

# ULOGA ENDOKARDNOG ENDOTELA U EFEKTU HISTAMINA NA KONTRAKTILNOST SRCA U USLOVIMA BLOKADE HISTAMINSKIH H<sub>1</sub> I H<sub>2</sub> RECEPTORA

## AUTORI

Smiljić Sonja<sup>1</sup>, Parlić Dragica<sup>1</sup>, Milanović Zvezdan<sup>1</sup>, Nestorović Vojkan<sup>1</sup>, Pavlović Mirjana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut za fiziologiju, Medicinski fakultet Kosovska Mitrovica, Univerzitet u Prištini

<sup>2</sup> Institut za fiziologiju Rihard Burijana“ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

## SAŽETAK

Endokardni endotel (EE) predstavlja barijeru koja kontroliše prolaz makromolekula i fluida između krvi i susednog intersticijuma miokarda. Istovremeno je mesto sinteze brojnih endotelnih medijatora. Histamin kao medijator inflamacije povećava permeabilnost endotela ali ima i pozitivan inotropni i hronotropni uticaj na srce aktivacijom histaminskih H<sub>1</sub> i H<sub>2</sub> receptora. Cilj rada bio je da se utvrdi značaj uloge endokardnog endotela na efekat histamina na kontraktilnost srca u uslovima blokade histaminskih receptora. Ispitivanje je izvedeno na preparatima desne komore srca pacova soja Wistar albino (n=42 age 8 weeks, body mass 180-200 g) predstavljeno kroz dva eksperimentalna modela. Prvi eksperimentalni model predstavlja desnu komoru srca pacova sa intaktnim endokardnim endotelom a drugi sa uklonjenim endotelom hemijskim putem potapanjem komore u 1% rastvor Triton X-100. Histamin (1x10<sup>-4</sup> mol/l) povećava kontraktilnost desne komore srca sa očuvanim endokardnim endotelom i sa uklonjenim EE. Efekat histamina na kontraktilnost je značajno veći u odsustvu endokardnog endotela (p<0.05) Antagonist H<sub>1</sub> receptora pirlamin (1x10<sup>-6</sup> mol/l) značajno inhibira pozitivan inotropni efekat histamina na srce kod obe grupe, sa i bez EE. Modulorna uloga endokardnog endotela na efekat histamina nakon blokade receptora pirlaminom nije značajna. Antagonist H<sub>2</sub> receptora, cimetidin (1x10<sup>-4</sup> mol/l), blokira pozitivan inotropni efekat histamina na srce nezavisno od očuvanosti endokardnog endotela. Naši rezultati ukazuju na nesumnjivu važnost modulatorne uloge endokardnog endotela na efekat histamina na kontraktilnost srca.

**ključne reči:** endokardni endotel, histamin, pirlamin, cimetidin

## UVOD

Endokardni endotel (EE) je regionalno specifično višefunkcionalno tkivo. Ima strateški važan položaj i predstavlja barijeru koja kontroliše prolaz makromolekula i fluida između cirkulišuće krvi sa jedne strane i kardiomiocita sa druge [1,2]. Istovremeno, sincicijalni karakter endokardnog endotela je važan ključ u održavanju globalne jonske homeostaze u intersticijumu miokarda, mreži završnih Purkinjeovih vlakana i subendokardnom nervnom plexusu [3].

Endotelne ćelije sintetišu i oslobađaju autokrine i parakrine medijatore koji utiču na metabolizam, kontraktilnost i ritmičnost kardiomiocita. Mnoge od ovih supstanci utiču na efekat ostalih endotelnih medijatora na istu ciljnu ćeliju, a efekti mogu biti međusobno aditivni, sinergetski ili inhibitorni. Kontraktilnost srca zavisna je od očuvanosti EE i endotelnih medijatora azot oksida (NO), endotelina (ET), prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) i angiotenzina II (ANG II) [4]. Potencijalno je učešće drugih endotelnih medijatora, kao što su fibroblastični faktor rasta (bFGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), neuregulin, angiopoetin, kinini, reaktivne vrste kiseonika i adenil purini [5]. Iako su modulatorni efekti

endokardnog endotela na kardiomiocite evidentni, regulatorni uticaj endokardno endotelnih ćelija na srčani intersticijum i ćelijske komponente intersticijuma nisu sa sigurnošću potvrđeni [6].

Histamin je biogeni amin sa mnogobrojnim ulogama u organizmu. Iako prvi put opisan pre više od jednog veka (1907) značaj histamina u fiziološkim procesima i danas je nedovoljno objašnjen. Histamin deluje parakrino, kao lokalni hormon i ne koristi se klinički u terapiji bilo koje bolesti. Međutim, antagonisti histamina, lekovi koji blokiraju histaminske receptore su značajani i korisni lekovi [7,8]. Histamin ostvaruje efekte preko histaminskih receptora koji se nalaze na površini ćelijske membrane ili su locirani u ćeliji. Intenzivna istraživanja su omogućila otkriće više potentnih antihistaminika i identifikaciju četiri tipa histaminskih receptora, H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub> i H<sub>4</sub> [9].

