

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
FACULTAD DE QUIMICA

**CAPTACION DE AMINAS POR PLAQUETAS COMO  
MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDIAR AL  
ENFERMO HIPERTENSO**

371

T E S I S

Q U E P A R A O B T E N E R  
E L T I T U L O D E :

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

MARIA DOLORES RAMIREZ GONZALEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. TESIS

ADD. 1

F. 1970

PROC. Me. C

356



QUÍMICA

A mi Abuelita :

Con todo cariño como testimonio de la misión cumplida.

A mi Mamá :

Con respeto en reconocimiento del amor y comprensión  
que nos has dado a tus hijos.

A mis Hermanos :

Por el cariño, amistad y compañerismo,  
que siempre hemos tenido.



Al Dr. Serrano :

Con agradecimiento por su constante y atinada  
asesoría durante el desarrollo de la presente -  
tesis.

Al Dr. Rodríguez Carranza :

Por su inapreciable apoyo.

A los Dres. Sánchez Torres y Boullin, quienes hicieron posible  
la realización de este trabajo.

A los Deptos. de Endocrinología del INC e Investi-  
gación Científica del IMSS, por su cooperación y -  
sugerencias.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ANA LUCIA VALERO IBARRA.  
VOCAL: VICTORIA VALLES SANCHEZ.  
SECRETARIO: RODOLFO RODRIGUEZ CARRANZA.  
1er. SUPLENTE: JOSE DE J. MANRIQUE ORTEGA.  
2o. SUPLENTE: PEDRO A. SERRANO MAAS.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGIA.

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA.

SUSTENTANTE: MARIA DOLORES RAMIREZ GONZALEZ.

ASESOR DEL TEMA: DR. RODOLFO RODRIGUEZ CARRANZA.

SUPERVISOR DEL TEMA: DR. PEDRO A. SERRANO MAAS.

## INDICE DE CAPITULOS DE QUE CONSTA LA TESIS

- 1.- INTRODUCCION.
- 2.- HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL Y AMINAS AUTACOIDES RELACIONADAS:  
DOPAMINA, NOREPINEFRINA.
- 3.- PLAQUETAS Y SEROTONINA.
- 4.- EL MODELO EXPERIMENTAL: COMPORTAMIENTO DE LAS PLAQUETAS FRENTE A DIFERENTES  
FARMACOS Y SU SEMEJANZA CON LA FISIOLOGIA SINAPTOSOMICA.
- 5.- MATERIAL Y METODO.
- 6.- RESULTADOS.
- 7.- DISCUSION.
- 8.- CONCLUSIONES.
- 9.- BIBLIOGRAFIA.

## INTRODUCCION.

La hipertonicidad de los pequeños vasos arteriales es la causa de hipertensión arterial, - ésta es Esencial cuando no hay causas mecánicas, renovasculares o neoplásicas que la originen. El desconocimiento de su etiopatogenia ha propiciado la postulación de diversas posibilidades: una alteración del metabolismo de sustancias vasotónicas ( catecolaminas, angiotensina, aldosterona, etc. ), una reactividad vascular modificada frente a sustancias vasoactivas, normales o alteradas; o bien, la participación de ambos fenómenos.

Muchos argumentos a favor de alguna de estas tesis han sido desarrollados, pero aún no son concluyentes.

Tratando de determinar alguna alteración fisiopatológica presente en el enfermo hipertenso esencial, se empleó en este trabajo, a las plaquetas, como modelo experimental de la fisiología de neuronas aminérgicas; y se estudió el comportamiento de dicho modelo frente a tres autacoïdes:\* dopamina, norepinefrina y serotonina ( 1,2 ).

\* En el transcurso de este trabajo se ha preferido el término de autacoïde ( del griego autos: propio- y akos: remedio ) en lugar de hormona ( del griego hormaein: excitar ), ya que refiere de un modo más genérico a sustancias de estructuras diversas que tienen en común ser endógenas, muy activas - farmacológicamente a concentraciones bajas y las que, por la diversidad de acciones que presentan, no son clasificables dentro de un grupo específico de fármacos ( 3 ).

