

TANIA MARIA MAGALHÃES

ALTERAÇÕES DO CONTEÚDO HISTAMÍNICO DO SANGUE
TOTAL NO TRANSCURSO DA CIRCULAÇÃO CORONÁRIA
DE CÃES SUBMETIDOS A EXACERBAÇÃO E À FA-
LÊNCIA DA ATIVIDADE CARDÍACA.

TESE APRESENTADA AO INSTITUTO DE BIOLOGIA
DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS ,
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
BIOLOGIA, NA ÁREA DE FISIOLOGIA E BIOFÍSICA.

CAMPINAS

1977

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao

Antonio , Alice, Alexandre e Alan,

cuja dedicação e incentivo de todos os momentos foram a
maior força na elaboração deste trabalho,

dedico

Ao

Professor Dr. Rui Errerias Maciel

por sua compreensão, amizade e orientação,

minha gratidão.

ÍNDICE

	Pag.
INTRODUÇÃO	01
MATERIAL E MÉTODOS	08
RESULTADOS	15
DISCUSSÃO	22
RESUMO E CONCLUSÕES	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

Há cerca de setenta anos vêm sendo feitos estudos sobre a histamina e, apesar do considerável número de trabalhos que atestam sua presença em todos os tecidos dos vertebrados, sua fisiologia ainda permanece controversa.

As primeiras pesquisas realizadas por DALE & LAIDLAW (1910), DALE (1920) e LEWIS (1927) mostraram-na como mediadora de fenômenos patológicos e semi-fisiológicos como anafilaxia, reações urticariformes e exudativas da pele e mucosas e, espasmos de alguns músculos viscerais. Entretanto, a descoberta das drogas anti-histamínicos por UNGAR et alii. (1937) e posteriores ensaios nas situações em que se acreditava que fossem mediadas pela histamina, restringiram a sua importância apenas à anafilaxia e manifestações alérgicas, uma vez que foram decepcionantes a maioria dos resultados obtidos. Assim, embora LEWIS (1927) tenha reconhecido o potencial de histamina para o controle fisiológico da microcirculação, a imperfeição dos métodos analíticos para a sua avaliação, o conhecimento apenas primário do seu metabolismo e a incapacidade dos anti-histamínicos em bloquear efeitos circulatórios, contribuíram para o declínio da sua importância nesta função.

A descoberta da presença de histamina nos mastócitos por RILEY & WEST (1953) fez com que muitos pesquisadores passassem, empiricamente, a admitir que sua estocagem era realizada nestas células e que sua liberação era causada por estímulos que as destruíam. Entretanto, nesta mesma época, SCHAYER (1952) estudando a síntese da histamina em ani-

mais, por meio da utilização de histamina C¹⁴, demonstrou a existência de uma segunda forma de mobilização deste hormônio uma vez que verificou que quantidades diminutas desta amina, sob a forma livre e farmacologicamente ativa, eram formadas continuamente pelas células. Diante dessa observação, o autor afirmou que o organismo era incapaz de fixar, nos seus tecidos, a histamina livre ingerida ou administrada parenteralmente e que a histamina tissular provinha integralmente da descarboxilação da histidina existente no tecido, realizada pela enzima histidina descarboxilase. Afirmou ainda ser a histamina, a principal reguladora da microcirculação, uma vez que sua síntese era influenciada pela necessidade local de sangue.

Corroborando esta hipótese, SCHAYER & GANLEY (1959) e SCHAYER (1960 a e b, 1962, 1963) verificaram que o grau de atividade da histidina descarboxilase podia ser alterada por uma série de estímulos tais como: "stress", aumento da temperatura ambiente, infecções, injeções de ativadores do sistema retículo-endotelial, endotoxinas, e que esta alteração estava sempre relacionada com a homeostase circulatória. Assim, SCHAYER (1962) frizou que existia, normalmente, síntese contínua de moléculas de histamina no interior das células musculares lisas e, provavelmente, do endotélio vascular, e que parte deste hormônio permanecia livre no citoplasma para estimular, quando necessário, os receptores intrínsecos responsáveis pela vasodilatação, e parte se difundia através da parede celular e alcançava o lúmen do vaso, sendo arrastada pelo fluxo sanguíneo ou acumulando-se no seu interior, quando o fluxo estivesse bloqueado. Mencionou ainda que havia evidências de que os mamíferos possuíam uma forma induzível de histidina descarboxilase, associada anatomicamente à microcirculação, que sinteti

zava histamina a uma taxa determinada e que pareciam ser a necessidade local de sangue e de oxigênio um estímulo comum que produzia a ativação da enzima. Isto porque, mudanças microcirculatórias e ativação da histidina descarboxilase, seguindo o mesmo estímulo, ocorriam no mesmo sítio anatômico, apresentando uma relação temporal paralela e que eram ambas essencialmente autônomas, uma vez que a ativação da histidina descarboxilase não era prevenida pela adrenalectomia, tireoidectomia, secção espinal ou pela administração de substâncias simpático e parassimpaticolíticas, ganglioplégicas, anti-histamínicas e anti-serotonínicas.

Estas afirmativas foram corroboradas com os trabalhos de HAKANSON (1963) que verificou ser a histidina descarboxilase mais ativa em pH ácido; de KAHLSON & ROSENGREN (1971) que afirmaram ser esta enzima a única entre as demais conhecidas que podia ter sua atividade induzida em tecido muscular de todas as espécies animais testadas e, em todos os tecidos de ratos e camundongos, e os de REILLY & SCHAYER (1970-1971), que demonstraram que o grau de atividade da enzima reflete tanto a velocidade da formação de histamina "in vivo", quanto a velocidade de adaptação microcirculatória.

Entretanto, a inclusão da histamina no grupo dos chamados mediadores químicos fisiológicos encontrou resistência por parte de alguns investigadores e esta se prendeu ao fato de tal substância não preencher dois requisitos para os mediadores, ou seja, o de agir continuamente e o de não ser uma substância produtora de taquifilaxia. Como este hormônio mostrou pequena tendência à taquifilaxia nas respostas microcirculatórias à repetidas doses de histamina, SCHAYER (1974) atribuiu este efeito a prováveis destruições

capilares produzidas pela administração de quantidades não fisiológicas da droga. Isto porque, a taquifilaxia não foi observada nos trabalhos que evidenciaram a existência do interrelacionamento histamina/catecolaminas no desempenho das suas funções fisiológicas, como o de SCHAYER (1960a) mostrando que a administração de adrenalina em camundongos aumentava quatro vezes a atividade da histidina descarboxilase e de GRAHAM, KAHLSON & ROSENGREN (1964) que estudando, sob condições fisiológicas, a capacidade de formação da histamina em camundongos, verificaram que muitos dos estímulos que desencadeiam a formação da histamina "induzida" produzem concomitantemente a liberação de catecolaminas e que o exercício e a administração de adrenalina e seus congêneres causavam substancial elevação da capacidade de formação de histamina no diafragma, pulmões, pele e músculos das patas.

Paralelamente a estes trabalhos sobre o metabolismo e funções da histamina na microcirculação sistêmica, a literatura relata a presença deste hormônio na maioria dos órgãos animais e, entre estes, selecionamos os relacionados com o coração.

Assim, parece que os primeiros investigadores a afirmarem que no coração havia estoque de histamina e que esta era liberada em determinadas situações, foram ANREP, BARSOUN & TALAAT (1936) que verificaram, por meio de preparações coração-pulmão, que a administração de adrenalina, anóxia e o aumento da resistência periférica causavam a sua liberação.

