posterodorsal medial amygdala: Dendritic spine density and effect of 8-OH-DPAT microinjection on male sexual behavior. **Brain Research Bulletin**, v.69, n.2, p.131-139, 2006.

de OLMOS, J. S. ALHEID, G. F.; BELTRAMINO, C. A. Amygdala. IN: PAXINOS, G. **The Rat Nervous System**, Sydney: Academic Press, p.223-234, 1985.

de OLMOS, J. S. DE; HEIMER, R. L. The concepts of the ventral striatopallidal system and extended amygdala. **Annals of the New York Academy Sciences**, v.877, p.1-32, 1999.

de OLMOS, J. S.; BELTRAMINO, A.; ALHEID, G. Amygdala and extended amygdala of the rat: A cytoarchitectonical, fibroarchitectonical survey. **The rat Nervous System**, v.3, n.19, 509-603, 2004.

DI CARLO G. Effect of R(-)- α -Methylhistamine and thioperamide on in vivo release of norepinephrine in the rat hippocampus. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.24, p. 275-284, 2000.

DOGTEROM, J. T. Histamine is a potent releaser of vasopressin in the rat. **Experimental**, v.32, p. 659-660, 1976.

DOMINGUEZ, J. M.; HULL, E. M. Stimulation of the medial amygdala enhances medial preoptic dopamine release: implications for male rat sexual behavior. **Brain Research**, v.917, p. 225-229, 2001.

DONOSO, A. O. Induction of prolactin and luteinizing hormone release by histamine in male and female rats and the influence of brain transmitter antagonists. **Journal Endocrinology**, v.76, p.193-202, 1978.

ERICSON, H.; KOHLER, C. Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain. **Journal Comparative Neurology**, v.311, p. 45-64, 1991.

EVERITT, B. Limbic lobe and olfactory pathways. In: BERRY, M. M.; BANNISTER, L. H.; STANDRING, S. M. **Gray's Anatomy**. London, Churchill Livingstone, p.115-1141, 1995.

FINCH, L.; HICKS, P. E. The cardiovascular effects of intraventricularly administered histamine in the anaesthetized rat. Naunyn-Schiedeberg's **Archives Pharmacology**, v.293, p.151-157, 1976.

FLODD, J. F. Effect of histamine H₂ and H₃ receptor modulation in the septum on post-training memory processing. **Psychopharmacology**, v.140, p.279-284, 1998.

FOLKOW, B.; HALLBÄCK-NORDBLÄNDER, M.; MARTNER, J.; NORDBORG, C. Influence of amygdala lesions on cardiovascular responses to alerting stimuli, on behaviour and on blood pressure development in spontaneously hypertensive rats. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.116, p.133-139, 1982.

FRANCHINI, K. G.; KRIEGER, E. M. Cardiovascular responses of conscious rats to carotid body chemoreceptor stimulation by intravenous KCN. **Journal of the Automatic Nervous System**, v. 42, p.63-70, 1993.

FRANCHINI, K. G.; KRIEGER, E. M. Neurogenic hypertension in the rat. In: **Handbook of Hypertension**, Experimental and genetic models of hypertension. GANTEN, D.; JONG, W. Elsevier Science BV, Amsterdam: v.16, p. 472-500, 1994.

FRANCHINI, K. G.; KRIEGER, E. M. Carotid Chemoreceptors Influence Arterial Pressure in Intact and Aortic Denervated Rats, **The American Journal of Physiology**, v.32, p.677-683, 1992.

FRANCHINI, K. G.; MOREIRA, E. D.; IDA, F.; KRIEGER, E. M. Alterations in the cardiovascular control by chemoreflex and the baroreflex in old rats. **American Journal of Physiology**, v.270, p.310-313, 1996.

FRANK, J. P. In vivo modulation of rat hypothalamic histamine release by the histamine H₃ receptor ligands, imipramine and clobenpropit. Effects of intrahypothalamic and peripheral application. **European Journal of Pharmacology**, v.362, p.149-155, 1998.

FRYSINGER, R. C.; MARKS, J. D.; TRELEASE, R. B.; SCHCHTMAN, V. L.; HARPER, R. M. Sleep states attenuate the pressor responses to central amygdala stimulation. **Experimental Neurology**, v.83, p.604-617, 1984.

FUKUMORI, R. Contribution of the medial amygdaloid nucleus to the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Neuroscience Letters**, v.365, p.128-131, 2004.

GABARG, M.; BARBIN, G.; FEGER, J.; SCHWARTZ, J. C. Histaminergic pathway in rat brain evidenced by lesions of the medial forebrain bundle. **Science**, v.186, p.833-835, 1974.

