

EDEMA PULMONAR DE RATOS VAGOTOMIZADOS: PROVÁVEL ENVOLVIMENTO DA HISTAMINA

ELEONORA E. ABRA BLANCO*, RUI ERRERIAS MACIEL**, ANTONIO CELSO RAMALHO**

*Com o objetivo de estudar o provável envolvimento da histamina no processo edematogênico pulmonar, foram utilizados 36 ratos (*Rattus norvegicus*, albinos, Wistar) adultos, machos, distribuídos em grupos conforme o procedimento cirúrgico: V-vagotomia cervical bilateral; CV controle com operação simulada de vagotomia; Va - vagotomia cervical bilateral e adrenalectomia bilateral e CVA - controle com operação simulada de vagotomia e adrenalectomia bilateral. Após as cirurgias os animais foram submetidos a exercício físico em gaiola giratória. Os V permaneceram em exercício até a morte e seus controles (CV) foram sacrificados imediatamente após. Os VA e seus controles (CVA) foram exercitados por 90 minutos e a seguir sacrificados. Os pulmões foram retirados e pesados; determinou-se a porcentagem de tecido seco e dosou-se a histamina por meio de técnica fluorimétrica.*

Os resultados mostraram que: 1) os ratos V tiveram tempo de sobrevivência média de 31,5 min, enquanto os VA exercitaram-se normalmente durante 90 minutos; 2) o peso pulmonar nos V foi maior em relação aos CV, sendo que entre os VA e CVA não houve diferença significativa; 3) a porcentagem de tecido seco pulmonar nos V foi menor que a dos controles (CV), enquanto entre os VA e CVA não houve alteração significativa; 4) houve significativa diminuição na concentração histamínica pulmonar dos ratos V quando comparada aos CV, enquanto entre os VA e CVA não houve diferença significativa.

Os resultados evidenciaram que a vagotomia seguida ao exercício físico promove edema pulmonar agudo que pode ser prevenido pela adrenalectomia, e que nos pulmões demasiados o nível de histamina sofreu sensível diminuição. Isso sugere provável envolvimento da histamina no desencadeamento do processo edematogênico pulmonar.

Sabe-se há mais de 250 anos que a vagotomia cervical bilateral promove edema pulmonar agudo no rato. Dentre as primeiras hipóteses do mecanismo de formação do edema por vagotomia foi proposto um fator humoral de origem central^{1,3}e/ou um desequilíbrio na inervação simpática dos capilares pulmonares³. O desequilíbrio simpático após vagotomia e exercício físico foi reforçado pela obtenção da prevenção do edema com a adrenalectomia bilateral em ratos vagotomizados⁴. Além disso, o edema foi prevenido com o uso de anti-histamínicos, dando origem à proposição de que o mecanismo de formação do edema estaria ligado à liberação da histamina⁵. O envolvimento da histamina no edema pulmonar foi reforçado pela observação de que, em bovinos vagotomizados, a histamina conduzia à morte dentro de 15 minutos⁶.

Paralelamente às pesquisas do edema por vagotomia, estudos sobre o papel da via simpática no edema por elevação da pressão arterial sistêmica propuseram que o edema resultaria da estimulação autonômica generalizada⁷. Quanto ao edema por elevação da pressão intracraniana, sugeriu-se que esse aumento de pressão poderia iniciar um processo envolvendo o hipotálamo, resultando em excessiva descarga simpática com graves conseqüências hemodinâmicas, danificando as paredes capilares pulmonares e sua permeabilidade, ocasionando o edema⁸.

Ao contrário das hipóteses de que a alteração hemodinâmica conseqüente ao desequilíbrio simpático é que seria o fator desencadeante do edema neurogênico, foi observado que o edema ocorria tanto na ausência como na presença de hipertensão sistêmica⁹.

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

* Professora-Assistente do Departamento de Ciências Fisiológicas - Fundação Universidade Estadual de Londrina.