Posteriormente, muitos trabalhos realizados com o intuito de verificar os efeitos da histamina no coração, evidenciaram que grande parte destes eram devidos a ação di

reta do **hormônio** em receptores específicos, uma vez que não eram substancialmente afetados pela administração prévia tanto de drogas que interferiam com o estoque e liberação de catecolaminas, quanto de substâncias bloqueadoras de seus efeitos cronotrópico e inotrópico positivos (BURN & RAND, 1958; PEPEU, MANNAIONI & GIOTTI, 1958; MANNAIONI , 1960; TRENDENLEMBURG, 1960; BARTLET, 1963 e DEAM, 1968). Acrescentam-se a estas evidências as observações de FLACK et alii (1967) que constataram por meio de preparações coração-pulmão de cães que a histamina aumentava marcadamente o fluxo coronário e que este aumento era bem maior do que o esperado pelo aumento da frequência e força de contração do miocárdio.

Em 1965, BECK, trabalhando com histamina C¹⁴, verificou, em cães, que a mesma era liberada no seio venoso durante a vasodilatação reflexa e sugeriu que ela era captada e estocada nas terminações nervosas simpáticas. Entretanto, este trabalho foi contrariado por HARVEY (1971) que afirmou a não ocorrência desta estocagem uma vez que não havia notado alteração do conteúdo de histamina no coração de ratos e cobaias aos quais administrara, previamente, hidroxidopamina e, que as distribuições subcelulares da histamina e catecolaminas eram diferentes.

PÖCK & KUKOVETZ (1967) observaram que, em cobaias pré-tratadas com histamina, os efeitos cardíacos de pequenas doses de nor-adrenalina eram potencializados e, postularam que estes eram provavelmente devido a liberação, pela droga, de histamina exógena que havia se acumulado no coração.

GUIDOTTI, ZILLETTI & GIOTTI (1967) demonstraram

que o coração de cobaia continha cinco a seis vezes mais histamina do que nor-adrenalina e acetilcolina e, que sua distribuição no órgão obedecia o padrão mastocitário demonstrável histologicamente, ou seja, nas áreas sub-epicárdicas, especialmente em torno dos vasos sanguíneos. Entretanto, estes mesmos autores, ao procederem a extração do conteúdo de histamina dos mastócitos do coração de cobaia sensibilizado, verificaram que não havia uma relação entre quantidade de histamina/número de mastócitos, sugerindo que uma fração do total não era estocada nestas células.

MANNAIONI (1972) sugeriu que no coração havia dois estoques de histamina, um ligado aos mastócitos e outro, independente, em locais ainda não estabelecidos, excluindo-se apenas a participação das terminações adrenérgicas, embora pudesse existir alguma relação entre histamina e sistema adrenérgico.

Por outro lado, a necessidade de se estabelecer as funções fisiológicas da histamina cardíaca, induziu alguns pesquisadores a utilizarem drogas anti-histamínicas com o intuito de demonstrar claramente os efeitos do hormônio sobre o coração. Entretanto, já em 1946, YONKMAN et alii verificaram que estes efeitos não eram abolidos pela administração prévia destas substâncias e esta falta de antagonismo específico levou-os a sugerir a existência, neste órgão, de receptores histaminérgicos semelhantes aos da circulação periférica e, logicamente, diferentes dos encontrados em músculos lisos e brônquios.

Esta hipótese foi confirmada pelos trabalhos de MANNAIONI (1960) e MANNAIONI et alii (1968) que estudando a ação dos anti-histamínicos sobre a musculatura atrial de co

baia verificaram que esta droga não antagonizava completamente os efeitos da histamina sobre a frequência e força de contração do músculo.

Entretanto, com a definição e identificação dos receptores H_2 de histamina por BLACK et alii (1972) e a descoberta de um novo tipo de anti-histamínico, antagonista - destes receptores H_2 , WOOD & SIMKINS (1973) e OKPAKO (1974) demonstraram a presença destes receptores nos vasos sanguíneos, explicando assim a incapacidade dos anti-histamínicos convencionais, antagonistas dos receptores H_1 , em bloquear totalmente os efeitos cardíacos decorrentes da administração de histamina.

Finalmente, em 1975, LEVI, CAPURRO & LEE, verificaram que os receptores H_2 são os responsáveis pelo aumento da frequência e da contratilidade cardíaca induzidos pela histamina exógena, enquanto os receptores H_1 são os responsáveis pela diminuição da condução átrio-ventricular.

Em virtude da análise da literatura revelar a carência de conhecimentos sobre muitos aspectos referentes a síntese, estocagem, liberação e atividades fisiológicas da histamina cardíaca e também sobre o papel fisiológico da histamina circulante, propusemo-nos, à luz de manobras experimentais em cães, tais como, administração de adrenalina através da parede ventricular e fibrilação ventricular, verificar a existência de alteração no nível de histamina circulante no transcurso da circulação coronária.

MATERIAL E MÉTODOS

Na presente investigação foram utilizados sete cães de ambos os sexos, de raça indefinida, com peso variando entre 5 e 16 quilogramas.

Estes animais foram anestesiados por meio de administração endovenosa de pentobarbital sódico (Nembutal, ABBOTT), na dose de 30 mg por quilograma de peso corporal e assim mantidos durante toda a experimentação, com o uso de doses suplementares quando necessário.

A seguir, foram submetidos a traqueostomia para a instalação da respiração artificial por pressão positiva; a toracotomia mediana para possibilitar a canulação do seio coronário; e, a cateterização da aorta descendente, via artéria femoral. Figura IV.

Esta preparação possibilitou a coleta simultânea de duas amostras de sangue, uma da aorta e outra do seio coronário, para posterior avaliação qualitativa dos seus conteúdos histamínicos e possíveis alterações durante o transcurso do sangue através da circulação coronária.

A alteração do nível de histamina circulante foi analisada em 3 etapas da experimentação e, conseqüentemente, os pares foram distribuídos em 3 grupos, a saber:

GRUPO I - CONTROLE - Constituído de pares de amostras coletadas logo após o procedimento cirúrgico.

GRUPO II - ADRENALINA - Estes pares foram obtidos na vigência dos efeitos cardíacos induzidos pela administração intra-ventricular esquerda de adrenalina, na dose de 5 microgramas por quilograma de peso corporal.

GRUPO III - FIBRILAÇÃO - Estas amostras foram obtidas durante a fibrilação ventricular produzida por estimulação elétrica.

As 42 amostras assim obtidas, foram tratadas pelo método de isolamento da histamina descrito por BARSOUIM & GADDUM (1935) e modificado por CODE (1937) que consiste em adicionar aos 5 ml de sangue de cada amostra, 7,5 ml de ácido tricloroacético a 10%, deixando a mistura em repouso por 30 a 40 minutos, após os quais, é filtrada por sucção. Ao filtrado acrescentam-se 5 ml de ácido clorídrico concentrado e leva-se à ebulição por 90 minutos adicionando-se água para evitar o ressecamento. O excesso de ácido é removido por vaporização em presença de álcool absoluto e o resíduo seco é lavado 3 vezes com 1 ml de água destilada. Este extrato é filtrado, neutralizado com hidróxido de sódio 1N e 0,2N e seu volume é completado para 5 ml com água destilada.

As amostras assim tratadas, foram ensaiadas sobre pressão arterial do gato. Para tanto, utilizaram-se, sete gatos de ambos os sexos, pesando entre 2,0 e 4,5 quilogramas e anestesiados por meio de injeção intra-peritoneal de Pentobarbital sódico na dose de 50 mg por quilograma de peso corporal.

Estes animais foram submetidos a traqueostomia, canulação de uma das veias jugulares externas para a admi-

nistração dos extratos e de uma das artérias carótidas comuns para registro da pressão arterial por meio de um transdutor de pressão* acoplado a um dos canais de um fisiógrafo -- fo**.

Administrou-se a cada gato, em duas séries, 1 ml de cada extrato obtido do mesmo cão, preservando-se um tempo de 5 minutos entre cada administração, tempo este suficiente para que a histamina injetada fosse removida ou inativada (FERREIRA, Ng & VANE, 1973), e os níveis de pressão arterial voltassem aos seus valores iniciais.