GALENO, T. M.; BRODY, M. J. Hemodynamic responses to amygdaloid stimulation in spontaneously hypertensive rats. **American Journal Physiology**, v.245, p.281-286, 1983.

GANONG, W. F. Cardiovascular regulatory mechanisms. In: GANONG, W. F. **Review of Medical Physiology**. New York: McGraw-Hill Co., p.599-613, 2003.

GAVA, A.; PEOTTA, V.A.; CABRAL, A. M. Decreased baroreflex sensitivity in isoproterenol – reated mice with cardiac hypertrophy. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v.114, p.47-54, 2004.

GESELMA, A. J.; MCKITRICK, D. J.; CALARESU, F. R. Cardiovascular responses to chemical and electrical stimulation of the amygdala in rats. **The American Journal Physiology**, v.253, p.712-718, 1987.

GRANATA, R.; DONALD, 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.

GRASSI, G.; CATTANEO, B. M.; SERAVALLE, G.; LANFRANCHI, A. L.; MANCIA, G. Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension. **Hypertension**, v.31, p.68-72, 1998.

GRIFFIOEN, K. J. S.; VENKATESAN, P.; HUANG, Z. G.; WANG, X. Fentanyl inhibits GABAergic neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. **Brain Research**, v.1007, p.109-115, 2004.

GROOVE, E.A. Efferent connections of the substantia innominata in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v.277, p.347-382, 1988.

GUYENET, P. G.; STORNETTA, R. L.; WESTON, M. C.; McQUISTON, T.; SIMMONS, J. R. Detection of amino acid and peptide transmitter in physiologically identified brainstem cardiorespiratory neurons. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v.114, p.1-10, 2004.

GUILLAMÓN, A.; SEGOVIA, S. M.; KATER, S. B. Sex differences in the vomeronasal system. **Brain Research Bulletin**, v.277, p.377-382, 1988.

HALL, J. E. Integration of regulation of cardiovascular function. **Advances in Physiology Education**, v.277, p.174-186, 1999.

HAYANO, J.; YAMADA, A.; MUKAY, S.; SAKAKIBARA, Y.; YAMADA, M.; OHTE, N.; HASHIMOTO, T.; FUJINAMI, T.; TAKATA, K. Severity of coronary atherosclerosis correlates with the respiratory component of heart rate variability. **American heart journal** v.121, p.1070-1079, 1991.

HARVEY, S.; PHILIPS, J. G.; REES, A.; HALL, T. R. Stress and adrenal function. **Journal Experimental Zoology**, v.32, p.633-645, 1984.

HARRIS, K. M.; KATER, S. B. Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions. **Brain Research**, v. 17, p.341-371, 1975.

HATFIELD, T.; GRAEFF, J.; GALLAGHER, M. Teste-potentiated odor conditioning: impairment produced by infusion of N-methyl-D-aspartame antagonist into basolateral amygdala. **Behavioral Neuroscience**, v.109, p.663-668, 1999.

HEAD, G. A.; McCARTY, R. Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. **Autonomic Nervous System**, v.21, p. 203-213, 1987.

HELMUNT, P. Histaminergic neurons facilitate social memory in rats. **Brain Research**, v.734, p.316-318, 1996.

HELMUNT, P. Influence of histamine receptor agonists and antagonists on ultradian rhythm of EEG in the posterior hypothalamus of the rat. **Neuroscience Letters**, v.216, p.21-24, 1996.

HERBERT, H.; SAPER, C. B. Cholecystokinin-galanin, and corticotropin-releasing factor-like immunoreactive projections from the nucleus of the solitary tract to the parabrachial nucleus in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v.293, p.581-598, 1990.

HUSZTI, Z.; PRAST, H.; TRAN, M. H.; FISCHER, H.; PHILIPPU, A. Gial cells participate in histamine inactivation in vivo. **Archive Pharmacology**, v.357, p.49-53, 1998.

IWATA, J.; CHIDA, K.; LEDOUX, J. E. Cardiovascular responses elicited by stimulation of neurons in the central amygdaloid nucleus in awake but not anaesthetized rats resemble conditioned emotional responses, **Brain Research**, v.418, p.183-188, 1987.

ITOH, Y.; OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Characterization of histamine release from the rat hypothalamus as measured by in vivo microdialysis. **The Journal of Neurochemistry**, v.56, p.769-774, 1991.

JIANG, X.; CHEN, A.; LI, H. Histaminergic modulation of excitatory synaptic transmission in the rat basolateral amygdala. **Neuroscience**, v.131, p.691-703, 2005.

JOCHEM, J. Cardiac and regional haemodynamic effects of histamine N- methyltransferase inhibitor metoprine in haemorrhage-shocked rats. **Inflammation Research**, v.53, p.316-323, 2004.

