



UFBA

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



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES
HISTAMINÉRGICOS CENTRAIS DOS TIPOS H1 E H2
NO CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA.

JANEIDE DA SILVA MAGRANI

Salvador - Bahia - Brasil
2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES
HISTAMINÉRGICOS CENTRAIS DOS TIPOS H₁ E H₂ NO
CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA.**

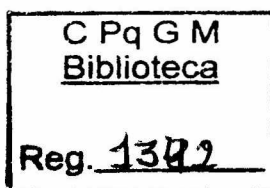
Janeide da Silva Magrani

Orientador: Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze

Dissertação apresentada para
obtenção de grau de Mestre em
Patologia, área de concentração em
Patologia Experimental.

Salvador-Bahia

2003



Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do CPqGM / FIOCRUZ
Salvador – Bahia

Magrani, Janeide da Silva
M212p Participação do receptores histaminérgicos centrais dos tipos H₁ e H₂ na
ingestão de água em ratos / Janeide da Silva Magrani. – Salvador :
Universidade Federal da Bahia / Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz /
FIOCRUZ, 2003.
74 p.:il

Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental)- Universidade Federal
da Bahia, 2003.

1.Histamina. 2. Mepiramina. 3. Cimetidina. 4. Sistema Nervoso Central.
5.Hipotálamo. 6.Núcleo Ventromedial Hipotalâmico (VMH). 7. Ingestão de
água. 8. Ingestão alimentar. I.Título.

CDU 611.81: 611.814: 547.78

172
1170 1171
1172 1173

611.81:547.78
M212p
cx.1

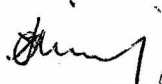
1170 1171

ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS CENTRAIS
H₁ E H₂ NO CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA.

JANEIDE DA SILVA MAGRANI

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Irismar Reis de Oliveira
Professor Titular
Psiquiatria - UFBA



Dr. Ramon dos Santos El-Bachá
Professor Adjunto
UFBA



Dra. Josmara B. Fregoneze
Professora Adjunta
Inst. Biologia - UFBA

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Jorge e Maria, aos meus irmãos Maria José, Roldiney, Jorge e Rodrigo, e ao meu esposo Sandro.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que de forma direta ou indireta participaram da realização deste trabalho.

- À Professora Josmara Bartolomei Fregoneze, pela orientação, paciência e dedicação que dispensou a mim durante a conclusão desta dissertação.
- Ao Professor Emílio De-Castro-e-Silva, pelo apoio e confiança que a mim dedicou.
- Aos bolsistas do laboratório Bruno Varjão e Gleison Duarte, pelo empenho, responsabilidade e disponibilidade que tiveram na realização deste trabalho.
- Ao Sr. Vanilson, pelo apoio técnico e por ter me ensinado a superar as dificuldades decorrentes da realização deste trabalho.
- Ao Sr. José, bioterista, pelo apoio aos alunos de pós-graduação e pelo tratamento que dispensa aos animais.
- Aos amigos e colegas de pós-graduação Letícia Castro, Fernando Carvalho e Hilda Silva, que me ensinaram a buscar os caminhos para realizar meus objetivos.
- À amiga e pós-graduanda Rejane Santana, pelo apoio e incentivo e por sua amizade.
- Aos amigos Maria Alice Zarife, George Mariane, Fábio Couto e Evandro, que, de forma direta, sempre me apoiaram.
- Aos meus pais Jorge e Maria, pelas oportunidades que me apresentaram e pela confiança incondicional no meu sucesso .
- Aos meus irmãos Maria José, Roldiney, Jorge e Rodrigo, que sempre demonstraram seu orgulho e apoio de forma particular.

- Ao meu esposo Sandro, pelo apoio, incentivo e confiança na minha capacidade de realização e por todo o amor mútuo.
- À amiga Iara Soares, pelo apoio e preocupação que sempre me dispensou.
- À Rosália, pela dedicação aos alunos do curso de pós graduação e pela competência no desempenho de suas funções.
- As bibliotecárias Ana Maria Fiscina e Vânia, pela ajuda na organização das referências bibliográficas.
- Aos professores e funcionários do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz -FIOCRUZ, por todo apoio.

“Que máquina estranha é o homem. Você o abastece com pão, vinho, peixes e rabanetes e o que sai são suspiros, risadas e sonhos.”

Nikos Kazantzakis

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CARACTERÍSTICAS ANÁTOMO-FUNCIONAIS DO HIPOTÁLAMO.....	1
1.2 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DAS VIAS HISTAMINÉRGICAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	3
1.2.1 VIAS HISTAMINÉRGICAS.....	3
1.2.2 CARACTERÍSTICAS BIOSINTÉTICAS.....	5
1.2.3 RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS.....	5
1.2.3.1 RECEPTOR H ₁	6
1.2.3.2 RECEPTOR H ₂	8
1.2.3.3 RECEPTOR H ₃	9
1.2.3.4 RECEPTOR H ₄	9
1.2.4 INTERAÇÃO DAS VIAS HISTAMINÉRGICAS COM OUTRAS VIAS NEUROTRANSMISSORAS.....	10
1.3 CONTROLE DA INGESTÃO HÍDRICA E O PAPEL DAS VIAS HISTAMINÉRGICAS.....	11
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivos Gerais.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 ANIMAIS.....	16

3.2	CANULAÇÃO DO NÚCLEO VENTROMEDIAL HIPOTALÂMICO.....	16
3.3	HABITUAÇÃO AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	17
3.4	PERFUSÃO	17
3.5	HISTOLOGIA E POSICIONAMENTO DAS CÂNULAS.....	18
3.6	DROGAS E MICROINJEÇÕES.....	18
3.7	PROTOSCOLOS EXPERIMENTAIS.....	19
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
3.9	DESENHOS EXPERIMENTAIS.....	22
4	RESULTADOS.....	24
5	DISCUSSÃO.....	51
6	CONCLUSÃO.....	62
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
8	ANEXOS.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS

VMH	Núcleo Ventromedial Hipotalâmico
AA	Ácido Araquidônico
AMPC	Adenosina Monofosfato Cíclica
DG	Diacilglicerol
GABA	Ácido γ -Aminobutírico
GMPc	Guanosina-3',5'-Monofosfato Cíclica
GTP	Guanosina Trifosfato
IP ₃	Inositol Trifosfato
HL	Hipotálamo Lateral
NMDA	<i>N</i> - Metil-de-Aspartato
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintetase
PKA	Proteína Cinase A
PKC	Proteína Cinase C
HTMT	6-[2-(4-Imidazol) etilamino]-N-(4-trifluorometilfenil) heptanecarboxamide)

RESUMO

ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS CENTRAIS DOS TIPOS H₁ E H₂ NO CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA.

Janeide da Silva Magrani. Diversos estudos têm mostrado a participação das vias histaminérgicas cerebrais no controle das funções neuroendócrinas e comportamentais. Entretanto poucos trabalhos foram realizados para esclarecer o papel destas vias no controle hidrossalino. Assim, o objetivo do presente trabalho foi investigar a participação das vias histaminérgicas centrais no controle da ingestão hídrica. Foram realizados quatro grupos experimentais estudando os efeitos dos agonistas e antagonistas dos receptores histaminérgicos dos tipos H₁ e H₂ sobre a ingestão de água em animais normoidratados, após privação hídrica, após desidratação osmótica e pós-prandial. Os três primeiros grupos experimentais foram realizados entre 7 e 12 horas da manhã e o quarto grupo foi realizado durante o período noturno, iniciando-se as 18:00 horas. No primeiro grupo, ratos normoidratados receberam microinjeções bilaterais no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH), do agonista dos receptores histaminérgicos do tipo H₁, HTMT (6-[2-(4-Imidazol) etilamino]-N-(4-trifluorometilfenil) heptanecarboxamide), nas doses de 100 e 200 nmol e do agonista para os receptores do tipo H₂, dimaprita, na dose de 100 nmol. No segundo grupo animais em privação hídrica por 14 horas durante o período noturno, receberam, no VMH, microinjeções de mepiramina, antagonista dos receptores histaminérgicos do tipo H₁, e cimetidina antagonista dos receptores do tipo H₂, nas doses de 100 e 200 nmol. O terceiro grupo experimental foi realizado em animais sob desidratação osmótica induzida pela administração oro-gástrica de salina hipertônica (solução salina 9% num volume de 10% do peso corporal). Nestes três grupos, o volume

ingerido pelos animais foi monitorado a cada 15 minutos, durante duas horas. No quarto grupo experimental os animais receberam no VMH microinjeções de mepiramina e cimetidina, na dose de 200 nmol para a investigação da ingestão hídrica pós-prandial. A ingestão alimentar e hídrica deste grupo foram monitorados a cada 30 minutos durante as primeiras 4 horas do período noturno e ao fim deste período (6h). Os resultados mostram que a administração dos agonistas histaminérgicos HTMT (100 nmol e 200 nmol), e dimaprita (100 nmol), estimula a ingestão de água em animais normoidratados. No segundo grupo experimental, observou-se que a microinjeção bilateral no VMH de cimetidina e mepiramina (100nmol e 200 nmol), inibe a ingestão de água em animais desidratados por privação hídrica. No terceiro grupo experimental, com animais sob desidratação osmótica, a administração de cimetidina e mepiramina (200 nmol) inibe a ingestão hídrica, sendo que a mepiramina apresentou efeito dipsogênico mais potente. No quarto grupo experimental, verificou-se que apenas mepiramina (200 nmol) levou a significativa redução da ingestão de água pós-prandial ao final do período noturno. Os dados presentes demonstram que ambos os receptores histaminérgicos dos tipos H₁ e H₂, participam diretamente do processo de controle da ingestão hídrica, sendo que os receptores do tipo H₁, parecem ser mais efetivos no controle da ingestão hídrica do que os receptores do tipo H₂. A utilização dos antagonistas histaminérgicos H₁ e H₂ em animais desidratados por privação hídrica e por administração de salina hipertônica, demonstram a existência de um tônus histaminérgico endógeno que participa dos mecanismos cerebrais de controle da ingestão hídrica em condições fisiológicas de forma a manter a homeostasia hidrossalina.

Palavras-chaves: 1.Hipotálamo. 2. Núcleo Ventromedial Hipotalâmico. 3. Histamina. 4. Receptores H₁ e H₂.

ABSTRACT

THE ROLE OF CENTRAL HISTAMINERGIC H₁ AND H₂ RECEPTORS ON WATER INTAKE CONTROL. Janeide da Silva Magrani. Brain histaminergic pathways, a specific neuronal circuitry exclusively originated in the hypothalamic tuberomammillary nucleus, spread to several brain areas exerting numerous physiological roles. In the last decades, a growing research effort has established the undisputable role of brain neuronal histamine in the suppressive control of food intake. Less effort has been dedicated to the study of brain neuronal histamine on the control of fluid balance. Only a few papers are available in the literature exploring the participation of brain histaminergic receptors in the control of water intake induced by distinct physiological stimuli. In the present paper we decided to explore the role of H₁ and H₂ receptors located in the hypothalamic ventromedial nucleus (HVM) on water intake induced by 3 different thirst-inducing physiological stimuli: eating, water deprivation and hyperosmolarity. We used adult Wistar male rats (250 ± 30 g) were kept under controlled light (lights on from 05:00 A.M. to 07:00 P.M.) and temperature (22-24 °C) conditions. To investigate the role of HVM H₁ and H₂ receptors on water intake induced by water deprivation, water bottles were removed from the individual cages for the 14 hours immediately before the onset of the experiments (from 05:00 P.M. until 07:00 A.M.). Thirty minutes after the injections of the H₁ or H₂ receptor antagonists into the HVM, graduated bottles were introduced into the cages and water intake monitored by the next 120 minutes. Control groups received isotonic saline injections into the HVM in the same conditions used in the drug-treated groups. The experiments designed to study the participation of H₁ and H₂ receptors in eating-induced drinking always started in the beginning of the dark period at 07:00 P.M. when rats normally eat. To achieve a more homogeneous food intake among the individuals, they were submitted to a period of food restriction for the 6 hours

immediately before the onset of the experiments (from 01:00 A.M. to 07:00 P.M.) keeping free access to water. Thirty minutes after the injections of the H₁ and H₂ antagonists into the HVM, the access to the food compartment of the metabolic cages were allowed again. Water and food intake were recorded by next 720 minutes. Control groups received injections of isotonic saline solution into the HVM in the same conditions employed in the drug-treated groups. To investigate the role of HVM H₁ and H₂ receptors on water intake induced by hyperosmolarity, animals received a hypertonic saline (9%) load by gavage, 15 min before the injections of the H₁ or H₂ receptor antagonists into the HVM. Afterward, the water intake was monitored by the next 120 minutes. Control groups received isotonic saline injections into the HVM in the same conditions used in the drug-treated groups. To study the effect of the pharmacological activation of H₁ and H₂ receptors in the HVM on water intake not associated with eating, normohydrated rats without any previous food restriction received injections of histamine H₁ and H₂ agonists or isotonic saline solution (controls) into the HVM their water intake being recorded by the next 120 minutes. These experiments were performed in the beginning of the morning (07:00 A.M.). The results show that bilateral injections of cimetidine (H₂ antagonist) and mepiramine (H₁ antagonist) in the doses of 100 and 200 nmol, inhibit the water intake induced by both water deprivation and hyperosmolarity. On the other hand, in normohydrated animals we observed an increase in water intake after H₁ (HTMT) and H₂ (dimaprite) agonists injections into HVM. However, in eating-induced drinking only the H₁ antagonist was able to reduce the water intake. The data suggest that there is an endogenous histaminergic tonus controlling water intake in rats and the HVM seems to be an important site for this control.

Key-words: 1.hypothalamus. 2.hypothalamic ventromedial nucleus. 3. Histamine. 4. H₁ and H₂ receptors.

1 INTRODUÇÃO

Os mecanismos que controlam o comportamento de ingestão de água e sal têm sido amplamente estudados. A identificação das diversas vias neurotransmissoras e das diferentes áreas cerebrais que participam destes processos contribuiu para o entendimento dos mecanismos que regulam o equilíbrio hidrossalino no organismo.

Mudanças na concentração de sais e no volume de água no organismo ativam diferentes classes de sinais sensoriais que informam diretamente ao cérebro mudanças no equilíbrio hidroeletrólítico do organismo, gerando a sensação de sede que resulta no comportamento de ingestão hídrica. Embora vários estudos tenham mostrado o envolvimento das vias de neurotransmissão central adrenérgicas, colinérgicas, angiotensinérgicas e serotoninérgicas, poucos focaram a participação das vias histaminérgicas (CASTRO et al., 2000, DE-CASTRO-E-SILVA et al., 1997, FITZSIMONS, 1972, FREGONEZE et al., 1994, FREGONEZE et al., 1999, JOHNSON & THUNHORST, 1997, MENANI, et al., 1984).

1.1 CARACTERÍSTICAS ANÁTOMO-FUNCIONAIS DO HIPOTÁLAMO

O Hipotálamo, localizado na base do diencéfalo, abaixo do tálamo, regula a homeostasia do organismo através de ajustes no meio interno, por mecanismos que envolvem o controle dos sistemas nervoso autônomo e endócrino. Assim, diversas funções podem ser controladas pelo hipotálamo, a exemplo de temperatura corporal e do sistema cardiovascular. Além disso, o hipotálamo pode interferir nos processos comportamentais

como o sexual, emocional, maternal bem como de ingestão alimentar e hídrica (AKINS et al., 1993, ROBERTS & CALCUT, 1983).

Os núcleos hipotalâmicos apresentam diversas conexões aferentes e eferentes com outras regiões cerebrais, formando um complexo sistema de integração que regula as funções somáticas, autonômicas e endócrinas. Essas conexões hipotalâmicas estão organizadas em dois grupamentos: intrínsecos, subdivididos em infundibular e hipotálamo-hipófise, que transferem informações unidirecionais do hipotálamo para a pituitária; e extrínsecos, os quais apresentam maior número de subdivisões e interligam o hipotálamo, o hipocampo, o córtex, a amígdala, a área pre-óptica, a área septal, o núcleo acumbente e o tronco cerebral (FREEMAN, 1995).

Por apresentar regulação dos processos comportamentais, entre eles o comportamento de ingestão alimentar, podemos identificar no hipotálamo duas áreas com ações opostas, o núcleo ventromedial (VMH) e o hipotálamo lateral (HL). Experimentos utilizando lesões restritas ou estimulação destes núcleos resultaram na caracterização funcional destas duas áreas. No VMH, as lesões resultaram em comportamento hiperfágico e polidipsia (BROBECK et al., 1943), enquanto que no HL produziram afagia e adipsia (TEITELBAUM & STELLAR, 1954). Ao contrário, a estimulação elétrica do VMH resultou em afagia, enquanto que, no HL, observou-se comportamento hiperfágico. Assim, o VMH foi denominado de centro da saciedade e o HL de centro da fome (TEITELBAUM & STELLAR, 1954).

Esses e outros experimentos posteriores evidenciaram a existência de conexões recíprocas inibitórias entre os núcleos ventromedial e hipotálamo lateral e mostraram

também o seu papel de regulação da ingestão hídrica além da alimentar (BOOTH & JARMAN, 1976).

O VMH é formado por um denso grupamento neuronal localizado na região medial do hipotálamo, abaixo do núcleo dorsomedial e próximo ao núcleo lateral. Este núcleo apresenta importante papel na ingestão alimentar, por conter células glicose-sensíveis, as quais monitoram a ingestão calórica (FREEMAN, 1995).

Embora o VMH tenha sido extensamente estudado com respeito a seu papel no controle da ingestão alimentar, poucos estudos foram feitos sobre sua participação no controle da ingestão hídrica. Assim, este foi um dos motivos da escolha deste núcleo como objeto de estudo do presente trabalho.

1.2 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DAS VIAS HISTAMINÉRGICAS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

1.2.1 Vias Histaminérgicas

Em diferentes tecidos periféricos, a histamina encontra-se armazenada em mastócitos, basófilos e células enterocromafins, a exemplo da mucosa gástrica. A liberação desta amina através da desgranulação dos mastócitos pode provocar diversos sintomas alérgicos na pele e vias respiratórias superiores, o que, durante muito tempo, caracterizou a histamina como apenas mediador de respostas inflamatórias e alérgicas. Trabalhos realizados a partir de 1972 já apresentavam o papel da histamina em outros processos

fisiológicos e sua ação como neurotransmissor (CALCUT, 1976, SCHWARTZ et al., 1980, TAYLOR & SNYDER, 1972), bem como a caracterização de seus receptores.

No sistema nervoso central, a histamina tem sido demonstrada estar presente em maior quantidade em dois tipos celulares, neurônios e mastócitos, sendo estes últimos relativamente escassos neste órgão em comparação com outros tecidos (GARBAG et al., 1976).

A histamina é sintetizada por população de neurônios restrita ao núcleo tuberomamilar no hipotálamo posterior (SCHWARTZ et al., 1991). Empregando-se técnicas de imuno-histoquímica, verificou-se que os neurônios deste núcleo apresentam projeções difusas para diversas áreas cerebrais (PANULA et al., 1984 & WATANABE et al., 1991). Os neurônios histaminérgicos parecem estar envolvidos em várias funções no sistema nervoso central, tais como: diversas respostas neuroendócrinas, controle da pressão sangüínea, regulação do ciclo de sono-vigília, resposta ao estresse, termorregulação e ingestão alimentar (ROBERTS & CALCUT, 1983, STRUMAN, 1996).

Segundo Kruger et al. 1995, o núcleo tuberomamilar em ratos está dividido em três subgrupos: núcleo tuberomamilar medial, formado por cerca de 600 neurônios; núcleo tuberomamilar ventral, com aproximadamente 1500 neurônios, e uma terceira região difusa, classificada como núcleo tuberomamilar difuso, localizado entre vários núcleos hipotalâmicos. Outro grupo de pesquisadores subdivide o núcleo tuberomamilar em dorsal e ventral, sendo este último subdividido em porção rostral e caudal (INAGAKI et al., 1997). Ainda outra divisão do núcleo tuberomamilar é sugerida pelo grupo de Wada et al. 1991. De acordo com eles, este núcleo poderia ser subdividido em 5 regiões distintas e seriam classificadas de E1 a E5, dependendo das funções que desempenham.