MICROCIRCULACION PULMONAR

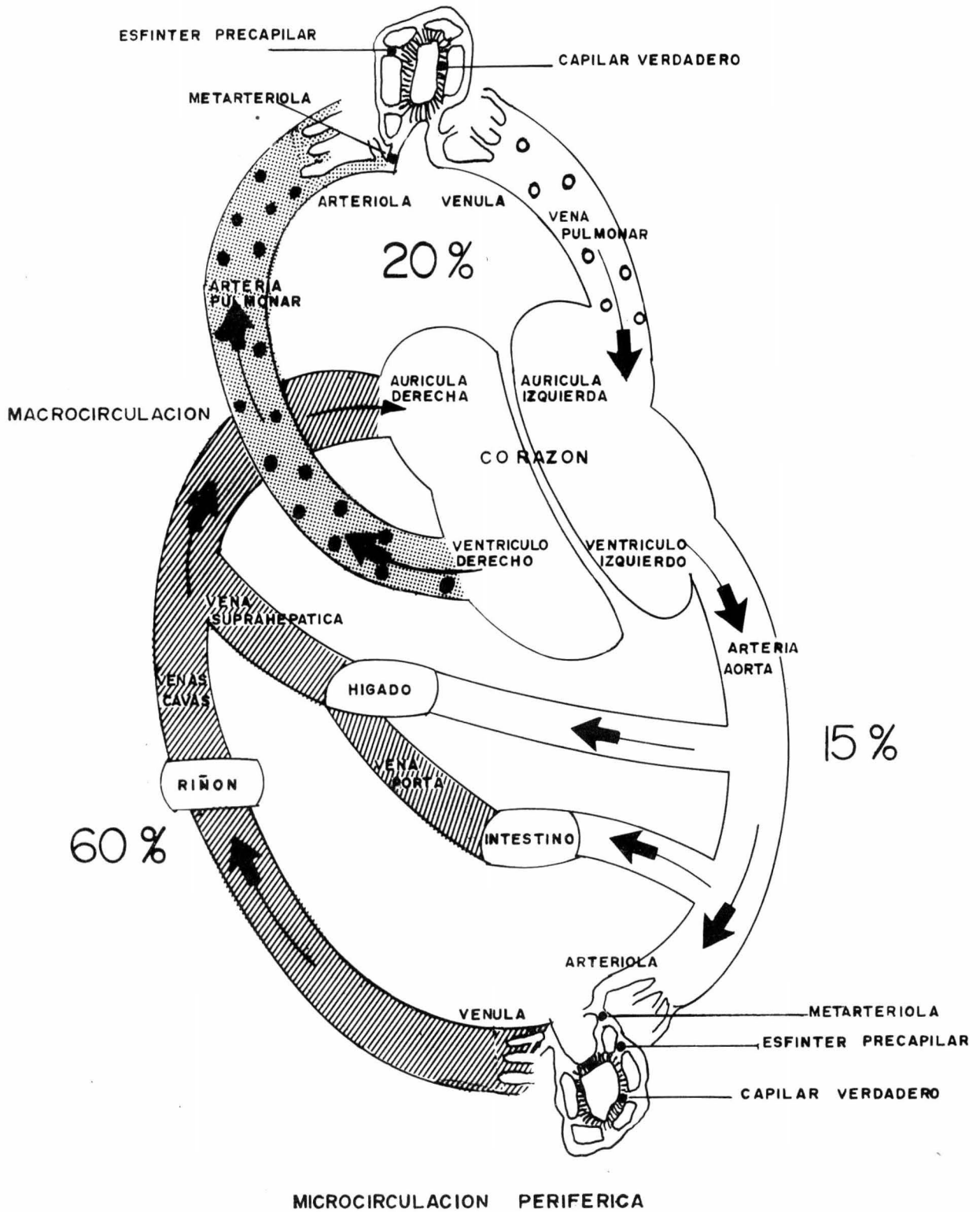


DIAGRAMA GENERAL DE LA CIRCULACION EN EL HOMBRE.