Obtiveram-se assim os registros das hipotensões produzidas pela administração de cada extrato, conforme exemplificam as Figuras I, II e III.

Estas alterações pressoras foram quantificadas pela diferença entre o valor da pressão diastólica imediatamente antes da administração da solução e o valor máximo atingido em consequência do teste, tomando-se o cuidado de avaliá-los sempre durante a fase de inspiração do animal.

Os valores das hipotensões, decorrentes das administrações dos pares de amostras, foram avaliados estatisticamente, aplicando-se o teste T, de Student e estabelecendo-se previamente como nível de significância $P < 0,05$.

Analísaram-se também, por este mesmo método, os valores das hipotensões obtidas nas duas séries de testes realizados em cada animal, para cientificação da possível perda de atividade do extrato no intervalo de tempo com-

* Pressure Transducer, linear-core P-1000 A.

** Physiograph Six-B-Narco Biosystems Inc.

preendido entre elas.

Uma vez que o teste T de Student foi aplicado com as médias estimativas, calcularam-se os intervalos de confiança para as médias reais.

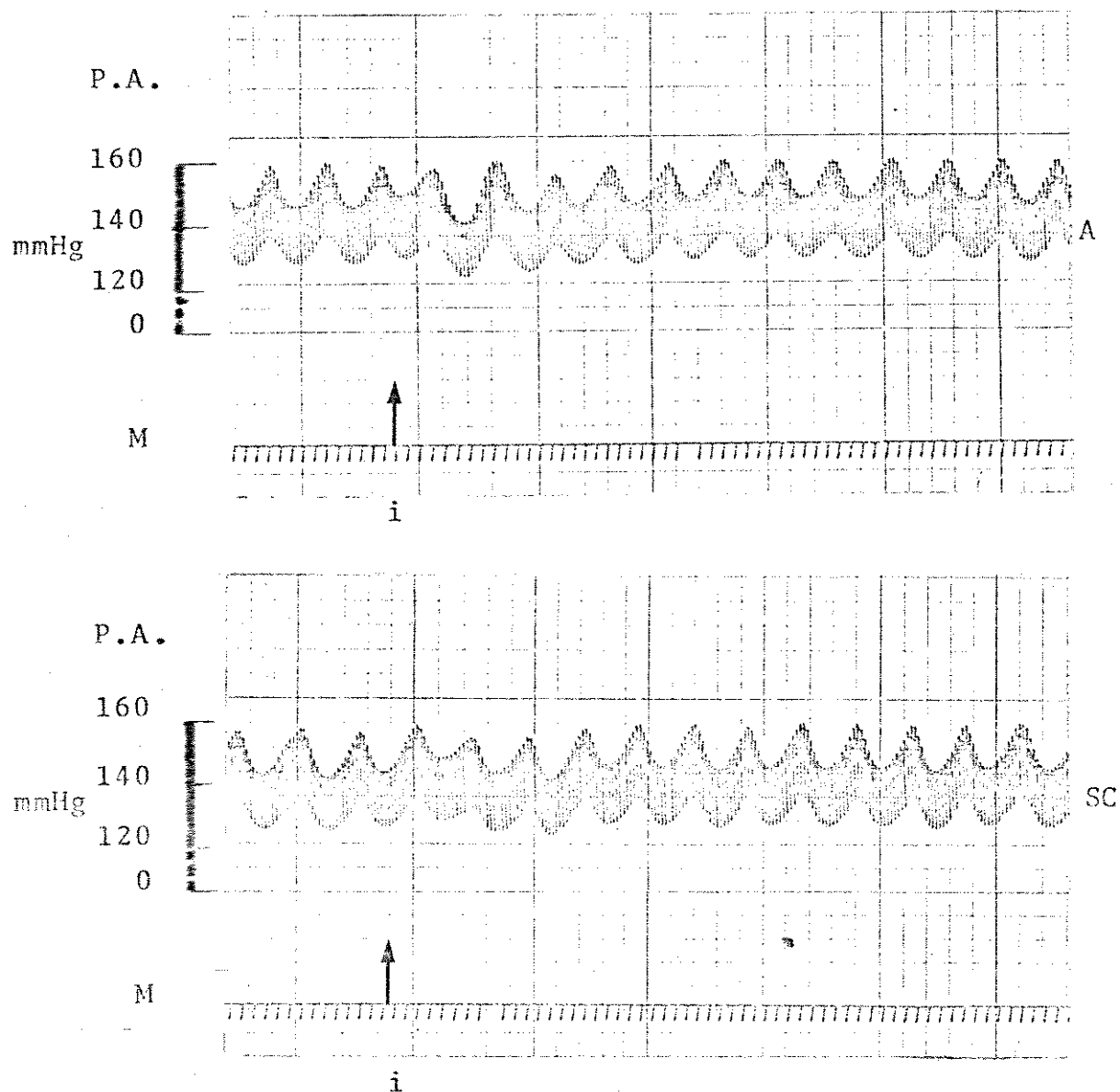


FIGURA I - Exemplo dos registros das hipotensões arteriais de gatos induzidas pela histamina presente nos pares de amostras do grupo Controle:

P.A. - pressão arterial.

A - amostras colhidas na artéria aorta.

S.C. - amostras colhidas no seio coronário.

i - momento exato da administração.

M - marcador de tempo em segundos.