1.2.2 Características Biossintéticas

A histamina é sintetizada no cérebro a partir da *L*-histidina, através da enzima *L*-histidina descarboxilase, e catabolizada em 3-metil-histamina, através da enzima histamina *N*-metiltransferase. O processo de síntese da histamina pode ser inibido através da administração de α -fluorometil-histidina, que inibe a ação da enzima *L*-histidina descarboxilase reduzindo assim os níveis de histamina (KOLLONITSCH et al., 1978). A síntese e a liberação da histamina apresentam controle inibitório efetuado por autoreceptores do tipo H₃, localizados no corpo neuronal e nos axônios terminais dos neurônios histaminérgicos (ARRANGE et al., 1983, ITHO et al., 1991 & PRAST et al., 1991). Mochizuki et al. 1992 demonstraram que a liberação de histamina está associada à ritmicidade do ciclo circadiano, apresentando mudanças na produção e liberação durante o ciclo de sono-vigília.

1.2.3 Receptores Histaminérgicos

Os receptores histaminérgicos foram classificados com base em análises farmacológicas, levando-se em consideração as características bioquímicas, a via de transdução de sinal e o segundo mensageiro. Através dessas diferenças, estabeleceu-se até o momento o perfil farmacológico de quatro tipos de receptores histaminérgicos, classificados em: H₁, H₂, H₃ e H₄ (HILL, 1990 & HILL et al., 1997). Com o maior entendimento do papel da histamina na neurotransmissão e nos processos fisiológicos e farmacológicos, diferentes agentes seletivos (agonistas e antagonistas) foram desenvolvidos para o estudo dos

receptores histaminérgicos. A análise da função e distribuição desses receptores em diferentes espécies e em diferentes tecidos, desenvolveu-se através da utilização de antagonistas seletivos para cada tipo de receptor histaminérgico, associados com compostos radioativos como o trício ($[^3\text{H}]$). A $[^3\text{H}]$ mepiramina, $[^3\text{H}]$ cimetidina, S- $[^3\text{H}]$ metiltioperamida (GOOT & TIMMERMAN, 2000) e $[^3\text{H}]$ N- α -metil-histamina (NAKAMURA et al.,2000) são, respectivamente, antagonistas dos receptores H₁, H₂, H₃, e H₄. Através dessas substâncias, foi possível determinar a localização e a densidade de cada receptor nas diferentes áreas cerebrais.

1.2.3.1 - Receptor H₁

O gene do receptor histaminérgico H₁ está localizado em humanos no cromossomo 3, nas bandas 3p14-p21 (LE CONIAT et al., 1994). O receptor H₁ é uma proteína de peso molecular de 56 kDa, podendo variar entre 53 a 58 kDa, dependendo da espécie. Este receptor apresenta 7 alças transmembrânicas e faz parte dos receptores da superfamília acoplada à proteína G. O receptor H₁ está presente em vários tecidos como músculo liso, trato gastrointestinal, sistema geniturinário, sistema cardiovascular, medula adrenal, células endoteliais e linfócitos, além do cérebro (HILL, 1990).

Na face intracelular da membrana, o receptor histaminérgico H₁ está associado à proteína G_{q/11}, que hidrolisa a guanosina trifosfato (GTP), quando o receptor é ativado, e estimula a atividade da fosfolipase C (LEURS et al., 1995). Esta, por sua vez, hidrolisa o fosfatidil, formando assim o segundo mensageiro diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP₃). O DAG potencializa a atividade da proteína cinase C (PKC), enquanto o

composto IP_3 promove a liberação de cálcio do retículo endoplasmático para o meio intracelular. A ativação do receptor H_1 também pode levar à formação de ácido araquidônico (AA) através da ativação da fosfolipase A e a formação de guanosina-3',5'-monofosfato cíclica (GMPc). A formação de GMPc pode ser consequência direta da liberação de cálcio no citoplasma, da ativação da enzima óxido nítrico sintetase (NOS) que produz NO e também da estimulação da guanilato ciclase. Nesta via, o receptor H_1 pode ser capaz de modular a liberação de neurotransmissores na fenda pressináptica, desde que o NO e o AA executem o papel de mensageiros retrógrados. A ativação do receptor H_1 também pode interferir na regulação dos canais de magnésio através dos receptores *N*-metil-D-aspartato (NMDA), o que levaria a modificações no potencial de membrana (PAYNE & NEUMEN, 1997).

A distribuição dos receptores H_1 no sistema nervoso central é ampla (BOUTHENET et al., 1988, CHANG et al., 1979, PALACIOS et al., 1981), sendo estes identificados em diversas áreas, tais como o tálamo, córtex, grupo de células colinérgicas do tegumento e núcleos da rafe. Os receptores H_1 também estão presentes no sistema límbico e em muitos núcleos do hipotálamo. A maior densidade de receptores foi evidenciada no núcleo septal, na amígdala e em diferentes áreas do hipocampo. Outras áreas que apresentam alta densidade dos receptores H_1 são o núcleo acumbente, o núcleo do trato solitário e a área póstrema além do cerebelo (BROWN et al., 2001).

1.2.3.2 - Receptor H₂

O receptor histaminérgico H₂ foi descrito por Black et al. 1972, e sua identificação ocorreu devido a diferenças no seu perfil farmacológico e no seu papel estimulador da secreção gástrica (HILL et al., 1997). O gene do receptor histaminérgico H₂ em humanos está localizado no cromossomo 5 (TRAIFFORT et al., 1992 & TRAIFFORT et al., 1995). O receptor H₂ é uma proteína de peso molecular variando entre 40,2 a 40,5 kDa, dependendo da espécie, e também apresenta 7 alças transmembrânicas, estando associado à proteína Gs (HILL, 1990).

Quando o receptor H₂ é ativado, a proteína Gs na face intracelular da membrana estimula a adenilato ciclase a produzir o segundo mensageiro, a adenosina monofosfato cíclica (AMPC) (BAUDRY et al., 1975 & HEGSTRAND et al., 1976). O segundo mensageiro, então, estimula a proteína cinase A (PKA) dependente de AMPC, que pode fosforilar proteínas no citosol e na membrana celular ou, então, translocar-se para o núcleo e ativar a transcrição do fator CREB (SHENG et al., 1991).

O receptor H₂ está difusamente expresso no cérebro e medula espinhal (TRAIFFORT et al., 1992 & VIZUETE et al., 1997). Estes receptores estão localizados em alta densidade no gânglio basal, em partes do sistema límbico, hipocampo, amígdala e córtex cerebral, nas camadas superficiais, e em baixas densidades nas áreas septais, núcleos hipotalâmicos, talâmicos e cerebelo. Podemos encontrar os receptores H₁ e H₂ colocalizados em diversas áreas cerebrais, incluindo células piramidais e granulócitos na formação hipocampal e em outros grupos de células aminérgicas como os núcleos da rafe e na substância negra (BROWN et al., 2001).

1.2.3.3 - Receptor H₃

O receptor histaminérgico H₃ foi descrito em 1983 (ARRANGE et al., 1983) como autorreceptor, que pode regular a síntese e liberação da histamina, e atuar também como heterorreceptor, modulando a liberação de outros transmissores como o glutamato (BROWN & REYMANN, 1996), ácido γ -aminobutírico (GABA) (GARCIA et al., 1997), noradrenalina (SCHLICKER et al., 1989), dopamina (SCHLICKER et al., 1993), acetilcolina (ARRANGE et al., 1995), serotonina (SCHLICKER et al., 1988) e vários peptídios. Somente em 1999, o receptor H₃ foi clonado (LOVEMBERG et al., 1999). Este é uma proteína com 49 kDa e 455 aminoácidos, também associado à proteína-G, neste caso, a G_i ou G_o (inibidora ou estimuladora). A ativação do receptor G_i/G_o pode inibir a atividade da adenilato ciclase, reduzindo a produção de AMPc, ou ainda inibir os canais de cálcio ativados por voltagem, fatores que, somados, podem levar à redução na liberação da transmissão pré-sináptica (HILL et al., 1997).

Os receptores H₃ estão presentes em alta densidade nos núcleos acumbente, estriado, tubérculo olfatório e na substância negra e encontram-se em baixa densidade no hipotálamo. Contudo, está presente nos corpos celulares dos neurônios do núcleo tuberomamilar (BROWN et al., 2001, BROWN & REYMANN, 1996).

1.2.3.4 – Receptor H₄

O receptor histaminérgico H₄ foi recentemente identificado e clonado através do cDNA de leucócitos humanos (COGÉ et al., 2001). O gene do receptor H₄ está localizado no

cromossomo 18q11.2 e foi denominado BG26. Este receptor é uma proteína com peso molecular de 44 kDa e cerca de 390 aminoácidos (NAKAMURA et al., 2000). O receptor H₄ apresenta homologia de aproximadamente 40% com o receptor histaminérgico H₃ e também está associado à superfamília da proteína G (Gi / Go) que reduz a formação de AMPc através da inibição da adenilato ciclase. Os receptores H₄ estão presentes em baixa densidade em diversos tecidos como coração, rim, fígado, pulmão, pâncreas, músculo esquelético, próstata, intestino, baço e linfonodos. O receptor H₄ apresenta-se em alta densidade na gordura marrom e leucócitos do sangue periférico porém, não se encontra no tecido cerebral, ao contrário do receptor H₃ (LIU et al., 2001 & ZHU et al., 2001) .

Morse et al. 2001 observaram que a expressão do receptor H₄ em células imunes tende a ser reduzida na presença de IL-10 e IL-13. Outros trabalhos sugerem que os receptores H₄ podem participar das vias de ativação da resposta inflamatória (COGÉ et al., 2001), mostrando, assim, que apesar da homologia com os receptores H₃, os receptores H₄ apresentam funções fisiológicas distintas.

1.2.4 INTERAÇÃO DA VIAS HISTAMINÉRGICAS COM OUTRAS VIAS NEUROTRANSMISSORAS

Os neurônios do núcleo tuberomamilar apresentam projeções para diversas áreas do sistema nervoso central, como foi dito anteriormente. A estimulação elétrica do núcleo tuberomamilar provoca a liberação de histamina no núcleo supraóptico, influenciando nas concentrações de catecolaminas no plasma, como o aumento dos níveis de noradrenalina (DONOSO & BARONTINI, 1986, KNIGGE et al., 1990). Outros dados mostram que a

histamina pode inibir a liberação de noradrenalina através das terminações nervosas dos receptores H₁ no cérebro. A administração de antagonistas destes receptores aumentam a liberação de noradrenalina no cérebro de ratos (OISH et al.,1994 & SHISHIDO et al., 1991).

Esses resultados obtidos, em diferentes trabalhos e sob diferentes condições, demonstram as relações existentes entre as vias histaminérgicas e outras vias neurotransmissoras, a exemplo das colinérgicas, angiotensinérgicas, dopaminérgicas, serotoninérgicas e noradrenérgicas.

1.3 CONTROLE DA INGESTÃO HÍDRICA E O PAPEL DA VIAS HISTAMINÉRGICAS

Diversos trabalhos demonstraram a participação de diferentes circuitos neuronais no controle fisiológico da homeostasia hidrossalina do organismo. Tem sido observado que tanto as vias catecolaminérgicas quanto as vias colinérgicas hipotalâmicas participam do controle da ingestão hídrica e da excreção urinária (MENANI et al., 1984). A injeção de carbacol, agonista colinérgico, no hipotálamo e área septal resulta no aumento da ingestão de água em ratos (ANTUNES-RODRIGUES & COVIAN, 1971, STRICKER & MILLER, 1968). O mesmo foi verificado com a administração no 3º ventrículo (ANTUNES-RODRIGUES & McCANN, 1970). As vias adrenérgicas podem levar tanto a estimulação, quanto a inibição da ingestão hídrica. A utilização de agonistas alfa-adrenérgicos leva à inibição da ingestão hídrica, enquanto que a administração de agonistas beta-adrenérgicos resulta no aumento da ingestão de água (GROSSMAN, 1960,

LHER et al., 1967, SHARPE & MYERS, 1969). Assim, Leibowitz, 1971, sugeriu que as vias adrenérgicas poderiam ser divididas em vias da saciedade (alfa-adrenérgicas) e vias estimulantes da sede (beta-adrenérgicas).

Outras vias como a angiotensinérgica, os sistemas opiatérgico e serotoninérgico, além de vasopressina e o peptídeo natriurético atrial, também estão envolvidos na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico do organismo (FITZSIMONS, 1998, JONHSON & THUNHORST, 1997).

Em relação às vias histaminérgicas, poucos estudos foram direcionados para a investigação da sua participação no controle da ingestão hídrica. A maioria dos trabalhos foi voltado para o papel destas vias no controle da ingestão alimentar. A administração periférica de histamina por via subcutânea provoca o aumento da ingestão de água em ratos, quadro que pode ser revertido com a utilização de antagonistas dos receptores H₁, H₂ e H₃ dexbromfeniramina, cimetidina e tioperamida respectivamente, sozinhos ou em combinações (KRALY et al., 1996). A administração de metoprina, inibidora do catabolismo da histamina, por via intraperitoneal em ratos de diferentes linhagens (Wistar, Long-Evans e Brattleboro), deficientes de vasopressina plasmática, mostraram o envolvimento deste neuropeptídeo na regulação do balanço dos líquidos corporais destes animais (LECKLIN & TUOMISTO, 1995).

A histamina administrada nos ventrículos laterais, ou em diferentes sítios hipotalâmicos, provoca a estimulação da ingestão hídrica (GERARD & MAICKEL, 1972, LEIBOWITZ, 1973). Além disso, observou-se que a estimulação histaminérgica leva também ao aumento da liberação de vasopressina e diminui a excreção urinária (BENNET & PERT, 1974, BHARGAVA et al., 1973 & KJAER et al., 1994).

A administração de antagonistas dos receptores H_1 , H_2 e H_3 no ventrículo lateral evidenciou a participação desses receptores na ingestão de água pós-prandial (KRALY et al., 1995). Em muitas espécies, a ingestão de água está associada ao processo alimentar. Observa-se que 70% do consumo de água ocorre durante ou imediatamente após a alimentação, demonstrando a estreita relação entre os dois processos (FITZSIMONS & LE MAGNEN, 1969, KISSILEFF, 1969).

A histamina, como neuropeptídeo relacionado com o processo de ingestão alimentar, tem sido amplamente estudada. Diversos trabalhos mostram sua participação tanto no controle metabólico e balanço energético quanto no comportamento alimentar. Através da administração da tioperamida, antagonista seletivo dos receptores H_3 , no VMH, observou-se a supressão da ingestão alimentar em ratos (SAKATA et al., 1997). Os receptores H_1 e H_2 também parecem estar envolvidos no controle da ingestão alimentar. Verificou-se que a administração central e periférica dos antagonistas seletivos dos receptores H_1 e H_2 inibe tanto a ingestão alimentar quanto a ingestão hídrica (KRALY et al., 1998). Esses receptores parecem também estar envolvidos no estímulo alimentar em ratos. A administração central, nos núcleos ventromedial e paraventricular, de metoprina eleva os níveis de histamina no cérebro e promove redução da ingestão alimentar, enquanto que, em animais pré-tratados com o antagonista do receptor H_1 , mepiramina, ocorre estímulo no comportamento de ingestão alimentar (LECKLIN & TUOMISTO, 1998).

Assim, devido às dúvidas ainda existentes a respeito do papel das vias histaminérgicas centrais no controle da ingestão de água, decidiu-se, no presente trabalho, investigar o papel das vias histaminérgicas no controle da ingestão hídrica, em diferentes condições

de estímulos, como privação hídrica, hiperosmolaridade, jejum alimentar e ingestão hídrica pós-prandial. Optou-se por utilizar a administração de agonistas e antagonistas no VMH, desde que este núcleo tem sido objeto de estudo de diversos grupos com respeito ao comportamento alimentar. Entretanto, no presente estudo, serão utilizadas diferentes abordagens, o que permitirá melhor compreensão dos mecanismos de controle da ingestão hídrica pelas vias histaminérgicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais	2.2 Objetivos Específicos
<p>1. Investigar o papel dos receptores H₁ e H₂, no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) sobre a ingestão de água em ratos normoidratados.</p>	<p>1.1 Estudar o efeito da administração de HTMT, agonista dos receptores H₁, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos normoidratados.</p> <p>1.2 Estudar o efeito da administração de dimaprita, agonista dos receptores H₂, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos normoidratados.</p>
<p>2. Investigar o papel dos receptores H₁ e H₂, no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) sobre a ingestão de água em ratos em privação hídrica.</p>	<p>2.1 Estudar o efeito da administração da mepiramina, antagonista dos receptores H₁, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos com 14 h de privação hídrica.</p> <p>2.2 Estudar o efeito da administração da cimetidina, antagonista dos receptores H₂, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos com 14 h de privação hídrica.</p>
<p>3. Investigar o papel dos receptores H₁ e H₂, no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) sobre a ingestão de água em ratos com desidratação osmótica.</p>	<p>3.1 Estudar o efeito da administração da mepiramina, antagonista dos receptores H₁, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos com desidratação osmótica.</p> <p>3.2 Estudar o efeito da administração da cimetidina, antagonista dos receptores H₂, no VMH, sobre a ingestão hídrica em ratos com desidratação osmótica.</p>
<p>4. Investigar o papel dos receptores H₁ e H₂, no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) sobre a ingestão hídrica pós-prandial.</p>	<p>4.1 Estudar o efeito da administração da mepiramina, antagonista dos receptores H₁, no VMH, sobre a ingestão hídrica pós-prandial.</p> <p>4.2 Estudar o efeito da administração da cimetidina, antagonista dos receptores H₂, no VMH, sobre a ingestão hídrica pós-prandial.</p>

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 250 ± 30 gramas provenientes do biotério do Laboratório de Neurociências ICS/UFBa. Os animais foram mantidos à temperatura de 22 ± 2 ° C em ciclo de luz controlada das 6h às 19h, recebendo ração (Nuvital Nutrientes Ltd., Curitiba, Brasil) e água *ad libitum*. Em cada experimento foram utilizados de 10 a 15 animais.

3.2 CANULAÇÃO DO NÚCLEO VENTROMEDIAL HIPOTALÂMICO

Os animais em jejum de aproximadamente 12 horas foram anestesiados com tionembutal, na dose de 50 mg/kg intraperitoneal e, após a tricotomia da cabeça, foram colocados no aparelho estereotáxico. O crânio foi, então, exposto através de uma incisão na pele e remoção do tecido subcutâneo. A cabeça do animal foi nivelada mantendo as suturas cranianas do bregma e do lâmbda na mesma altura. As coordenadas para implante das cânulas foram definidas de acordo com o mapa estereotáxico de Watson e Paxinos, 1986, sendo de 0,8 mm à direita e à esquerda da linha sagital e 2,5 mm posterior ao bregma e 8,8 mm abaixo da calota craniana. A trepanação óssea foi realizada utilizando-se broca odontológica nº 07 e motor de baixa rotação. A seguir, foram fixados 2 parafusos na calota craniana, as cânulas foram colocadas na posição e recobertas com acrílico dental autopolimerizante. As cânulas guias foram confeccionadas com agulhas hipodérmicas

de aço inoxidável, apresentando 0,5 mm de diâmetro interno, 0,7 mm de diâmetro externo e medindo 17 mm de comprimento. Após a cirurgia, as cânulas foram fechadas com mandril confeccionado em aço inoxidável para evitar obstruções. Ao final do procedimento cirúrgico, os animais receberam a dose de 0,2 ml/rato de pentabiótico veterinário composto de penicilina G benzatina (40 UI), penicilina G procaína (20 UI), penicilina G potássica (20 UI), diidroestreptomicina (16.6 mg) e estreptomicina (16.6 mg). Os animais foram, então, colocados em gaiolas individuais durante um período pós-operatório de cinco dias para sua recuperação.

3.3 HABITUAÇÃO ÀS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

No período pós-operatório, os animais foram manipulados diariamente, simulando as condições experimentais às quais seriam submetidos. Foram trocados diariamente os mandris, evitando a obstrução das cânulas e fornecidas ração e água.

3.4 PERFUSÃO

Ao final dos experimentos, os animais foram anestesiados com éter e perfundidos transcardiacamente com 60 ml de tampão fosfato, seguido de 60 ml de formol 10%. Após esse procedimento, os cérebros foram removidos e conservados em solução de formol a 10 % com glicose a 30 % pelo período mínimo de 5 dias antes dos cortes histológicos.

3.5 HISTOLOGIA E POSICIONAMENTO DAS CÂNULAS

Os cortes histológicos (40 μm) foram feitos em criostato e submetidos à coloração de Nissl. As lâminas foram analisadas para a confirmação da localização das cânulas guias das microinjeções nos núcleos ventromediais hipotalâmicos (figura 1). Os dados dos animais que não apresentaram as cânulas na localização correta não foram utilizados.