(ADAPTADO DE GUYTON)

## PRESION ARTERIAL Y AMINAS AUTACOIDES RELACIONADAS.

El aparato cardiocirculatorio está constituido por: corazón, macrocirculación y microcirculación.

La porción izquierda del corazón es anatómicamente de paredes más gruesas, ya que debe contraerse contra un lecho vascular de resistencia, el cual, contiene relativamente poco volumen - pero a alta presión. El corazón derecho, aunque también se contrae contra un lecho arteriolar ( pulmonar ), la resistencia que le ofrece es mucho menor si se compara con la del sistémico.

En la macrocirculación deben distinguirse los vasos arteriales, que son fisiológicamente de resistencia, de los venosos que son los de capacitancia.

La microcirculación se inicia a nivel de arteriolas que se continúa con la metarteriolas, luego con el canal preferencial y después con las vénulas. De las metarteriolas surgen los capilares, - que son tubos de mínimo calibre, constituidos por una membrana basal y endotelio celular.

El 60% de la sangre se encuentra normalmente en la porción venosa de la macrocirculación, el 15% en la arterial; el 5% en la microcirculación y el 20% restante en el corazón y pulmones.

La sangre fluye a través del aparato circulatorio impulsada por el bombeo del corazón, - efectuando éste un trabajo mecánico ya que expulsa la sangre hacia un vaso ocupado con cierto volumen y contra resistencias de fricción que se le oponen, unas proximales, como es la distensibilidad arterial y otras distales, como es la suma del área de sección de corte transversal de toda la macro y - microcirculación. De esta suma de factores que son el gasto cardíaco y las resistencias depende la pre

si3n arterial.

La macrocirculaci3n es la conductora de la sangre expulsada del ventr3culo izquierdo y establece su retorno hacia el coraz3n derecho. El flujo se debe a los gradientes tensionales que se presentan.

De gran importancia es la microcirculaci3n, pues a nivel capilar se realiza el intercambio de sustratos nutritivos, la hematosis, la transferencia de electr3litos y agua; procesos que ocurren r3pidamente y en grandes cantidades a trav3s de distancias muy peque1as. Los capilares invaden todos los tejidos del cuerpo, y la sangre rara vez queda a mayor distancia de 0.1 mm de cualquier c3lula, en condiciones normales.

Los capilares aunque son s3lo de 0.017 mm. de di3metro, su longitud total es de casi 100,000 km. Los cambios f3sicos del calibre de las arteriolas, de los capilares arteriovenosos y de los esf3nteres precapilares han sido denominados vasomoci3n. La que, dependiente de la liberaci3n de sustancias vasoactivas, implica una regulaci3n m3s precisa del flujo sangu3neo capilar en respuesta a las demandas tisulares locales. ( 1,2 ).

Las demandas a las que se enfrenta la circulaci3n, son constantemente cambiantes, ya que deber3 mantener un gasto card3aco efectivo, con volumen sangu3neo circulante adecuado, acoplarse a las variaciones de resistencias perif3ricas y a fluctuaciones de flujo, debidas a compresiones intravasculares o intracavitarias, que pueden ser peri3dicas o circunstanciales. Su adaptaci3n fisiol3gica est3 regulada por los siguientes mecanismos:

- 1.- Neurohumorales, bajo el control del sistema nervioso central, a trav3s de centros bulbares espec3ficos ( cardio y vasomotores ), que conectan las v3as aferentes con placas neuroefectoras localizadas en los vasos o fibras.
- 2.- Autorregulaci3n hemodin3mica, adaptando el gasto card3aco en funci3n del retorno venoso y el vo

lumen de llenado diastólico; y

### 3.- Autorregulación vascular local, a nivel de la microcirculación.

El flujo a un órgano depende de la presión sanguínea en éste y la resistencia que se opone al flujo, por lo que los mecanismos reguladores hacen ajustes, global o independientemente, en la medida que haya vasoconstricción o vasodilatación. Ambos fenómenos dependen de estímulos neurohormonales centrales y de metabolitos locales en la periferia que actúan sobre las fibras musculares lisas de los vasos.