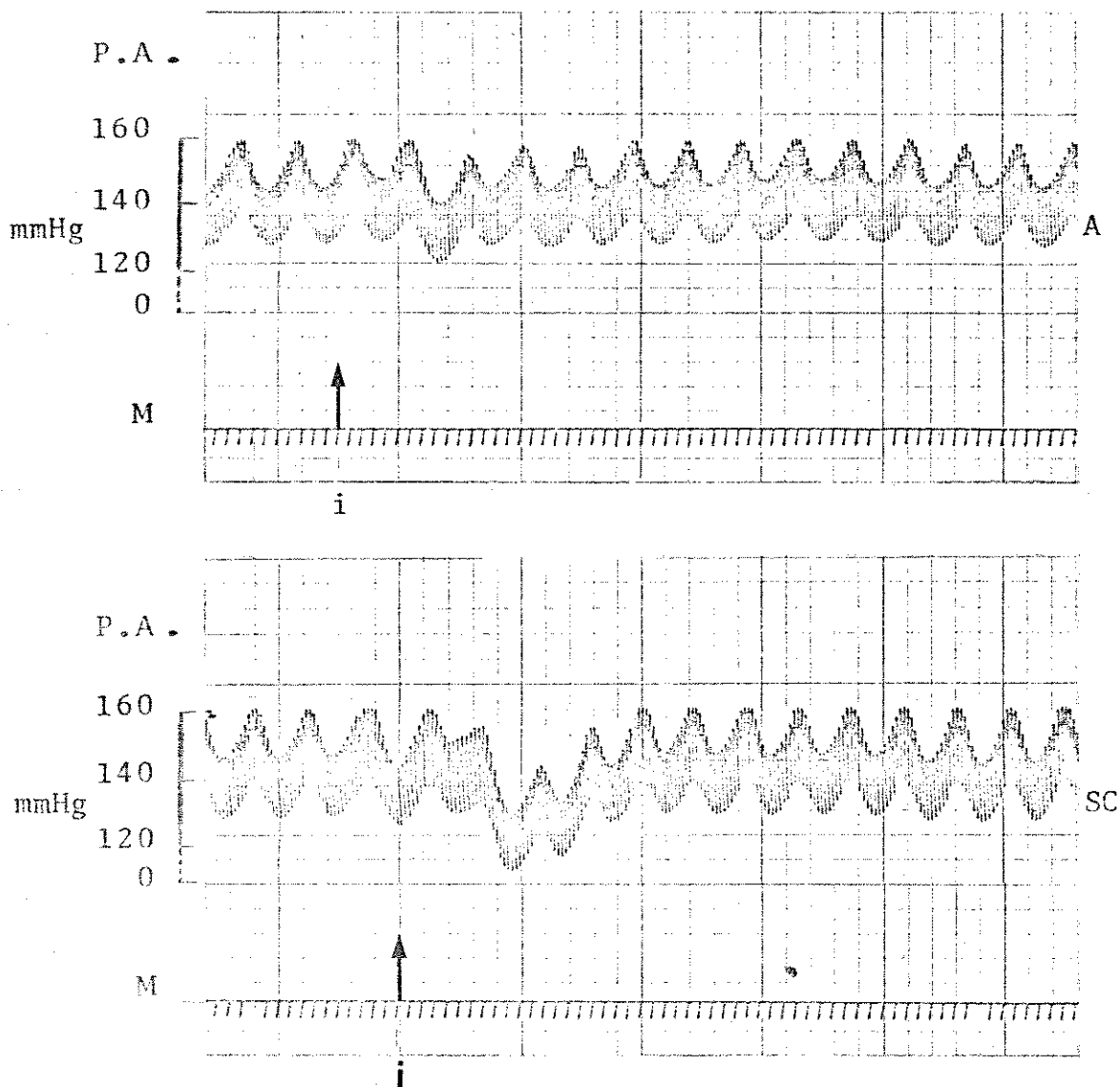


FIGURA II - Exemplo dos registros das hipotensões arteriais de gatos induzidas pela histamina presente nos pares de amostras do grupo Adrenalina:

P.A. - pressão arterial.

A - amostras colhidas na artéria aorta.

S.C. - amostras colhidas no seio coronário.

i - momento exato da administração.

M - marcador de tempo em segundos.

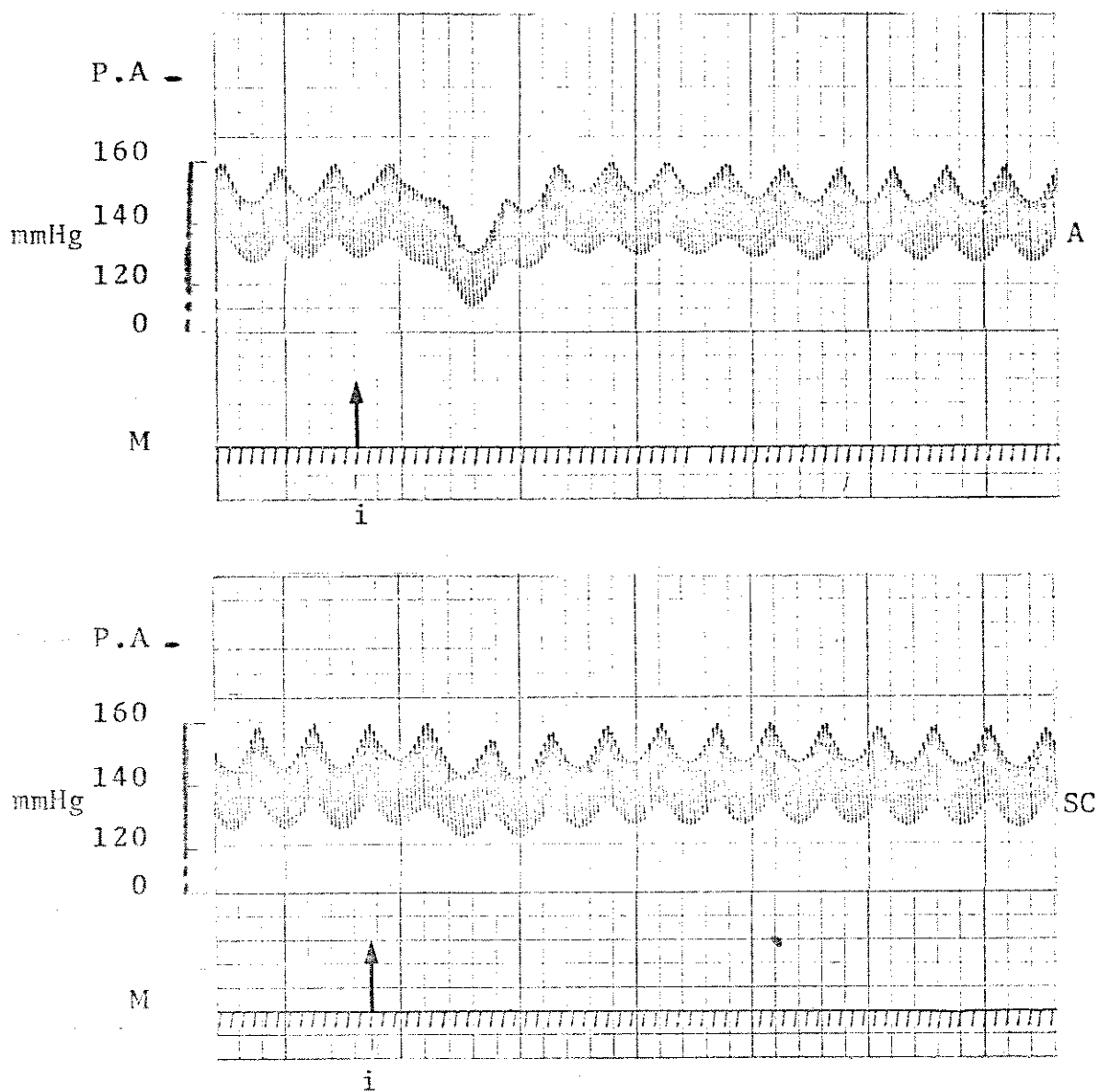


FIGURA III - Exemplo de registros das hipotensões arteriais de gatos induzidas pela histamina presente nos pares de amostras no grupo Fibrilação Ventricular:

P.A. - pressão arterial.

A - amostras colhidas na artéria aorta.

S.C. - amostras colhidas no seio coronário.

i - momento exato da administração.

M - marcador de tempo em segundos.

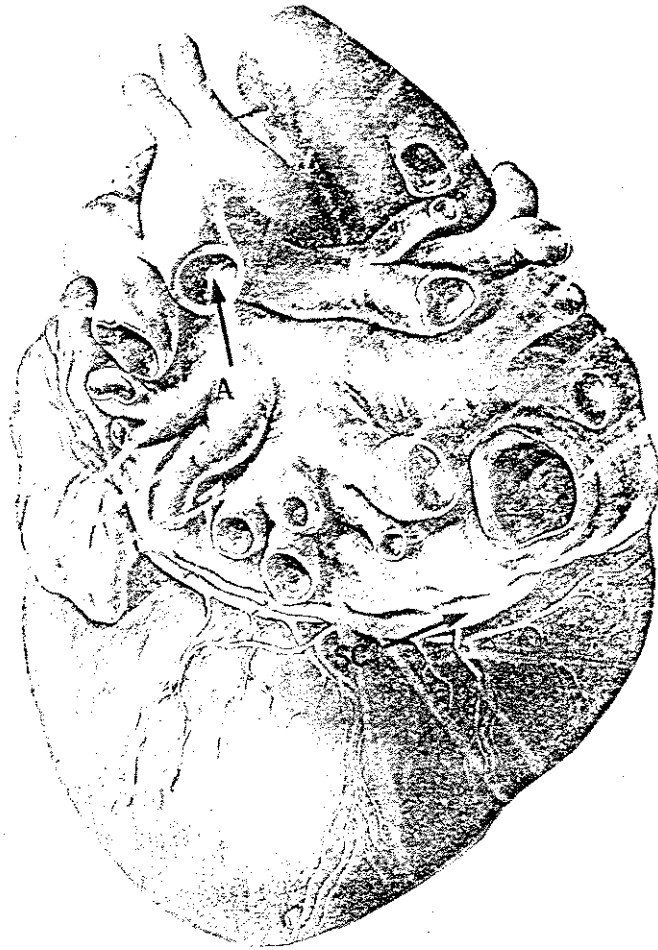


FIGURA IV - Representação gráfica dos locais de inserção das câ-
nulas para coleta de amostras.