Efekti histamina na srce, pozitivno inotropno i hronotropno, pokazuju izvesna odstupanja kod različitih bioloških vrsta. Imunohistohehemijske studije novijeg datuma su ukazale na različitu zastupljenost i distribuciju histaminskih H<sub>1</sub> i H<sub>2</sub> receptora kod pojedinih vrsta sisara i različitih delova srca. U srcu pacova H<sub>2</sub> receptori su manje zastupljeni od H<sub>1</sub>. Distribucija H<sub>1</sub> receptora je podjednaka u pretkomoroma i komorama dok H<sub>2</sub> recep-

## KORESPONDENT

SONJA SMILJIĆ

Medicinski fakultet Priština,  
Univerzitet u Prištini

✉ sonja.smiljic@med.pr.ac.rs

tora ima više u komorama. U srcu pacova histamin uzrokuje pozitivan inotropni efekat ako je primenjen u visokim koncentracijama [10].

Identifikacija subtipova histaminskih receptora u ljudskom srcu i endotelnim ćelijama obezbeđuje bolje razumevanje uloge histamina u patofiziologiji kardiovaskularnog sistema i doprinosi novom pristupu histaminom izazvanoj srčanoj disfunkciji. Tako, histamin indukuje hiperplaziju intime i promoviše formiranje aterosklerotskih lezija [11], povećava ekspresiju i aktivaciju tkivnog faktora koji je ključni inicijator koagulacije krvi [12] i povećava vaskularnu permeabilnost za LDL [13]. Antagonisti  $H_1$  receptora mogu da imaju kardiotoksični efekat i da inhibiraju repolarizaciju  $K^+$  kanala (posebno  $I_{Kr}$ ) što dovodi do prolongiranja akcionog potencijala [14]. Bolje razumevanje mehanizama delovanja  $H_1$  antihistaminika dovelo bi do prevencije njihovog aritmogenog efekta i kardijalne toksičnosti povezane sa  $H_1$  antihistaminicima koja može biti i uzrok smrti [14,15].

Blokatori  $H_2$  receptori imaju kardioprotektivni efekat u insuficijentnom srcu i efekat je poput blokade  $\beta$  receptora. Histamin u kardiomiocitima povećava nivo cAMP aktivacijom  $H_2$  receptora [16]. Famotidin poboljšava simptome insuficijencije srca i umanjuje remodelovanje srca koje se dešava kao posledica srčane insuficijencije. Primena blokatora  $H_2$  receptora može biti korisna u terapiji srčane insuficijencije [17,18]. Zbog brojnih efekata histamina i mnogostruke primene antihistaminika mi zapravo govorimo o histaminskom sistemu čija uloga u fiziološkim i patološkim procesima nije potpuno jasna i preostaje da se razjasni u budućnosti.

## CILJ RADA

Cilj rada bio je da se utvrdi modulatorna uloga endokardnog endotela na inotropni efekat histamina na srce sa intaktnim i uklonjenim endokardnim endotelom u uslovima blokade histaminskih  $H_1$  i  $H_2$  receptora.

## MATERIJAL I METODE

Životinje su bile tretirane u skladu sa principima Internacionalnog vodiča za etičnost pri radu sa eksperimentalnim životinjama (International Ethical Guidelines for Biomedical Research. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS), 1984).

### EKSPERIMENTALNI PREPARATI

Efekat ispitivanih supstanci bio je studiran na izolovanim preparatima desne komore srca pacova, soja Wistar albino. U eksperimentu su korišćeni odrasli pacovi, oba pola, telesne mase  $200g \pm 10g$ . Eksperimentalne životinje su žrtvovane udarcem u potiljak, otvaran je grudni koš, srce vađeno iz grudnog koša i potapano u petrijevu šolju u kojoj se nalazio Tyrod-ov rastvor sledećeg sastava (vrednosti su date u mmol/l): NaCl 136.9, KCl 2.69,  $CaCl_2$  1.8,  $MgCl_2$  1.05,  $NaHCO_3$  11.9,  $NaH_2PO_4$  0.42 i glukoza 5.55. Rastvor je ekvilibrisan sa 95%  $O_2$  i 5%  $CO_2$ , a pH je održavan između 7.38-7.42. Pažljivo je odvajana desna komora od ostalih delova srca. Nakon preparovanja, izolovana desna komora je fiksirana u čizmastu elektrodu od pleksiglasa koja je postavljena u vodeno kupatilo za izolovane organe zapremine 25 ml, takođe

napunjeno Tyrod-ovim rastvorom kontrolisane temperature od  $37^\circ 0.5^\circ C$ . Izolovana komora u vodenom kupatilu je stimulirana putem para platinastih elektroda. Kontrakcije su izazivane pravouglim strujnim impulsima frekvence 1 Hz, intenziteta dva puta većim od pragovnog i trajanja od 5 ms, a prenošene putem izometrijskog transdjusera (osetljivost 0.05 g/cm) na mikrodinamometar (7050, Ugo Basile).

