

AFERIÇÃO DA ATIVIDADE HISTAMINOGÊNICA DO BROMETO DE PANCURÔNIO NO HOMEM(*)

DR. JÚLIO COSTA
DR.^a OTÍLIA NETO

AP 2372

Foi determinada possível libertação de histamina pelo método fluorimétrico de Shore, Barkhalter e Cohn numa série de 6 doentes em que foi utilizado como relaxante muscular o "Pavulon", sendo negativos os resultados obtidos.

A primeira referência a uma libertação directa de histamina por uma droga possuindo grupos básicos na sua molécula deve-se a Alam e col em 1939 (1) que demonstraram que a curarina podia libertar quantidades consideráveis de histamina d músculo do cão, in vivo. Trabalhos seguintes de diferentes grupos de investigadores mostraram que um grande número de compostos básicos orgânicos podia libertar histamina de tecidos não sensibilizados. A lista destes libertadores de histamina vai crescendo progressivamente e dela fazem parte compostos possuindo actividade notável no organismo humano ou drogas dotadas de importância clínica como os agentes curarizantes, os alcalóides do ópio, a atropina etc.

No caso de sensibilidade do organismo à histamina a sua libertação pode provocar uma insuficiência circulatória aguda por depressão miocárdica, dilatação e aumento da permeabilidade capilares. Em regra a este quadro associa-se uma bronco-constricção e uma erupção cutânea dado que grande quantidade de histamina é fixada nos pulmões e na pele.

Sniper e col., em 1952, procuraram efectuar um estudo comparativo da libertação de histamina por diferentes tipos de curarizantes no homem (2) mas utilizando um método pouco rigoroso, que consistia na comparação entre as dimensões da pápula cutânea consecutiva à injeccção sub-cutânea do produto. Ora, o processo que nos permite avaliar a capacidade de libertação de histamina dum composto é em rigor o que nos demonstra o aumento de histamina no sangue circulante (3,4).

(*) Trabalho do Serviço de Anestesia do Hospital Escolar de S. João, Porto, Director — Dr. Ruella Torres e do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina do Porto — Director Prof. A. Garrett.

Dadas as conhecidas acções imputáveis à libertação de histamina pela d-tubocurarina, e em face do aparecimento do nôvo curarizante o brometo de pancuronium, que é apresentado como desprovido de acção histaminogêna entre os curarizantes.

Dificuldades na obtenção de amostras suficientes de brometo de pancuronium, forçaram-nos a conseguir para já apenas um número reduzido de determinações efectuadas com este produto no homem, e são esses resultados que vamos referir em nota prévia propondo-nos prosseguir o nosso trabalho futuramente.

DETERMINAÇÃO DA HISTAMINA

Dada a finalidade do nosso trabalho procuramos determinar os níveis sanguíneos da histamina circulante antes e depois da administração de brometo de pancuronium. Ora, dentre os vários métodos que existem para aquela determinação, o mais promissor é indubitavelmente o método fluorimétrico de Shore, Burkhalter e Cohn (1959), porque além de ser o mais sensível é também o mais específico. Estes factos tem levado ao abandono do método DNFB antes correntemente utilizado.

Método fluorimétrico: (Shone, Burkhalter and Cohn, 1959).

SOLUTOS E REAGENTES

- 1 — n - Butanol p. a.
- 2 — n - Heptano p. a.
- 3 — o - Phthalaldeydo (O.P.T.) 1% em metanol absoluto p. a.
(Esta solução é estável pelo menos duas semanas quando guardada em frasco escuro e sob refrigeração).
- 4 — Sal saturado de Na OH 0,1 N
(Cloreto de sódio sólido junta-se à Na OH 0,1 N até que o cloreto fique em excesso).
- 5 — HCL 3 N
- 6 — HCL 0,1 N

TECNICA

- 5 ml de sangue oxalatado são hemolizados pela adição de:
- 4,5 ml de água e 0,5 ml de ácido perclórico concentrado (10-12 N)
- O tubo é então agitado durante 10 minutos
- Deixa-se 10 minutos a repousar e é então centrifugado (total 7 ml ±)

- 4 ml de sobrenadante são transferidos para um tubo de 25 ml com rolha e contendo 0,5 ml de NAOH 5 N e 1,5 g de NaCl sólido e 10 mg de n-butanol.
- O tubo é agitado durante 5 minutos (para extrair a histamina para o butanol) e depois de centrifugado, a fase aquosa é removida por aspiração.
- A fase orgânica é então agitada cerca de 1 minuto com 5 ml de sal saturado de NAOH 0,1 N (esta lavagem remove alguns resíduos de histamina que possam estar presentes)
- O tubo é então centrifugado e 8 ml de butanol são transferidos para um tubo de vidro de 40 ml com rolha, contendo 3,5 ml de HCL 0,1 N e 15 ml de n-Hetpano.
- Depois de se agitar cerca de 1 minuto, o tubo é centrifugação e a histamina na fase aquosa é dosada fluorimetricamente.

As características de solubilidade da histamina são tais que a extracção inicial é cerca de 92% de histamina extraída para o butanol. Depois da lavagem inicial de butanol com sal saturado de NAOH 0,1 N, um total de cerca de 85% de histamina fica na fase do butanol.

