

Influência de esteróides sexuais sobre o conteúdo histamínico do miocárdio de cães

Geraldo Ramon Pereira *, Rui Erreiras Maciel **, Antonio Celso Ramalho ***,
Guido Menegatto ****

Foram utilizados 42 animais, distribuídos em 7 grupos: 1.º machos controle (C), 2.º fêmeas controle (C), 3.º machos submetidos à ação de progesterona (100 mg) por 30 dias (o P30), 4.º machos submetidos à ação de progesterona (100 mg) por 60 dias (P⁶⁰), 5.º machos submetidos à administração semanal de estradiol durante 30 dias (E⁶⁰), 6.º machos tratados simultaneamente com progesterona e estradiol durante 30 dias (PE⁶⁰).

Esses animais foram³⁰ submetidos à oclusão coronária e, após cinqüenta minutos, procedeu-se à remoção de 2 amostras de miocárdio, uma da área isquêmica e outra de área normal, para determinação de seus conteúdos histamínicos por meio de técnica fluorimétrica.

Os resultados obtidos foram: 1) em animais-controle, o teor de histamina do miocárdio normal foi maior na fêmea do que no cão macho; 2) tanto a progesterona como o estradiol, atuando isoladamente, elevaram o nível histamínico do miocárdio normal do cão macho até igualar-se ao da fêmea, todavia, agindo simultaneamente, esses esteróides não alteraram significativamente esse nível; 3) a depleção histamínica provocada pelo infarto foi maior no miocárdio da fêmea do que no cão macho; 4) a progesterona foi capaz de elevar sensivelmente essa depleção no macho, a ponto de torná-la maior do que a observada na fêmea; 5) portanto, se a depleção da histamina significa de fato proteção ao miocárdio sede do infarto, então, a progesterona é presumivelmente um hormônio que protege esse tecido.

Os resultados mostraram que dentre os grupos estudados, a progesterona atuando por 60 dias produziu no macho depleção histamínica na região do infarto muito maior do que a observada na fêmea controle.

Isso sugere que a possível ação protetora da histamina sobre o miocárdio possa ser mediada pela progesterona.

Embora, desde 1927, já se tenha reconhecido o papel da histamina no controle fisiológico da circulação¹, em conseqüência das deficiências de conhecimentos sobre seu metabolismo, métodos de análise e ainda a infidelidade dos anti-histamínicos em bloquear seus efeitos, esse autacóide acabou sendo associado, até meados deste século, meramente a quadros patológicos, chegando-se a

acreditar que sua liberação somente ocorria quando houvesse lesão celular².

Estudos posteriores mostraram que os tecidos eram capazes de sintetizar continuamente a histamina, sob a forma livre e farmacologicamente ativa³ e que essa síntese era controlada pelas necessidades homeostáticas, através de uma forma indizível de histidina-descarboxilase, cujo sítio anatômico seria a

Trabalho realizado no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

* Professor-Titular do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências Biológicas de Saúde. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

** Professor-Adjunto do Departamento de Fisiologia e Biofísica, do Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

*** Professor-Livre Docente do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

**** Professor-Assistente-Doutor do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

microcirculação, nas proximidades ou dentro das células endoteliais ou musculares lisas⁴. Posteriormente, aventou-se uma teoria específica para o papel desse autacóide no controle da microcirculação, admitindo-se que a histamina pré-formada permaneceria, em parte, livre no citoplasma para estimular, quando necessário, receptores intrínsecos, suscitando vasodilatação e, em parte, atingiria o lume dos vasos, sendo conduzida pela corrente sanguínea ou quando o fluxo fosse interrompido, acumulada em seu interior^{5,6}.

Numerosos outros estudos foram feitos com o objetivo de aclarar o papel fisiológico da histamina nos diversos órgãos. Entre esses, muitos utilizaram o coração como alvo, objetivando esclarecer a natureza da mediação histamínica nesse órgão. Assim, verificou-se que seus efeitos sobre o coração não envolviam a mediação de catecolaminas e respectivos receptores⁷⁻⁸ e que o aumento do fluxo coronário era muito superior ao esperado em consequência da taquicardia e da maior força de contração miocárdica induzidas pelo autacóide¹⁰.