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

¹⁰ sugerindo-se portanto que a descarga simpática evocada pelo cérebro afetaria diretamente apenas a rede vascular pulmonar¹¹. Entretanto, a observação de que imediatamente após a vagotomia as pressões arteriais sistêmica e pulmonar não se alteram¹², parece concordar com as hipóteses de que as adrenais e a histamina poderiam estar ligadas ao mecanismo de formação do edema por vagotomia.

No presente trabalho, com o objetivo de investigar o provável envolvimento da histamina no processo edematogênico pulmonar, estudaram-se as alterações do conteúdo histamínico em pulmões de ratos vagotomizados e vago-adrenalectomizados submetidos a exercício físico e em seus respectivos controles.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 36 ratos (*Ratus norvegicus*, albinos, Wistar) adultos, machos, distribuídos em 4 grupos: V - vagotomia cervical bilateral; CV - controle com operação simulada de vagotomia e adrenalectomia bilateral.

Após as cirurgias os ratos foram submetidos a exercício em gaiola giratória. Os V permaneceram em exercício até a morte, sendo o respectivo controle de cada animal vagotomizado, sacrificado após a morte do seu par por inalação de éter sulfúrico. Os VA e CVA permaneceram em exercício durante 90 minutos e foram sacrificados a seguir por inalação de éter sulfúrico. Os pulmões foram removidos, pesados e retiradas amostras para a dosagem de histamina. O restante foi submetido à desidratação em estufa a 105°C durante 48 horas para determinação da porcentagem do seu peso seco.

As amostras dos pulmões foram processadas e a determinação do seu teor histamínico foi feita por método fluorimétrico¹³, que foi modificado com o intuito de obter um aumento tanto da sensibilidade quanto da especificidade¹⁴. Basicamente, esse método consiste de duas etapas fundamentais: a extração da histamina dos pulmões e a dosagem fluorimétrica com O-f-taldialdeído (OPT)* por espectrofotofluorimetria**.

Para o processamento estatístico dos resultados, comparou-se cada grupo com seu respectivo controle. Os valores da concentração de histamina foram divididos por 1 000 000 e extraída a sua raiz quadrada; as porcentagens de tecido seco foram divididas por 100 e transformadas pela função normalizadora arcsen ÖP. Sobre os valores da concentração de histamina e porcentagem de tecido seco assim obtidos, bem como sobre os pesos pulmonares, aplicou-se o teste “t” de Welch¹⁵.

RESULTADOS

Os animais do grupo V tiveram um tempo de sobrevivência curto ($c = 31,5$ min), sendo que os VA suportaram normalmente o exercício durante 90 minutos. O peso pulmonar dos V ($2,65 \pm 0,70$) foi quase duas vezes maior que o dos CV ($1,38 \pm 0,14$). Por outro lado, nos VA não houve alteração significativa quando comparada ao CVA. A porcentagem do tecido seco nos pulmões dos V foi menor ($16,81 \pm 3,34$) quando comparada aos CV ($21,99 \pm 6,47$). Não houve diferença significativa entre os grupos VA e CVA.

A concentração de histamina pulmonar nos V ($6,28 \pm 1,98$) sofreu uma depleção sensível em relação à concentrações nos pulmões dos CV ($11,85 \pm 3,39$) ($p < 0,001$). Nos VA o nível histamínico pulmonar ($13,31 \pm 4,45$) permaneceu em níveis próximos ao dos CVA ($16,46 \pm 5,42$) (quadro I).

Quadro I - Tempo de sobrevivência, peso pulmonar, porcentagem de tecido seco e concentração de histamina de ratos vagotomizados, vago-adrenalectomizados e seus respectivos controles (médias \pm desvios padrão).