### EKSPERIMENTALNI PROTOKOL

U prvom delu eksperimentalnog protokola pratili smo uticaj histamina na kontraktilnost desne komore srca sa intaktnim i uklonjenim endokardnim endotelom. EE smo uklanjali hemijskim putem po metodi koju su opisali Brutsaert i saradnici [19,20]. Odvija se potapanjem desne komore srca pacova u 1% rastvor Triton X-100 tokom 1 s, nakon čega se komora obilno ispira. Histamin ( $10^{-4}$  mol/l) je bio rastvaran u 1ml fiziološkog rastvora i dodavan u vodeno kupatilo ( $n=14$ ). Predhodno smo testirali uticaj histamina povećavajući njegovu koncentraciju ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M) da bi smo ga u eksperimentalnom protokolu primenili u maksimalnoj efektivnoj dozi.

U drugom delu eksperimentalnog protokola analizirali smo uticaj histamina na kontraktilnost desne komore sa i bez EE u uslovima blokade histaminskih  $H_1$  i  $H_2$  receptora. Kao selektivni antagonist  $H_1$  receptora koristili smo pirlamin u maksimalnoj efektivnoj efektivnoj dozi od  $10^{-6}$  mol/l ( $n=14$ ). Blokadu  $H_2$  receptora i inotropni efekat histamina u uslovima blokade  $H_2$  receptora ispitivali smo nakon primene maksimalne efektivne doze cimetidina ( $10^{-4}$  mol/l;  $n=14$ ).

Kod svih eksperimentalnih grupa kontrakcije desne komore srca pacova izazivane strujnim impulsima pratili smo 30 minuta tokom stabilizacionog perioda. Nakon toga smo dodavali antagoniste histamina i pratili kontrakcije 30 minuta. Vrednosti amplitude kontrakcija posle dodavanja histamina pratili smo 60 minuta.

U eksperimentima su aplicirane aktivne supstance proizvođača "Sigma Chemical", St. Louis, USA.

### ANALIZA PODATAKA

Primarno dobijeni podaci analizirani su grafičkim metodama, deskriptivnim statističkim metodama (aritmetička sredina, standardna devijacija) i metodama za testiranje hipoteza. Vrednosti aritmetičkih sredina i standardnih devijacija amplituda kontrakcija za sve ispitivane grupe predstavljene su grafički u vidu vremenskog linijskog dijagrama. Razlike između izmerenih vrednosti amplitude u datom vremenu merenja i amplitude na inicijalnom merenju analizirane su Studentovim t-testom za zavisne uzorke. Razlike između ispitivanih grupa, kao i procentualne promene podataka, bile su analizirane Studentovim t-testom za nezavisne uzorke. Testiranje statističkih hipoteza obavljeno je na nivou značajnosti od 0.05.

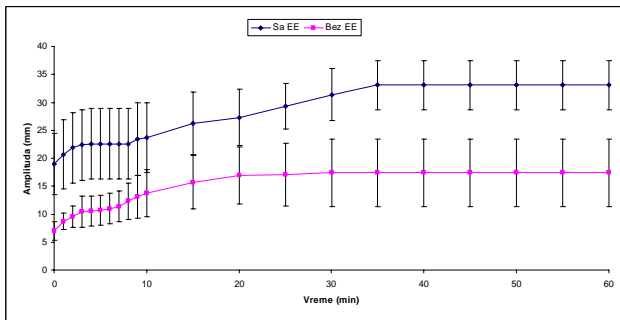
## REZULTATI

Prikaz rezultata obuhvata promenu vrednosti amplitude kontrakcija desne komore srca pacova u prisustvu ispitivane aktivne supstance. Dobijene vrednosti amplitude kontrakcija za 6 ispitivanih grupa prikazane su linijskim dijagramom putem srednje vrednosti standardna devijacija.

## GRUPE SA APLIKOVANIM HISTAMINOM

Histamin (histamine) apliciran u koncentraciji  $1 \times 10^{-4}$  mol/l u grupi sa očuvanim endokardnim endotelom izaziva pozitivan inotropni efekat. Vrednosti amplitude su značajno veće na svim merenjima u odnosu na inicijalno merenje. Maksimalni inotropni efekat histamin ostvaruje u 35. minutu i ta vrednost se održava do kraja posmatranog perioda ( $p < 0.05$ ) (Graf 1).

Grafikon 1. Amplitude kontrakcija desne komore srca pacova sa intaktnim i uklonjenim endokardnim endotelom nakon aplikacije histamina  $1 \times 10^{-4}$  mol/l



Kontraktibilnost desnog ventrikula bez endokardnog endotela značajno je veća nakon dodavanja histamina. Maksimalna kontraktibilnost se postiže u 30. minutu i vrednost je za 161% uvećana od vrednosti na kraju stabilizacionog perioda. Povećanje vrednosti amplitude kontrakcija održava se do 60. minuta (Graf 1).

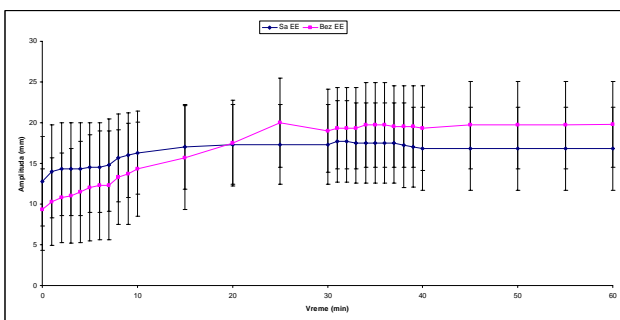
Analizom dobijenih vrednosti amplitude kontrakcija desne komore srca nakon aplikacije histamina, utvrdili smo da je inotropni efekat histamina značajno veći na srcu sa uklonjenim endokardnim endotelom i da postoji značajnost razlike između testiranih modela na svim merenjima ( $p < 0.05$ ).