3.6 DROGAS E MICROINJEÇÕES

Foram usados os seguintes antagonistas dos receptores histaminérgicos H_1 e H_2 respectivamente: maleato de mepiramina (*N*-[4-Metoxifenil]metil-*N',N'*-dimetil-*N*-[2-piridinil]-1,2-etanediamina) e cimetidina ($C_{10}H_{16}N_6S$) (Sigma Co., St. Louis, MO – USA) e agonistas dos receptores histaminérgicos H_1 e H_2 respectivamente: dimaleato de HTMT (6-[2-(4-Imidazol)etilamino]-*N*-(4-trifluorometilfenil)heptanecarboxamida) e dicloreto de Dimaprita ([*S*-[3-(*N,N*-dimetilamino)propil]isotiuréia) (Tocris Cookson, Inc. Ballwin, MO – USA). As microinjeções centrais foram efetuadas através de microseringa de 10 μl (Hamilton, Co. Inc. Whittier, C.A.) conectada a uma agulha odontológica nº 30 G com 17 mm de comprimento, através de um tubo de polietileno (PE10). As drogas foram diluídas em salina isotônica e injetadas em um volume de 0,5 μl bilateralmente no VMH.

3.7 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Grupo 1 – Investigação do papel dos receptores H_1 e H_2 no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) sobre a ingestão de água em ratos normoidratados.

Os animais tiveram livre acesso a água e ração no período anterior ao experimento. No início do experimento, os bebedouros e a ração foram retirados das gaiolas e procederam-se as microinjeções no VMH bilateralmente. O grupo controle recebeu microinjeção de salina isotônica (0,9%), enquanto os grupos experimentais receberam microinjeções de HTMT (agonista H_1) e dimaprita (agonista H_2) nas doses de 100 e 200 nmol. Após 30 minutos das microinjeções, os bebedouros graduados contendo água foram reintroduzidos nas gaiolas e o volume ingerido pelos animais foi monitorado a cada 15 minutos durante 120 minutos. Os animais não tiveram acesso à ração durante o experimento.

Grupo 2 - Investigação do papel dos receptores H_1 e H_2 , no VMH sobre a ingestão de água em ratos em privação hídrica por 14h no período noturno.

Neste grupo, os animais foram privados de água pelo período de 14 horas anteriores ao experimento (17h - 7h). Foram feitas microinjeções bilaterais no VMH de mepiramina (antagonista H_1) nas doses de 25, 100 e 200 nmol e de cimetidina (antagonista H_2) nas doses de 100 e 200 nmol no volume de 0,5 μ l em cada cânula. O grupo controle recebeu salina isotônica (0,9%) no mesmo volume. No grupo que recebeu mepiramina os bebedouros graduados contendo água foram reintroduzidos após 30 minutos das microinjeções. No grupo que recebeu cimetidina os bebedouros foram reintroduzidos logo após as microinjeções. O volume ingerido pelos animais foi monitorado a cada 15

minutos durante duas horas. Os animais não tiveram acesso à ração durante o experimento.

Grupo 3 – Investigação do papel dos receptores H_1 e H_2 no VMH sobre a ingestão de água em ratos com desidratação osmótica.

Neste grupo, os animais foram submetidos a jejum alimentar por 14 horas (no período noturno). Após o jejum, os animais foram pesados e procederam-se as microinjeções dos antagonistas histaminérgicos mepiramina (antagonista H_1) nas doses de 100 e 200 nmol e cimetidina (antagonista H_2), nas doses de 200 e 400 nmol, bilateralmente. O grupo controle recebeu salina isotônica (0,9%). Após 10 minutos das microinjeções, os animais receberam salina hipertônica (9,0%) no volume de 1 ml/100 g de peso corporal, por sonda orogástrica. Após 20 minutos da sobrecarga de salina hipertônica, os bebedouros graduados contendo água foram reintroduzidos nas gaiolas. O volume ingerido pelos animais foi monitorado durante 2 horas a cada 15 minutos. Os animais não tiveram acesso à ração durante o experimento.

Grupo 4 – Investigação do papel dos receptores H_1 e H_2 no VMH sobre a ingestão hídrica pós-prandial.

Os animais deste grupo, após a cirurgia, foram habituados a alimentar-se de ração em pó. Seis horas antes do início do experimento (12h), o acesso à ração foi impedido, enquanto o acesso à água foi mantido livre. Os experimentos foram realizados no início do período noturno, quando os animais apresentam maior atividade alimentar. Às 18 horas, os animais foram pesados e receberam as microinjeções bilaterais no VMH dos antagonistas

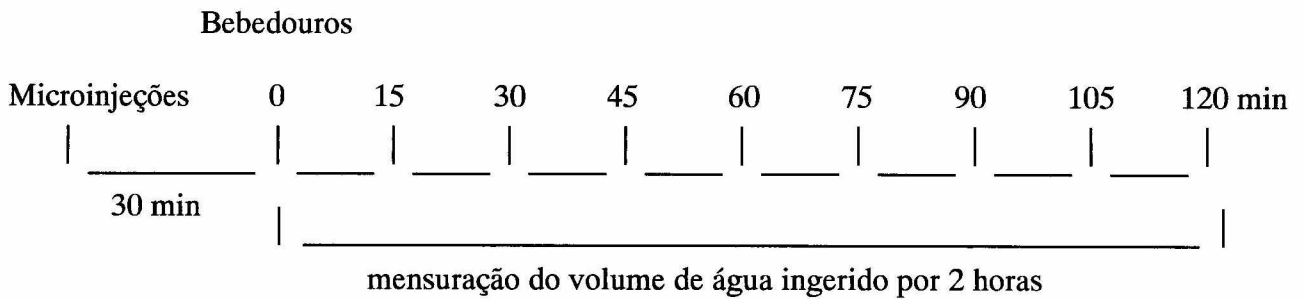
histaminérgicos mepiramina (antagonista H₁) e cimetidina (antagonista H₂), na dose de 200 nmol. O grupo controle recebeu salina isotônica (0,9%) no mesmo volume. Após 30 minutos das microinjeções, os animais tiveram acesso ao alimento previamente pesado. O volume de água e a quantidade de alimento ingeridos foram monitorados a cada 30 minutos durante as primeiras 4 horas noturnas e ao fim do período noturno.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

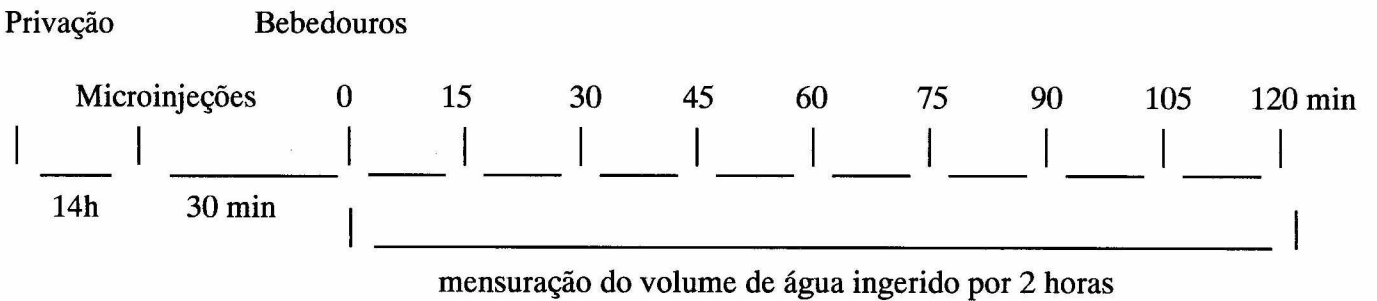
Na análise estatística foi utilizado o software Sigma Stat para Windows versão 2.0 (Jandel Scientific, Erkrath, Germany). Os dados foram submetidos a análise de variância (Two Way) para medidas repetidas, seguida do pós-teste para comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls, com valores de significância de $P \leq 0,05$. Para os dados de ingestão alimentar e ingestão de água pós-prandial, foi utilizado teste-t de Student.

3.9 DESENHOS EXPERIMENTAIS

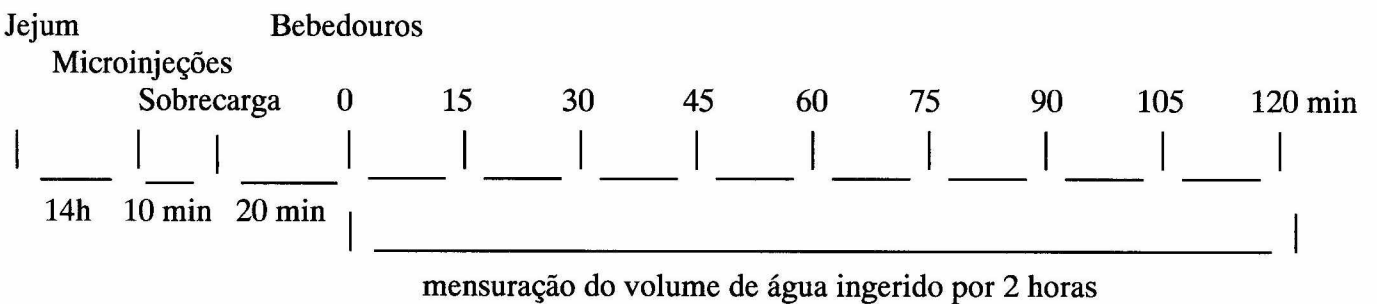
Grupo 1



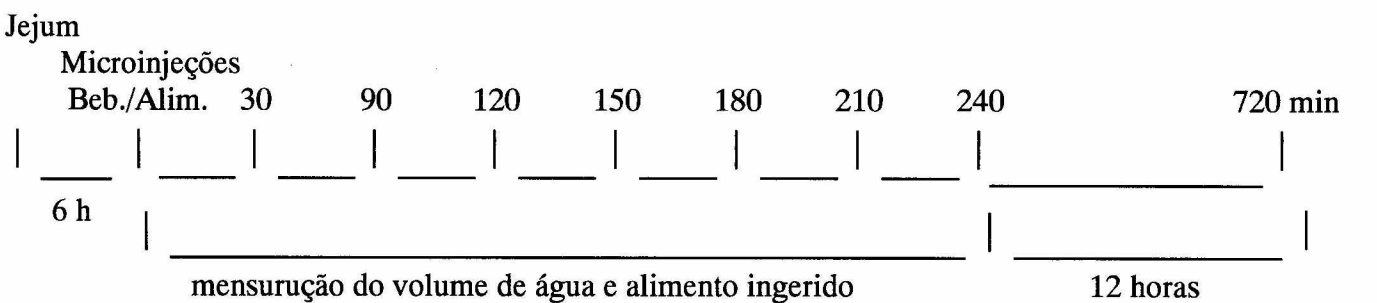
Grupo 2



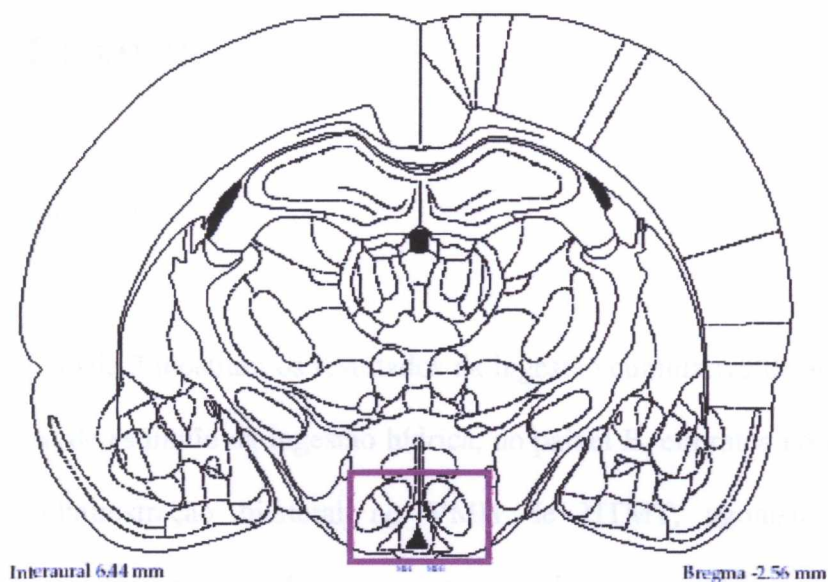
Grupo 3



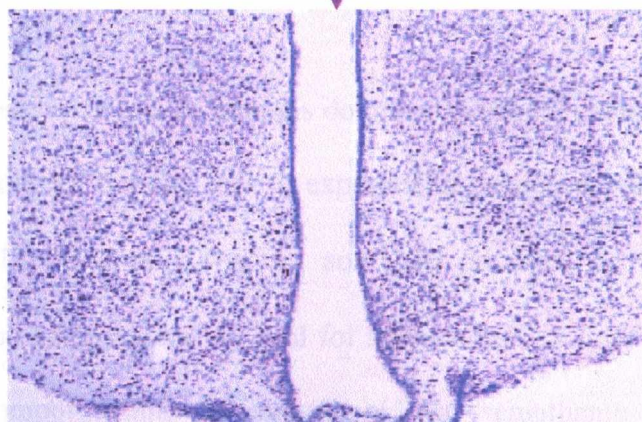
Grupo 4



A



B



C

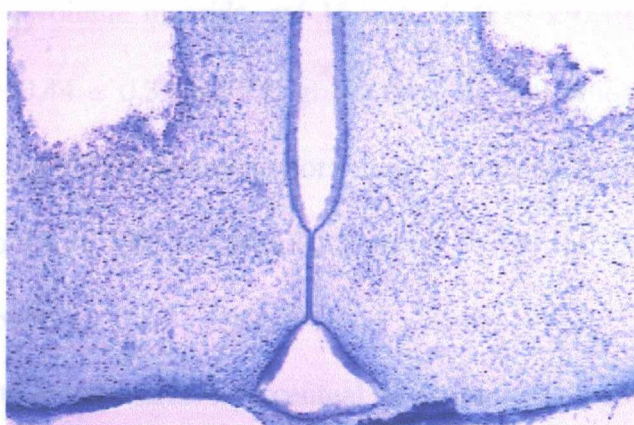


Figura 1 - No painel A está representado o diagrama de um corte coronal do cérebro de rato identificando o núcleo ventromedial (VMH), (PAXINOS & WATSON, 1998). No painel B, observa-se um corte histológico de cérebro de rato onde se localiza o VMH. No painel C, verifica-se o corte histológico de cérebro de rato com a localização da cânula guia de injeções posicionada no VMH.

4 RESULTADOS

Grupo Experimental 1

A figura 2 e tabela 2 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água, no painel A, e o percentual de estímulo da ingestão hídrica, no painel B, em ratos normoidratados que receberam administração bilateral no VMH de HTMT, agonista dos receptores histaminérgicos H_1 , comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, observa-se que os animais do grupo controle, como esperado, apresentaram baixa ingestão hídrica durante todo o experimento, sendo o volume ingerido, aos 15 minutos, de $0,14 \pm 0,08$ ml/100 g e, aos 120 minutos, de $0,35 \pm 0,13$ ml/100 g. Os animais do grupo experimental no qual foi administrada a dose de 100 nmol de HTMT apresentaram comportamento de ingestão hídrica semelhante ao observado no grupo controle, sendo o volume ingerido, até 15 min, de $0,19 \pm 0,19$ ml/100 g e, ao final do experimento, de $0,44 \pm 0,33$ ml/100 g. Na dose de 200 nmol de HTMT, observou-se ingestão hídrica significativamente maior do que o controle desde os 15 minutos, onde o volume ingerido foi de $1,06 \pm 0,40$ ml/100 g, até os 120 minutos, quando foi de $2,64 \pm 0,42$ ml/100 g ($p < 0,05$).

No *painel B*, está representado o percentual de estímulo da ingestão hídrica, nos animais que receberam HTMT, tomando-se os dados dos controles como basal. Verifica-se que a dose de 100 nmol de HTMT não apresentou estímulo da ingestão hídrica, enquanto que, na dose de 200 nmol, o percentual de estímulo alcançou valores próximos de 600%.

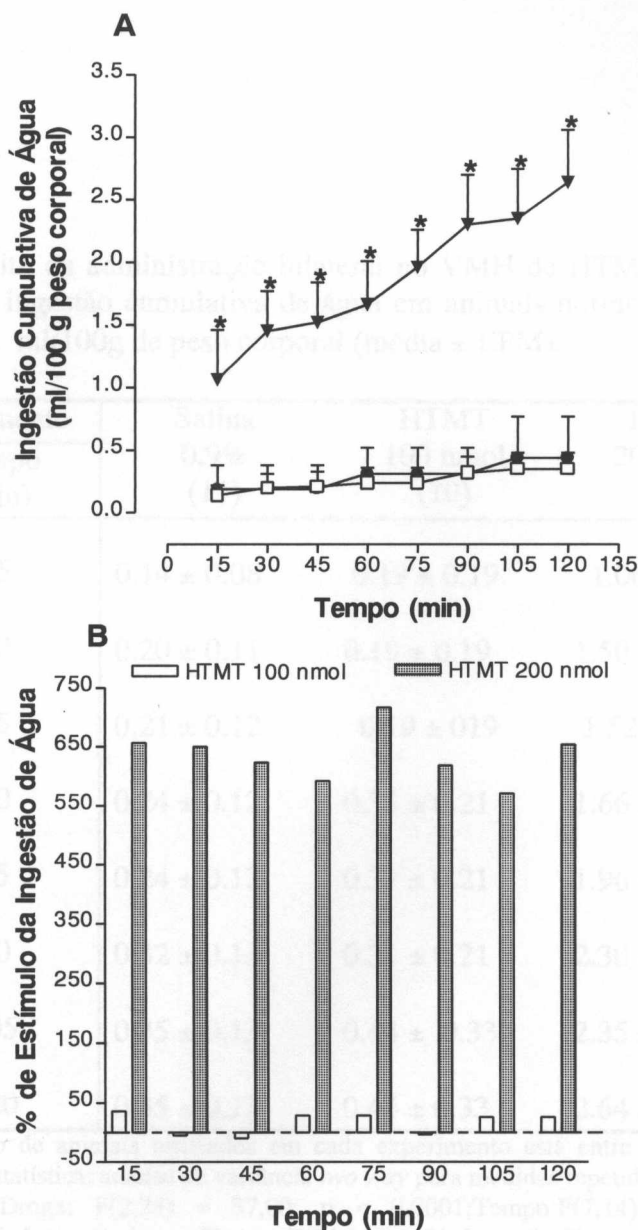


FIGURA 2 – Efeito da administração bilateral no VMH de HTMT nas doses de 100 nmol (●; n=10) e 200 nmol (▼; n=6) sobre a ingestão hídrica em animais normohidratados. Os animais controles (□; n=11) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde a 30 minutos após as microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e os grupos que receberam HTMT. Os dados são expressos em ml/100 g de peso (média \pm EPM). **Painel B** – percentagem de estímulo da ingestão de água.

TABELA 2 - Efeito da administração bilateral no VMH de HTMT nas doses de 100 e 200 nmol sobre a ingestão cumulativa de água em animais normoidratados. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento	Salina	HTMT	HTMT
Tempo (min)	0,9% (11)	100 nmol (10)	200 nmol (6)
15	0.14 \pm 0.08	0.19 \pm 0.19	1.06 \pm 0.40*
30	0.20 \pm 0.11	0.19 \pm 0.19	1.50 \pm 0.32*
45	0.21 \pm 0.12	0.19 \pm 0.19	1.52 \pm 0.32*
60	0.24 \pm 0.12	0.31 \pm 0.21	1.66 \pm 0.35*
75	0.24 \pm 0.12	0.31 \pm 0.21	1.96 \pm 0.30*
90	0.32 \pm 0.13	0.31 \pm 0.21	2.30 \pm 0.40*
105	0.35 \pm 0.13	0.44 \pm 0.33	2.35 \pm 0.40*
120	0.35 \pm 0.13	0.44 \pm 0.33	2.64 \pm 0.42*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância *two way* para medidas repetidas. Fatores: Droga: $F(2,24) = 37,00$; $p < 0,0001$; Tempo: $F(7,14) = 21,20$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(14,168) = 11,5$; $p < 0,0001$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

A figura 3 e tabela 3 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água (painel A) e o percentual de estímulo da ingestão hídrica (painel B) em ratos normoidratados que receberam administração bilateral no VMH de dimaprita, agonista dos receptores histaminérgicos H₂, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, verifica-se que, nos animais do grupo controle, a ingestão de água manteve-se constante durante o experimento, sendo, aos 15 minutos, de $0,14 \pm 0,08$ ml/100 g e, ao final do experimento, de $0,35 \pm 0,13$ ml/100 g. No grupo que recebeu dimaprita, na dose de 100 nmol, observou-se que a ingestão hídrica foi significativamente maior do que o controle, sendo de $1,19 \pm 0,54$ ml/100 g, aos 15 minutos, e de $2,31 \pm 0,26$ ml/100 g, aos 120 minutos. Os animais que receberam a dose de 200 nmol apresentaram convulsão com rotação lateral, 15 minutos após as microinjeções, e os dados de ingestão hídrica deste grupo foram excluídos do presente trabalho.