JONES, B. J.; MOORE, R. Y. Ascending projections of the locus ceruleus in the rat II. Autoradiographic study. **Brain Research**, v.127, p.23-53, 1977.

JONES, N. M.; BEART, P. M.; MONN, J. A.; WIDDOP, R. E. Type I and II metabotropic glutamate receptors mediate depressor and bradycardic actions in the nucleus of the solitary tract of anaesthetized. **European Journal of Pharmacology**, v.380, p.129-135, 1999.

JULIEN, C.; MALPAS, S. C.; STAUSS, H. M. Sympathetic modulation of blood pressure variability. **Journal of Hypertension**, v.10, p. 1707-1712, 2001.

KAMAL, A. M.; TÖMBOL, T. Golgi studies on the amygdaloid nuclei of the cat. **Journal of Hirnforschung**, v.16, p.175-201, 1975.

KAPLAN, N. M. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. In: BRAUNWALD, E.; LIBBY, P.; ZIPES, D. P. **Heart disease**. 6th edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company, v.28, p. 941-957, 2001.

- KAKINOKI, H. The effects of histamine H₃-receptor antagonists on amygdaloid kindled seizure in rats. **Brain Research Bulletin**, v.46, p.461-465, 1998.
- KARSON, A. B.; AKER, R.; ATES, N.; ONAT, F. Cardiovascular effects of intracerebroventricular bicuculline in rats with absence seizures. **Epilepsy Research**, v.34, p.231-239, 1999.
- KENNEY, M. Arterial baroreceptors and brain histamine contribute to bradycardia to peripheral hyperosmolality. **The American Journal of Physiology**, v.34, p.149-154, 1993.
- KLING, A. S.; BROTHERS, L. A. The amygdala and social behavior. In: AGGLETON, J. P. **The amygdala**. New York. Wiley-Liss, p.353-377, 1992.
- KLÜVER, H.; BUCY, P. C. Preliminary analysis of the temporal lobes in monkeys. **Archive Neurology Psychiatric**, v.42, p. 979-1000, 1939.
- KNUEPFER, M. M.; EISMANN, A.; SCHÜTZE, I.; STUMPF, H.; STOCK, G. Responses of single neurons in amygdala to exteroceptive stimuli in conscious cats. **Annual Journal Physiology**, v.268, p.666-675, 1995.
- KONDO, Y.; SACHS, B. D.; SAKUMA, Y. Importance of the medial amygdala in rat penile erection evoked by remote stimuli from estrous female. **Behavioral Brain Research**. v.91, p. 215-222, 1998.
- KRIEGER, E. M. Neurogenic hypertension in the rat. **Circulation Research**, v.15, p.511-521, 1964.
- KRIEGER, E. M. Time course of baroreceptor resetting in acute hypertension. **American Journal of Physiology**, v.218, p. 486-490, 1970.
- KUBO, T. Involvement of the medial amygdaloid nucleus in restraint stress-induced pressor responses in rats. **Neuroscience Letters**, v.354, p.84-86, 2004.
- LAWRENCE, A. J. Neurotransmitter mechanisms of rat vagal afferent neurons. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.22, p.869-873, 1995.
- LeDOUX, J. E. Emotion and amygdala. In: AGGLETON, J. P. **The Amygdala** Wiley-Liss, New York, p.255-306, 1992.
- LEHMAN, M. N.; WINANS, S. S. Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior. Autoradiography and behavioral analyses. **Brain Research**, v.240, p.27-41, 1982.
- LOEWY A. D.; SPYER K. W. Central regulation of autonomic function. New York. Oxford. **University Press**, 1990.
- LONGHURST, J. C. Neural regulation of the cardiovascular system. In: SQUIRE, L. R.; BLOM, F. E.; McCONNELL, S. K.; ROBERTS, J. L.; SPITZER, N. C.; ZIGMOND, M. J. **Fundamental Neuroscience**. San Diego, Academic Press, p.935-966, 2003.

MACHADO, B. H.; BONAGAMBA, L. G. H. Microinjection of L-glutamate into the nucleus tractus solitarii in increases arterial pressure in conscious rats. **Brain Research**, v.576, p.131-138, 1992.

MALPAS, S. C.; Neural influences on cardiovascular variability: possibilities and pitfalls. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**. v. 1. p. 6-20, 2002.

MALPAS, S. C.; MALING, T. J. Heart-rate variability and cardiac autonomic function in diabetes. **Diabetes**, v.10, p.1177-1181, 1990.

MANCIA, G.; ZANCHETTI, A. White-coat hypertension: misnomers, misconceptions and misunderstandings. What should we do next? **Journal of Hipertension**, v.9, p.1049-1052, 1986.