## GRUPE SA APLIKOVANIM PIRILAMINOM I HISTAMINOM

Histamin apliciran nakon premedikacije kardijalnog tkiva pirilaminom, blokatorom histaminskih  $H_1$  receptora, ne ostvaruje pozitivan inotropni efekat. Pirilamin u grupi sa očuvanim endokardnim endotelom blokira inotropni efekat histamina ( $p > 0.05$ ) (Graf 2).

U odsustvu endokardnog endotela pirilamin delimično blokira inotropni efekat histamina, odnosno dolazi do blagog povećanja kontraktibilnosti za 6%, što je značajno samo u 3, 4, 5. i 30. minutu (Graf 2).

Grafikon 2. Amplitude kontrakcija desne komore srca pacova sa intaktnim i uklonjenim EE nakon aplikacije pirilamina  $1 \times 10^{-6}$  mol/l i histamina  $1 \times 10^{-4}$  mol/l



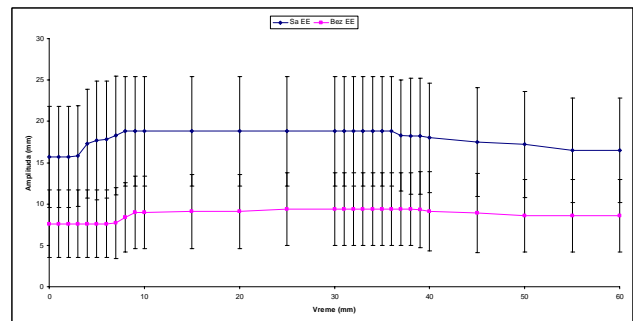
Ne postoji značajna razlika između grupa na svim merenjima u odgovoru srca na histamin apliciran nakon pirilamina ( $p > 0.05$ ).

Procentualne promene između grupa se značajno razlikuju između 15. i 30. minuta ( $p < 0.05$ ). Odgovor kardiomiocita na histamin nakon blokade receptora pirilaminom je značajno različit u tom periodu, zavisno od prisustva endokardnog endotela.

## GRUPE SA APLIKOVANIM CIMETIDINOM I HISTAMINOM

Aplikacija cimetidina, blokatora histaminskih  $H_2$  receptora, onemogućava inotropni efekat histamina na desnu komoru srca pacova sa intaktnim endotelom (Graf 3). Pad amplitude kontrakcija nakon aplikacije histamina je značajan od 10. do 30. minuta.

Grafikon 3. Amplitude kontrakcija desne komore srca pacova sa EE nakon aplikacije cimetidina  $1 \times 10^{-4}$  mol/l i histamina  $1 \times 10^{-4}$  mol/l



Kod komore sa odstranjenim endokardnim endotelom primena cimetidina trideset minuta pre histamina kompletno blokira inotropni efekat histamina (Graf 3). Pad amplitude ostvaren je u periodu od 15. do 30. minuta eksperimentalnog posmatranja.

Analiza vrednosti amplitude kontrakcija između grupa, izraženo kroz promenu apsolutnih vrednosti, ukazuje na značajnu razliku ( $p < 0.05$ ). Analiza vrednosti amplitude kontrakcija između grupa, predstavljeno kroz procentualne promene, ukazuje da značajne razlike ne postoje. Primena histamina nakon cimetidina u grupi sa EE izaziva pad kontraktibilnosti za 13% a u grupi bez EE za 11%. Podaci nas upućuju na mogućnost da se pri aplikaciji cimetidina i histamina miokard sa EE i miokard bez EE slično ponaša ( $p > 0.05$ ).

## DISKUSIJA

Endokardni endotel, prirodna biološka barijera između cirkulišuće krvi u komorama i ćelija srca, stvara složen i fino uspostavljen balans interakcija između ovih celina. Kavitarne površine srca je u potpunosti uokvirena endokardnim endotelom, koji se prepoznaje kao list endotelnih ćelija sa centralnim, nuklearnim ispupčenjem i opsežnim interćelijskim spojevima. Obilje gap junction spojeva u endokardnom endotelu (nisu tako izraženi u drugim endotelnim strukturama), omogućava rapidno intercelularno elektrohemijsko širenje signala endokardom nakon aktivacije jedne endokardne ćelije [21]. Takođe, endokardni endotel doprinosi kardijalnoj homeostazi putem sinteze, aktivacije i oslobađanja medijatora, snažnih vazoaktivnih supstanci i drugih bioaktivnih molekula.