No *painel B* está representado o percentual de estímulo da ingestão hídrica nos animais que receberam 100 nmol de dimaprita, considerando os dados do grupo controle como basal. Verifica-se que, nos primeiros 15 minutos, o aumento da ingestão hídrica em relação ao controle foi de 750% e que, durante o restante do experimento, manteve-se em torno de 600% maior que o controle.

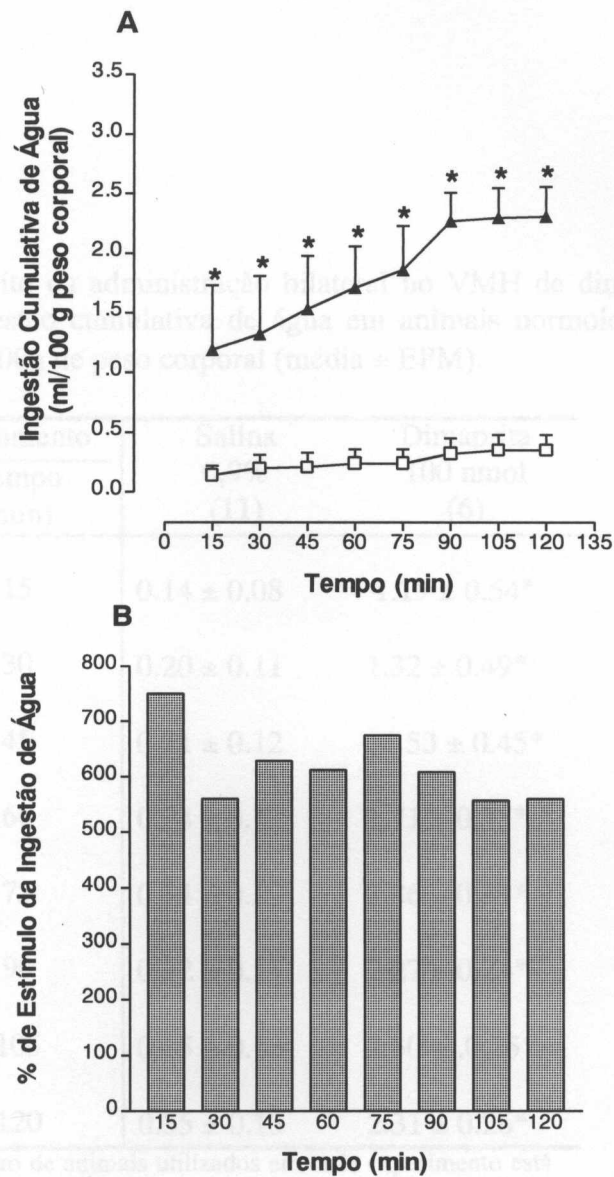


FIGURA 3 – Efeito da administração bilateral no VMH de dimaprita na dose de 100 nmol (\blacktriangle ; n=6) sobre a ingestão hídrica em animais normohidratados. Os animais controles (\square ; n=11) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde a 30 minutos após as microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e o grupo que recebeu dimaprita. Os dados são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM). **Painel B** – percentagem de estímulo da ingestão de água.

TABELA 3 - Efeito da administração bilateral no VMH de dimaprita na dose de 100 nmol sobre a ingestão cumulativa de água em animais normoidratados. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento	Salina	Dimaprita
Tempo (min)	0,9% (11)	100 nmol (6)
15	0.14 \pm 0.08	1.19 \pm 0.54*
30	0.20 \pm 0.11	1.32 \pm 0.49*
45	0.21 \pm 0.12	1.53 \pm 0.45*
60	0.24 \pm 0.12	1.71 \pm 0.35*
75	0.24 \pm 0.12	1.86 \pm 0.37*
90	0.32 \pm 0.13	2.27 \pm 0.24*
105	0.35 \pm 0.13	2.30 \pm 0.25*
120	0.35 \pm 0.13	2.31 \pm 0.26*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas. Fatores: Droga: $F(1,15) = 33,16$; $p < 0,0001$; Tempo: $F(7,70) = 7,79$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(7,105) = 4,06$; $p = 0,0006$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Grupo Experimental 2

A figura 4 e tabela 4 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água, no painel A, e o percentual de inibição da ingestão hídrica, no painel B, em ratos privados por 14 horas que receberam administração bilateral, no VMH, de mepiramina, antagonista dos receptores histaminérgicos H₁, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, verifica-se que os animais que receberam salina isotônica (0,9%), grupo controle, apresentaram aumento progressivo da ingestão hídrica, sendo de $4,55 \pm 0,28$ ml/100 g, aos 15 minutos, e de $6,33 \pm 0,48$ ml/100 g, aos 120 minutos. Os animais que receberam mepiramina, na dose de 25 nmol, apresentaram ingestão de água semelhante ao controle, sendo de $3,80 \pm 0,90$ ml/100 g aos 15 minutos, e $7,56 \pm 0,73$ ml/100 g, ao final do experimento.

Nos animais que receberam as doses de 100 e 200 nmol de mepiramina, a ingestão de água foi significativamente menor do que a do controle durante todo o experimento. O volume ingerido até os 15 minutos pelos animais que receberam 100 e 200 nmol de mepiramina foi de $1,30 \pm 0,46$ ml/100 g e de $0,87 \pm 0,40$ ml/100 g, respectivamente. Ao final do experimento, os animais que receberam 100 nmol haviam ingerido $2,20 \pm 0,60$ ml/100 g e os que receberam 200 nmol, $1,20 \pm 0,41$ ml/100 g. Comparando ambas as doses, de 100 e de 200 nmol, com o grupo controle, em todos os tempos foram observadas diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$, no entanto, quando foram comparadas as doses entre si, não houve diferença estatisticamente significativa.

No *painel B* está representado o percentual de inibição da ingestão hídrica nos animais que receberam mepiramina, tomando-se os dados dos controles como basal. Verifica-se que, na dose de 100 nmol, o percentual de inibição ficou em torno de 70% enquanto que, na dose maior, de 200 nmol, o percentual inibitório da ingestão hídrica foi de aproximadamente 80%.

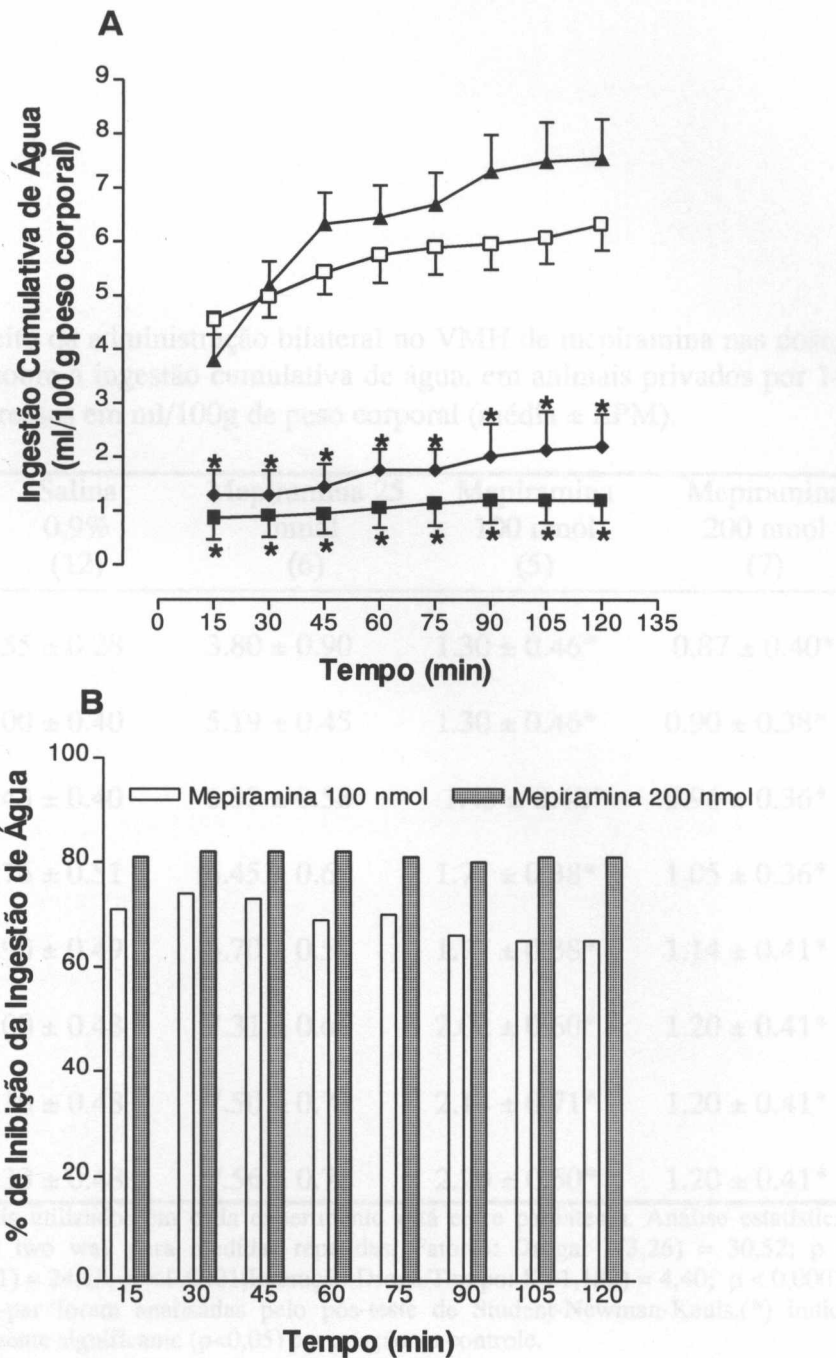


FIGURA 4 – Efeito da administração bilateral no VMH de mepiramina nas doses de 25 (\blacktriangle ; n=6), 100 (\blacklozenge ; n=6) e 200 nmol/rato (\blacksquare ; n=7) sobre a ingestão hídrica em animais privados por 14 horas. Os animais controles (\square ; n=12) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde a 30 minutos após as microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e os grupos que receberam mepiramina. Os dados são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM). **Painel B** – percentagem de inibição da ingestão de água.

TABELA 4 - Efeito da administração bilateral no VMH de mepiramina nas doses de 25, 100 e 200 nmol sobre a ingestão cumulativa de água, em animais privados por 14 horas. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento Tempo (min)	Salina 0,9% (12)	Mepiramina 25 nmol (6)	Mepiramina 100 nmol (5)	Mepiramina 200 nmol (7)
15	4.55 \pm 0.28	3.80 \pm 0.90	1.30 \pm 0.46*	0.87 \pm 0.40*
30	5.00 \pm 0.40	5.19 \pm 0.45	1.30 \pm 0.46*	0.90 \pm 0.38*
45	5.43 \pm 0.40	6.33 \pm 0.58	1.45 \pm 0.42*	0.96 \pm 0.36*
60	5.76 \pm 0.51	6.45 \pm 0.60	1.77 \pm 0.38*	1.05 \pm 0.36*
75	5.90 \pm 0.49	6.70 \pm 0.59	1.77 \pm 0.38*	1.14 \pm 0.41*
90	6.00 \pm 0.48	7.31 \pm 0.68	2.02 \pm 0.60*	1.20 \pm 0.41*
105	6.10 \pm 0.48	7.50 \pm 0.73	2.14 \pm 0.71*	1.20 \pm 0.41*
120	6.33 \pm 0.48	7.56 \pm 0.73	2.20 \pm 0.60*	1.20 \pm 0.41*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas. Fatores: Droga: $F(3,26) = 30,52$; $p < 0,0001$; Tempo: $F(7,21) = 24,15$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(21,182) = 4,40$; $p < 0,0001$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

A figura 5 e tabela 5 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água, no painel A, e o percentual de inibição da ingestão hídrica, no painel B, em ratos com privação hídrica por 14 horas que receberam administração bilateral, no VMH de cimetidina, antagonista dos receptores histaminérgicos H₂, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, o grupo controle apresentou aumento progressivo na ingestão de água durante todo o experimento, sendo que o volume ingerido aos 15 minutos foi de $5,74 \pm 0,21$ ml/100 g e aos 120 minutos de $10,0 \pm 0,20$ ml/100 g. O grupo que recebeu cimetidina na dose de 100 nmol, apresentou ingestão hídrica menor do que o controle. Essa inibição da resposta dipsogênica foi observada durante todo o experimento. Quando comparados ao controle, estes dados foram significativamente ($p < 0,05$) menores nos tempos 60, 75, 90, 105 e 120 minutos. Ao final do experimento, o volume ingerido foi de $8,19 \pm 0,52$ ml/100 g.

Os animais que receberam a dose de 200 nmol apresentaram inibição na ingestão hídrica superior à observada na dose de 100 nmol. Quando comparada ao controle, a ingestão hídrica foi significativamente ($p < 0,05$) menor, sendo de $3,60 \pm 0,75$ ml/100 g, aos 15 minutos, e de $5,80 \pm 0,95$ ml/100 g, aos 120 minutos.

No *painel B*, está representado o percentual de inibição da ingestão hídrica nos animais que receberam cimetidina tomando-se os dados dos controles como basal. Na dose de 100 nmol, o percentual de inibição da resposta dipsogênica foi de aproximadamente 20%, enquanto que, na dose de 200 nmol, o percentual de inibição foi mais elevado ficando em torno de 50%.

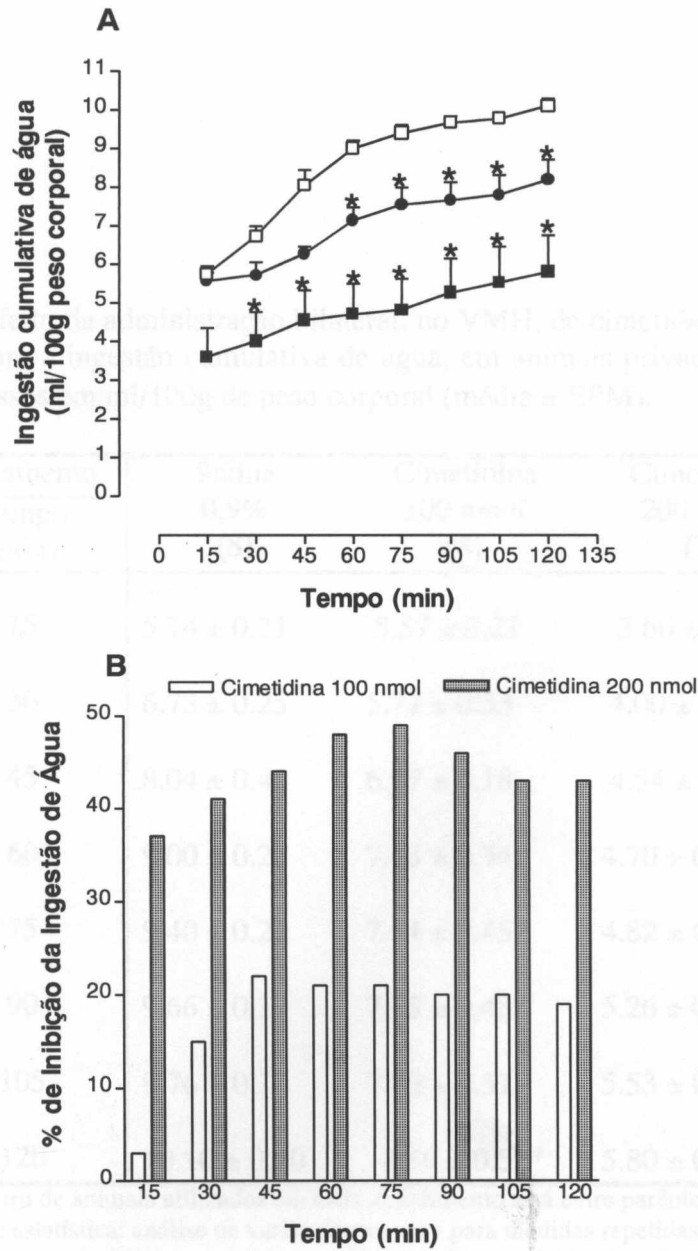


FIGURA 5 – Efeito da administração bilateral no VMH de cimetidina nas doses de 100 nmol (●; n=8) e 200 nmol/rato (■; n=7) sobre a ingestão hídrica em animais privados por 14 horas. Os animais controles (□; n=8) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde ao momento das microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e os grupos que receberam cimetidina. Os dados são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM). **Painel B** – percentagem de inibição da ingestão de água.

TABELA 5 - Efeito da administração bilateral, no VMH, de cimetidina nas doses de 100 e 200 nmol, sobre a ingestão cumulativa de água, em animais privado por 14 horas. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento	Salina	Cimetidina	Cimetidina
Tempo (min)	0,9% (8)	100 nmol (6)	200 nmol (7)
15	5.74 \pm 0.21	5.57 \pm 0.21	3.60 \pm 0.75
30	6.73 \pm 0.25	5.72 \pm 0.33	4.00 \pm 0.76*
45	8.04 \pm 0.40	6.27 \pm 0.18	4.54 \pm 0.78*
60	9.00 \pm 0.21	7.13 \pm 0.34*	4.70 \pm 0.80*
75	9.40 \pm 0.21	7.54 \pm 0.45*	4.82 \pm 0.80*
90	9.66 \pm 0.17	7.65 \pm 0.48*	5.26 \pm 0.89*
105	9.76 \pm 0.16	7.80 \pm 0.51	5.53 \pm 0.92*
120	10.10 \pm 0.20	8.19 \pm 0.52*	5.80 \pm 0.95*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses
 Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas.
 Fatores: Droga: $F(3,24) = 12,35$; $p < 0,0001$; Tempo: $F(7,21) = 87,99$, $p < 0,0001$
 Interação Droga/Tempo: $F(21,168) = 3,62$; $p < 0,0001$.
 As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Grupo experimental 3

A figura 6 e tabela 6 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água, no painel A, e o percentual de inibição da ingestão hídrica, no painel B, em ratos submetidos a desidratação osmótica que receberam administração bilateral no VMH de mepiramina, antagonista dos receptores histaminérgicos H_1 , comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, observa-se que o grupo controle apresentou, como esperado, intensa ingestão hídrica desde os 15 minutos, $2,53 \pm 0,40$ ml/100 g, estabilizando-se aos 90 minutos em $5,91 \pm 0,32$ ml/100 g.

No grupo que recebeu a dose de 100 nmol de mepiramina o volume ingerido observado foi maior do que no controle, sendo de $3,13 \pm 0,29$ ml/100 g, aos 15 minutos, e de $6,49 \pm 0,35$ ml/100 g, aos 120 minutos. Quando comparados com o controle, os dados da dose de 100 nmol não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Nos animais que receberam a dose de 200 nmol, ocorreu inibição da resposta, sendo a ingestão cumulativa, aos 15 minutos, de $0,74 \pm 0,28$ ml/100 g e de $2,31 \pm 0,66$ ml/100 g, aos 120 minutos.

No *painel B*, está representado o percentual de inibição da ingestão hídrica nos animais que receberam mepiramina, tomando-se os dados dos controles como basal. Na dose de 100 nmol não houve inibição da ingestão de água, sendo o volume ingerido pelos animais semelhante ao observado no grupo controle, enquanto, na dose de 200 nmol, o percentual de inibição ficou em torno de 70%.