Esses estudos levaram a admitir que os efeitos histamínicos sobre o miocárdio eram devidos a receptores específicos a essa amina, possibilitando o surgimento de diversas pesquisas no sentido de defini-los. Assim, a verificação de que os anti-histamínicos clássicos não inibiam todos os efeitos produzidos pela droga sugeriu a existência de outro tipo de receptor envolvido nas alterações observadas^{10,11}. Essa hipótese foi confirmada com a síntese de drogas bloqueadoras dos receptores H₂ que proporcionaram a realização de vários trabalhos evidenciando seu antagonismo aos efeitos ainda presentes após administração de bloqueadores H¹²⁻²⁰.

Por outro lado, estudo comparativo entre os teores de histamina do miocárdio normal e do miocárdio submetido à isquemia aguda por oclusão coronária demonstrou que o teor de histamina na área de infarto era menor do que no miocárdio normal em todos os cães da experiência e essa depleção foi significativamente maior nas fêmeas do que nos machos²¹. Esses resultados levaram o autor a admitir uma possível correlação entre o teor histamínico do miocárdio e sua mobilização frente à isquemia regional, aos níveis séricos de hormônios sexuais circulantes. Essa hipótese encontra respaldo na literatura, porquanto trabalhos demonstram não só que a administração de estrogênio a mulheres predis põe ao infarto²², como também que as concentrações séricas médias de estradiol e estrona estão aumentadas em homens jovens com infarto do miocárdio, enquanto permanecem inalterados seus níveis de testosterona e dildrotestosterona²³. Além disso, alguns trabalhos responsabilizam a progesterona como possível fator de proteção das mulheres ao infarto no período de pré-menopausa, uma vez que seus níveis séricos são bem maiores que em homens e mulheres na menopausa²⁴⁻²⁶. Tem sido ainda demonstrado que a progesterona tem efeito

antiestrogênico, ou seja, uma diminuição de seu nível plasmático implica liberdade de ação dos estrogênios²⁷.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar, em cães machos, a possível influência de hormônios sexuais, tanto sobre o conteúdo histamínico do miocárdio normal, quanto sobre suas alterações no miocárdio sede de infarto.

Material e métodos

Foram utilizados 42 cães, sem raça definida, pesando entre 6 e 20 kg, 7 fêmeas e 35 machos. Esses animais foram distribuídos em 6 grupos como segue: **1.º grupo** - machos que não receberam administração hormonal (C); **2.º grupo** - fêmeas que não receberam administração hormonal (C); **3.º grupo** - machos submetidos à administração de 100 mg de progesterona * (via subcutânea) e operados 30 dias após a atuação do hormônio (P); **4.º grupo** - machos que receberam tratamento com 100 mg de progesterona, operados 60 dias após a injeção (P); **5.º grupo** - machos submetidos à administração de estradiol **. Cada animal recebeu inicialmente 2 mg do princípio ativo e, a seguir, quatro doses de manutenção, de 1 mg, com intervalos de 7 dias. Esses animais foram operados após 30 dias de tratamento (E); **6.º grupo** - machos tratados simultaneamente com progesterona e estradiol, de maneira semelhante à dos grupos 3.º e 5.º (PE).

Uma vez completado o período de ação farmacológica, todos os cães foram anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/kg por via venosa) e traqueostomizados para instalação de respiração por pressão positiva. Procedeu-se à canulação da vena jugular externa esquerda, para eventual complementação da anestesia. A seguir foram submetidos à toracotomia mediana, exposição do coração, ligadura da artéria coronária esquerda e, após 50 min, remoção de duas amostras de miocárdio ventricular, uma da área cianótica e outra da área normal.

Os fragmentos de miocárdio foram processados e a determinação do seu teor histamínico foi feita por método fluorimétrico²⁸, que foi modificado com o intuito de se obter um aumento tanto da sensibilidade como da especificidade²⁹⁻³². Basicamente, esse método consiste de duas etapas fundamentais: a extração da histamina do miocárdio e a dosagem fluorimétrica com a 0-ftaldialdeído *** (OPT) em um espectrofotofluorômetro ****.

Para se comparar estatisticamente as concentrações histamínicas, das amostras de tecido normal e isquêmico, dentro de um mesmo grupo, aplicou-se o teste “t” de Student, para dados emparelhados.