	Tempo de sobrevivência (min)	Peso pulmonar (g)	% de tecido seco	Concentração de histamina ($\mu\text{g/g}$)
V	31,5	$2,65 \pm 0,70$ *	$16,81 \pm 3,34$ **	$6,28 \pm 1,98$ ***
CV	31,5	$1,38 \pm 0,14$	$21,99 \pm 6,47$	$11,85 \pm 3,99$
VA	90	$1,74 \pm 0,19$	$21,11 \pm 2,56$	$13,31 \pm 4,45$
CVA	90	$1,56 \pm 0,23$	$20,89 \pm 3,55$	$16,46 \pm 5,42$

* $p < 0,0001$; ** $P < 0,05$; *** $p < 0,001$

V - vagotomia cervical bilateral; CV - controle com operação simulada de vagotomia; VA - vagotomia cervical bilateral e adrenalectomia bilateral; CVA - controle com operação simulada de vagotomia e adrenalectomia.

DISCUSSÃO

O exercício físico acelera marcadamente o edema pulmonar em atos vagotomizados, sendo que essa alteração se caracteriza pelo aumento do peso dos pulmões e pela eliminação de plasma na forma de espuma dos brônquios dos animais¹⁶. Por essa razão, submetem-se todos os animais ao exercício para diminuir o tempo de sobrevivência pós-cirúrgico.

O fato de a adrenalectomia prevenir o edema pulmonar causado por lesão hipotalâmica¹⁷ e vagotomia⁴ levou à proposição de que as adrenais têm grande participação no processo edematogênico. Entretanto, a alteração simpática através de influências hemodinâmicas ficou questionável com a observação de que a reserpina e a fenoxibenzamina abolem a hipertensão sistêmica causada por lesão no núcleo do trato solitário e mantêm o edema pulmonar e que a clorpromazina mantém a hipertensão e abole o edema¹⁰. Esses resultados sugerem que o desequilíbrio simpático³ pode estar envolvido, mas atuando de outra forma que não hemodinamicamente.

* O Phthalic -dicarboxaldehyde -Aldrich

** Perkin -Elmer Modelo MPS 44 B

Os presentes resultados concordam com a hipótese do envolvimento das adrenais na formação do edema por vagotomia, pelo fato de os ratos vago adrenalectomizados apresentarem peso e porcentagem de tecido seco pulmonar semelhante aos seus controles (CVA) e por resistirem ao exercício por maior tempo. Além disso, sugerem também que a histamina seja o fator humoral edematogênico, conseqüente à vagotomia, uma vez que a concentração de histamina pulmonar nos ratos vagotomizados foi menor do que a dos seus respectivos controles. A prevenção do edema conseqüente à vagotomia cervical bilateral pelo uso de anti-histamínicos⁵ fala a favor dessa hipótese.

A diminuição do conteúdo histamínico pulmonar nos ratos vagotomizados poderia ser atribuída à inibição da formação de histamina causada pela adrenalina liberada durante o exercício¹⁸. Entretanto, todos os animais dos outros grupos que mantêm foram submetidos ao exercício e não apresentaram essa alteração do conteúdo histamínico pulmonar.

As propostas de participação das adrenais no mecanismo de formação do edema, a suposição de que o edema não se deve unicamente a fatores hemodinâmicos¹⁰, a proposta de que exista um equilíbrio entre a histamina e adrenalina para manter a homeostase¹⁹ e os resultados ora obtidos concordam com o provável envolvimento da histamina no desencadeamento do processo edematogênico pulmonar.

SUMMARY

The previous theories about the edematogenic mechanism of the vagotomy induced pulmonary edema responsabilized a central edematogenic humoral factor. This factor could be histamine, released in consequence to the loss of vagal reflex and/or to the release of endogenous catecholamines, since adrenalectomy and anti histaminics can prevent the vagotomy pulmonary edema. The present experiment aimed verify the participation of histamine on vagotomy induced pulmonary edema. Four groups of nine operated rats were employed: CV - vagotomy sham operated; V - bilateral cervical vagotomy; CVA - vagotomy and adrenalectomy sham operated; VA - bilateral cervical vagotomy and bilateral adrenalectomy. The rats were submitted to physical exercises after they recovered the ether sulfuric anesthesia used during the surgery. The lungs were removed after death in order to verify the weight and the dry percentage. Small samples were removed for the quantification of the histamine level, by fluorimetric method. Results showed that the weight of the vagotomized rats

lungs was increased and the lung weight dry percentage decreased in relation to control animals. Histamine depletion was found only in the animals submitted to vagotomy induced pulmonary edema.