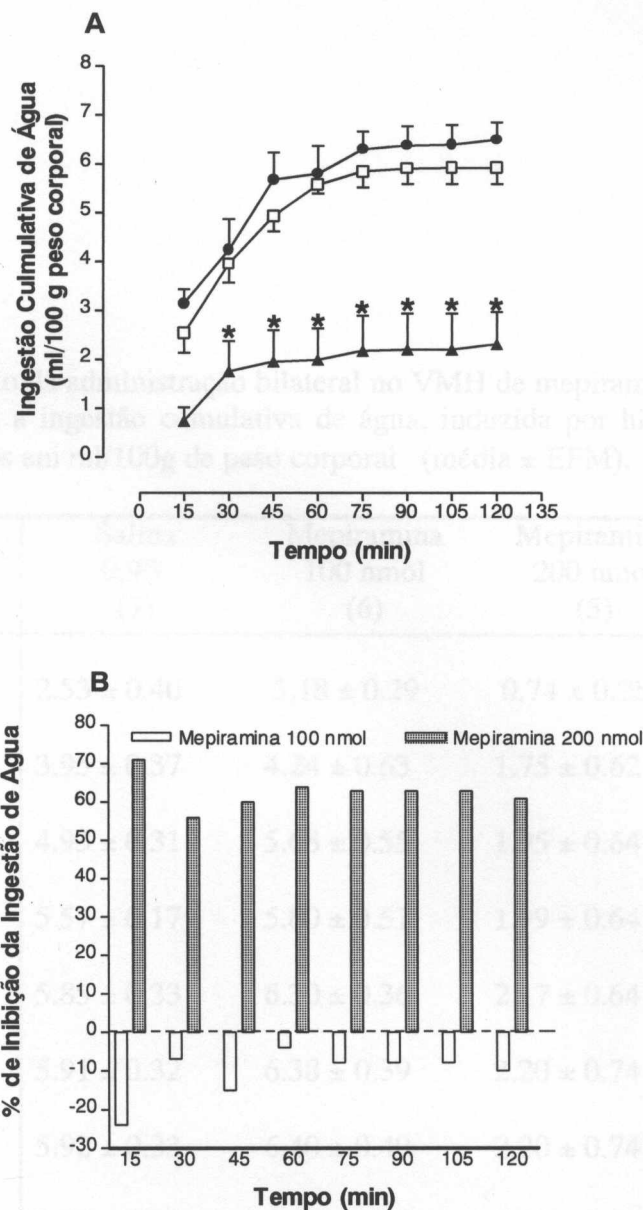


FIGURA 6 – Efeito da administração bilateral no VMH de mepiramina nas doses de 100 nmol (•; n=7) e 200 nmol/rato (▲; n=9) sobre a ingestão hídrica em animais submetidos a desidratação osmótica. Os animais controles (□; n=11) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde ao momento das microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e os grupos que receberam mepiramina. Os dados são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM). **Painel B** - percentagem de inibição da ingestão de água.

TABELA 6 - Efeito da administração bilateral no VMH de mepiramina nas doses de 100 e 200 nmol, sobre a ingestão cumulativa de água, induzida por hiperosmolaridade. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento Tempo (min)	Salina 0,9% (7)	Mepiramina 100 nmol (6)	Mepiramina 200 nmol (5)
15	2.53 \pm 0.40	3,18 \pm 0.29	0.74 \pm 0.28
30	3.95 \pm 0.37	4.24 \pm 0.63	1.75 \pm 0.62
45	4.93 \pm 0.31	5.68 \pm 0.55	1.95 \pm 0.64
60	5.57 \pm 0.17	5.80 \pm 0.57	1.99 \pm 0.64
75	5.85 \pm 0.33	6.30 \pm 0.36	2.17 \pm 0.64
90	5.91 \pm 0.32	6.38 \pm 0.39	2.20 \pm 0.74
105	5.92 \pm 0.33	6.40 \pm 0.40	2.20 \pm 0.74
120	5.92 \pm 0.33	6.49 \pm 0.35	2.31 \pm 0.66

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses

Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas.

Fatores: Droga: $F(2,17) = 5,45$; $p < 0,0148$; Tempo: $F(7,14) = 56,55$; $p < 0,0001$

Interação Droga/Tempo: $F(14,119) = 1,45$; $p = 0,1405$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

A figura 7 e tabela 7 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água, no painel A, e o percentual de inibição da ingestão hídrica, no painel B, em ratos submetidos a desidratação osmótica que receberam administração bilateral no VMH de cimetidina, antagonista dos receptores histaminérgicos H₂, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No **painel A**, o grupo que recebeu salina isotônica (0,9%) apresentou ingestão hídrica progressiva, sendo o volume ingerido até os 15 minutos de $2,53 \pm 0,40$ ml/100 g e, até os 120 minutos, de $5,92 \pm 0,33$ ml/100 g. Os animais que receberam cimetidina na dose de 200 nmol, apresentaram comportamento de ingestão semelhante ao controle, sendo $2,15 \pm 0,55$ ml/100 g, aos 15 minutos, e $6,30 \pm 0,54$ ml/100 g, ao final do experimento. Nos animais em que foi administrada a dose de 400 nmol de cimetidina, a ingestão hídrica foi menor do que a observada no grupo controle, embora não tenha mostrado significância estatística. Neste grupo, o volume ingerido aos 15 minutos foi de $2,06 \pm 0,40$ ml/100 g e de $5,19 \pm 0,62$ ml/100 g aos 120 minutos.

No **painel B**, está representado o percentual de inibição da ingestão hídrica nos animais que receberam cimetidina tomando-se os dados dos controles como basal. Verificou-se que, na dose de 200 nmol, o percentual de inibição alcançou seu maior valor no tempo correspondente a 45 minutos, sendo de aproximadamente 20%. Nos tempos posteriores, esse percentual apresentou redução significativa, chegando a valores menores que 10%. Na dose de 400 nmol, o maior percentual de inibição também foi observado no tempo 45 minutos, sendo de 47%. Após esse tempo, observa-se redução gradual do percentual de inibição, até o final do experimento.

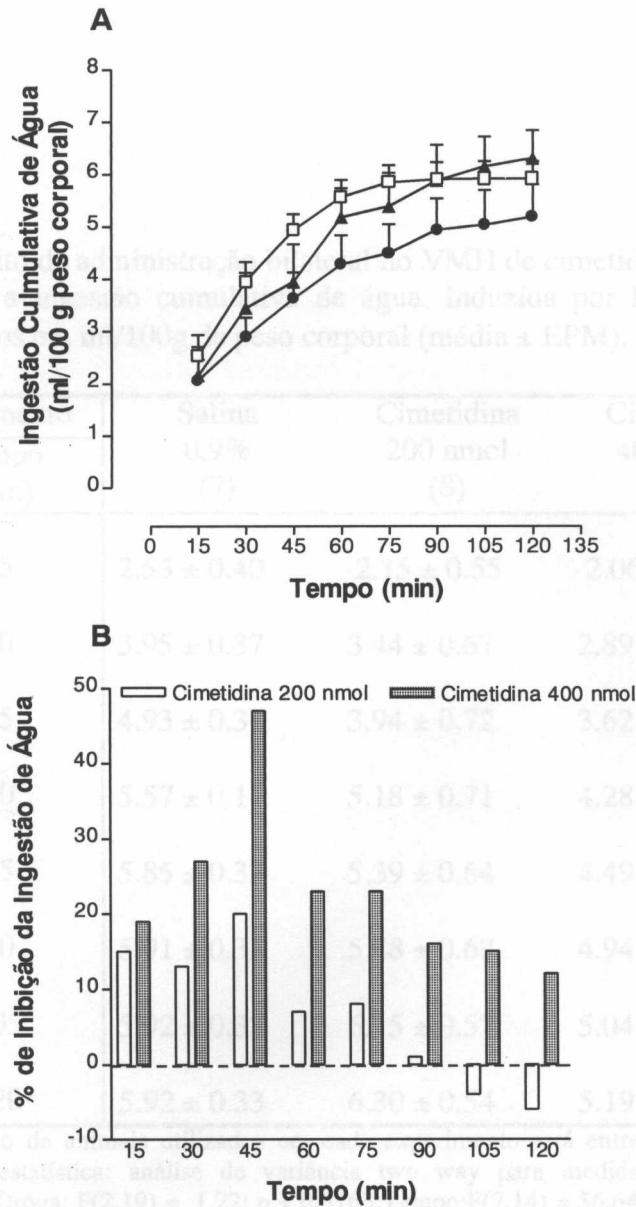


FIGURA 7 – Efeito da administração bilateral no VMH de cimetidina nas doses de 200 nmol (\blacktriangle ; n=8), e 400 nmol/rato (\bullet ; n=12), sobre a ingestão hídrica em animais submetidos a desidratação osmótica. Os animais controles (\square ; n=10) receberam salina isotônica 0,9%. **Painel A** – ingestão cumulativa de água. O tempo zero corresponde ao momento das microinjeções e acesso aos bebedouros. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e os grupos que receberam cimetidina. Os dados são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM). **Painel B** - percentagem de inibição da ingestão de água.

TABELA 7 - Efeito da administração bilateral no VMH de cimetidina nas doses de 200 e 400 nmol, sobre a ingestão cumulativa de água, induzida por hiperosmolaridade. Os dados são expressos em ml/100g de peso corporal (média \pm EPM).

Tratamento	Salina	Cimetidina	Cimetidina
Tempo (min)	0,9% (7)	200 nmol (8)	400 nmol (7)
15	2.53 \pm 0.40	2.15 \pm 0.55	2.06 \pm 0.40
30	3.95 \pm 0.37	3.44 \pm 0.67	2.89 \pm 0.37
45	4.93 \pm 0.31	3.94 \pm 0.72	3.62 \pm 0.50
60	5.57 \pm 0.17	5.18 \pm 0.71	4.28 \pm 0.56
75	5.85 \pm 0.33	5.39 \pm 0.64	4.49 \pm 0.56
90	5.91 \pm 0.32	5.88 \pm 0.68	4.94 \pm 0.60
105	5.92 \pm 0.33	6.15 \pm 0.57	5.04 \pm 0.66
120	5.92 \pm 0.33	6.30 \pm 0.54	5.19 \pm 0.62

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas. Fatores: Droga: $F(2,19) = 1,22$; $p < 0,3163$; Tempo: $F(7,14) = 56,64$; $p < 0,0001$ Interação Droga/Tempo: $F(14,133) = 0,864$; $p < 0,5986$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Grupo experimental 4

A figura 8 e tabela 8 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água e alimento durante as primeiras 4 horas do período noturno, painéis A e C, e ao final do período noturno, painéis B e D, em ratos que receberam administração bilateral no VMH de mepiramina, antagonista dos receptores histaminérgicos H₁, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

No *painel A*, observa-se a ingestão cumulativa de água nas primeiras 4 horas do período noturno em animais que receberam mepiramina na dose de 200 nmol e salina no VMH. Verifica-se que não houve alteração na ingestão de água em relação ao controle, embora se observe aumento gradual do volume ingerido em ambos os grupos, estando em $6,91 \pm 1,24$ ml/100 g nos animais que receberam mepiramina e $6,12 \pm 1,25$ ml/100 g nos controles ao final das primeiras 4 horas noturnas.

No *painel B*, verifica-se o volume cumulativo de água ingerido ao término do período noturno. A ingestão de água pós-prandial foi significativamente menor nos animais que receberam mepiramina na dose de 200 nmol em relação ao controle, sendo de $12,04 \pm 1,21$ ml/100 g no grupo controle e de $9,26 \pm 1,33$ ml/100 g no grupo que recebeu mepiramina. O percentual de inibição da ingestão pós-prandial foi de 23% em relação ao controle.

O *painel C* mostra os dados da ingestão cumulativa de alimento nas primeiras 4 horas do período noturno nos animais que receberam mepiramina na dose de 200 nmol e salina isotônica (0,9%) no VMH. Verifica-se que, tanto os animais controles quanto os que receberam mepiramina, apresentaram aumento gradual na ingestão alimentar nas

primeiras 4 horas noturnas, porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

O *painel D* mostra os dados da ingestão alimentar ao final do período noturno. Verifica-se que o grupo que recebeu mepiramina ao final do período noturno, apresentou ingestão alimentar significativamente maior do que o grupo controle, sendo de $25,57 \pm 1,33$ g/100 g e $16,63 \pm 0,84$ g/100 g, respectivamente. O percentual de estímulo da ingestão alimentar foi 54%.

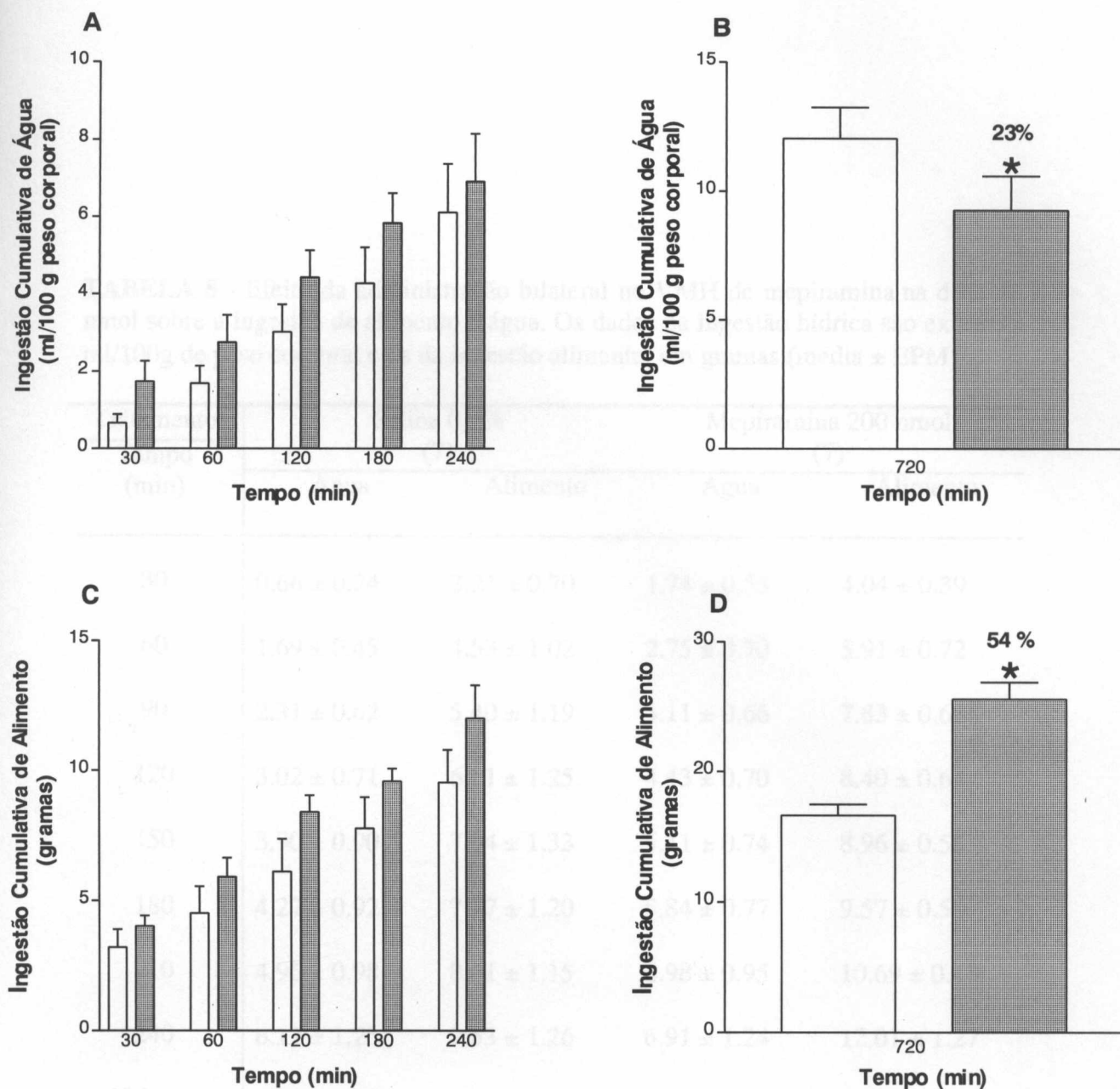


FIGURA 8 – Efeito da administração de 200 nmol de mepiramina (n=7; coluna cinza) e de salina (n=7; coluna branca), bilateralmente, no VMH, sobre a ingestão alimentar e ingestão de água pós-prandial. **Painel A** - ingestão cumulativa de água nas primeiras 4 horas noturnas. **Painel B** - ingestão cumulativa de água ao final do período noturno. **Painel C** - ingestão cumulativa de alimento nas primeiras 4 horas noturnas. **Painel D** - ingestão cumulativa de alimento ao final do período noturno. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e o grupo que recebeu mepiramina. Os dados da ingestão hídrica são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM) e os dados da ingestão alimentar são expressos em gramas (média \pm EPM).

TABELA 8 - Efeito da administração bilateral no VMH de mepiramina na dose de 200 nmol sobre a ingestão de alimento e água. Os dados da ingestão hídrica são expressos em ml/100g de peso corporal e os da ingestão alimentar em gramas (média \pm EPM).

Tratamento Tempo (min)	Salina 0,9% (7)		Mepiramina 200 nmol (7)	
	Água	Alimento	Água	Alimento
30	0.66 \pm 0.24	3.21 \pm 0.70	1.74 \pm 0.53	4.04 \pm 0.39
60	1.69 \pm 0.45	4.53 \pm 1.02	2.75 \pm 0.70	5.91 \pm 0.72
90	2.31 \pm 0.62	5.40 \pm 1.19	4.11 \pm 0.66	7.83 \pm 0.68
120	3.02 \pm 0.71	6.11 \pm 1.25	4.43 \pm 0.70	8.40 \pm 0.64
150	3.90 \pm 0.90	7.04 \pm 1.33	5.11 \pm 0.74	8.96 \pm 0.56
180	4.27 \pm 0.92	7.77 \pm 1.20	5.84 \pm 0.77	9.57 \pm 0.50
210	4.96 \pm 0.98	8.61 \pm 1.15	6.98 \pm 0.95	10.69 \pm 0.43
240	6.12 \pm 1.25	9.53 \pm 1.26	6.91 \pm 1.24	12.01 \pm 1.27
12 horas	12.04 \pm 1.21	16.63 \pm 0.84	9.26 \pm 1.33*	25.57 \pm 1.31*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas. Água: Fatores: Droga: $F(1,12) = 0,74$; $p = 0,4073$; Tempo: $F(8,80) = 63,88$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(8,96) = 4,24$; $p = 0,0002$. Alimento: Fatores: Droga: $F(1,12) = 5,43$; $p = 0,0380$ Tempo: $F(8,80) = 161,14$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(8,96) = 9,19$; $p < 0,0001$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

A figura 9 e tabela 9 mostram os resultados da ingestão cumulativa de água e alimento durante as primeiras 4 horas do período noturno, painéis A e C, e ao final do período noturno, painéis B e D, em ratos que receberam administração bilateral no VMH de cimetidina, antagonista H₂, comparados com os animais que receberam salina isotônica (controle).

O **painel A** mostra a ingestão cumulativa de água nas primeiras 4 horas do período noturno em animais que receberam cimetidina na dose de 200 nmol. Verifica-se ingestão progressiva de água durante todo o experimento, porém, observa-se que a administração do antagonista H₂ não alterou de forma significativa a ingestão de água, sendo o volume consumido menor em todos os tempos, quando comparados com o controle. O volume cumulativo de água ingerido ao final das primeiras 4 horas foi de $6,12 \pm 1,25$ ml/100 g, para o grupo controle, e de $5,00 \pm 0,69$ ml/100 g, para o grupo experimental.

No **painel B**, observa-se que o volume cumulativo de água ingerido ao final do período noturno nos animais que receberam cimetidina na dose de 200 nmol, foi menor do que o apresentado pelo grupo controle, embora não tenha sido verificada significância estatística. O volume ingerido final observado no grupo controle foi $12,04 \pm 1,21$ ml/100 g, enquanto no grupo experimental foi de $10,37 \pm 0,65$ ml/100 g. O percentual de inibição observado ao final das 4 horas foi de 14%.

O **painel C** mostra os dados da ingestão cumulativa de alimento nas primeiras 4 horas do período noturno nos animais que receberam cimetidina na dose de 200 nmol e salina isotônica. Observa-se que, no grupo que recebeu salina, os animais apresentaram aumento progressivo da ingestão de alimento. O mesmo comportamento foi observado no grupo que recebeu cimetidina, porém, a quantidade de alimento ingerida pelos animais

foi superior, quando comparados com os dados obtidos no grupo controle. Contudo, em nenhum dos tempos, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$). A ingestão cumulativa de alimento ao final das primeiras 4 horas do período noturno, no grupo controle, foi de $9,53 \pm 1,26$ g, e no grupo experimental, de $16,19 \pm 3,59$ g.

O *painel D* mostra os dados da ingestão cumulativa de alimento ao final do período noturno. Verifica-se que o aumento gradual na ingestão alimentar observado nas primeiras 4 horas, no grupo que recebeu cimetidina, mantém-se até o final do período noturno, sendo a quantidade final de alimento ingerido estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle. A ingestão cumulativa de alimento ao final do período noturno no grupo que recebeu salina, foi de $16,63 \pm 0,84$ g, e no grupo que recebeu cimetidina foi de $30,82 \pm 4,23$ g. O percentual de estímulo observado foi de 85%.