* Promone E (acetato de medroxiprogesterona) Upjohn.

** Ecp 17 (beta) eter cielopentilpropionato de estradiol “alfa” Upjohn.

*** O-Phtalic - dicarboxaldeyde, Aldrich.

**** 4-8202 Spectrophoto-fluorometer Aminco-Bowman.

Na avaliação das diferenças de concentração histamínica entre grupos, empregou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis³³. Os valores de concentração encontrados para os grupos tratados foram comparados com aqueles obtidos nos cães machos e fêmeas de controle.

O nível de significância foi 0,05.

Resultados

As médias e os respectivos desvios-padrão das concentrações de histamina obtidas das amostras normais e das zonas de infarto de todos os grupos experimentais são representados na tabela I.

Tabela I - Médias e desvio padrão das concentrações de Infarto de todos dos grupos. histamina (mcg/g de tecido) no miocárdio normal e sede do

Médias das concent. no miocárdio ± E.P. Grupos	Médias das diferenças ± E.P
Ordem Natureza Normal Infarto (N - E = d)	P* P** P***
X X X	(a) (b) (c) (d)
N E d	
1.º C 6,29 ± 0,52 5,70 ± 0,48 0,587 ± 0,170	< 0-01 < 0,01(-) < 0,01(-)
2.º C 7,14 ± 0,32 6,04 ± 0,24 1,103 ± 0,230	< 0,0025 < 0,01(+) < 0,01(+)
3.º P ₃₀ 6,92 ± 0,46 6,40 ± 0,45 0,521 ± 0,242	< 0,05 < 0,01(-) < 0,01(-) < 0,01(+) > 0,05
4.º P ₆₀ 6,93 ± 0,55 5,19 ± 0,47 1,741 ± 0,197	< 0,0005 < 0,01(+) < 0,01(+) < 0,01(+) > 0,05
5.º E ₃₀ 6,94 ± 0,36 6,33 ± 0,46 0,607 ± 0,125	< 0,0025 > 0,05 < 0,01(-) < 0,01(+) > 0,05
6.º PE ₃₀ 6,03 ± 0,65 5,33 ± 0,49 0,701 ± 0,189	< 0,01 > 0,05 < 0,01(-) > 0,05 < 0,01(-)

X_N - Médias das concentrações no miocárdio normal; X_E - médias das concentrações no miocárdio infartado; X_d - médias das diferenças entre X_N e X_E (depleções); E.P. - desvio padrão da média de 7 determinações; P* - probabilidade das médias das depleções

P** - probabilidades (método de Kruskal-Wallis) das comparações entre as médias das depleções do 2.º, 3.º, 4.º, 5.º e 6.º grupos com a do 1.º (a) e das depleções do 1.º, 3.º, 4.º, 5.º e 6.º com a do 2.º grupo (b); P*** - probabilidades das comparações entre as médias das concentrações de histamina no miocárdio normal do 3.º, 4.º, 5.º e 6.º grupo com a média do 1.º (c) e das médias das concentrações do 1.º, 3.º, 4.º, 5.º e 6.º com a média do 2.º grupo (d); + = significativamente maior; - = significativamente menor.

Observa-se, em cães machos de controle, que a concentração histamínica do miocárdio infartado (5,70 ± 0,48) foi menor que a do miocárdio normal (6,29 ± 0,52). Também nas fêmeas de controle foi menor a concentração de histamina na zona de infarto (6,04 ± 0,24) do que na região normal (7,14 ± 0,32). Esses valores mostram ainda que a depleção histamínica provocada pelo infarto foi maior na fêmea (1,103 ± 0,230) do que no macho (0,587 ± 0,170). Foi também significativa a diferença entre essas depleções (tab. I).

Por outro lado, nota-se que a concentração de histamina do miocárdio normal foi mais alta na cadela do que no macho (tab. I).

Verifica-se também (tab. I) que a progesterona ou estradiol elevou a concentração de histamina do miocárdio normal de machos, em relação aos machos de controle. Atuando simultaneamente, esses dois hormônios não alteraram significativamente o nível histamínico do miocárdio normal.