MARCUZZO, S. Estudo sobre a densidade de espinhos dendríticos de neurônios da amígdala medial pósterio-dorsal de ratos em diferentes condições experimentais. **Dissertação de mestrado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Neurociências** da Universidade Federal do Rio grande do Sul, 2006.

MARTINA, M. Physiological properties of central medial and central lateral amygdala neurons. **Journal of Neurophysiology**, v.82, p.1843-1854, 1999.

MAREN, S. Synaptic transmission and plasticity in the amygdala. **Molecular Neurobiology**, v.13, p.1-22, 1996.

MARAGOS, W. R.; NEWMAN, S. W.; LEHMAN, M. N.; POWER, J. B. Neurons of origin fiber trajectory of amygdalofugal projections to the medial preoptic area in Syrian hamster. **The Journal Comparative of Neurology**, v.280, p.59-71, 1989.

MARSHALL, J. M. Chemoreceptors and cardiovascular control in acute and chronic systemic hypoxia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, p. 863-888, 1998.

MARSHALL, J. M. Pheripheral chemoreceptors and cardiovascular regulation. **Physiological Reviews**, v.74, p. 543-594, 1994.

MASCÓ, D. H.; CARRER, H. F. Sexual receptivity in female rats after lesions or stimulation in different amygdaloid nuclei. **Psychology behavioural**, v.24, p.1073-1080, 1990.

MATSUMURA, K.; TSUCHIHASHI, T.; KAGIYAMA, S.; ABE, I.; FUJISHIMA, M. Subtypes of metabotropic glutamate receptors in the nucleus of the solitaty tract of rats. **Brain Research**, v.842, p.461-468, 1999.

McDONALD, A. J.; SHAMAMAH-LAGNADO, S. J.; SHI, C.; DAVIS, M. Cortical afferents to the extended amygdala. **Annals of the New York Academy of Science**, v.877, p. 309-338, 1999.

McDONALD, A. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Progress in Neurobiology**, v.55, p. 257-332, 1998.

McDONALD, A. J.; MASCAGNI, F.; MULLER, J. F. Immunocytochemical localization of GABA_BR1 receptor subunits in the basolateral amygdala. **Brain Research**, v.1018, p.147-158, 2004.

McGAUGH, J. L. Involvement of the amygdala in neuromodulatory influences on memory storage. In: AGGLETON, J. P. **The Amygdala**. New York: Wiley-Liss, p. 431-451, 1992.

McGAUGH, J. L. Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. **Academic Science**, v.93, p.13508-13514, 1996.

MCKINLEY, P.; SHAPIRO, P.; BAGIELLA, E.; MYERS, M. M.; DE MESERSMAN, R. E.; GRANT, I.; SLOAN, R. Deriving heart period variability from blood pressure waveforms. **Journal Application Physiology**, v. 95, p.1431-1438, 2003.

MEREDITH, M.; WESTBERRY, J. M. Distictive responses in the medial amygdala to same-species and different-species pheromones. **Journal of Neuroscience**, v.24, p.5719-5725, 2004.

MICHELINI, L. C. Vasopressin in the nucleus tractus solitarius: a modulator of barorreceptor reflex control of heart rate. **Brazilian Journal of Medical and Biologic Research**, v.27 p.1017- 1032, 1994.

MICHELINI, L. S. Regulação da pressão arterial: mecanismos neuro-humorais. In: AIRES, M.M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 473-488, 1999.

MIFFLIN, S. T. What does the brain know about blood pressure? **News Physiological Sciences**, v.16, p. 266-271, 2001.

MIYATA, S.; ITOL, T.; ISHIYAMA, M.; NAKASHIMA, T.; KIYOHARA, T. Temporal changes of the *c-fos* expression in oxytocinergic magnocellular neuroendocrine cells of the rat hypothalamus with restrain stress. **Brain Research Bulletin**, v.4, p.391-395, 1995.

MIYAWAKI, T.; GOODCHILD, A. K.; PILOWSKY, P. M. Evidence for a tonic GABAergic inhibition of excitatory respiratory-related afferents to presympathetic neurons in the rostral ventrolateral medulla. **Brain Research**, v.924, p.56-62, 2002.

MOCHIZUKI, T.; YAMATODANI, A.; OKAKURA, K.; HONNI, A.; IMAGAKI, N.; WADA, H. Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats. **Physiology and Behavior**, v.51, p.391-394, 1992.

NEWMAN, S. Pheromonal signals access the medial extended amygdala: One node in a proposed social behavior network. **Hormones Brain and Behavior**. v.2, n.17, p.17-32, 2002.

OBERTO, A.; PANZICA, G. C.; ALTRUDA, F.; EVA, C. GABAergic and NPY-Y₁ network in the medial amygdala: A neuroanatomical basis for their functional interaction. **Neuropharmacology**, v.41, p.639-642, 2001.