Modulatorna uloga endokardnog endotela na kontraktilnost srca izuzetno je značajna. Snaga srčane kontrakcije direktno je zavisna od prisustva endokardnog endotela [4]. Uticaj pojedinih transmitera ili lekova na srčanu kontraktilnost uslovljen je stanjem očuvanosti endokardnog endotela i zavisi od toga da li je EE očuvan, delimično oštećen ili kompletno uklonjen [22,23]. Endokardni endotel ostvaruje svoju ulogu putem sinteze i oslobađanja autokrinih i/ili parakrinih medijatora, senzornom sposobnošću da detektuje promene u krvnoj plazmi i osobinom krvno-srčane barijere koja je odgovorna za kontrolu transendotelnog transporta molekula i jona između krvi i kardijalnog intersticijuma [24,25].

Direktnim delovanjem na srce, histamin povećava kontraktilnost i frekvencu srčanog rada. Efekat histamina zavisi od gustine i distribucije histaminskih receptora u srcu. Histaminski receptori su različito distribuirani ne samo u srcu kod pojedinih sisara već i različitih regiona srca. Kod zamorca, zečeva, i u ljudskom srcu ekspresija H<sub>1</sub> i H<sub>2</sub> jasno determinišu odgovor na histamine [26,27]. Brojni H<sub>1</sub> receptori u humanim pretkomorima i komorama miokarda podloga su za evidentan aritmogeni efekat histamina u različitim patološkim stanjima i doprinose histaminom indukovanoj srčanoj disfunkciji [28].

Efekti histamina zavise od koncentracije histamina i produkata njegove razgradnje, od distribucije histaminskih receptora, njihovog afiniteta prema histaminu i njegovim metabolitima, interakcija na nivou sekundarnih glasnika, kao i interakcije sa drugim medijatorima (prostaglandini, leukotrieni, slobodni radikali i dr) [7,8]. Histamin je dobro poznat medijator vaskularne inflamacije i putem aktivacije H<sub>1</sub> receptora ima sinergistički efekat sa lipopolisaharidima u produkciji prostaglandina PGI<sub>2</sub> i PGE<sub>2</sub> i interleukina IL6 u endotelnim ćelijama koronarnih arterija. Histaminom indukovano povećanje sinteze PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> i IL6 od strane lipopolisharida u endotelnim ćelijama potpuno je blokirano antagonistima H<sub>1</sub>. Lipopolisaharidi kroz aktivaciju TLR4 receptora utiču na ekspresiju H<sub>1</sub> receptora i pojačavaju histaminom indukovani inflamatorni odgovor u endotelnim ćelijama koronarnih arterija [29].

Histamin ( $1 \times 10^{-4}$  mol/l) izaziva pozitivan inotropni efekat u obe ispitivane grupe, ali povećanje kontraktilnosti izazvano histaminom je veće kod desne komore sa uklonjenim endokardnim endotelom. Vrednosti amplitude kontrakcija desne komore sa uklonjenim EE su za 80% veće nego kod desne komore sa intaktnim endotelom. Značajnost razlike između grupa postoji na svakom pojedinačnom merenju, značajnost sveukupne razlike kao i promene amplitude u vremenu ( $p < 0.05$ ). Razlika u inotropnom odgovoru kardiomiocita na histamin u zavisnosti od toga da li je endotel intaktan ili je kompletno uklonjen, koju smo dokumentovali našim rezultatima, ukazala je na barijerno svojstvo endokardnog endotela. U slučaju intaktnog endokarda, histamin kasnije ispoljava maksimalan inotropni efekat jer mu prisustvo endotela otežava vezivanje za receptore i aktivaciju intracelularnih mehanizama za kardiomiocitima. Za kontraktilni odgovor desne komore odgovoran je i endotelni relaksantni faktor, azot oksid, čija je produkcija manja nakon uklanjanja EE. Kako histamin povećava nivo azot oksida u srcu, snažniji inotropni efekat histamina na srce u odsustvu endotela moguće je objasniti umanjenom sintezom i oslobađanjem NO nakon uklanjanja endotelne ćelije [30,31].

Histamin apliciran nakon premedikacije kardijalnog tkiva pirilaminom, blokatorom histaminskih H<sub>1</sub> receptora,

ne ostvaruje pozitivan inotropni efekat. Pirilamin u grupi sa očuvanim endokardnim endotelom blokira inotropni efekat histamina ( $p > 0.05$ ). U odsustvu endokardnog endotela pirilamin delimično blokira inotropni efekat histamina, odnosno dolazi do blagog povećanja kontraktilnosti za 6%, što je značajno samo u 3, 4, 5. i 30. minutu. Ne postoji značajna razlika između grupa na svim merenjima u odgovoru srca na histamin apliciran nakon pirilamina ( $p > 0.05$ ). Pozitivan inotropni efekat histamina u odsustvu endotela je nešto veći i pored blokade H<sub>1</sub> receptora pirilaminom [32]. To ukazuje na činjenicu da je uklanjanjem endotelne barijere veća mogućnost aktivacije H<sub>2</sub> receptora na kardiomiocitima, i histamin intenzivnije ispoljava svoj efekat.