A progesterona, após 30 dias de atuação, atenuou a depleção histamínica provocada pelo infarto do miocárdio em machos. Entretanto, após 60 dias de ação, esse mesmo hormônio aumentou significativamente a depleção de histamina no miocárdio sede de infarto. Em contraposição, animais tratados com estradiol + progesterona não exibiram alteração de depleção histamínica por ocasião do infarto (tab. I).

Por outro lado, essa depleção foi significativamente menor quando machos de controle, machos tratados com progesterona ou com estradiol ou, ainda, com progesterona

+ estradiol (todos por 30 dias) são comparados com fêmeas de controle. Todavia, em comparação com esse mesmo controle, o infarto provocou uma depleção de histamina significativamente maior no miocárdio de machos sob efeito de progesterona por 60 dias.

Discussão

Os resultados mostraram que a concentração de histamina no miocárdio normal é maior na fêmea do que no macho. Isso ocorreu, presumivelmente, devido à maior eficiência da inativação da histamina no macho, uma vez que a metilação, que é a principal via catabólica, depende do nível de testosterona circulante, conforme foi demonstrado em ratas e em machos castrados, tratados com esse hormônio^{34,35}.

Por ocasião da oclusão coronária, houve queda no teor histamínico do miocárdio sede de infarto em relação ao miocárdio normal, tanto no macho como na fêmea. Entretanto, a depleção da histamina, em decorrência do infarto, foi significativamente maior na fêmea do que no macho, corroborando o trabalho anterior que levou à hipótese de ser a depleção talvez dependente do consumo do autácido na área de infarto como parte de um mecanismo de proteção tecidual na tentativa de promover vasodilatação nessa região²¹. Essa hipótese encontra respaldo na literatura por trabalhos que demonstraram a existência de vasodilatação prolongada da musculatura

ra esquelética do cão, protegendo-a no pós-exercício³⁶; estudos “in vivo” evidenciando que a histamina tem papel relevante na regulação do fluxo sanguíneo, tanto na hiperemia reativa, como na hiperemia pós-oclusão³⁷ e evidências experimentais que sugerem a mediação histamínica na resposta da circulação pulmonar frente à hipóxia³⁸. Entretanto, como a eficiência desse mecanismo foi maior na fêmea, possivelmente haveria mediação hormonal no processo. Partindo dessa premissa, tratamos cães machos com esteróides sexuais tipicamente femininos com o objetivo de verificar essa possível interrelação.

Os resultados em cães mostraram que a progesterona ou o estradiol, atuando sistematicamente por 30 dias, e a progesterona, por 60 dias, elevaram o nível de histamina do miocárdio normal dos machos até igualá-lo ao desse autocóide no miocárdio normal de fêmeas de controle. Isso nos leva a supor que progestágenos e estrógenos atenuam o processo de inativação da histamina, bloqueando, de alguma forma, o papel de testosterona na metilação, já referida. Para explicar esse fenômeno, podemos admitir que ou o hormônio sérico atingiu nível suficientemente alto, capaz de bloquear a liberação hipotalâmica de gonadotrofina LH (que se sabe hoje, controla a secreção de andrógenos pelas células de Leydig-testosterona, no caso^{39,40}) ou os próprios hormônios competiram diretamente com a testosterona, não permitindo sua ação na fase de metilação. De qualquer maneira, esses resultados deixaram evidente que o teor histamínico encontrado no miocárdio normal do cão depende do nível de esteróides circulantes, estando, portanto, relacionado com o sexo.

Entretanto, os cães tratados simultaneamente com progesterona + estradiol, durante 30 dias, não apresentaram alteração significativa no teor histamínico do miocárdio normal. Como a progesterona antagoniza e, até certo ponto, dirige a habilidade estrogênica na célula alvo²⁷, a neutralização resultante dos efeitos simultâneos desses dois esteróides deve ter ocorrido presumivelmente ao nível do receptor e a explicação foge ao escopo deste trabalho.

Quanto aos efeitos de hormônios sexuais exógenos sobre a depleção histamínica observada no miocárdio sede de infarto dos cães machos, devemos mencionar que a progesterona, após 30 dias de atuação sistêmica, atenua a depleção histamínica ocasionada pelo infarto. Admitindo-se a hipótese já referida (de que o consumo histamínico numa área isquêmica, significa proteção ao tecido²¹), então, após 30 dias de atividade no organismo de cão macho, esse esteróide parece ter agido dificultando a proteção ao miocárdio sede de infarto.