OHTAKE, T.; YAMANDA, H. Efferent connections of the nucleus reuniens and the rhomboid nucleus in the rat: An anterograde PHA-L tracing study. **Neuroscience Research**, v.6 p.556-568, 1989.

OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Regional differences in the turnover of neuronal histamine in the rat brain. **Life Sciences**, v.34, p.691-699, 1983.

OISHI, R.; SHISHIDO, S.; YAMORI, M.; SAEKI, K. Comparison of the effects of eleven histamine H₁-receptor antagonists on monoamine turnover in the mouse brain. Naunyn Schmiedebergs **Archive of Pharmacology**, v.349, p.140-144, 1994.

ONAT, F.; TELLIOĞLU, T.; AKER, R.; GÖREM, Z.; İSKENDER, E.; OKTAY, Ş. Effect of muscimol in cholinomimetic-induced cardiovascular responses in rats. **European Journal of Pharmacology**, v.362, p.173-181, 1998.

ÖSTERLUND, M.; KUIPER, G. G.; GUSTAFSSON, J. A.; HURD, Y. L. Differential distribution and regulation of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA within the female rat brain. **Molecular Brain Research**, v.54, p.175-180, 1998.

OTTERSEN, O. P. Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat. III. Afferent from the lower brainstem. **The Journal of Comparative Neurology**, v.202, p.335-356, 1981.

OTTERSEN, O. P. Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat. II. Afferent from the hypothalamus and the basal telencephalon. **The Journal of Comparative Neurology**, v.194, p.267-289, 1980.

OTTERSEN, O. P.; BEN-ARI, Y. Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat and cat: Projections from the thalamus. **The Journal of Comparative Neurology**, v.187, p.401-424, 1979.

OTTERSEN, O. P.; STORM-MATHISEN, J. Excitatory amino acid pathways in the brain. In SCHWARTZ, R.; BEN-ARI, Y. **Excitatory Amino Acids and Epilepsy**. New York/London: Plenum Press, p.263-284, 1986.

ÖZKUTLU, U.; COSKUN, T.; ONAT, F.; YEGEN, B.; OKTAY, S. Cardiovascular effects of centrally active cholinomimetics in conscious and anesthetized rats: The role amygdala. **Brain Research Bulletin**, v.37, p.569-573, 1994.

PAGANI, M.; LUCINI, D.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R. PIAZZA, S.; PORTA, A.; MALLIANI, A. Low and high frequency components of blood pressure variability. **Annals of the New York Academy of Sciences** v.15, p. 10-23, 1996.

PAGANI, M.; MONTANO, N.; PORTA, A.; MALLIANI, A.; ABOUD, F. M.; BIRKETT, C.; SOMERS, V. K. Relationship between spectral components of cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. **Circulation**, v.18, p.1441-1448, 1997.

PANULA, P.; YANG, H. Y.; COSTA, E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. **Proceedings of the National Academy Science USA**, v.81, p.2572-2576, 1984.

PARATI, G.; DI RIENZO, M.; OMBONI, S.; ULIAN, L.; MANCIA, G. Blood pressure variability over 24 hours: its different components and its relationship to the arterial baroreflex. **Journal of Sleep Research**, v.4, p.21-29, 1995.

PASCALE, B. Histamine H₃ antagonist thioperamide dose-dependently enhances memory consolidation and reverses amnesia induced by dizocilpine or scopolamine in a one-trial inhibitory avoidance task in mice. **Behavioural Brain Research**, v.154, p.211-219, 2004.

PASSANI, M. B.; CANGIOLI, I.; BALDI, E.; BUCHARELLI, C.; MANNAIONI, P. F.; BLANDINA, P. Histamine H₃ receptor-mediated impairment of contextual fear conditioning

and in-vivo inhibition of cholinergic transmission in the rat basolateral amygdala. **European Journal of Neuroscience**, v.14, p.1522-1532, 2001.

PAULA, P. M.; MACHADO, B. H. Changes in regional vascular resistance in response to microinjection of L-glutamate into different antero-posterior coordinates of the RVLM in awake rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v.87, p.301-309, 2001.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**, Academic Press; San Diego, 1998.

PETROVICH, G. D.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. **Brain Research Reviews**, v.38, p.247-289, 2001.

PILLOT, C.; HERON, A.; COCHOIS, V.; TARDIVEL-LACOMBE, J.; LIGNEAU, X.; SCHWARTZ, J. C.; ARRANG, J. M. A detailed mapping of the histamine H₃ receptor and its gene transcripts in rat brain. **Neuroscience**, v.114, p.173-193, 2002.

PITKÄNEN, A. Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: AGGLETON, J. P. **The Amygdala: A Functional Analysis**. Oxford University Press; Oxford: p.31-115, 2000.