Tretman kardijalnog tkiva cimetidinom, antagonistom H<sub>2</sub> receptora, potpuno blokira inotropni efekat histamina. Inače, cimetidin u koncentracijama većim od  $1 \times 10^{-4}$  mol/l može pored blokade H<sub>2</sub> receptora da se veže i za H<sub>1</sub> receptore [8]. U obe ispitivane grupe inkubacija desne komore u vodenom kupatilu u prisustvu cimetidina, onemogućava efekat histamina. Čak šta više, do kraja eksperimentalnog postupka dolazi do diskretnog pada kontraktilnosti za 16% u grupi s EE i za 11% u grupi bez EE. Analiza vrednosti amplitude kontrakcija između grupa, izražena kroz procentualne promene, ukazuje da značajne razlike ne postoje. Podaci upućuju na činjenicu da se u prisustvu cimetidina i histamina miokard sa endotelom i bez njega slično ponaša [33]. Histaminski H<sub>2</sub> receptori su povezani sa Gs proteinima i facilitiraju produkciju cAMP poput stimulacije beta receptora. Zato što su histaminski H<sub>2</sub> receptori i histamin prisutni u insuficijentnom srcu, blokada H<sub>2</sub> receptora može imati kardioprotektivni efekat. Primena blokatora H<sub>2</sub> receptora može biti korisna u terapiji srčane insuficijencije i u sprečavanju remodelovanja srca [18,34]. Blokatori histaminskih H<sub>2</sub> receptora unapređuju anaerobni miokardni metabolizam i tako imaju zaštitnu ulogu u ishemijskom i reperfuzionom oštećenju miokarda [35,36].

Noviji pogled na različitu distribuciju subtipova histaminskih receptora u ljudskom srcu temelj je boljeg razumevanja uloge histamina u kardiovaskularnoj patofiziologiji i može doprineti novom terapijskom pristupu histaminom indukovane srčane disfunkcije [37,38]. Prednost velikih istraživačkih laboratorija je mogućnost da primenom najsavremenijih procedura otkriju neočekivane efekte supstanci na tkiva, poput kardioprotektivnog efekta blokatora H<sub>2</sub> receptora na srce, i omoguće njihovu terapijsku primenu u budućnosti. Koncept "receptora" za hemijske medijatore uveo je Langley, pre više od jednog veka, (1905). Mora se imati u vidu da postoje medijatori čije mesto delovanja nije poznato. Naši rezultati nisu konačni ni savršeni, ali mogu biti od suštinske važnosti u diferencijaciji modulatorne uloge endokardnog endotela u inotropnim efektima ispitivanih supstanci.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata električno stimulisane i hemijski tretirane desne komore srca pacova doneseni su sledeći zaključci:

1. Inotropni efekat histamina je značajno veći u odsustvu endokardnog endotela. Razlika u inotropnom odgovoru komora na histamin ukazuje na barijerno svojstvo endokardnog endotela ( $p < 0.05$ ).

2. Pirilamin, antagonist  $H_1$  receptora, blokira efekat histamina na kontraktilnost srca s EE. U odsustvu EE pirilamin delimično blokira efekat histamina na kontraktilnost. Procentualne promene između grupa se značajno razlikuju između 15. i 30. minuta ( $p < 0.05$ ). Efekat histamin nakon blokade receptora pirilaminom je značajno različit u tom periodu, zavisno od prisustva endokardnog endotela.

3. Antagonist  $H_2$  receptora, cimetidin, blokira pozitivan inotropni efekat histamina na srce nezavisno od prisustva endokardnog endotela. Analiza procentualnih promena vrednosti amplitude kontrakcija ukazuje da se oba testirana modela u prisustvu blokatora  $H_2$  receptora i histamina slično ponašaju ( $p > 0.05$ ).

Rezultati ukazuju na nesumnjivu važnost modulatorne uloge endokardnog endotela u ostvarivanju efekata ispitivanih supstanci. Takođe, uticaj endokardnog endotela od izuzetnog je značaja u održavanju kardijalnih performansi. Sve ćelije endokardnog endotela ponašaju se jedinstveno kao funkcionalni sincicijum i ostvaruju složeno usaglašenu fiziko-hemijsku barijeru.