A - aorta

S.C. - seio coronário

RESULTADOS

As quantificações das hipotensões arteriais observadas em gatos, decorrentes das administrações dos pares de amostras obtidas nas três etapas experimentais estão expressas nas Tabelas I, II e III que representam respectivamente, os grupos Controle, Adrenalina e Fibrilação ventricular.

O tratamento estatístico destes dados mostra-nos que, no grupo Controle, as diferenças observadas entre as amostras de cada par não são significantes. Entretanto, o mesmo teste evidencia que estas diferenças são bastante significativas, tanto no grupo Adrenalina, quanto no grupo Fibrilação ventricular pois os valores de P em ambos estão entre 0,02 e 0,05.

Por outro lado, a análise estatística dos dados expressos na Tabela IV evidencia que as hipotensões arteriais produzidas pela administração do mesmo extrato nas duas séries do ensaio biológico, são semelhantes pois os valores de P não mostram significância para as diferenças observadas.

As alterações dos níveis da histamina circulante no transcurso do sangue pela circulação coronária estão representados no Gráfico I que mostra as médias estimativas das hipotensões decorrentes da administração dos extratos dos pares de amostras obtidos nas três etapas experimentais. O Gráfico II complementa esta representação, pois mostra o intervalo de confiança para as médias reais.

Pares de Amostras	ΔP diastólica na ins- piração em mmHg	
	A	S.C.
1	2.5	7.5
2	5.0	5.0
3	5.0	10.5
4	10.0	7.5
5	10.0	20.0
6	12.5	15.0
7	12.5	20.0
8	14.0	16.0
9	17.5	5.0
10	22.5	17.5
11	22.5	5.0
12	24.0	21.0
13	25.0	10.0
14	32.0	26.0
Σ	215.0	185.0
\bar{X}	15.35	13.25
S	3.0	
t	0.7019	
P	0.5 > P > 0.4	

TABELA I - Grupo Controle - Valores das hipotensões induzidas em gatos pela histamina contida nos pares de amostras.

A - amostra colhida na artéria aorta.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

Pares de Amostras	ΔP diastólica na ins- piração em mmHg	
	A	S.C.
1	2.0	2.0
2	2.5	12.5
3	4.0	7.0
4	5.0	35.0
5	5.0	12.5
6	6.0	22.0
7	7.5	20.0
8	7.5	10.0
9	7.5	35.0
10	7.5	15.0
11	8.0	24.0
12	20.0	20.0
13	32.5	35.0
14	40.0	45.0
Σ	155.0	295.0
\bar{X}	11.07	21.07
S	4.5	
t	2.1950	
P	0.05 > P > 0.02	

TABELA II - Grupo Adrenalina - Valores das hipotensões arteriais induzidas em gatos, pela histamina contida nos pares de amostras.

A - amostra colhida na artéria aorta de cães.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

Pares de Amostras	ΔP diastólica na ins- piração em mmHg	
	A	S.C.
1	12.0	4.0
2	15.0	2.5
3	15.0	8.0
4	16.0	4.0
5	17.5	2.5
6	17.5	10.0
7	20.0	10.0
8	21.0	12.0
9	22.5	7.5
10	24.0	18.0
11	25.0	21.0
12	25.0	20.0
13	30.0	27.5
14	37.5	40.0
Σ	298.0	187.0
\bar{X}	21.28	13.35
S	3.4	
t	2.3169 *	
P	0.05 > P > 0.02	

TABELA III - Grupo Fibrilação - Valores das hipotensões arteriais induzidas em gatos pela histamina contida nos pares de amostras.

A - amostra colhida na artéria aorta de cães.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

Series Pares de Amostras	GRUPO I				GRUPO II				GRUPO III			
	A		S.C.		A		S.C.		A		S.C.	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	12.5	5.0	20.0	5.0	5.0	2.5	12.5	12.0	15.0	17.5	2.5	2.5
2	5.0	2.5	10.0	7.5	7.5	7.5	15.0	20.0	25.0	24.0	21.0	18.5
3	22.5	12.5	17.5	15.0	40.0	32.5	45.0	35.0	37.5	30.0	40.0	27.5
4	22.5	17.5	5.0	5.0	7.5	5.0	35.5	35.0	22.5	20.0	7.5	10.0
5	24.0	32.0	21.0	26.0	2.0	4.0	2.0	7.0	12.0	16.0	4.0	4.0
6	10.0	25.0	7.5	10.0	7.5	20.0	10.0	20.0	17.5	25.0	10.0	20.0
7	10.0	14.0	20.0	16.0	8.0	6.0	24.0	22.0	21.0	15.0	12.0	8.0
Σ	106.5	108.5	101.0	84.5	77.5	77.5	143.5	151.5	150.5	147.5	97.0	90.0
\bar{X}	15.21	15.50	14.42	12.07	11.07	11.07	20.50	21.64	21.50	21.07	13.85	12.85
S	16.95		13.24		22.36		24.08		17.23		20.90	
t	0.016		0.177		0		0.047		0.024		0.047	
P	$1 > \hat{p} > 0.90$	$0.90 > P > 0.80$	$0.90 > P > 0.80$	$P = 1$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$	$1 > P > 0.90$

TABELA IV - Valores das hipotensões induzidas em gatos, nas duas séries de administrações dos extratos.

A - amostra colhida na artéria aorta de cães.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