POLLARD, H.; MOREAU, J.; ARRANG, J. M.; SCHWARTZ, J. C. A detailed autoradiographic mapping of histamine H₃ receptors in rat brain areas. **Neuroscience**, v.52, p.169-189, 1993.

PREWITT, C. M.; HERMAN, J. P. Hypothalamo-pituitary-adrenocortical regulation following lesions of the central nucleus of the amygdala. **Stress**, v.1, p.263-280, 1997.

QUIRK, G. J.; REPA, C.; LeDOUX, J. E. Fear conditioning enhances short latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. **Neuron**, v.15, p.1029-1039, 1995.

RADLEY, J. J.; MORRISON, J. H. Repeated stress and structural plasticity in the brain. **Ageing Research Reviews**, v. 4, p.271-287, 2005.

RANDALL W. C. **Nervous control of cardiovascular function**. New York. Oxford. University Press, 1984.

RASIA-FILHO, A. A. Is there anything “autonomus” in the nervous system? **Advances in Physiology Education**, v.30, p.9-12, 2006.

RASIA-FILHO, A. A. LONDERO, R. G.; ACHAVAL, M. Effects of gonadal hormones on the morphology of neurons from the medial amygdaloid nucleus of rats. **Brain Research Bulletin**, v.48, p.173-183, 1999.

RASIA-FILHO, A. A.; LONDERO, R.; ACHAVAL, M. Functional activities of the amygdala: an overview. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v.25, p.14-23, 2000.

RASIA-FILHO, A. A.; FIN, C. A.; ALVES, M.; POSSA, M.; ROEHRIG, C.; FEOLI, A.; SILVA, L.; PERRY, M. L. Glucose and lactate utilization by the amygdala of male and female rats. **Neurochemical Research**, v.27, p.1575-1580, 2002.

RASIA-FILHO, A. A.; XAVIER, L. L.; SANTOS, P.; GEHLEN, G.; ACHAVAL, M. Glial fibrillary acidic protein immunodetection and immunoreactivity in the anterior and in the posterior medial amygdala of male and female rats. **Brain Research Bulletin**, v.58, p. 67-75, 2002.

RASIA-FILHO, A. A. FABIAN, C.; RIGOTTI, K. M. Influence of sex, estrous cycle and motherhood on dendritic spine density in the medial amygdala revealed by the Golgi method. **Neuroscience**, v.126, p.839-847, 2004a.

RASIA-FILHO, A. A.; RIGATTO, K. V.; DAL'AGO, P. Mecanismos neurais centrais e periféricos de gênese e controle a curto prazo da pressão arterial: da fisiologia à fisiopatologia. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v.03, 2004b.

RASIA-FILHO, A. A.; HILBIG, A. Papel da amígdala e do hipocampo no transtorno do estresse pós-traumático. In: CAMINHA, R. **Transtornos do Estresse Pós-traumático**, São Paulo: Casa do Psicólogo, p.37-53, 2005.

RAU, H.; ELBERT, T. Psychophysiology of arterial baroreceptor and the etiology of hypertension. **Biological Psychology**, v.57, p.179-201, 2001.

REIS, D. J.; OLIPANTI, M. C. Bradycardia and tachycardia following electrical stimulation of the amygdaloid region in monkey. **Journal of Neurophysiology**, v.27, p.893-912, 1964.

RYOZO, O. Regional differences in the turnover of neuronal histamine in the rat brain. **Life Sciences**, v.34, p.691-699, 1983.

RYU, J. H.; YANAI, K.; SAKURAI, E.; KIM, C. Y.; WATANABE, T. Ontogenetic development of histamine receptor subtypes in rat brain demonstrated by quantitative autoradiography. **Brain Research**, v.87, p.101-110, 1995.

ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. **Current Opinion in Neurobiology**, v.6, p.228-236, 1996.

ROOZENDAAL, B.; McGAUGH, J. L. Amygdaloid nuclei lesions differentially affects glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 65, p.1-8, 1996.

SAHA, S. Role of the central nucleus of the amygdala in the control of the blood pressure: descending pathways to medullary cardiovascular nuclei. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.32, p.450-456, 2005a.

SAHA, S.; BATTEN, T. F. C.; HENDERSON, Z. A GABAergic projection from the central nucleus of the amygdala to the nucleus of the solitary tract: a combined anterograde tracing and electron microscopic immunohistochemical study. **Neuroscience**, v.99, p.613-626, 2000.

SAHA, S. Central nucleus of amygdala projections to rostral ventrolateral medulla neurones activated by decreased blood pressure. **European Journal of Neuroscience**. v.21, p.1921-1930, 2005b.