## LITERATURA

1. Beny JL. Information networks in the arterial wall. *NIPS* 1999; 14: 68-73. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11390823>
2. Andries LJ, Brutsaert DL. Endocardial endothelium in the rat; junctional organization and permeability. *Cell Tissue Res* 1994; 277 (3): 391-400. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7525066>
3. Franssen P, Hendrix J, Brutsaert DL, Sys SU. Distribution and role of  $Na^+/K^+$  ATPase in endocardial endothelium. *Cardiovasc Res* 2001; 52 (3): 487-499. <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/52/3/487.long>
4. Brutsaert DL. Cardiac Endothelial-Myocardial Signaling: Role in Cardiac Growth, Contractile Performance, and Rhythmicity. *Physiological Reviews* 2003; 83 (1): 59-115. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12506127>
5. Abdel-Samad D, Jacques D, Perreault C, Provost Ch. NPY regulates human endocardial endothelial cell function. *Peptides* 2007; 28 : 281-287. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17222945>
6. Nickel T, Deuschamann, Hanssen H, Summo C, Wilbert-Lampen U. Modification of endothelial biology by acute and chronic stress hormones. *Microvascular Research* 2009; 78 : 364-369. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19664643>
7. Varagić V, Milošević M. Farmakologija. Elit-Medica, 2004.
8. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Farmakologija. Data status, 2005.
9. Repka Ramirez MS. New concepts of histamine receptors and actions. *Current allergy and asthma reports* 2003 ; 3 (3): 227-231. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12662472>
10. Matsuda N, Jesmin S, Takahashi Y, Hatta E, Kobayashi M, Matsuyama K. Histamine  $H_1$  and  $H_2$  Receptor Gene and Protein Levels Are Differentially Expressed in the Hearts of Rodents and Humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2004; 309 (2) : 786-795. <http://jpet.aspetjournals.org/content/309/2/786.long>
11. Miyazawa N et al. Role of histamine  $H_1$  and  $H_2$  receptor antagonists in the prevention of intimal thickening. *Eur J Pharmacol* 1998; 362: 53-59. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9865530>
12. Hao F. Et al. Histamine induces activation of protein kinase D that mediates tissue factor expression and activity in human aortic smooth muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303: H1344-H1352, 2012. <http://ajpheart.physiology.org/content/303/11/H1344.long>
13. Rozenberg I et al. Histamine  $H_1$  receptor promotes atherosclerotic lesion formation by increasing vascular permeability for low-density lipoproteins. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 30:923-930, 2010. <http://atvb.ahajournals.org/content/30/5/923.long>
14. Yap YG, Camm AJ. Potential cardiac toxicity of  $H_1$ -antihistamines. *Clinical allergy and immunology*. 2002; 17: 389-419. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12113224>
15. Fu LV, Schunack W, Longhurst JC. Histamine contributes to ischemia-related activation of cardiac spinal afferents: Role of  $H_1$  receptors and PKC. *Journal of Neurophysiology* 2005; 93 (2): 713-722. <http://jn.physiology.org/content/93/2/713.long>
16. Li D, Wen JF, Jin JY, Jin N, Ann HS, Kim SH, Lee HS, Cho KW. Histamine inhibits atrial myocytic ANP release via  $H_2$  receptor-cAMP-protein kinase signaling. *Am J Physiol Regul Comp Physiol* 2003; 285 (2): R380-93. <http://ajpregu.physiology.org/content/285/2/R380>

17. Kwan HY, Wong ChO , Chen ZY, Chan TVD, Huang Y, Yao X. Stimulation of histamine H2 receptors activates TRPC3 channels through both phospholipase C and phospholipase D. *European J of Pharmacology* 2009 ; 602 (2-3):181-187. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19032951>
18. Jiyoung Kim et al. Impact of blockade of histamine H2 receptors on chronic heart failure revealed by retrospective and prospective randomized studies. *Journal Am Coll Cardiology* 2006; 48 (7) : 1378-84. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073510970601833X>
19. Brutsaert DL, Meulemans AL, Spido KR. Effects of damaging endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle. *Circ Res* 1988; 62: 358-366. <http://circres.ahajournals.org/content/62/2/358.full.pdf>
20. Castro-Chaves P, Soares S, Fontes-Carvalho R, Leite-Moreira AF. Negative inotropic effect of selective AT2 receptor stimulation and its modulation by the endocardial endothelium. *European Journal of Pharmacology* 2008; 578: 261-269. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17961546>
21. Marietta R. Eliseyeva. Endothelium: A long road from mystery to discovery. *International Journal of Biomedicine*. 3 (1) : 9-11; 2013. [http://www.ijbm.org/articles/3\\_1\\_Edit.pdf](http://www.ijbm.org/articles/3_1_Edit.pdf)
22. Smiljic S, Nestorovic V, Savic S. Modulatorena uloga azot oksida na srčane performance *Medicinski pregljed* 2014 ; 67 (9-10) : 345-352.
23. Smiljic Sonja, Radović Dragica, Miletić Milanka, Nestorović Vojkan, Trjaković Goran, Savić Slađana. Uticaj modifikatora metabolizma cikličnih nukleotida na kontraktilnost desne komore srca pacova s očuvanim i uklonjenim endokardnim endotelom. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*. 2010 : 138 (9-10); 584-589. <http://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/0370-8179/2010/0370-81791010577S.pdf>
24. Dima AS, Perrault S, Provost C. NPY regulates human endocardial endothelial cell function. *Peptides* 2007; 28: 281-287. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17222945>
25. Kurvill L, Kurtha CC. Molecular mechanisms in endothelial regulation cardiac function. *Mol Cell Biochem* 2003; 253 (1-2) 113-23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14619961>
26. Chu GX, Zhang Y, Guo ZG. Endocardial endothelium modulates cardiac responses to histamine and impromidine in isolated working right ventricle of guinea pigs. *Cardiovascular Research* 1993; 4 (3): 225-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8237397>
27. Hattori Y, Gando S, Nagashimu M, Kanno M. Histamine receptors mediating a positive inotropic effects in guinea pig and rabbit ventricular myocardium: distribution of the receptors and their possible intracellular coupling processes. *Jpn J Pharmacol*. 65 (4): 327-36, 1994. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7990270>
28. Matsuda N, Hattori Y, Sakuraya F, Kobayashi M, Zhang X-H, Kemmotsu O, and Gando S. Hemodynamic significance of histamine synthesis and histamine H1- and H2-receptor gene expression during endotoxemia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 366:513-521, 2002. <http://link.springer.com/article/10.1007%2F00210-002-0651-x>
29. Raveendran, V.V. Lipopolysaccharide induces H1 receptor expression and enhances histamine responsiveness in human coronary artery endothelial cells. *Immunology* 2011; 132 (4) 578-588. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075511/>
30. Sanders L, Lynham JA, Kauman AJ. Chronic beta 1-adrenoceptor blockade sensitizes the H1 and H2 receptor systems in human atrium: role of cyclic nucleotides. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996: 353 (6): 661-70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8738299>
31. Lemmens K, Franssen P, Sys SU, Brutsaert DL, De Keulenaer GW. Neuregulin-1 induces a negative inotropic effects in cardiac muscle. Role of nitric oxide synthase. *Circulation* 2004; 109 (3): 324 -326. <http://circ.ahajournals.org/content/109/3/324.long>
32. Chan, C.K. et al. Protective effects of histamine on Gq-mediated relaxation in regenerated endothelium. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 2014; 306 (2) H286-H290. <http://ajpheart.physiology.org/content/306/2/H286.long>
33. Wellner-Keinitz MC, Bender K, Meyer T, Pott L. Coupling to Gs and G(q/11) of histamine H2 receptors heterologously expressed in adult rat atrial myocytes. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1642 (1-2): 67-77. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488903001010>
34. Uzun M, Dizer U, Yogusoglu M, Basel MC. A case of ranitidine - induced bradycardia. *Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi* 2007; 35 (4); 242-245. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8783681>
35. Asanuma H, Minamino N, Ogai A, Kim J, et al. Blockade of histamine H2 receptors protects the heart against ischemia and reperfusion injury in dogs. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2006; 40 (5): 666-674. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022282806000496>
36. Yasuhiro I, Masaya S, Mikio N, Norio Sh. Suppression of myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibitors of cytochrome P450 in rats. *Cardiovascular Pharmacology* 2009; 611 (1-3): 64-71. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299909003173>
37. Mais Abasi, Jason I. Bruce, Donald T. Ward. The inhibitory effects of simvastatin and aspirin on histamine responsiveness in human vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology - Cell Physiology* Published 2014; 306 : C679-C686 DOI: 10.1152/ajpcell.0034.2013 <http://ajpcell.physiology.org/content/306/7/C679.long>
38. Dhande PP, Karandikar YR. Endothelin system: area of research and therapeutics. *Asian J Pharm Biol Res* 2012; 2 (3). <http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=24347>