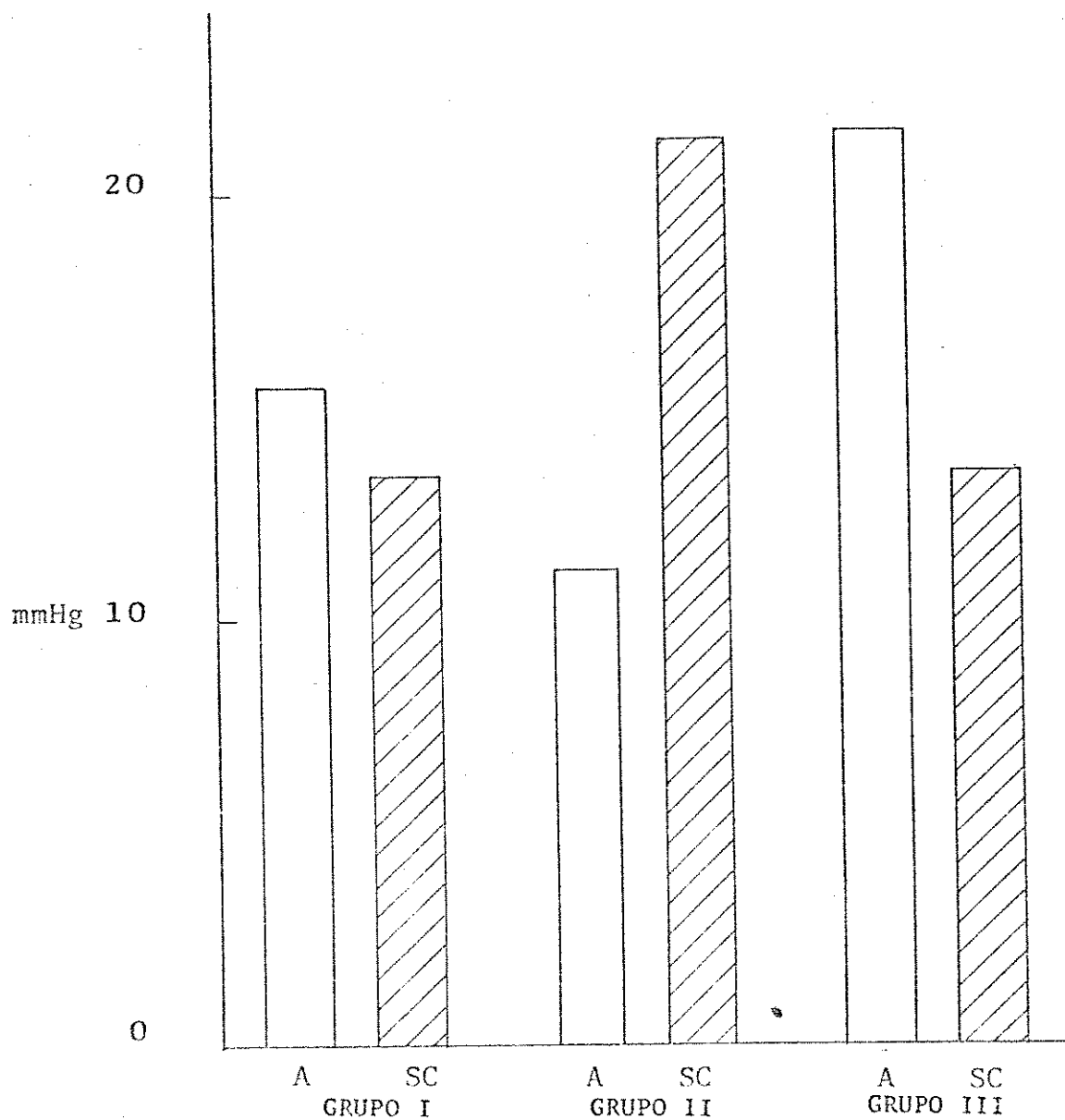


GRÁFICO I - Representação das médias estimativas das hipotensões arteriais produzidas em gatos pela administração dos pares de amostras nos três grupos experimentais.

A - amostra colhida na artéria aorta de cães.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

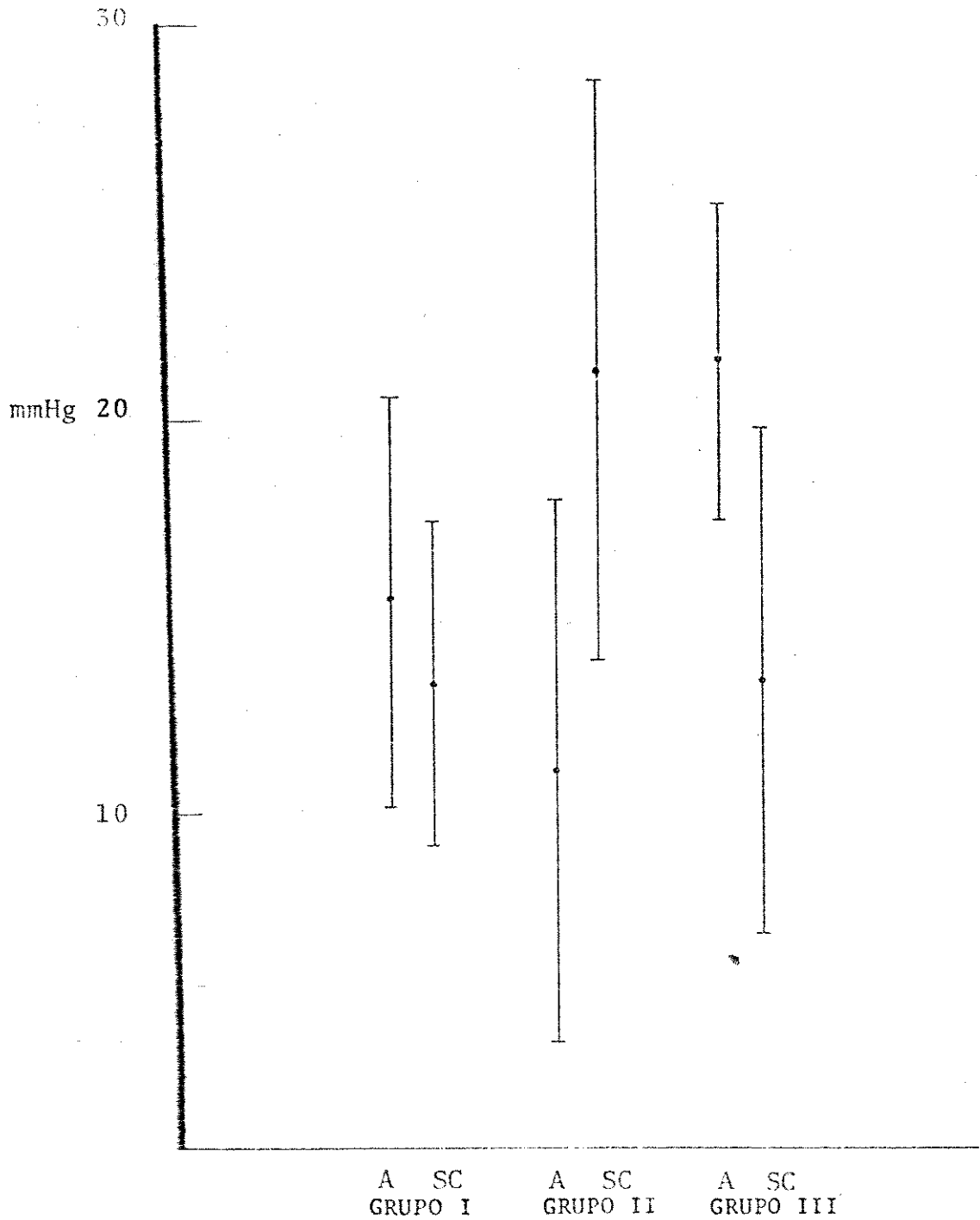


GRÁFICO II - Intervalo de Confiança para as médias nos três grupos experimentais.

A - amostra colhida na artéria aorta de cães.

S.C. - amostra colhida no seio coronário de cães.

DISCUSSÃO1. Método e Análise Estatística

Em virtude da finalidade desta pesquisa ter sido a observação qualitativa da possível alteração do nível de histamina no transcurso do sangue pela circulação coronária, em diversas condições hemodinâmicas, optamos pelo ensaio biológico dos extratos obtidos sobre a pressão arterial do gato. Esta opção se prendeu ao fato da bibliografia consultada ter evidenciado que este animal apresentava grande sensibilidade à histamina (ROCHA & SILVA, 1969) e que o efeito hipotensor, devido a ação da droga sobre os receptores H_1 e H_2 (BLACK et alii, 1972), mantinha uma relação direta dose/efeito para administrações que variavam de 0,1 a 10 microgramas de histamina por quilograma de peso corporal em gatos (LEVI, CAPURRO & LEE, 1975). Além disso, WOODRUFF, ONIWINDE & KERKUT, (1969), mostraram ótima correspondência entre os resultados de análises feitas sobre o conteúdo de histamina, por meio de ensaio biológico tradicional e o fluorimétrico idealizado por SHORE, BURKHALTER e COHN (1959), afirmando contudo, que o teste biológico apresentava vantagens sobre o químico no que diz respeito à presença de drogas semelhantes à histamina nos extratos, uma vez que no primeiro caso, este problema podia ser contornado pelo uso de anti-histamínicos específicos, enquanto, no segundo, as drogas poderiam interferir na estimativa fluorimétrica.

Por outro lado, devemos salientar que a aplicação do teste estatístico aos dados obtidos nas duas séries de injeções feitas em cada animal, (tabela IV), objetivou

nos assegurarmos da sua fidelidade quanto a possíveis perdas da atividade dos extratos durante o tempo em que se realizava o ensaio e alterações na resposta do animal à repetidas doses de histamina, devido à taquifilaxia.

O tratamento estatístico aplicado aos pares de amostras de cada grupo (tabelas I, II e III), teve por finalidade a demonstração da relação de igualdade existente entre as amostras de cada par, tal como expressa o gráfico I construído com as médias estimativas, e confirma o gráfico II, com os intervalos de confiança para as médias reais.