El control neurógeno, tanto de la actividad cardíaca como de la microcirculación, depende de los centros bulbares. En el bulbo raquídeo, junto al centro respiratorio, se localizan los centros cardioacelerador, cardiodepresor, vasopresor y vasodepresor. Estos centros que están conectados con centros diencefálicos, e influenciados por ellos, especialmente hipotalámicos altos, es en donde se integran los circuitos simpático y parasimpático.

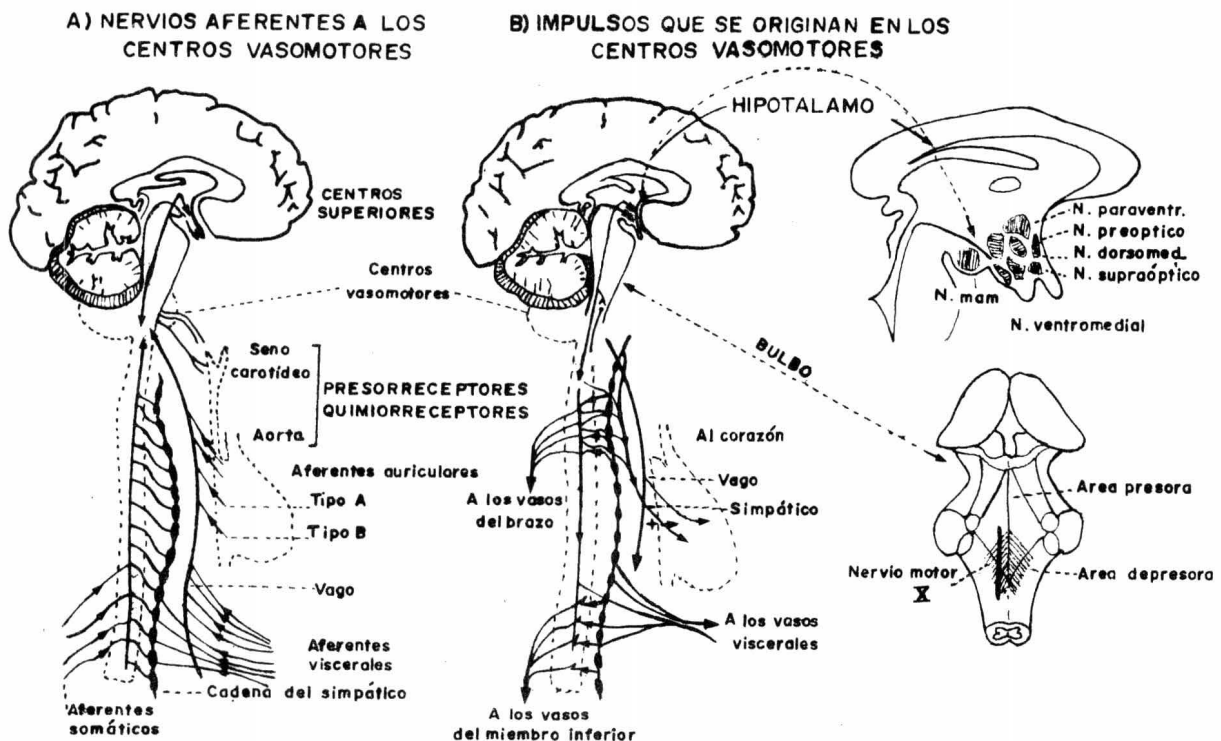
Estas zonas bulbares también reciben impulsos transmitidos por los IX y X pares craneales, que a su vez son estimulados por osmo y barorreceptores ubicados en diferentes zonas del sistema cardiovascular.