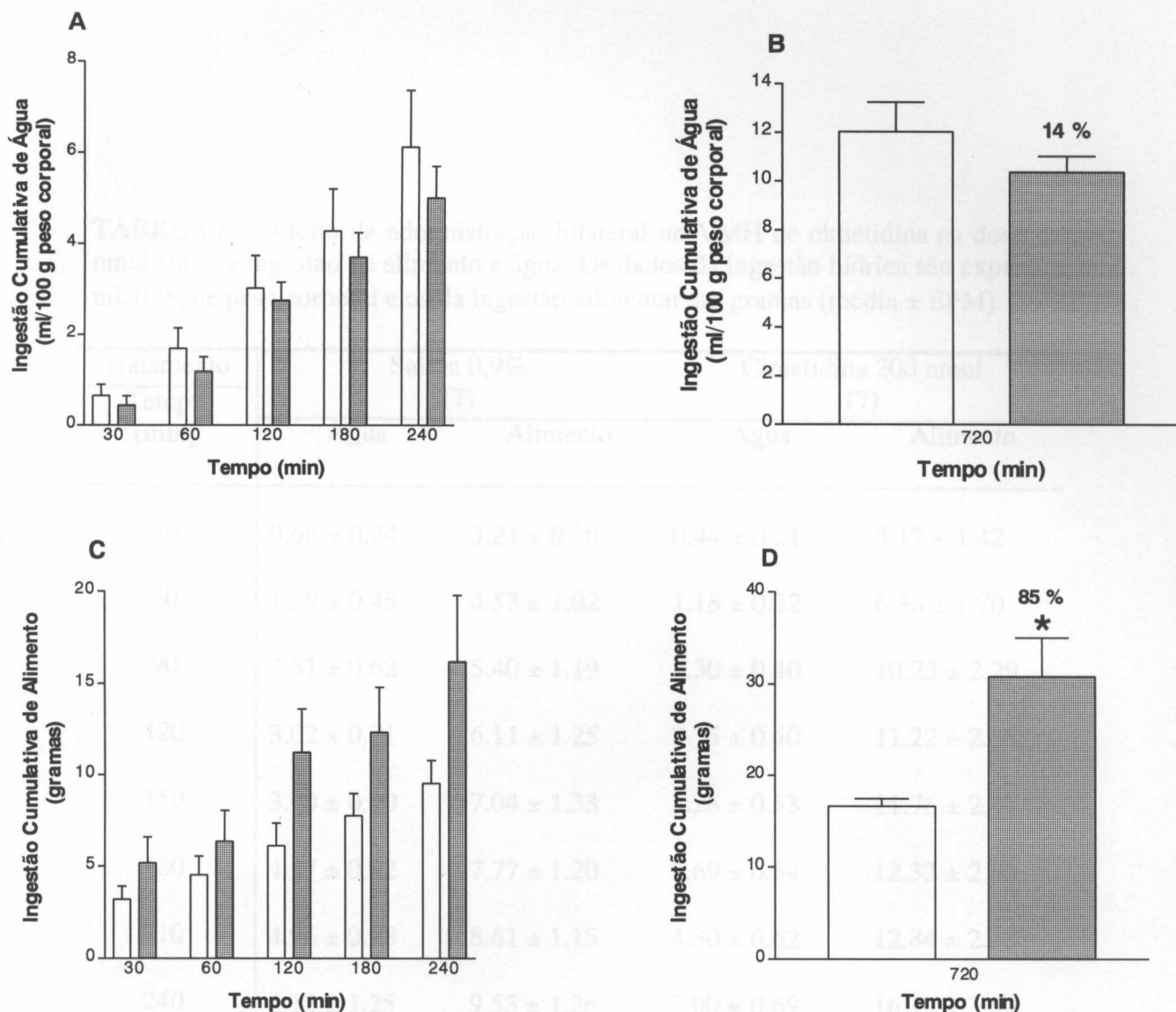


FIGURA 9 – Efeito da administração de 200 nmol de cimetidina (n=9; coluna cinza) e de salina (n=7; coluna branca), bilateralmente, no VMH sobre a ingestão alimentar e ingestão de água pós-prandial. **Painel A** - ingestão cumulativa de água nas primeiras 4 horas noturnas. **Painel B** - ingestão cumulativa de água no final ao período noturno. **Painel C** - ingestão cumulativa de alimento nas primeiras 4 horas noturnas. **Painel D** - ingestão cumulativa de alimento ao final do período noturno. Os asteriscos representam as diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre o grupo que recebeu salina e o grupo que recebeu cimetidina. Os dados da ingestão hídrica são expressos em ml/100g de peso (média \pm EPM) e os dados da ingestão alimentar são expressos em gramas (média \pm EPM).

TABELA 8 - Efeito da administração bilateral no VMH de cimetidina na dose de 200 nmol sobre a ingestão de alimento e água. Os dados da ingestão hídrica são expressos em ml/100g de peso corporal e os da ingestão alimentar em gramas (média \pm EPM).

Tratamento Tempo (min)	Salina 0,9% (7)		Cimetidina 200 nmol (7)	
	Água	Alimento	Água	Alimento
30	0.66 \pm 0.24	3.21 \pm 0.70	0.44 \pm 0.21	5.17 \pm 1.42
60	1.69 \pm 0.45	4.53 \pm 1.02	1.18 \pm 0.32	6.36 \pm 1.70
90	2.31 \pm 0.62	5.40 \pm 1.19	2.30 \pm 0.40	10.23 \pm 2.29
120	3.02 \pm 0.71	6.11 \pm 1.25	2.75 \pm 0.40	11.22 \pm 2.38
150	3.90 \pm 0.90	7.04 \pm 1.33	3.28 \pm 0.53	11.76 \pm 2.47
180	4.27 \pm 0.92	7.77 \pm 1.20	3.69 \pm 0.54	12.32 \pm 2.46
210	4.96 \pm 0.98	8.61 \pm 1.15	4.30 \pm 0.62	12.84 \pm 2.38
240	6.12 \pm 1.25	9.53 \pm 1.26	5.00 \pm 0.69	16.19 \pm 3.59
12 horas	12.04 \pm 1.21	16.63 \pm 0.84	10.37 \pm 0.65	30.82 \pm 4.23*

O número de animais utilizados em cada experimento está entre parênteses. Análise estatística: análise de variância two way para medidas repetidas. Água: Fatores: Droga: $F(1,14) = 0,613$; $p = 0,4469$; Tempo: $F(8,80) = 161,682$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(8,112) = 0,895$; $p < 0,0002$. Alimento: Fatores: Droga: $F(1,14) = 3,67$; $p < 0,0380$; Tempo: $F(8,80) = 161,14$; $p < 0,0001$; Interação Droga/Tempo: $F(8,0) = 9,19$; $p < 0,0002$. As diferenças par-a-par foram analisadas pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

5 DISCUSSÃO

Desde 1972, o papel da histamina nos diferentes processos fisiológicos e sua ação neurotransmissora têm sido estudados (CALCUT, 1976, SCHWARTZ et al., 1980, TAYLOR & SNYDER, 1972). Até o momento, foram identificados os receptores histaminérgicos H₁, H₂, H₃ e H₄. Diversos estudos têm sido realizados com o intuito de caracterizar o papel funcional das vias histaminérgicas centrais. O desenvolvimento de drogas específicas para os receptores histaminérgicos, tais como os agonistas HTMT (agonista H₁) e dimaprite (agonista H₂), e os antagonistas mepiramina (antagonista H₁) e cimetidina (antagonista H₂), além de outras drogas, propiciaram estudos da função das vias histaminérgicas no sistema nervoso central.

No presente trabalho, foi avaliada a participação das vias histaminérgicas centrais no controle da ingestão hídrica, utilizando-se agonistas e antagonistas dos receptores histaminérgicos H₁ e H₂, administrados bilateralmente no núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH), em quatro diferentes situações: animais normoidratados, submetidos à privação hídrica, à desidratação osmótica e ingestão hídrica pós-prandial. O núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) foi escolhido como local de estudo da participação dos receptores histaminérgicos H₁ e H₂ nos processos que envolvem a ingestão de água em ratos, por ser caracterizado como centro da saciedade (TEITELBAUM & STELLAR, 1954) e estar localizado no hipotálamo, área que apresenta maior densidade de receptores histaminérgicos do tipo H₁ e H₂. Muitos trabalhos demonstraram a participação desses receptores em diversas funções fisiológicas como: excreção urinária, ingestão hídrica, controle cardiovascular e ingestão alimentar

(BENNET & PERT, 1974, BHARGAVA et al., 1973, KJAER et al., 1994, KRALY et al., 1996, LECKLIN & TUOMISTO, 1995, LEIBOWITZ, 1973) Entretanto, o papel desempenhado pelos receptores H_1 e H_2 nos processos de ingestão de água no VMH ainda não está totalmente esclarecido.

O aumento da histamina no cérebro, seja através do bloqueio do seu catabolismo ou através de sua administração central, provoca aumento na ingestão hídrica (LEIBOWITZ, 1973) e induz a diurese em ratos (LECKLIN & TUOMISTO, 1995). Ao contrário, em cobaias, a histamina central leva a antidiurese (TUOMISTO & ERICKSSON, 1979). Observa-se, também, que a histamina aumenta as concentrações plasmáticas de vasopressina tanto em ratos quanto em cobaias (DOGTEROM et al., 1976). Em diferentes espécies animais, a administração central de histamina provoca resposta antidiurética (BENNET & PERT, 1974, BHARGAVA et al., HOFFMAN & SCHIMD, 1978) provavelmente devido ao aumento da secreção de vasopressina (DOGTEROM et al., 1976, TUOMISTO & TUOMISTO, 1980). Esses dados sugerem que a histamina hipotalâmica apresenta papel na regulação da secreção de vasopressina em resposta ao processo de desidratação. A utilização de diversos agonistas e antagonistas indicam que essa ação é mediada pelos receptores histaminérgicos do tipo H_1 e H_2 (KJAER et al., 1994).

No presente estudo a administração bilateral no VMH dos agonistas dos receptores histaminérgicos H_1 e H_2 em ratos normoidratados estimulou a ingestão de água. Nos animais normoidratados que receberam o HTMT, agonistas dos receptores H_1 , na dose de 100 nmol, não foi observada alteração no comportamento de ingestão de água em relação ao controle, enquanto que na dose de 200 nmol, ocorreu ação estimulatória

significativa da ingestão hídrica, apresentando percentual de estímulo superior a 650% em relação ao controle. Assim, fica evidente o efeito dipsogênico desencadeado pelos receptores histaminérgicos do tipo H₁ no VMH. Os receptores histaminérgicos H₂ também parecem participar do controle da ingestão hídrica, desde que a administração do agonista dos receptores H₂, o dimaprita, na dose de 100 nmol, provocou aumento significativo da ingestão hídrica, sendo o percentual de estímulo superior a 700% do controle. Neste caso, a resposta dipsogênica foi mais intensa do que a observada com a administração do agonista dos receptores H₁ na maior dose (200 nmol), sugerindo papel preponderante dos receptores histaminérgicos H₂ no controle da ingestão hídrica na condição de normoidratação.

Dados da literatura mostram que tanto a administração periférica quanto central de histamina ou agonistas histaminérgicos em animais normoidratados levam a estimulação da ingestão hídrica. A administração periférica de (R)- α -metil-histamina, agonista dos receptores histaminérgicos H₃, aumenta o consumo de água em animais normoidratados. Essa resposta dipsogênica pode ser revertida com o pré-tratamento com tioperamida, bloqueador dos receptores histaminérgicos H₃ (CLAPHAM & KILPATRICK, 1993). Segundo Leibowitz, 1963, a histamina é um potente agente dipsogênico quando administrada diretamente no hipotálamo anterior, hipotálamo lateral e área pré-óptica, mas não é tão eficiente quando administrada no VMH e nos corpos mamilares. Entretanto, diferente do que foi observado por Leibowitz, os dados presentes mostram que vias histaminérgicas no VMH exercem importante papel no controle da ingestão hídrica. De fato, o VMH apresenta alta densidade de receptores H₁ e H₂ (BROWN et al., 2001) e, embora diversos estudos mostrem o papel das vias

histaminérgicas centrais e do VMH no controle da ingestão alimentar, poucos trabalhos mostram sua participação na regulação da ingestão hídrica.

Na administração da dose de 200 nmol de dimaprita não foi possível realizar a medida da ingestão hídrica, devido ao efeito convulsivo observado 15 minutos após as microinjeções no VMH. Dados da literatura têm mostrado a associação dos receptores H_2 com processos convulsivos, mais especificamente a utilização de antagonistas ou bloqueadores dos receptores H_2 . Ondera et al. 1992, demonstraram que, em ratos propensos a convulsões, os níveis de histamina em algumas áreas cerebrais como tálamo, amígdala, hipocampo e hipotálamo são significativamente menores do que em ratos resistentes a convulsões. Além disso, observou-se que a diminuição dos níveis de histamina através da utilização de α -fluorometil-histidina, inibidor da histidina descarboxilase, ou o uso de tioperamida, antagonista dos receptores histaminérgicos H_3 , aumentam a duração dos processos convulsivos. Por outro lado, o tratamento com L-histidina, que aumenta as concentrações de histamina no cérebro, reduz a duração dos processos convulsivos (YOKOYAMA et al., 1993 & YOKOYAMA et al., 1992). Shimokawa et al. 1996, estudaram o efeito convulsivante dos antagonistas dos receptores H_2 , cimetidina, ranitidina, fomatidina e nizatidina em diferentes doses em camundongos e concluíram que o bloqueio dos receptores do tipo H_2 induzem o processo de convulsão e podem ser revertidos com a utilização de anticonvulsivantes. Edmonds et al., 1979, sugeriram que os mecanismos de convulsão induzidos pelo bloqueio dos receptores histaminérgicos do tipo H_2 podem estar associados a distúrbios nos neurotransmissores do tipo GABA e glutamatérgicos. Contudo, a ocorrência deste processo durante a administração de agonistas do tipo H_2 , ainda não está esclarecida.

O papel das vias histaminérgicas centrais no controle da ingestão hídrica foi confirmado no presente trabalho com a administração dos antagonistas dos receptores H_1 e H_2 , bilateralmente no VMH, em animais desidratados. Tanto a administração de mepiramina, antagonista dos receptores H_1 , quanto cimetidina, antagonista dos receptores H_2 , foram capazes de inibir significativamente a ingestão hídrica em ratos privados de água por 14 horas no período noturno. As microinjeções bilaterais no VMH de mepiramina na dose de 100 nmol provocaram redução significativa da ingestão de água, apresentando efeito inibitório de aproximadamente 75% em relação ao controle, enquanto que, na dose de 200 nmol, o percentual de inibição ficou em torno de 85% do controle. Quando utilizado a cimetidina, antagonista do receptor H_2 , na dose de 100 nmol, também foi observada redução no volume de água ingerido e o percentual de inibição foi de aproximadamente 20%, enquanto que, na dose de 200 nmol, esse percentual ficou em torno de 50%. Estes dados sugerem a existência de tônus histaminérgico endógeno que controla o comportamento de ingestão hídrica, desde que o bloqueio dos receptores histaminérgicos H_1 e H_2 impediu que os animais fizessem a reposição hídrica adequada, após o período de privação de 14 horas durante o período noturno, que reconhecidamente leva a desidratação.

Os resultados dos experimentos com animais normoidratados em conjunto com os dados dos animais desidratados, mostraram que os receptores H_1 e H_2 presentes no VMH têm importante participação no controle da ingestão hídrica. Este dados sugerem, ainda, que os receptores H_2 têm papel preponderante na regulação da ingestão hídrica na situação de normoidratação, enquanto os receptores H_1 são mais atuantes durante a desidratação.

Modificações na osmolaridade plasmática, seja através do processo alimentar ou de intervenções externas, como administração intraperitoneal de salina hipertônica, podem desencadear e estimular o comportamento de ingestão de água. As vias histaminérgicas parecem ter participação na resposta dipsogênica desencadeada pelo aumento da osmolaridade plasmática, desde que a administração sistêmica de antagonistas dos receptores histaminérgicos tem sido demonstrada inibir a ingestão hídrica em animais desidratados osmoticamente através da administração i.p. de salina hipertônica (GOLDSTEIN & HAPERIN, 1997). Kraly et al.1995, demonstraram que, quando administrados i.p. separadamente, os antagonistas dos receptores H_1 , dexbromfeniramina (DXB), na dose de 1 mg/kg, e dos receptores H_2 , cimetidina, na dose de 16 mg/kg, apresentam percentual de inibição da ingestão de água de aproximadamente 30% em relação ao controle, em animais submetidos a desidratação osmótica [administração de salina hipertônica a 9,0%, intragástrica. Porém, quando administrados juntos, o percentual de inibição chega a 80% do controle.

No presente trabalho, os animais submetidos a desidratação osmótica, (salina 9,0% intragástrica) que receberam separadamente a administração bilateral no VMH dos antagonistas histaminérgicos mepiramina e cimetidina, apresentaram redução no volume cumulativo de água ingerido. Os animais que receberam mepiramina, antagonista dos receptores H_1 , na dose de 200 nmol, apresentaram ingestão hídrica em torno de 55% a menos do que os animais do grupo controle. Os animais que receberam a dose de 100 nmol de mepiramina apresentaram ingestão hídrica semelhante ao grupo que recebeu salina. Nos animais tratados com cimetidina, antagonista dos receptores H_2 , nas doses de 200 e 400 nmol, foi observada leve redução no consumo cumulativo de água. Na

administração da dose de 200 nmol, o consumo foi semelhante ao observado no grupo controle, principalmente nos tempos finais do experimento. O percentual de inibição nesta dose foi de aproximadamente 20% em relação ao controle, enquanto que, na dose maior de 400 nmol, o percentual da resposta inibitória obtido ficou em torno de 50% em relação ao controle. Porém, em nenhum dos tempos e em nenhuma das doses do antagonista dos receptores H₂ utilizadas, houve diferença estatística significativa. Os resultados mostram que a resposta antidipsogênica desencadeada pela administração dos receptores histaminérgicos H₁ e H₂ no VMH se deve à maior participação dos receptores do tipo H₁ do que dos receptores do tipo H₂, pois, mesmo utilizando doses duas vezes maiores, não foi obtida resposta inibitória expressiva. Esses dados sugerem que o efeito inibitório sobre a ingestão hídrica em situação de hiperosmolaridade tem a participação das vias histaminérgicas centrais. Além disso, os receptores do tipo H₁ apresentam efeito antidipsogênico mais potente do que os receptores do tipo H₂, sugerindo, assim, a existência de tônus histaminérgico endógeno que controla o comportamento de ingestão hídrica.

A ingestão hídrica pós-prandial pode ser regulada através de vários mecanismos que podem envolver a angiotensina II e histamina (KRALY, 1983 & KRALY et al., 1995). A histamina tem sido considerada importante fator na ingestão hídrica pós-prandial em ratos. A administração combinada de antagonistas dos receptores H₁ e H₂ levam à redução da ingestão pós-prandial em cobaias (ROSSI et al., 1999). O mesmo efeito pode ser observado quando são bloqueados somente os receptores do tipo H₁. O bloqueio desses receptores em cobaias provoca inibição da ingestão hídrica pós-prandial (ROSSI et al., 1999). Em ratos, o bloqueio dos receptores histaminérgicos H₁ e H₂

também provoca inibição da ingestão de água após a alimentação (KRALY, 1990), sendo mais efetiva a participação dos receptores histaminérgicos do tipo H_1 (KRALY et al., 1995).

Os dados obtidos neste trabalho mostram que a administração no VMH de mepiramina, antagonistas dos receptores H_1 , na dose de 200 nmol, não provocou alteração no consumo de água nas primeiras quatro horas após a sua administração, porém, ao final do período noturno, a ingestão de água foi significativamente menor do que a observada no grupo controle, apresentando percentual de inibição de 23%. Com a administração de cimetidina, antagonista dos receptores H_2 , na dose de 200 nmol, nas primeiras quatro horas do período noturno o volume ingerido foi menor do que o observado no grupo controle, embora não tenha apresentado diferença estatística significativa entre os grupos. No final do período noturno, o consumo de água total foi 14% menor no grupo de animais tratados com cimetidina do que no controle, porém, esse percentual não apresentou diferença estatística significante.