2. Etapas Experimentais

É sabido que o sangue que chega ao seio coronário é quase inteiramente oriundo da artéria coronária esquerda e que a percentagem do influxo nesta artéria, recuperada no seio coronário, está em torno de 90%, sendo razoavelmente estável durante a indução de variações fisiológicas e injeções de drogas (DETWEILER, 1976). Diante disso, elegemos este trajeto para avaliar as possíveis alterações do nível histamínico circulante durante o transcurso do sangue na circulação coronária de cães, nas condições experimentais propostas, com o intuito de obter dados que tanto corroborassem com citações de literatura quanto fornecessem indícios que alimentassem nossa suposição inicial sobre a participação deste hormônio na fisiologia microcirculatória cardíaca.

Inicialmente procuramos verificar se o nível de histamina circulante era estável no momento considerado controle e, para tanto, coletamos amostras de sangue que refletissem o seu estado antes e após percorrer a circulação co-

ronária, a fim de verificar seus conteúdos através de comparação das hipotensões arteriais produzidas em gatos pela administração dos extratos, uma vez que este parâmetro cardiovascular é muito sensível à droga, constituindo, por isso um dos métodos biológicos clássicos para testes histamínicos.

Os resultados obtidos nesta etapa experimental, expressos na Tabela I e representados nos Gráficos I e II, mostram, à primeira vista, uma pequena diferença entre o conteúdo histamínico circulante antes e após percorrer a circulação coronária. Entretanto, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ($0.5 > P > 0.4$) podemos considerar que, nesta fase, há um equilíbrio entre a captação, taxa de utilização, síntese e liberação de histamina pelo miocárdio.

Por outro lado, a verificação de que a adrenalina produz um aumento significativo do conteúdo histamínico nas amostras coletadas no seio coronário em relação às da aorta, ($0.05 > P > 0.02$), conforme mostram a Tabela II e os Gráficos I e II, leva-nos a deduzir que esta droga produz um desequilíbrio no metabolismo da histamina no sentido de aumentá-lo para suprir as necessidades microcirculatórias de fornecimento de fluxo para as fibras miocárdicas, em decorrência dos efeitos cardíacos ocasionados pelas catecolaminas. Portanto, para justificar este aumento, podemos aventar três hipóteses: liberação da histamina estocada no miocárdio; aumento de sua síntese pelo músculo cardíaco; ou, acionamento dos dois mecanismos.

Corroborando esta hipótese, encontramos na literatura trabalhos afirmando que a adrenalina produz aumento da liberação de histamina em preparações coração/pulmão (AN

REP, BAR SOUN & TALAAT, 1936), aumento da atividade da histamina des carboxilase, o qual reflete um aumento na síntese de histamina (SCHAYER, 1960 a e b) (GRAHAM, KAHLSON & ROSENGREN, 1964); e que, seus efeitos cardíacos são potencializados em coração de cobaia, pré-tratado com histamina, provavelmente, devido a liberação da histamina exógena que nele se acumulara, (POCK & KUKOVETZ, 1967).

Além disso, DETWEILER (1976) relata que o aumento do fluxo na artéria coronária esquerda, verificando após a injeção de adrenalina, ocorre em virtude de uma diminuição do fluxo sistólico e aumento do fluxo diastólico acompanhado de aumento do calibre médio coronariano que é explicado pela liberação de uma substância semelhante a adrenalina que aumenta o metabolismo cardíaco. De acordo com nossos resultados, podemos supor que esta droga liberada responsável pela vasodilatação coronariana seja a histamina. O suporte para esta hipótese, encontramos nas demonstrações de que a histamina está presente no miocárdio de cão, em quantidades mensuráveis, ($3.0 \mu\text{g/g} \pm 1.3$) e que este órgão é capaz de captar e estocar esta substância, excluindo, deste processo, os mastócitos (RYAN & BRODY, 1970); e que esta droga produz aumento do fluxo coronário em cães, gatos e, provavelmente, homem (FLACK et alii, 1967). Entretanto, o papel deste hormônio dos tecidos ainda é controverso havendo tanto trabalhos que afirmam que a vasodilatação, e, consequentemente aumento do fluxo coronário em corações de mamíferos, é uma consequência de seu efeito sobre a frequência cardíaca e da força de contração (NARANJO & NARANJO, 1958), quanto demonstrações de que este aumento do fluxo coronário não é causado apenas pelo aumento da frequência cardíaca e da contratilidade miocárdica pois, administrações de pequenas doses (0.01 mg) da histamina que não produzem variações nestes parâmetros cardíacos, aumentam o fluxo coronário em

mais de 100% (FLACK et alii, 1967).

Por outro lado, a fibrilação ventricular produz uma diminuição do conteúdo histamínico do sangue, estatisticamente significativa durante o seu transcurso pela circulação coronária, ($0.05 > P > 0.02$) conforme mostra a Tabela III e sua representação nos Gráficos I e II. Este resultado induz ao raciocínio de que provavelmente a hipoxia miocárdica aciona um mecanismo que aumenta a captação do hormônio circulante para a manutenção da integridade miocárdica, quando há uma falência circulatória. Neste momento, talvez o consumo de histamina seja tão elevado que há necessidade da utilização de quase todo hormônio disponível, ou seja, circulante, estocado e/ou sintetizado e, quem sabe, este seria o derradeiro mecanismo homeostático visando a integridade celular.

Esta hipótese foi aventada em virtude deste resultado constituir quase que um paradoxo com as observações de que a anóxia produz um aumento na capacidade de formação de histamina, tanto pelo miocárdio (ANREP, BARSOUN & TALAAAT, 1936), quanto pelos músculos estriados (GRAHAM, KALSON & ROSENGREN, 1964). Segundo estes últimos autores, a privação de O_2 produz elevação na capacidade de formação de histamina em músculo estriado e pele e, que o conteúdo de histamina e a capacidade de formação de histamina dos tecidos, estão relacionados por um mecanismo de "feed-back". Logo, o aumento da capacidade de formação de histamina verificado na hipóxia é um parâmetro bastante significativo de uma aplicação no estoque de histamina disponível. Entretanto, esta suposição ainda carece de base experimental, uma vez que não há referência na literatura sobre fibrilação ventricular/histamina, constituindo, por isso, um vasto cam

po para futuras pesquisas visando a compreensão microcirculatória cardíaca e da participação ou não da histamina na sua auto-regulação.

RESUMO E CONCLUSÕES

A autora realizou um estudo visando a observação da existência ou não de alterações do conteúdo histamínico do sangue total de cães quando do seu transcurso através da circulação coronária frente a duas situações hemodinâmicas opostas, ou seja, na vigência de uma exacerbação da atividade cardíaca e durante a falência da circulação coronária.

Para tanto coletou amostras de sangue simultaneamente da aorta e do seio coronário, nas várias etapas da experimentação, submetendo-as ao método de isolamento de histamina descrito por Code e as ensaiou sobre a pressão arterial de gatos.

Dos resultados experimentais e da sua discussão decorrem elementos que permitem concluir:

- O conteúdo histamínico do sangue total de cães não sofre alteração significativa no transcurso da circulação coronária.

- Na vigência dos efeitos cardíacos provocados em cães pela administração intraventricular esquerda de 5 µg de adrenalina/Kg de peso corporal, há acentuado aumento do conteúdo histamínico do sangue durante a sua drenagem através da circulação coronária.