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

SAJDYK, T. J.; SHEKAR, A. Excitatory aminoacid receptor antagonists block the cardiovascular and anxiety responses elicited by gamma-aminobutyric acid a receptor blockade in the basolateral amygdala of rats. **Journal of Experimental Pharmacology**, v.283, p.969-977, 1997.

SALGADO, H. C.; BARALE, H. R.; CASTANIA, J. A.; MACHADO, B. H.; CHAPLEAU, N. W.; FAZAN, J. Baroreflex responses to electrical stimulation of aortic depressor nerve in conscious SHR. **American Journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 1, p. 100-181, 2006.

SAPOLSKY, R. M. Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: Relevance to aging. **Experimental Gerontology**, v.34, p.721-732, 1999.

SATO, K.; SHAMOTO H.; TOSHIMOTO, T. Severe bradycardia during epilepsy surgeries. **Journal of Neurosurgery Anesthesiology**, v.13, p.329-332, 2001.

SCHAFFAR, N.; RAO, H.; KESSLER, J-P.; JEAN, A. Immunohistochemical detection of glutamate in rat vagal sensory neurons. **Brain Research**, v.778, p.302-308, 1997.

SCHWARTZ, J. C.; ARRANG, J. M.; GARBARG, M.; POLLARD, H.; RUAT, M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. **Physiological Reviews**, v.7, 1991.

SHARMA, N. B.; GESELMA, A. J. Central nucleus of the amygdala and the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **The American Journal of Physiology**, v.268, p.1171-1177, 1995.

SINGEWALD, N.; KOUVELAS, D.; MOSTAFA, A.; SINNER, C.; PHILIPPU, A. Release of glutamate and GABA in the amygdala of conscious rats by acute stress and baroreceptor activation: differences between SHR and WKY rats. **Brain Research**, v.864, p.138-141, 2000.

SIERLY, R. Anatomical substrates of hypothalamic integration. **The Rat Nervous System**, v. 3, n.14, p.335-368, 2004.

SILVERMAN, A. J.; HOFFMAN, D. L.; ZIMMERMAN, E. A. The descending afferent connections of the paraventricular nucleus of hypothalamus (PVN). **Brain Research Bulletin**, v.6, p.47-61, 1981.

SMITH, B. N.; DUDEK, F. E. Aminoacid-mediated regulation of spontaneous synaptic activity patterns in the rat basolateral amygdala. **Journal of Neurophysiology**, v.76, p.1958-1967, 1996.

SMOCK, T.; ARNOLD, S.; ALBECK, D.; EMERSON, P; GARRITANO, J.; BURROWS, K.; DERBER, W.; SANON, C.; MARRS, K.; WEARTHEARLY, H.; KRUSE, K. A peptidergic circuit for reproductive behavior. **Brain Research**, v.598, p.138-142, 1992.

SPALLONE, V.; MENZINGER, G. Diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. **Diabetes**, v.2, p.67-76, 1997.

SPYER, K. M. Central nervous mechanisms contributing to cardiovascular control. **Journal of the Physiology**, v.474, p.1-17, 1994.

SPYER, K. M. Vagal preganglionic neurons innervating the heart. In: PAGE, E.; FOZZARD, H. A.; SOLARO, R. J. **Handbook of Physiology**. The Cardiovascular System. New York: Oxford University Press, p.213-239, 2002.

STEPHEN, L. Effects of selected histamine H₃ receptor antagonists on tele-methylhistamine levels in rat cerebral cortex. **Biochemical and pharmacology**, v.57, p.1059-1066, 1999.

SWANSON, L.W.; COWAN, W. M. The connections of the septal region in the rat. **The Journal Comparative of Neurology**, v.186, p.621-656, 1979.

SWANSON, D. W.; PETROVICH, G. D. What is the amygdala? **Trends Neuroscience**, v.21, p.323-331, 1998.

TAKATOSHI, M. Brain penetration of the histamine H₃ receptor antagonists thioperamide and clobenpropit in rat and mouse, determined with ex vivo [¹²⁵I]iodophenpropit binding. **Brain Research**, v.743, p.178-183, 1996.

TAKENAKA, K.; SASAKI, S.; UCHIDA, A.; FUJITA, H.; NAKAMURA, K.; ICHIDA, T.; ITOH, H.; NAKATA, T.; TAKEDA, K.; NAKAGAWA, M. GABA-ergic Stimulation in hypothalamic pressor area induces larger sympathetic and cardiovascular depression in spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Hypertension**, v.9, p.964-972, 1996.

TAKESHITA, Y.; SAKATA, T.; MUNAKATA, M.; ISHIBASHI, H.; AKAIKE, N. Histamine modulates high-voltage-activated calcium channels in neurons dissociated from the rat tuberomammillary nucleus. **Neuroscience**, v.87, p-797-805, 1988.