Entretanto, esse resultado é insignificante quando comparado com a intensidade do efeito provocado por esse hormônio após 60 dias de atuação: após este período, duplicou a depleção histamínica em relação ao macho e mostrou redução altamente significativa mesmo em relação à própria fêmea de controle. Desse modo, retomada a hipótese de que a depleção histamínica é a expressão da

proteção desse autocóide ao tecido sede de infarto, a progesterona propiciou ao tecido isquêmico alto nível de proteção. Esse resultado corrobora observações feitas em mulheres no período pré-menopausa, nas quais altos níveis relativos de progesterona parecem proteger contra o infarto miocárdico^{24,25}.

Por outro lado, o estradiol, atuando por 30 dias, não alterou a depleção histamínica do miocárdio sede de infarto, parecendo que esse hormônio, por si só, não dificulta a virtual proteção da histamina ao tecido, mesmo perante altos níveis séricos. Isso contraria a hipótese de que elevados níveis de estrógenos poderiam predispor mulheres e homens ao infarto do miocárdio^{22,23}. Entretanto, apesar de o nível sérico de estradiol de nossos animais ter atingido o pico observado em fêmeas no proestro⁴¹, não encontramos alterações histamínicas.

Todavia, quando a progesterona foi associada ao estradiol também ela perdeu seu poder de aumentar a depleção histamínica no miocárdio isquêmico: não foi significativamente diferente a ação conjunta desses hormônios da verificada nos machos de controle. Esses resultados nos levam a supor que o provável protetor do miocárdio sede do infarto é a progesterona e o virtual bloqueio de proteção atribuído ao estradiol^{22,23}, é possivelmente o resultado da ação simultânea desses dois esteróides, talvez no nível de receptores²⁷.

Essa co-participação de esteróides sexuais na virtual proteção aos tecidos pela histamina, que ora supomos ao nível do coração, encontra respaldo em resultados obtidos da função de outros órgãos tais como, o útero^{42,44} e o íleo isolado de cobaia⁴⁵, estruturas nas quais foi preconizada a presença de receptores histamínicos do tipo hormônio-dependente.

Os resultados aqui apresentados e os encontrados na literatura sugerem a existência de receptores da histamina do tipo hormônio-dependente também no miocárdio ventricular. Possivelmente, tais receptores seriam de natureza diferente daqueles demonstrados no útero de ratas^{43,44}, uma vez que esses responderiam ao estímulo histamínico-estrogênico, enquanto os receptores cardíacos apresentariam resposta ao estímulo histamínico-progesterônico.

Cremos que um grande avanço nessa linha de pesquisa será a identificação e caracterização, ao nível do miocárdio, dos hipotéticos receptores histaminérgicos sensíveis à modulação hormonal.

Summary

It has been demonstrated that histamine depletion in an ischemic myocardial area, with respect to the normal myocardial area, with respect to the normal myocardium, appears to be greater in bitches than in dogs. It has been also shown that histamine depletion occurs in the rat uterus as an obligatory step in sex hormone-induced hyperemia. The

hypothesis was then advanced that histamine could be consumed in the ischemic myocardium in order to produce a compensatory hyperemia, by a mechanism which would depend on sexual steroids. The present experiments aimed to test that possibility. Six groups of seven dogs each were employed: I - males (C); II - females (C); III - progesterone-injected males, which were operated 30 days later (P³⁰); IV - progesterone-injected males, which were operated 60 days later (P⁶⁰); V - estrogen-treated males operated 30 days later (E³⁰); VI - estrogen- and progesterone-treated males, operated 30 days later (PE³⁰). The experimental steps included nembutal anesthesia, opening of the thorax and coronary occlusion. Fifty minutes later, two small myocardial specimens were removed, the first from an ischemic area and the other from normal myocardium. The histamine concentrations determined by fluorometry. In agreement with other authors, a greater histamine depletion was found in the female ischemic myocardium. The 60-day progesterone-treated rats led to consumption of histamine in the male infarcted myocardium that may be progesterone-mediated.