- A falência circulatória coronariana provocada pela fibrilação ventricular, produz um declínio do conteúdo histamínico do sangue coletado no seio coronário quando comparado com a amostra obtida simultaneamente da aorta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ANREP, G.V., G.S. BARSOUM & M. TALAAT - Liberation of histamine by the heart muscle. J. Physiol., (London) 86: 431, 1936.
02. BARSOUM, G.S. & J.A. GADDUM - The pharmacological estimation of adenosine and histamine in blood. J. Physiol. (London), 85: 1, 1935.
03. BARTLET, A.L. - The action of histamine on the isolated heart. Brit. J. Pharmacol., 21: 450, 1963. " Apud " Schayer, 1974.
04. BECK, L. - Histamine as the potential mediator of active reflex dilatation. Fed. Proc., 24: 1298, 1965.
05. BLACK, J.W., W.A.M. DUNCAN, G.J. DURANT, C.R. GANELLIN & E.M. PARSONS - Definition and antagonism of histamine H₂ - receptors. Nature, 236, 1972.
06. BURN, J.H. & M.J. RAND - Action of nicotine on the heart. Brit. Med. J., 5063: 137, 1958.
07. CODE, C.F. - The quantitative estimation of histamine in the blood. J. Physiol. (London), 89: 257, 1937.
08. DALE, H.H. & P.P. LAIDLAW - J. Physiol. (London), 41: 318, 1910. " Apud " Ungar, 1965.
09. DALE, H.H. - The biological significance of Anaphylaxis. Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B91: 126, 1920.

10. DEAM , P.M. - Investigation into the mode of action of histamine on the isolated rabbit heart. Brit. J. Pharmacol., 32: 65, 1968. " Apud " Mannaioni, 1972.
11. DETWEILER, D.K. (Editor) - A circulação coronariana. In: Best & Taylor: As bases fisiológicas da prática médica (Ed. J.R. Brobeck): 361-374, 9a. Ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1976.
12. FERREIRA, S.H., K.K. NG & J.R. VANE - The continuous bioassay of the release and disappearance of histamine in the circulation. Brit.J.Pharmacol., 49: 543, 1973.
13. FLACK, W., D. ATANACKOVIC, R.A. GILLIS & M.H. ALPER - The actions of histamine on the mammalian heart. J. Pharmacol. Exp. Ther., 155: 217, 1967.
14. GRAHAM, P., G. KAHLSON & E. ROSENGREN - Histamine formation in physical exercise, anoxia and under the influence of adrenaline and related substances. J. Physiol. (London), 1972: 174, 1964.
15. GUIDOTTI, A., L. ZILLETTI & A. GIOTTI - Correlation between mast-cell population and histamine content of guinea-pig heart. Lo Sperimentale, 117: 133, 1967.
16. HAKANSON, R. - Biochem. Pharmacol., 12: 1289, 1963. " Apud " Kahlson & Rosengren , 1965.
17. HARVEY, S.C. - Some characteristics of histamine storage in the heart. Fed. Proc. 499: 1969, 1971.
18. KAHLSON, G. & E. ROSENGREN - Histamine. Am. Rev. Pharmacol., 5: 305, 1965.

19. KAHLSON, G. & E. ROSENGREN - Biogenesis and physiology of histamine. Edward Arnold Ltd. (London), 1971.
" Apud " Schayer, 1974.
20. LEVI, R., N. CAPURRO & C.H. LEE - Pharmacological characterization of cardiac histamine receptors: sensitivity to H₁ - and H₂ - receptor agonists and antagonists. European J. Pharmacol., 30: 328, 1975.
21. LEWIS, T. - The blood vessels of the human skin and their responses. London: Shaw, 1927. " Apud " Schayer, 1962.
22. MANNAIONI, P.F. - Interaction between histamine and dichloroisoproterenol, hexamethonium, pempidine and diphenhydramine in normal and reserpine - treated heart preparations. Brit. J. Pharmacol., 15: 500, 1960.
" Apud " Mannaioni, 1972.
23. MANNAIONI, P.F., R. LEVI, F. LEDDA & A. GIOTTI - Interaction among histamine, norepinephrine, propranolol, diphenhydramine and quinidine on isolated heart preparations. Life Science, 7: 771, 1968.
24. MANNAIONI, P.F. - Physiology and pharmacology of cardiac histamine. Arch. int. Pharmacolyn. Ther., 196, 64, 1972.
25. NARANJO, P. & E.B. NARANJO - Pressor effect of histamine. J. Pharmacol. exp. Ther., 123: 16, 1958.
26. OKPAKO, T.E. - A vasodepressor action of histamine mediated by H₂ - receptor activation. European J. Pharmacol., 29: 10, 1974.

27. PEPEU , G., P.F. MANNAIONI & A. GIOTTI - L'effetto della reserpina sulla risposta degli atri di cavia alla nicotina, istamina, 5-idrossi-triplamina id alle amine simpatecomimetiche. Boll. Soc. It. Biol. Sper. , 34 : 1326, 1958. " Apud " - Mannaioni, 1972.
28. PÖCH , G. & W.R. KUKOVETZ - Drug induced release and pharmacodynamic effects of histamine in the guinea-pig heart. J. Pharmacol. Exp. Ther., 156: 522, 1967.
29. REILLY, M.A. & R.W. SCHAYER - "In vivo" studies on histamine catabolism and its inhibition. Brit. J. Pharmacol., 38: 478, 1970.
30. REILLY, M.A. & E.W. SCHAYER - Further studies on histamine catabolism " in vivo ". Brit. J. Pharmacol. , 43 : 349, 1971.
31. RILEY , J.F. & WEST - The presence of histamine in tissue mast cells. J. Physiol., 120: 528, 1953.
32. ROCHA E SILVA, M. - Fundamentos de farmacologia e suas aplicações à terapêutica. Vol. I e II, 2a. Ed., E-dart, São Paulo, 1969.
33. RYAN, M.J. & M.J. BRODY - Distribution of histamine in the canine autonomic nervous system. J. Pharmacol. exp. Ther., 174: 123, 1970.
34. SCHAYER, R.W. - Biogenesis of histamine. J. Biol. Chem., 199: 245, 1952.
35. SCHAYER, R.W. & O.H. GANLEY - Adaptative increase in mammalian histidine decarboxylase activity in respon

- se to nonspecific stress. Am. J. Physiol., 197(3): 721, 1959.
36. SCHAYER, R.W. - Relationship of induced histidine decarboxylase activity and histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin. Am. J. Physiol., 198: 1187, 1960a.
37. SCHAYER, R.W. - Relationship of stress-induced histidine decarboxylase to circulatory homeostasis and shock. Science, 131, 226, 1960b.
38. SCHAYER, R.W. - Evidence that induced histamine is an intrinsic regulator of the microcirculatory system. Am. J. Physiol., 202(1): 66, 1962.
39. SCHAYER, R.W. - Histidine decarboxylase in mast cells. Ann NY Acad. Science, 103(1): 164, 1963.
40. SCHAYER, R.W. - Histamine and microcirculation. Life Science, 15(3): 391, 1974.
41. SHORE, P.A., BURKHALTER & V.H. COHN - A method for the fluorimetric assay of histamine in tissues. J. Pharmacol. exp. Ther., 127: 182, 1959.
42. TRENDENLEMBURG, U. - The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. J. Pharmacol. exp. Ther., 130: 450, 1960.
43. UNGAR, G., J.L. PARROT & D. BOVET - Compt. Rend. Soc. Biol., 445, 1937. " Apud " Ungar, 1965.

44. UNGAR, G. - Physiological functions of histamine. Fed. Proc., 24: 1293, 1965.
45. WOOD, C.J. & M.A. SIMKINS, (Editores). International symposium on histamine H₂ - receptor antagonists. Smith Kline and French Laboratories Ltd., Welwyn Garden City, 1973.
46. WOODRUFF, G.N., A.B. ONIWINDE & G.A. KERKUT - Histamine in tissues of the snail, crab, goldfish, frog and mouse. Comp. Biochem. Physiol., 31: 599, 1969.
47. YONKMAN, F.F., D. CHESS, D. MATHIESON & D. HENSEN - Pharmacodynamic studies of a new anti-histamine agent, N-pyridyl-N-benzyl-N-dimethylene diamine HCl, pyribenzomine HCl. J. Pharmacol. Exp. Ther., 87: 256, 1946.