## ENGLISH

THE ROLE OF ENDOCARDIAL ENDOTHELIUM IN THE EFFECT OF HISTAMINE ON MYOCARDIAL CONTRACTIONS OF HISTAMINE H<sub>1</sub> AND H<sub>2</sub> RECEPTOR BLOCKADESmiljić Sonja<sup>1</sup>, Radović Dragica<sup>1</sup>, Milanović Zvezdan<sup>1</sup>, Nestorović Vojkan<sup>1</sup>, Pavlović Mirjana<sup>2</sup><sup>1</sup> Department of Physiology, Medical faculty University of Pristina<sup>2</sup> Department of Physiology, Medical faculty, University of Belgrade

## SUMMARY

Endocardial endothelium (EE) is a barrier which controls the passage of macromolecules and fluids between the blood and the adjacent myocardial interstitium. At the same time it is the place of synthesis of numerous endothelial mediators. Histamine as an inflammation mediator increases the permeability of the endothelium, but also has a positive inotropic and chronotropic effects on the heart through the activation of histamine H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> receptors. The aim of this study was to determine the importance of the role of endocardial endothelium in the effect of histamine on myocardial contraction in the conditions of histamine receptors blockade. The study was carried out on the samples of the right ventricle of the albino Wistar rats (n = 42, age 8 weeks, body mass 180-200g) presented in two experimental models. The first experimental model presented the right ventricle of the rat heart with an intact endocardial endothelium and the second with the endothelium chemically removed by immersion of the chamber in a 1% solution of Triton X-100. Histamine (1x10<sup>-4</sup> mol/l) increases the contraction of the right ventricle of the heart with intact endocardial endothelium but also with the removed endocardial endothelium. The effect of the histamine on the contraction was significantly increased in the absence of endocardial endothelium (p<0.05). H<sub>1</sub> receptor antagonist, pyrilamine (1x10<sup>-6</sup> mol/l) significantly inhibites the positive inotropic effect of histamine on the heart in both groups, with or without endocardial endothelium. Modulatory role of endocardial endothelium in the effect of histamine after the receptors blockade by pyrilamine is not significant. H<sub>2</sub> receptor antagonist, cimetidine (1x10<sup>-4</sup> mol/l), blocks the positive inotropic effect of histamine on the heart regardless of the preservation of the endocardial endothelium. Our results indicate the undoubted importance of the modulatory role of endocardial endothelial in the effect of histamine on myocardial contraction.

**Key words:** endocardial endothelium, histamine, pyrilamine, cimetidine

---