Há também pequenos volumes que mudam nas várias fases devido à relativa solubilidade da água no butanol. Para corrigir estes factores são preparados standards constituídos por pequenas quantidades conhecidas de histamina a que se juntam o ácido perclórico 0,4 N, durante a técnica.

“Recoveries” de histamina ao tecido homogenizado andam à volta de 90 a 100%.

DOSEAMENTO FLUORIMÉTRICO DA HISTAMINA NO SANGUE

Depois da excreção da histamina do sangue esta é condensada com O.P.T. numa solução fortemente alcalina. O produto fluorescente resultante é bastante lábil — é estabilizado após acidificação.

- Para a estimação da histamina no extracto ácido 2 ml do extracto (contendo 0.005 a 0,5 mg de histamina/ml) é transferido para um tubo teste e junta-se 0,4 ml de Na OH 1 N seguido por 0,1 ml de O.P.T. (Brandle prefere fazer esta reacção em banho-maria a $25^{\circ} \pm 0,5$ c durante 4 minutos, porque esta condensação é bastante sensível à temperatura).
- Após 4 minutos junta-se 0,2 ml de HCL 3 N (ph-0,85). Após cada adição agita-se bem.

(Thompson usa só 0,1 ml de HCL 3 N para obter um pH 2,0, para aumentar a estabilidade e a intensidade da fluorescência.

— A solução é então transferida para uma cuvete e a fluorescência é lida a 450 mn resultante da activação a 360 mn no espectrofotofluorímetro.

(A fluorescência na solução acidificada é estável pelo menos durante meia-hora).

A intensidade da fluorescência é proporcional à concentração de histamina entre 0,005 a 0,5 mg/ml.

A pequena fluorescência do branco nos tecidos ou reagentes podem ser corrigidos pela omissão da condensação.

Isto é acompanhado pela adição de todos os reagentes para uma parte separada do extracto, mas invertendo a ordem da adição do O.P.T. e HCL 3 N (Deita-se primeiro 0,1 ml de HCL 3 N e depois 0,1 ml de O.P.T.).

TABELA I

DOENTE N.º	IDADE	SEXO	INTERVENÇÃO
1	33	F	LAPARATOMIA EXPL.*
2	16	F	APENDICECTOMIA
3	41	F	HERNIORRAFIA
4	20	F	APENDICECTOMIA
5	52	M	HERNIORRAFIA
6	23	F	HERNIORRAFIA

A solução resultante contém tecido e branco reagentes, mas não o fluoroforo resultante da condensação do O.P.T. e histamina, desde que a reacção não seja processada em meio ácido.

Seleccionamos seis doentes (Tabela I) anestesiados com técnica anestésica padronizada (Tabela II). Os resultados obtidos estão na Tabela III.

TABELA II

TÉCNICA ANESTÉSICA

- PREMEDICAÇÃO — PETIDINA + ESCOPOLAMINA
(I.M. no serviço 1 h antes intervenção)
- INDUÇÃO — PAVULON + PENTOTAL + O₂
(Entubação orotraqueal)
- MANUTENÇÃO — O₂ + N₂O + PETIDINA
(Ventilação controlada manual)
- RECÓBRO — ATROPINA + PROSTIGMINA

TABELA III

HISTAMINA

DOENTE

AMOSTRAS DE SANGUE

N.º	Antes Interv.	5 min. após	10 min. após	20 min.
1	31,3	29,4	29,4	27,4
2	31,0	32,0	23,7	22,3
3	35,1	36,3	35,7	36,3
4	21,4	24,5	26,8	29,1
5	29,3	16,5	16,5	15,6
6	27,6	19,9	16,8	17,6

Doses Expressas em mg/ml

CONCLUSÕES

Não houve libertação da histamina nos doentes estudados.

Parece-nos muito útil a continuação deste estudo, extensivo a outros relaxantes nomeadamente a d-tubocurarina. Parece-nos ainda muito importante dispormos de um método laboratorial seguro para a identificação de acções que poderão ser ou não devidas à libertação de histamina pelos relaxantes musculares.

SUMMARY

MEASUREMENT OF HISTAMINE LIBERATION IN PATIENTS
WHO RECEIVED PANCURONIUM BROMIDE

The levels of histamine in blood were investigated after butanol extraction and fluorescence determination (Method by Shore, Barkhalter & Cohn) in 6 patients who received Pancuronium bromide during anesthesia. No histamine could be detected in samples obtained before or after the injection of the relaxant.

REFERÊNCIAS

1. Alam M, Anrep G U, Barsoum G S, Talaat M & Weinger E — Liberation of histamine from the skeletal muscle by curare — *J Physiol*, 95:148, 1939.
2. Sniper W — The estimation and comparison of histamine release by muscle relaxants in man — *Brit J Anaesth* 24:232, 1952.
3. McIntire, F C — Determination of histamine by chemical means. *Handbook of Experimental Pharmacology* — Vol. XVIII — Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
4. Mongar J L and Whelan R F — Histamine release by adrenaline and D-Tubocurarine in the human subject — *J Physio* 120:146, 1953.