Referências

- Lewis, T. - The blood vessels of the human skin and their responses. London, Shaw, 1927. "Apud" Kahlson, G.; Rosengreen, E. - New Approaches to the Physiology of Histamine. *Physiol. Rev.* 48: 155, 1968.
- Burn, J. H. - A discussion on the action of local hormones. *Proc. roy. Soc. (London), Ser. B*, 137: 281, 1950, "Apud" Kahlson, G.; Rosengreen, E. - New Approaches to the Physiology of Histamine. *Physiol. Rev.* 48: 155, 1968.
- Schayer, R. W. - Biogenesis of histamine. *J. Biol. Chem.* 199: 245, 1952.
- Schayer, R. W. - Evidence that induced histamine is an intrinsic regulator of the microcirculatory system. *Am. J. Physiol.* 202: 66, 1962.
- Schayer, R. W. - Biogenic amines and microcirculatory homeostasis. In: Blum, J. J. ed. - *Biogenic Amines as Physiological Regulators*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1970.
- Schayer, R. W. - Histamine and microcirculation. *Life of Sci.* 15: 391, 1974.
- Burns, J. H.; Rand, M. J. - Action of nicotine on the heart. *Br. Med. J.* 1: 137, 1958.
- Mannaioni, P. F. - Interaction between histamine and dichloroisoproterenol, hexamethonium, pempidine and diphenhydramine, in normal and reserpine-treated heart preparations. *Br. J. Pharmacol.* 15: 500, 1960.
- Bartlet, A. L. - The action of histamine on the isolated heart. *Br. J. Pharmacol.* 21: 450, 1963.
- Flacke, W.; Atanackovic, D.; Gillis, R. A.; Alper, M. H. - The actions of histamine on the mammalian heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 155: 217, 1967.
- Trendelenburg, U. - The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 130: 450, 1960.
- Black, J. W.; Duncan, W. A. M.; Durante, C. J.; Ganellin, C. R.; Parsons, E. M. - Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. *Nature (London)*, 236: 385, 1972.
- Black, J. W.; Duncan, W. A. M.; Emmett, J. L.; Ganellin, C. R.; Hesselbo, T.; Parsons, E. E.; Wyllie, J. H. - Metiamide: an orally active histamine H₂-receptor antagonist, *Agents & Actions*, 3: 133, 1973.
- Pösch, G.; Kukovetz, W. R.; Scholz, N. - Specific inhibition by burimamide of histamine effects on myocardial contraction and cyclic AMP. *Naunyn-Schilbeberg's Arch. Pharmacol.* 280: 223, 1973.
- Ercan, Z. S.; Bökesoy, T. A.; Türker, R. K. - A study of the histamine H₂ receptors in heart muscle and coronary vessels. *Eur. J. Pharmacol.* 27: 259, 1974.
- Ledda, P.; Fantozzi, R.; Mugeli, A.; Moroni, F.; Mannaioni, P. F. - The antagonism of the positive inotropic effect of histamine and noradrenaline by H₂ and H₁ - receptor blocking agents. *Agents Actions*, 4: 193, 1974.
- Moroni, F.; Ledda, F.; Fantozzi, R.; Mugelli, A.; Mannaioni, P. F. - Effects of histamine and noradrenaline on contractile force of guinea-pig ventricular strips: antagonism by burimamide and metiamide. *Agents Actions*, 4: 314, 1974.
- Reinhardt, D.; Wagner, J.; Schümann, H. J. - Differentiation of H₁ and H₂ receptors mediating positive chronotropic and inotropic responses to histamine on atrial preparations of the guinea-pig. *Agents Actions*, 4: 217, 1974.
- Levi, R.; Kuye, J. O. - Pharmacological characterization of cardiac histamine receptors: sensitivity to H₂ - receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 27: 330, 1974.
- Levi, R.; Allan, G.; Zavec, J. H. - Cardiac histamine receptors. *Fed. Proc.* 35: 1942, 1976.
- Moura, M. J. C. S. - Alteração no conteúdo de histamina do miocárdio de cães em decorrência da oclusão coronariana. Campinas, 1979. (Tese, Universidade Estadual de Campinas, 38 p).
- Mann, J. I.; Vessey, M. P.; Thorogood, M.; Doll, R. - Myocardial infarction in young women with special reference to oral contraceptive practice. *Br. Med. J.* 2: 241, 1975.
- Phillips, G. B. - Relationship between serum sex hormones and glucose, insulin and lipid abnormalities in men with myocardial infarction. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 74: 1729, 1977.
- Abraham, G. E.; Hopper, K.; Tulchinsky, D. - Simultaneous measurement of plasma progesterone, 17-hydroxyprogesterone and estradiol-17 β radioimmunoassay. *Anal. Letters*, 4: 325, 1971.
- Abraham, G. E.; Maorulis, G. B. - Effect of exogenous estrogen on serum pregnenolone, cortisol, and androgens in postmenopausal women. *Obstet. Gynec.* 45: 271, 1975.
- Phillips, G. B. - Sex hormones, risk factors and cardiovascular disease. *Am. J. Med.* 65: 7, 1978.
- Hsueh, A. J. W.; Peck, E. J., Jr.; Clark, J. H. - Control of uterine estrogen receptor levels by progesterone. *Endocrinology*, 98: 438, 1976.
- Shore, P. A.; Burkhalter, A.; Cohn, V. H. - A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127: 182, 1959.
- Noah, J. W.; Brand, A. - A fluorometric method to determine levels of histamine in human plasma. *J. Allergy*, 32: 236, 1961.
- Redlich, D.; Glick, D. - Studies in histochemistry LXXVI. Fluorometric determination of histamine in microgram samples of tissue or microliter volumes of body fluids. *Ann. Biochem.* 10: 459, 1965.
- Anton, A. H.; Sayre, D. F. - A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 166: 285, 1968.
- Hokanson, R.; Rönnerberg, A. L.; Sjölund, K. - Fluorimetric determination of histamine with OPT: optimum reaction conditions and tests of identity. *Ann. Biochem.* 47: 356, 1972.
- Siegel, S. - *Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento*. McGrawHill, São Paulo, 1975.
- Westling, H. - The difference in the metabolism of injected ¹⁴C-histamine in male and female rats. *Br. J. Pharmacol. Chemotherapy.* 13: 498, 1958.
- Westling, H.; Wetterquist, H. - Further observation on the difference in the metabolism of histamine in male and female rats. *Br. J. Pharmacol. Chemotherapy.* 19: 4, 1962.