Os resultados mostram que a utilização dos antagonistas mepiramina e cimetidina na dose de 200 nmol no VMH, não interferem de forma significativa na ingestão hídrica pós-prandial no início do período noturno, contudo, ao final deste período o bloqueio dos receptores H_1 parecem desencadear efeito inibitório na ingestão hídrica pós-prandial, o que não foi observado com a administração do antagonista do receptor H_2 . Dados da literatura mostram que a administração central (ventrículo lateral) ou periférica dos antagonista H_1 e H_2 leva a modificações na ingestão hídrica pós-prandial (KRALY et al., 1995). O bloqueio do receptor H_1 pode reduzir a ingestão de água após a alimentação, enquanto o bloqueio dos receptores H_2 não parece interferir na ingestão hídrica pós-

prandial (KRALY, 1984, KRALY & JUNE, 1982). Os dados obtidos destes experimentos confirmam essas informações e mostram o papel do VMH nesta resposta.

A participação das vias histaminérgicas centrais no controle da ingestão alimentar tem sido extensivamente estudada. Em 1973, Clineschmidt e Lotti demonstraram o efeito inibidor da histamina sobre a ingestão alimentar em gatos. Em outras espécies a histamina também apresenta efeito inibitório sobre a ingestão alimentar. Verificou-se que a administração da histamina no terceiro ventrículo provoca inibição da alimentação em ratos e cobaias (MACHIDORI et al., 1992). Por outro lado, a administração de bloqueadores dos receptores histaminérgicos do tipo H_1 no terceiro ventrículo e em áreas hipotalâmicas, como o VMH e PVN, estimulam a ingestão alimentar em ratos (DOI et al., 1994, FUKAGAVA et al., 1989, OOKUMA et al., 1989 & SAKATA et al., 1988). Ookuma et al. 1989, demonstraram que os receptores do tipo H_1 apresentam maior participação no controle da ingestão de alimento como agente modulador da saciedade no VMH.

No presente trabalho a administração dos antagonistas H_1 e H_2 no VMH não provocou alteração na ingestão alimentar nas primeiras quatro horas do período noturno, porém, ao final do período noturno, o bloqueio destes receptores provocou aumento significativo da ingestão alimentar, confirmando os dados obtidos por Sakata et al. 1988, Ookuma et al. 1989, Fukagawa et al. 1989 e Doi et al. 1994, demonstrando que no VMH não só os receptores histaminérgicos H_1 , mas, também os receptores histaminérgicos H_2 participam de forma efetiva do controle da ingestão alimentar em ratos.

Estudos clínicos mostram a utilização dos antagonistas dos receptores histaminérgicos H_2 no controle e na redução do ganho de peso. Pacientes esquizofrênicos

tratados com olanzapina (antipsicótico) tendem a ter aumento no peso corporal durante o tratamento. A utilização de olanzapina em associação com nizatidina (antagonista H₂) tem como resposta estabilização do ganho de peso e posterior redução do peso corporal (SACHETTI & GUARNIERI, 2000).

Em ratos o uso dos antagonistas histaminérgicos H₂, cimetidina, ranitidina e famotidina, quando administrados intragastricamente, provocam redução no consumo alimentar. Contudo o mesmo resultado não foi observado quando administrado o antagonista omeprazole (STOA-BIRKETVEDT et al., 1997). A redução da ingestão alimentar nos trabalhos acima citados pode ser associada à ativação dos receptores histaminérgicos do tipo H₂ periféricos, como também ocorre no tratamento de doenças gástricas como úlceras, tendo como efeito redução ou mesmo a supressão da produção de ácido gástrico, o que provoca diminuição na absorção de nutrientes pelo intestino e conseqüente perda de peso (STOA-BIRKETVEDT, 1993).

Nos trabalhos acima citados, a via de administração dos antagonistas do tipo H₂ é periférica, enquanto que no presente trabalho esta é central. Em ambos os grupos, cimetidina e mepiramina, observou-se aumento na ingestão alimentar. Portanto, a diferença nas vias de administração das drogas entre o presente trabalho e dos estudos clínicos acima citados pode explicar a diferença nos efeitos dos antagonistas histaminérgicos sobre a ingestão alimentar.

Em conclusão, a administração dos agonistas histaminérgicos provocou efeito dipsogênico em animais normoidratados sendo mais efetiva a participação dos receptores do tipo H₂, embora o bloqueio dos receptores H₁ também tenham sido efetivos nessa resposta. Quando utilizados os antagonistas histaminérgicos em animais privados de

água, o efeito dipsogênico foi revertido, ocorrendo inibição da ingestão hídrica, nesta situação. Os dados sugerem participação mais eficiente dos receptores do tipo H₁ no controle da ingestão hídrica em animais privados. Em animais submetidos a desidratação osmótica, a ação inibitória da ingestão de água também foi evidenciada, quando se utilizou o antagonista dos receptores histaminérgicos H₁. No comportamento da ingestão de água pós-prandial, a administração do antagonista dos receptores H₁ levou a resposta inibitória da ingestão pós-prandial, no final do período noturno, porém, o mesmo resultado não foi observado quando foi administrado o antagonista dos receptores H₂. Em ambas as situações, desidratação osmótica e ingestão hídrica pós-prandial, os dados sugerem maior participação dos receptores histaminérgicos do tipo H₁ do que os receptores do tipo H₂.

Assim, os resultados obtidos neste trabalho demonstram a importância das vias histaminérgicas e de seus receptores no controle da ingestão hídrica em diferentes condições, acrescentando, assim, informações relevantes a respeito da participação do VMH nos diferentes mecanismos de regulação da homeostasia hidrossalina do organismo.

Estudos futuros são necessários para demonstrar a relação das vias histaminérgicas e de seus receptores com outras vias neurotransmissoras centrais, além de evidenciar o papel desempenhado pela histamina em outros sítios de ação no sistema nervoso central no controle do equilíbrio hidrossalino.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na finalização dos experimentos mostraram que os receptores histaminérgicos centrais H_1 e H_2 localizados no VMH participam de modo efetivo no processo de controle da ingestão hídrica e ingestão pós-prandial.

Em animais submetidos a privação hídrica, os receptores histaminérgicos do tipo H_1 evidenciaram participação mais efetiva no controle da ingestão hídrica, pois, ao utilizarmos o antagonista específico mepiramina para o bloqueio destes receptores, obtivemos resposta antidipsogênica significativa em comparação ao grupo controle, sendo mais potente do que quando utilizamos o antagonista específico para o receptor histaminérgico H_2 a cimetidina.

Respostas semelhantes foram observadas no grupo de animais submetidos a desidratação osmótica, onde a participação dos receptores do tipo H_1 ficou mais evidenciada, já que o maior percentual de inibição foi observado com a utilização da mepiramina.

Os resultados obtidos na ingestão de água pós-prandial sugerem maior participação dos receptores do tipo H_1 , pois, o maior percentual de inibição foi observado através da antagonização dos receptores histaminérgicos do tipo H_1 , o que resultou em maior inibição da ingestão hídrica, comparando com os animais controles e os tratados com o antagonista H_2 .

Esses resultados mostram que ambos os receptores H_1 e H_2 no VMH participam do controle da ingestão hídrica e pós-prandial, sendo que ocorre maior modulação através do receptor histaminérgico do tipo H_1 .

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINS, V.F.; BEALER, S.L. Hypothalamic histamine release neuroendocrine and cardiovascular response during tuberomammillary nucleus stimulation in the conscious rat. **Neuroendocrinology**, **57**:849-855,1993.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M.R. Water and sodium chloride intake following microinjections of carbacol into the septal area of the rat brain. **Experientia**, **27**:784-785,1971.

ANTUNES-RODRIGUES, J.; McCANN, S.M. Water, sodium chloride, and food intake induced by injections of cholinergic and adrenergic drugs into third ventricle of rat brain. **Proc. Soc. Exp.Biol.Med.**,**133**:1464-1470,1970.

ARRANGE, J.M.; DRUTEL, G.; SCHWARTZ, J.C. Characterization of histamine H₃ receptors regulating acetylcholine release in rat entorhinal cortex. **Br. J. Pharmacol.**, **114**:1518-1522,1995.

ARRANGE, J.M.; GARBARG, M.; SCHWARTZ, J.C. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. **Nature**, **302**:832-837,1983.

BAUDRY, M.; MARTRES, M.P.; SCHWARTZ, J.C. H₁ and H₂ receptors in the histamine-induced accumulation of cyclic AMP in guinea-pig brain slices. **Nature**, **253**:362-364,1975.

BENNETT, C.T.; PERT, A. Antidiuresis produced by injections of histamine into the cat supraoptic nucleus. **Brain. Res.**, **78**:151-156,1974.

BHARGAVA, K.P.; KULSHRESTHA, V.K.; SANTHAKUMARI, G.; SRIVASTAVA, Y.P. Mechanism of histamine induce antidiurectic response. **Br. J. Pharmacol.**, **47**:700-706,1973.

BLACK, J.W.; DUNCAN,W.A.; DURANT,C.J.; GANELLIN,C.R.; PARSON.M.E. Definition and antagonism of histamine H₂-receptors. **Nature**, **236**:385-390.1972.

BOOTH, D. A.; JARMAM, S. P. Inhibition of food intake in the rat following complete absorption of glucose delivered into stomach, intestine or liver. **J. Physiol.**, **259**:501-522,1976.

BOUTHENET, M.L.; RUAT, M.; SALES, N.; GARBARG, M.; SCHWARTZ, J.C. A detailed mapping of histamine H₁-receptors in guinea-pig central nervous system established by autoradiography with [¹²⁵I]iodobolpyramine. **Neuroscience**, **26**:553-600, 1988.

- BROBECK, J. R.; TEPPERMAN, J.; LONG, C. N. H. Experimental hypothalamic hyperphagia in the albino rat. **Yale J. Biol. Med.**, **15**:831-853, 1943.
- BROWN, R. E., STEVENS D. R., HAAS H. L. The physiology of brain histamine. **Progr. Neurobiol.**, **63**:637-672, 2001.
- BROWN, R. E.; REYMANN, K. G. Histamine H₃ receptor-mediated depression of synaptic transmission in the dentate gyrus of the rat in vitro. **J. Physiol. Lond.**, **496**:175-184, 1996.
- CALCUTT, C.R. The role of histamine in brain. **Genetic Pharmacol.**, **7**:15-25, 1976.
- CASTRO, L.; DE CASTRO-E-SILVA E.; LUZ, C. P.; LIMA, A. K.S.; SOUZA, F.; MALDONADO I.; MACÊDO, D.; FERREIRA, M. G.; SANTAMARIA G. F.; BANDEIRA I. P.V.; AMOR A. L.M.; CARVALHO F.L.Q.; ROCHA JR. M. A.; FREGONEZE J. B. Central 5HT₄ receptors and drinking behaviour. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, (black), 2000.
- CHANG, R.S.; TRAN, V. T.; SNYDER, S.H. Heterogeneity of histamine H₁-receptors: species variations in [³H]mepyramine binding of brain membranes. **Neurochem. J.**, **32**:1653-1663, 1979.
- CLAPHAM, J.; KILPATRICK, G.J. Histamine H₃ receptor-mediated modulation of water consumption in the rat. **Europ. J. Pharmacol.**, **232**:99-103, 1993.
- CLINESCHMIDT, B. V.; LOTTI, V. J. Histamine: intraventricular injection suppress ingestive behavior of the cat. **Arch. Int. Pharmacody. Ther.**, 206-288, 1973.
- COGÉ, F.; GUÉNIN, S-P.; RIQUE, H.; BOUTIN, J.A.; GALIZZI, J-P. Structure and expression of the human histamine H₄-receptor gene. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **284**:301-309, 2001.
- DE CASTRO-E-SILVA E.; SARMENTO C.; NASCIMENTO T. A.; LUZ C. P.; SOARES T.; MARINHO C. A.; CUNHA M.; BULCÃO C.; DE OLIVEIRA I. R.; FREGONEZE J. B. Effect of third ventricle administration of L-694,247, a selective 5-HT_{1D} receptor agonist, on water intake in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **57**: 749-754, 1997.
- DOGTEROM, J. GREIDANUS, T. B. V. W.; DEWIED, D. Histamine as an extremely potent releaser of vasopressin in the rat. **Experimentia**, **32**:659-660, 1976.
- DOI, T.; SAKATA, T.; YOSHIMATSU, H.; MACHIDORI, H.; KUROKAWA, L.A.L.W.; NIKI, N. Hypothalamic neuronal histamine regulates circadian rhythm in rats. **Brain Res.**, **641**:311-318, 1994.

- DONOSO, A.O.; BARONTINI, M. Increase in plasma catecholamines by intraventricular injection of histamine in conscious rats. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **334**:188-192, 1986.
- EDMONDS, M. E.; ASSFORD, R. F. U.; BRENNER, M. K.; SAUNDERS, A. Cimetidine: Does neurotoxicity occur? Report of these cases. **J. Roy. Soc. Med.**, **72**: 172-175, 1979.
- FITZSIMONS, J.T. and LE MAGNEN, J. Eating as a regulatory control of drinking in the rat. **Comp. Physiol. Psychol.**, **67**:273-283, 1969.
- FITZSIMONS, J.T. Angiotensin, thirst, and Sodium Appetite. **Physiol. Rev.**, **78**:583-686, 1998.
- FITZSIMONS, J.T. Thirst. **Physiol. Rev.**, **52**:468-548, 1972.
- FREGONEZE, J. B.; CUNHA, M.; BULCÃO, C.; FERREIRA, H.; DE CASTRO E SILVA, E. Acute effect of intracerebroventricular administration of lead on the drinking behavior of rats induced by dehydration or central cholinergic and angiotensinergic stimulation. **Physiol. Behav.**, **56**: 129-133, 1994.
- FREEMAN, M. C. The Hypothalamus. In: CONN. M. J. B. (Ed.) **Neuroscience in Medicine**. Philadelphia: Lippincott Company, 1995. p. 262-300.
- FREGONEZE, J. B.; SOUZA, C.; CUNHA, M.; FERREIRA, H.; DE OLIVEIRA, I.; BARROS, L.; MALBOUISSON, M.; DE CASTRO E SILVA, E. Acute effects of intracerebroventricular administration of zinc on the drinking behavior of rats induced by dehydration or central cholinergic or angiotensinergic stimulation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **27**: 2623-2633, 1994.
- FREGONEZE J. B.; LUZ C. P.; CASTRO L.; OLIVEIRA P.; LIMA A. K.S.; SOUZA F.; MALDONADO I.; MACÊDO D. F.; FERREIRA M. G.; BANDEIRA I. P. V.; ROCHA JR. M. A. CARVALHO FLQ, DE CASTRO-E-SILVA E. Zinc and water intake in rats: investigation of adrenergic and opiate central mechanisms. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **32**: 1217-1222, 1999.
- FUKAGAVA, K.; SAKATA, T.; SHIRAISHI, T.; YOSHIMATSU, H.; FUJIMOTO, K.; OOKUMA, K.; WADA, H. Neuronal histamine modulates feeding behavior through H₁-receptor in rat hypothalamus. **Am. J. Physiol.**, **256**:R605-R611, 1989.
- GARBARG, M.; BARBIN, G.; BISCHOFF, S.; POLLARD, H.; SCHWARTZ, J-C. Dual localization of histamine in ascending neuronal pathway and in non neuronal cells evidenced by lesions in the lateral hypothalamic area. **Brain Res.**, **106**:333-348, 1976.

- GARCIA, M.; FLORAN, B.; ARIAS MONTANO, J. A.; YOUNG, J.M.; ACEVES, J. Histamine H₃ receptor activation selectively inhibits dopamine D₁ receptor-dependent [³H]GABA release from depolarization-stimulated slices of rat substantia nigra pars reticulata. **Neuroscience**, **80**:241-249, 1997.
- GERALD, M.C., MAICKEL, R.P. Studies on the possible role of brains histamine in behavior. **Br. J. Pharmacol.**, **44**:462-471, 1972.
- GOLDSTEIN, D.J.; HALPERIN, J.A. Masts cell histamine and cell dehydration thirst. **Nature**, **267**:250-252, 1997.
- GOOT, H. TIMMERMAN, H. Selective ligands as tools to study histamine receptors. **Europ. J. Med. Chem.**, **35**:5-20, 2000.
- GROSSMAN, S.P. Eating and drinking elicited by direct adrenergic or cholinergic stimulation of hypothalamus. **Science**, **132**:301-302, 1960.
- HEGSTRAND, L.R.; KANOF, P.D.; GREENGARD, P. Histamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain. **Nature**, **260**:163-165, 1976.
- HILL, S.J. Distribution, properties and functional characteristics of three classes of histamine receptor. **Pharmacol. Rev.**, **42**:45-83, 1990.
- HILL, S.J.; GANELLIN, C.R.; TIMMERMAN, H.; SCHWARTZ, J.C.; SHANKLEY, N.P.; YOUNG, J.M.; SCHUANACK, W.; LEVI, R.; HAAS, H.L. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. **Pharmacol. Rev.**, **49**:253-278, 1997.
- HOFFMAN W. E.; SCHIMD, P. G. Cardiovascular and diurectic effects of central histamine. **Life Sci.**, **22**:1709-1714, 1978.
- INAGAKI, N.; TODA, K.; TANIUCHI, I.; PANULA, P.; YAMATODANI, A. Histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the rat. **Exp. Brain Res.**, **80**:374-380, 1990.
- ITHO, Y.; OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SEAK, K. Characterization of histamine release from the rat hypothalamus as measured by in vivo microdialysis. **J. Neurochem.**, **56**:769-774, 1991.
- JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L.. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **18**:292-353, 1997.
- KISSILEFF, H.R. Food-associated drinking in the rat. **L. Comp. Physiol. Psychol**, **67**:284-300, 1969.

- KJAER, A.; KNIGGE, U.; ROULEAU, A.; GARBARG, M.; WARBERG, J. Dehydration-induced release of vasopressin involves activation of hypothalamic histaminergic neurons. **Endocrinology**, **135**:675-681, 1994.
- KNIGGE, U.; MATZEN, S.; WARBERG, J. Histamine as a neuroendocrine regulator of the stress-induced release of peripheral catecholamines. **Endocrinology**, **126**: 1430-1434, 1990.
- KOLLONITSCH, J.; PATCHETT, A.A.; MARBURG, S.; MAYCOCK, A.L.; PERKINS, L.M.; DOLDOURAS, G.A.; DUGGAN, D.E.; ASTER, S.D. Selective inhibitors of biosynthesis of aminergic neurotransmitters. **Nature**, **174**:906-908, 1978.
- KRALY, F. S. Probe for histaminergic component of drinking in the rat. **Physiol. Behav.**, **31**:229-232, 1983.
- KRALY, F.S. Drinking elicited by eating. In: EPSTEIN, A. N.; MORRISON A. (Ed.) **Progress in psychobiology and physiological psychology**. New York : Academic Press, 1990. v.14, p.67-133.
- KRALY, F.S. Preabsorptive pregastric vagally mediated histaminergic component of drinking in the rat. **Behav. Neurosc.**, **98**:349-355, 1984.
- KRALY, F.S.; JUNE, K.R. A vagally mediated histaminergic component of food-related drinking in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol**, **96**:89-104, 1982.
- KRALY, F.S.; KATZ, J.B.; BURCHARD, A.E.; CASE, C.; GABRIEL, V.A.; LANZ, T. A.; MIKKELSEN, M.E.; SOKOL, M.B. H₂ histaminergic control of inhibition of eating induced by intragastric NaCl in rats. **Physiol. & Behav.**, **65**: 105-113, 1998.
- KRALY, F.S.; KEEFE, M. E.; TRIBUZIO, R. A.; KIM, Y. M.; FINKELL, J.; BRAUN, C. J. H₁, H₂ and H₃ receptors contribute to drinking elicited by exogenous histamine and eating rats. **Pharmacol. Biochem. and Behav.**, **53**:347-354, 1996.
- KRALY, F.S.; TRIBUZIO, R.A.; KEEFE, M.E.; KIM, Y-M; LOWRANCE, R. Endogenous histamine contributes to drinking initiated without postprandial challenges to fluid homeostasis in rats. **Physiol. & Behav.**, **58**:1137-1143, 1995.
- KRUGER, L.; SAPORTA, S.; SWANSON, L.W. **Photographic atlas of the rat brain cell and fibers architecture illustrated in three planes with stereotaxic coordinates**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
- LE CONIAT, M.; TRAIFFORT, E.; RUAT, M.; ARRANGE, J. M.; BERGER, R. Chromosomal location of the human histamine H₁-receptor gene. **Hum. Genetic.**, **94**:186-188, 1994.
- LECKLIN, A.; TUOMISTO, L. Fluid balance in rats of three different strains after inhibition of histamine catabolism. **Physiol. Behav.**, **58**:861-867, 1995.

LECKLIN, A.; TUOMISTO, L. The blockade H1 receptors attenuates the suppression of feeding and diuresis induce by inhibition of histamine catabolism. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **59**:753-758, 1998.