REFERÊNCIAS

1. Borison, H. L.; Kovacs, B. A. - Central mechanisms in pulmonary edema of nervous origin in guinea pigs. *J. Physiol. Lond.* 145: 374, 1959.
2. Rech, R. H.; Mc Carthy, L. E. Borison, H. L. - Evidence for a humoral factor in vagotomy induced pulmonary edema. *Am. J. Physiol* 203: 151, 1962.
3. Rech, R. H. - The fiber component of the midcervical vagus nerve implicated in vagotomy -induced lung edema. *Exptl. Neurol.* 14: 475, 1966.
4. Maciel, R. E.; Mello, A. - Ação da atropina, eserina, bradicina, ganglioplégico e adrenalectomia no edema pulmonar de ratos vagotomizados. *Ciência e Cultura.* 20: 395, 1968.
5. Maciel, R. E.; Mello, A. - Mecanismo provável da formação do edema pulmonar agudo em ratos vagotomizados e submetidos a exercício. *Ciência e Cultura.* 21: 502, 1969.
6. Aitken, M. M.; Sanford, J. - Effects of histamine, 5-hydroxytryptamine and bradykinin on cattle and their modification by antagonists and by vagotomy. *J. Comp. Pathol.* 82: 257, 1972.
7. Sarnoff, S.; Sarnoff, L. C. - Neurohemodynamics of pulmonary edema. II. The role of sympathetic pathways in the elevation on pulmonary and systemic vascular following intracisternal injection of fibrin. *Circulation.* 6: 51, 1952.
8. Milley, J. R.; Nugent, S. K.; Rogers, M. C. - Neurogenic pulmonary edema in childhood. *J. Pediat.* - 94: 706, 1979.
9. Hoff, J. T.; Nishimura, M.; Uria, J. G.; Miranda, S. - Experimental neurogenic pulmonary edema. *J. Neurosurg.* 54: 627, 1981.
10. Campagnole, M. J. - Alterações da pressão arterial provocadas por lesões restritas do núcleo do trato solitário no rato. Ribeirão Preto, 1983 (Tese, Universidade de São Paulo).
11. Uria, G. J.; Hoff, J. T.; Miranda, S.; Nishimura, M. - Experimental neurogenic pulmonary edema. Part 2: The role of cardiopulmonary pressure change. *J. Neurosurg.* 54: 632, 1981.
12. Lagneaux, D.; Lecomte, J.; Bodson, L. - The absence of immediate effects of vagotomy on the pulmonary arterial pressure of the anesthetized rat. *Arch. Int. Physiol.- Biochem.* 90: 265, 182, 1982.
13. Shore, P. A.; Burkhalter, A.; Cohn, V. H. - A method for the fluorimetric assay of histamine in tissue. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127: 182, 1959.
14. Pereira, G. R. Influência de esteróides sexuais sobre o conteúdo histamínico no miocárdio de cães, Campinas, 1981. (Tese Universidade Estadual de Campinas).
15. Bickel, P. J.; - Doksum, K. A. - *Mathematical Statistics, Basic Ideas and Selected Topics.* San Francisco, Holden Day, 1977.
16. Mello, A. - Mecanismos de formação do edema pulmonar em ratos vagotomizados: papel do exercício. *Ciência e Cultura.* 17: 261, 1965.
17. Nathan, M. A.; Reis, D. J. - Fulminating arterial hypertension with pulmonary edema from release of adrenomodullary catecholamines after lesions of the anterior hypothalamus in the rat. *Circ. Res.* 37: 226, 1975.
18. Graham, P.; Kahlson, G.; Rosengren, E. - Histamine portion in physical exercise, anoxia and under the influence of adrenaline and related substances. *J. Physiol. Lond.* 172: 174, 1964.
19. Schayer, R. W. - Relationship on stress-induced histidine decarboxylase to circulatory homeostasis and shock. *Science.* 131: 225, 1959.