36. Morganroth, M. L.; Young, E. W.; Sparks, H. V. - Prostaglandin and histaminergic mediation of prolonged vasodilatation after exercise. *Am. J. Physiol.* 233: 27, 1977.
37. Altura, B. M. - Role of prostaglandins and histamine in reactive hyperemia "in vivo" studies on single mesenteric arterioles. *Prostaglandins Med.* 1: 323, 1978.
38. Stark, R. D.; Joshi, R. C.; Bishop, J. M. - Failure of an antagonist of histamine - chlorpheniramine - to modify the pulmonary vascular response to hypoxia in chronic bronchitis. *Cardiovasc. Res.* 11: 219, 1977.
39. Franchimont, P.; Legros, J. J. - The control of gonadotropin secretion in the human. In: Martini, L.; Mota, M.; Fraschini, F., ed. - *The Hypothalamus*. Academic Press, New York, 1970.
40. Naftolin, F.; Ryan, K. J.; Petro, Z. - Aromatization of androstenedione by the anterior hypothalamus of adult male and female rats. *Endocrinology*, 90: 295, 1972.
41. Cole, H. H.; Cupps, P. T. - *Reproduction in domestic animals*. 3.ed. Academic Press, New York, 1977. p. 506 (graf. de Concannon & colab.).
42. Szeco, C. M. - Role of histamine in mediation of hormone action. *Fed. Proc.* 24: 1343. 1965.
43. Phaily, S.; Senior, J. - Modification of estrogen-induced uterine hyperaemia by drugs in the ovariectomized rat. *J. Reprod. Fert.* 53: 91, 1978a.
44. Phaily, S.; Senior, J. - Histamine involvement in the regulation of uterine blood flow in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 64: 387 P, 1978b.
45. Seaman, I.; Famaey, J. P.; Fontaine, J.; Reuse, J. - Inhibitory effects of sexual steroidal hormones on the responses of isolated guinea-pig ileum to acetylcholine and histamine. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 277: 233, 1977.