LEIBOWITZ, S.F. Hypothalamic alpha-and-beta-adrenergic systems regulate both thirst and hungry in the rat. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **68**:332-334, 1971.

LEIBOWITZ, S.F. Histamine: a stimulatory effect on drinking behavior in the rat. **Brain Res.**, **63**:440-444, 1973.

LEURS, M.; SMIT, J.; TIMMERMAN, H. Molecular pharmacological aspects of histamine receptors. **Pharmacol. Ther.**, **66**:413-463, 1995.

LHER, D.; MALLOW, J.; KRUKOWISKI, M. Copious drinking and simultaneous inhibition of urine flow elicited by beta-adrenergic stimulation and contrary effect of alpha-adrenergic stimulation. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **158**:150-163, 1967.

LIU, C.; MAX, J.; WILSON, S.J.; HOFSTRA, C. L.; BELWITT, J.; PYATI, J. LI, X.; CHAI, W.; CARRUTHERS, N.; LOVENBERG, T.W. Cloning and pharmacological characterization of a fourth histamine receptor H₄ expressed in bone marrow. **Molec. Pharmacol.**, **59**:420-426, 2001.

LOVEMBERG, T. W.; ROLAND, B. L.; WILSON, S. J.; JIANG, X.; PYATI, J.; HUVAR, A.; JACKSON, M. R. and ERLANDER, M.G. Cloning and functional expression of human histamine H₃ receptor. **Mol. Pharmacol.****55**:1101-1107, 1999.

MACHIDORI, H.; SAKATA, T.; YOSHIMATSU, H.; OOKUMA, K.; FUJIMOTO, K.; KUROKAWA, M.; YAMATODANI, A.; WADA, H. Zucker obese rats: Defect in brain histamine control on feeding. **Brain Res.**, **590**:180-186, 1992.

MARTINEZ MIR, M.I.; POLLARD, H.; MOREAU, J.; TRIFFORT, E.; RUAT, M.; SCHWARTZ, J.C.; PALACIOS, J.M. Losses of striatal histamine H₂-receptors in Huntington's chorea but not in Parkinson's disease: comparison with animal models. **Synapse**, **15**:209-220, 1993.

MENANI, J.V.; SAAD, W. A.; CAMARGO, L.A.A.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; COVIAN, M.R. Effect of cholinergic and adrenergic stimulation of the subfornical organ on water intake. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **20**:301-306, 1984.

MOCHIZUKI, T.; YAMATODANI, K.; OKAKURA, A.; HORII, N.; INAGAKI, H. WADA. Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats. **Physiol. Behav.**, **51**:391-394, 1992.

MORSE, K.L.; BEHAN, J.; LAZ, T.M.; WEST, R.E.; GREENFEDER, S.A.; ANTHES, J.C.; UMLAND, S.; WAN, Y.; HIPIKIN, R.W.; GONSIORREK, W.; SHIN, N.; GUSTAFSON, E.L.; QIAO, X.; WANG, S.; HEDRICK, J.A.; GREENE, J.; BAYNE, M.; MONSMA, F.J. Cloning and characterization of novel human histamine receptor. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **296**:1058-1066, 2001.

- NAKAMURA, T.; ITADANI, H.; HIDAKA, Y.; OHTA, M.; TANAKA, K. Molecular cloning and characterization of a new human histamine receptor, HH4R. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **279**:615-620, 2000.
- 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 Arch. Pharmacol.**, **349**:140-144, 1994.
- ONDERA, K.; TUOMISTO, L.; TACKE, U.; AIRAKSINEEN, M. Strain differences in regional brain histamine levels between genetically epilepsy-prone and resistant rats. **Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.**, **14**:13-16, 1992.
- OOKUMA, K.; YOSHIMATSU, H.; SAKATA, T.;FUJIMOTO, K.; FUKUGAWA, K. Hypothalamic sites of neuronal histamine action on food intake by rats. **Brain Res.**, **490**:268-275, 1989.
- PALACIOS, J.M.; WAMSLEY, J.K.; KUCHAR, M.J. The distribution of histamine H₁-receptors in the rat brain: an autoradiographic study. **Neuroscience**, **6**:15-37, 1981.
- PANULA, P.; YANG, H.Y.; COSTA, E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **81**:2572-2576, 1984.
- PAYNE, G.W.; NEUMEN, R.S. Effects of hypomagnesia on histamine H₁ receptor-mediated facilitation of NMDA response. **Br. J. Pharmacol.**, **121**:199-204, 1997.
- PRAST, H.; HEISTRACHER, M.; PHILIPPU, A. In vivo modulation of histamine release in hypothalamus by adrenoceptor agonist and antagonist. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **344**:183-186, 1991.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. The Rat Brain. In: **Stereotaxic Coordinates**. 4^o ed. San Diego: Academy Press, 1998.
- ROBERTS, F., CALCUT, C.R. Histamine and the hypothalamus. **Neuroscience**, **09**:721-739, 1983.
- ROSSI, R., DEL PRETE, E., SCHARRER, E. Effect of the H₁-histamine receptor agonist betahistamine on drinking and eating behavior in pygmy goats. **Physiol. Behav.**, **66**:517-521, 1999.
- SAKATA, T.; OOKUMA, K.; FUKUGAWA, K.; FUGIMOTO, K.; YOSHIMATSU, H.; SHIRAISHI, T.; WADA, H. Blockade the histamine H₁ – receptor in the rat ventromedial hypothalamus and feeding elicitation. **Brain Res.**, 403-441,1988.
- SAKATA, T.; YOSHIMATSU, H.; KUROKAWA, M. Hypothalamic neuronal histamine: implications of its homeostatic control of energy metabolism. **Nutrition**, **13**:403-411, 1997.

SACCHETTI, E.; GUARNERI, L.; BRAVI, D. H₂ antagonist Nizatidine May Control Olanzapine-Associated Weight Gain in Schizophrenic Patients. Case Report. **Societ. Biolog. Psychiat.** 167-168, 2000.

SCHLICKER, E.; BETZ, R.; GOTHERT, M. Histamine H₃ receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **337**:588-590, 1988.

SCHLICKER, E.; FINK, K.; HINTERTHANER, M.; GOTHERT, M. Inhibition of noradrenaline release in the rat brain cortex via presynaptic H₃ receptors. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **340**:633-638, 1989.

SCHLICKER, E.; FINK, K.; DETZNER, M.; GOTHERT, M. Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H₃ receptors. **J. Neural Transm. Gen. Sect.**, **93**:1-10, 1993.

SCHWARTZ, J.C.; ARRANGE, J.M.; GARBARG, M.; POLLARD, H.; RUAT, M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. **Physiol. Rev.**, **71**:1-51, 1991.

SCHWARTZ, J.C.; POLLARD, H.; QUACH, T.T. Histamine as a neurotransmitter in mammalian brain: neurochemical evidence. **J. Neurochem.**, **35**:26-33, 1980.

SHARPE, L.G.; MYERS, R.D. Feeding and drinking following stimulation of the diencephalon of monkey with amines and other substances. **Exp. Brain Res.**, **8**:295-310, 1969.

SHENG, M.; THOMPSON, M.A.; GREENBERG, M.E. CREB: a Ca(2⁺)-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases. **Science**, **252**:1427-1430, 1991.

SHIMOKAWA, M.; YAMANOTO, K.; KAWAKAMI, J.; SAWADA, Y.; IGA, T. Neurotoxic convulsions induced by histamine H₂ receptor antagonist in mice. **Toxicol. Applied Pharmacol.**, **136**:317-323, 1996.

SHISHIDO, S.; OISHI, R.; SAEKI, K. In vivo effects of some histamine H₁-receptor antagonists on monoamine metabolism in the mouse brain. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **343**:185-189, 1991.

STOA-BIRKETVEDT, G. Effect of cimetidine suspension on appetite and weight in overweight subjects. **Br. Med. J.**, **306**: 1091-1093, 1993.

STOA-BIRKETVEDT, G; LOUHAUG, N.; VONEN, B.; FLORHOLMEN, J. H₂-receptor antagonist reduces food intake and weight gain in rats by non-gastric acid secretory mechanisms. **Acta Physiol. Scand.**, **161**: 489-494, 1997.

STRICKER, E.M.; MILLER, N.E. Saline preference and body fluid analyze in rat after intrahypotalamic injections of carbachol. **Physiol. Behav.**, **3**:471-475, 1968.

STRUMAN, G. Histaminergic drugs as modulators of CNS function. **Europ. J. Physiol.**, **431**:223-224, 1996.

TAYLOR, K.M.; SNYDER, S.H. Dynamics of regulation of histamine levels in mouse **Brain. J. Neurochem.**, **19**:341-345, 1972.

TEITELBAUM, P.; STELLAR, E. Recovery from the failure to eat produced by hypothalamic lesions. **Science**, **120**:894-895, 1954.

TRAIFFORT, E.; POLLARD, H.; MOREAU, J.; RUAT, M.; SCHWARTZ, J. C.; MARTINEZ MIR, M.I.; PALACIOS, J.M. Pharmacological characterization and autoradiographic localization of histamine H₂-receptors in human brain identified with [¹²⁵]iodominopotentidine. **J. Neurochem.**, **59**:290-299, 1992.

TRAIFFORT, E.; VIZUETE, M.L.; TRADIVEL, L.J.; SOUIL, E.; SCHWARTZ, J.C.; RUAT, M. The guinea-pig histamine H₂-receptor: gene cloning, tissue expression and chromosomal localization of its human counterpart. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **211**:570-577, 1995.

TUOMISTO, K.; ERICKSSON, L. Antidiuresis induced by infusions of histamine into the brain ventricles of conscious hydrated goats. **Eur. J. Pharmacol.**, **54**:191-201, 1979.

TUOMISTO, J.; TUOMISTO, L. Effects of histamine and histamine antagonists on the uptake and release of catecholamines and 5-HT in brain synaptosomes. **Med. Biol.**, **58**:33-37, 1980.

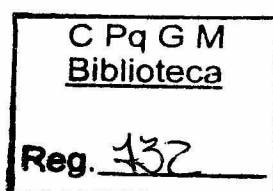
VIZUETE, M.L.; TRAIFFORT, E.; BOUTHENET, M.L.; RUAT, M.; SOUIL, E.; TRADIVEL LACOMBE, J.; SCHWARTZ, J.C. Detailed mapping of the histamine H₂ receptor and its gene transcripts in guinea-pig brain. **Neuroscience**, **80**:321-343, 1997.

WADA, H.; INAGAKI, N.; YAMATODANI, A.; WATANABE, T. Is the histaminergic neuron system a regulatory center for whole-brain activity? **Trends Neurosci.**, **14**:415-418, 1991.

WATANABE, T.; TAGUCHI, Y.; SHIOSAKA, S.; TANAKA, J.; KUBOTA, H.; TERANO, Y.; TOHYAMA, M.; WADA, H. Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats: a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker. **Brain Res.**, **295**:13-25, 1984.

YOKOYAMA, H.; ONODERA, K.; LIMUNA, K.; WATANABE, T. Effect of thioperamide, a histamine H₃ receptor antagonist, on electrically induced convulsion in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, **234**:129-133, 1993.

YOKOYAMA, H.; ONODERA, K.; MAEYAMA, K.; YANAI, K.; LIMUNA, K.; TUOMISTO, L.; WATANABE, T. Histamine levels and clonic convulsions of electrically-induced seizure in mice: the effect of alpha-fluoromethylhistidine and metoprine. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **346**:40-45, 1992.



ZHU, Y.; MICHALOVICH, D.; WU, H.L.; DYTCKO, G.M.; MANNAN, I.J. BOYCE, R.; ALSTON, J.; TIERNEY, L.A.; LI, X.; HERRITTY, N.C.; VAWTER, L.; SARAU, H.M.; AMNES, R.S.; DAVENPORT, C.M.; HIEBLE, J.P.; WILSON, S.; BERGSMA, D.J.; FITZGERALD, L.R. Cloning, expression, and pharmacological characterization of novel human histamine receptor. **Molec. Pharmacol.**, **59**:434-441, 2001.



UFBA

EFEITO INIBITÓRIO DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DE ANTAGONISTAS HISTAMINÉRGICOS H₁ E H₂ SOBRE A INGESTÃO HÍDRICA EM RATOS DESIDRATADOS.

Magrani, JS**; Varjão, BV*; Duarte, GV*; Fregoneze, JB; De-Castro-e-Silva, E
Departamento de Fisiologia - Instituto de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Bahia



Laboratório de Neurociências

INTRODUÇÃO

O Sistema Nervoso Central e a regulação do balanço hídrico

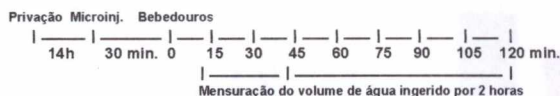
Envolvimento das vias histaminérgicas centrais na regulação da ingestão hídrica



Antagonista dos receptores histaminérgicos H₁ - Mepiramine

Antagonista dos receptores histaminérgicos H₂ - Cimetidine

DESENHO EXPERIMENTAL



DADOS ANTERIORES DA LITERATURA

Administração de Histamina no SNC



Redução da ingestão de água

OBJETIVOS

Estudar o efeito da administração central de mepiramine e cimetidine, antagonistas dos receptores histaminérgicos H₁ e H₂ respectivamente, no controle da ingestão de água induzida por privação hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

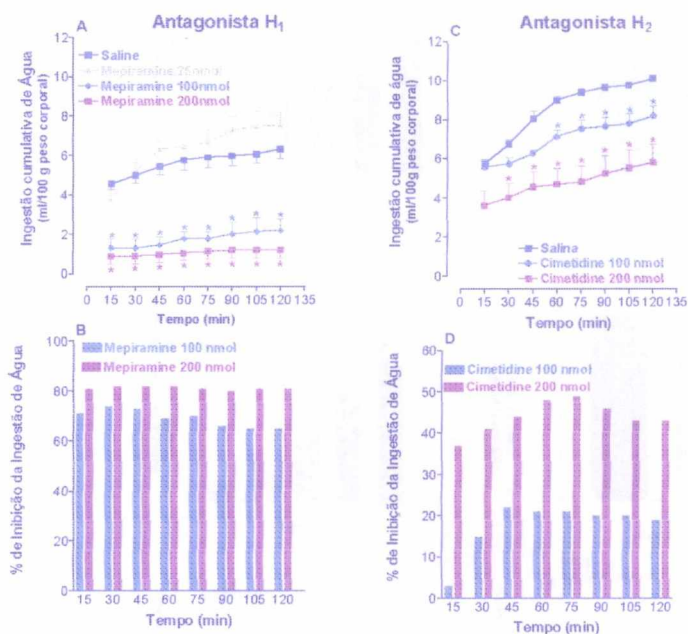
Animais:
Ratos Wistar Machos, 250-280g

Drogas:
Mepiramine [25 (n =6), 100 (n =5) e 200 (n =7) nmol/rato]
Cimetidine [100 (n =6) e 200 (n =7) nmol/rato]
Controle [Salina 0,9% (n =10)]

Procedimentos:
Implante das cânulas gulas no VMH
Recuperação cirúrgica: 5 dias
Privação hídrica- 14 h "overnight"
Período Experimental: 07:00 às 09:00 h
Microinjeções no VMH t = 0 min Vol 0,5ul
Controle da ingestão hídrica:
15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120min.

Análise estatística:
Análise de Variância para medidas repetidas "Two Way"
Pós-teste de Student-Newman-Keuls

RESULTADOS



CONCLUSÕES

- Os dados mostraram que tanto os receptores histaminérgicos centrais H₁, quanto os H₂, participam do controle da ingestão hídrica.
- Em situação de desidratação os receptores H₁ parecem ser mais efetivos, desde que o bloqueio destes receptores pela mepiramine produziu efeito antidiipsogênico mais potente do que a cimetidine, antagonistas dos receptores H₂
- A utilização dos antagonistas histaminérgicos demonstra a existência de um tônus endógeno de histamina que participa dos mecanismos cerebrais de controle da ingestão hídrica em condições fisiológicas de forma a manter a homeostasia hídrossalina do organismo.



UFBA

PAPEL DOS RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS H₁ E H₂ NO NÚCLEO VENTROMEDIAL SOBRE A INGESTÃO HÍDRICA PÓS-PRANDIAL.

Magrani, JS**; Varjão, BV*; Duarte, G*; Fregoneze, JB; De-Castro-e-Silva, E
Departamento de Fisiologia – Instituto de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Bahia



Laboratório de Neurociências

INTRODUÇÃO

O Sistema Nervoso Central e a regulação do balanço hídrico

Envolvimento das vias histaminérgica centrais

Regulação da Ingestão hídrica



Antagonista dos receptores histaminérgicos H₁ - Mepiramine

Antagonista dos receptores histaminérgicos H₂ - Cimetidine

DADOS ANTERIORES DA LITERATURA



OBJETIVOS

Estudar o efeito da administração no núcleo ventromedial hipotalâmico de mepiramine e cimetidine, antagonista dos receptores histaminérgicos centrais H₁ e H₂ respectivamente, na resposta de ingestão hídrica pós-prandial.

MATERIAL E MÉTODOS

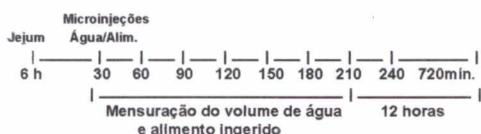
Animais:
Ratos Wistar Machos, 250-280g

Drogas:
Mepiramine (200 nmol/rato; n=7)
Cimetidine (200 nmol/rato; n=9)
Controle (Salina 0,9%; n=7)

Procedimentos:
Implante das cânulas guias no VMH
Recuperação cirúrgica: 5 dias
Período Experimental: 18:00 às 22:00 h e 12 após
Microinjeções no VMH t = 0 min Vol 0,5ul
Controle da ingestão hídrica e alimentar de água: de 30 em 30 min durante as primeiras 4 horas noturnas e no início do período diurno (6:00h)

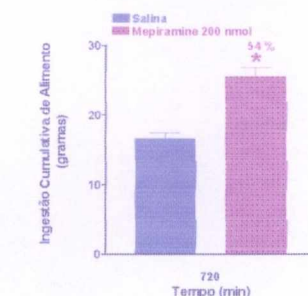
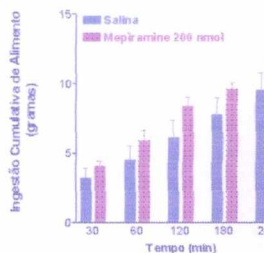
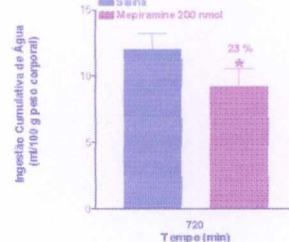
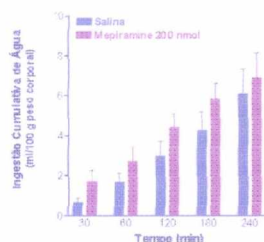
Análise estatística:
Análise de Variância para medidas repetidas "Two Way"
Pós-teste de Student-Newman-Keuls

DESENHO EXPERIMENTAL

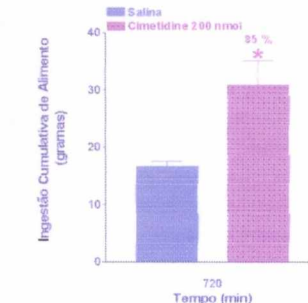
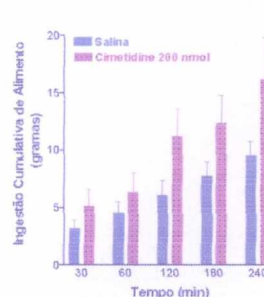
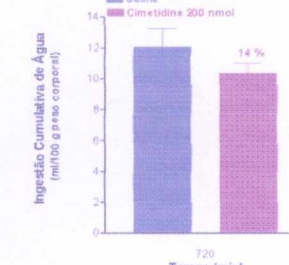
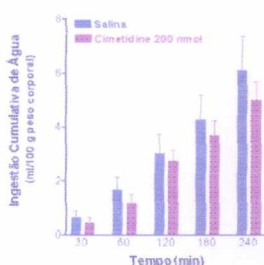


RESULTADOS

Antagonista H₁



Antagonista H₂



CONCLUSÕES

- Os dados presentes mostram que os receptores histaminérgicos H₁ e H₂ participam do controle central da ingestão de água pós-prandial.
- A ingestão hídrica pós-prandial parece ser estimulada principalmente pelos receptores H₁, desde que o efeito antipsicogênico obtido pelo bloqueio dos receptores pela mepiramine foi mais intenso do que o bloqueio dos receptores H₂ pela cimetidine.