TAREK, S.; CONNELL, B. Central nuclei mediating estrogen-induced changes in autonomic tone and baroreceptor reflex in male rats. **Brain Research**, v.961, p.190-200, 2002.

THAMES, M. D.; DIBNER-DUNLAP, M. L.; SMITH, M. L. Mechanism of arterial baroreflex control. In: LEVY, M. N.; SCHWARTZ, P. J. Vagal control of the heart: experimental basis and clinical implications. **Futura Publishing Company**, Inc, p. 369-380, 1994.

TIMO-IARIA, C. Comportamentos. In: AIRES, M. M. **Fisiologia Básica**, Guanabara; Rio de Janeiro, p.163-300, 1988.

TIMO-IARIA C. Sistemas neurovegetativos. In: AIRES, M. **Fisiologia**, Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan, p. 289-314, 1999.

TIMM, H. J. L. M.; WIELING, W.; KAREMAKER, J. M.; LENDERS, J. W. M. Denervation of carotid baro- and chemoreceptors in humans. **Journal of Physiology**. v. 553, p. 3-11, 2003.

TOYOTA, T. H. Decreased central histamine in the amygdaloid kindling rats. **Brain Research**, v.802, p. 241-246, 1998.

TURNER, S. A.; GANTEN, D. Cardiovascular regulation. In: LIGHTMAN, S. L.; EVERITT, B. J. **Neuroendocrinology**. London: Blackwell Scientific Publications, p.331-359, 1986.

TRIBOLLET, E.; DREIFUSS, J. J. Localization of neurones projecting to the hypothalamic paraventricular nucleus area of the rat: a horseradish peroxidase study. **Neuroscience**, v.6, p.1315-1328, 1981.

TSUCHIHASHI, T.; LIU, Y.; KAGIYAMA, S.; MATSUMURA, K.; ABE, I.; FUJISHIMA, M. Metabotropic glutamate receptor subtypes involved in cardiovascular regulation in the rostral ventrolateral medulla of rats. **Brain Research Bulletin**, v.52, p.279-283, 2000.

WADA, H.; INAGAKI, N.; ITOWI, N. YAMATODANI, A. Histaminergic neuron system in the brain: **Distribution and Possible Functions**, v.27, p.367-370, 1991.

WANG, J.; IRNATEN, M.; VENKATESAN, P.; EVANS, C.; MENDELOWITZ, D.; Arginine vasopressin enhances GABAergic inhibition of cardiac parasympathetic neurons in the nucleus ambiguus. **Neuroscience**, v.111, p.699-705, 2002.

VALVEDERE, F. The Golgi method: A tool for comparative structural analyses. In: NAUTA, W. J. H.; EBBSSON, S. O. E. **Contemporary Research Methodos in Neuroanatomy**. Berlim, Springer-Verlag, p.12-31, 1970.

VAN de KAR, L. D.; PIECHOWSKI, R. A.; RITTENHOUSE, P. A.; GRAY, T. S. Amygdaloid lesions: Differential effects on conditioned stress and immobilization-induced increases in corticosterone and renin secretion. **Neuroendocrinology**, v.54, p.89-95, 1991.

VARDHAN, A.; KACHROO, A.; SAPRU, H. N. Excitatory aminoacid receptors in commissural nucleus of the NTS mediate carotid chemoreceptor responses. **American Journal of Physiology**, v.264, p.41-50, 1993.

VASQUEZ, E. C.; MEYRELLES, S. S. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: Interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. **Brazilian Journal of medical and Biological Research**, v.30, p.521-532, 1997.

VIARD, E.; SAPRU, H. N. Cardiovascular responses to activation of metabotropic glutamate receptors in the NTS of the rat. **Brain Research**, v.952, p.308-321, 2002.

VCHTELLO, J. D.; KOOLHAAS, J. M. Medial amygdala lesions in males rats reduce aggressive behavior: Interference with experience. **Physiology and Behavior**, v.41, p.99-102, 1987.

VINADER-CAEROLS, C.; COLLADO, P.; SEGOVIA, S.; GUILAMÓN, A. Sex differences in posteromedial cortical nucleus of the amygdala in the rat. **Neuroreported**, v.383, p.305-325, 1998.

YILMAZER-HANKE, D. M.; ROSKODEN, T.; ZILLES, K.; SCHWEGLER, H. Anxiety-related behavior and densities of glutamate, GABA_A, acetylcholine and serotonin receptors in the amygdala of seven inbred mouse strains. **Behavioural Brain Research**, v.145, p.145-159, 2003.

YOUNG, B. J.; LEATON, R. N. Amygdala central nucleus lesions attenuate acoustic startle stimulus-avoked heart rate changes in rats. **Behavioral Neuroscience**, v.110, p.228-237, 1996.