La producción de taquicardia, bradicardia, vasoconstricción o vasodilatación depende de la activación o predominio del sistema simpático o parasimpático. ( Ver diagrama 1 ).

Los impulsos bulbares descargados hacia el corazón viajan a través de fibras simpáticas ( adrenérgicas ) y parasimpáticas ( colinérgicas ). Todos los vasos del organismo son inervados por fibras nerviosas simpáticas y pocas, además, por fibras parasimpáticas. ( 3,4 ).

El efecto contráctil de las aminas simpaticomiméticas ( Epinefrina, Norepinefrina y Dopamina ) es especialmente manifiesto a nivel de las arterias con mucho músculo liso en la microcirculación ( pequeñas arterias, arteriolas y esfínteres precapilares ) ( 5 ). Mínimos cambios del calibre arte-





**DIAGRAMA I**  
(Tomado de Rushmer)

- A, Los centros vasomotores del bulbo reciben impulsos aferentes que se originan en muchas zonas diferentes del organismo, inclusive los centros más altos del sistema nervioso, los presorreceptores que proceden del corazón y los grandes vasos, los nervios aferentes de las vísceras y los nervios aferentes de dolor somático.
- B, Los nervios simpáticos constrictores, distribuidos al sistema vascular periférico, se originan en la columna de células intermediolaterales de la médula dorsal. Los impulsos descenden de la región bulbar y del hipotálamo para modular las descargas del sistema simpático. El hipotálamo desempeña importante papel en la regulación autónoma de muchas funciones viscerales diferentes. Los cambios de la función arterial general pueden ser fácilmente producidos por medio de la estimulación de zonas "presoras" y "depresoras" situados en el bulbo; estas zonas bulbares pueden en realidad representar vías que provienen de niveles más elevados, para pasar a la médula espinal, en vez de constituir "centros vasomotores".

riolar producen grandes alteraciones en las resistencias periféricas y con ello en el flujo y en la presión local y general. A nivel venoso también existen estos fenómenos vasomotores, pero mucho menos activos.

La autorregulación hemodinámica, a nivel de corazón, depende, primordialmente, de la capacidad intrínseca de la fibra miocárdica para ajustar su capacidad tensional modificando el bombeo cardíaco en función del volumen que recibe; independientemente de la acción reguladora o bulbar.

La vasomoción se presenta como respuesta a estímulos generales, por demanda tisular específica, para alcanzar un equilibrio nutricional, térmico y tensional adecuado. La influencia del sistema nervioso autónomo sobre el flujo capilar no se ha demostrado concluyentemente y se piensa que está regulado por factores humorales de tipo químico ( sustancias vasoactivas ) que pueden provenir de la circulación general o formarse localmente.

En condiciones normales, el comportamiento vasomotor de este sistema consiste en un patrón cíclico, constituido de fases de contracción y relajación del músculo liso, principalmente de las metarteriolas y precapilares ( 6,7 ).

Un gran número de autacoides han sido involucrados en la regulación de la presión arterial, pero su verdadero papel es aún motivo de controversia.

Inspeccionado el siguiente diagrama ( III ), puede establecerse que normalmente un gran número de factores y mecanismos pueden influir sobre la presión arterial general, y que a ninguno de ellos se le ha demostrado capacidad fisiológica suficiente para actuar como regulador principal ( 8 ).

La presión arterial normal se señala de 120/80 mm Hg , pero debido a la multiplicidad de factores que normalmente pueden afectar su valor ( método de medida, edad, peso, hora del día, etc. ) se prefiere la delimitación de cifras normales a través de diagramas como el propuesto por Master y colaboradores ( 9 ). La OMS y compañías de seguros de vida también lo hacen. ( Diagrama

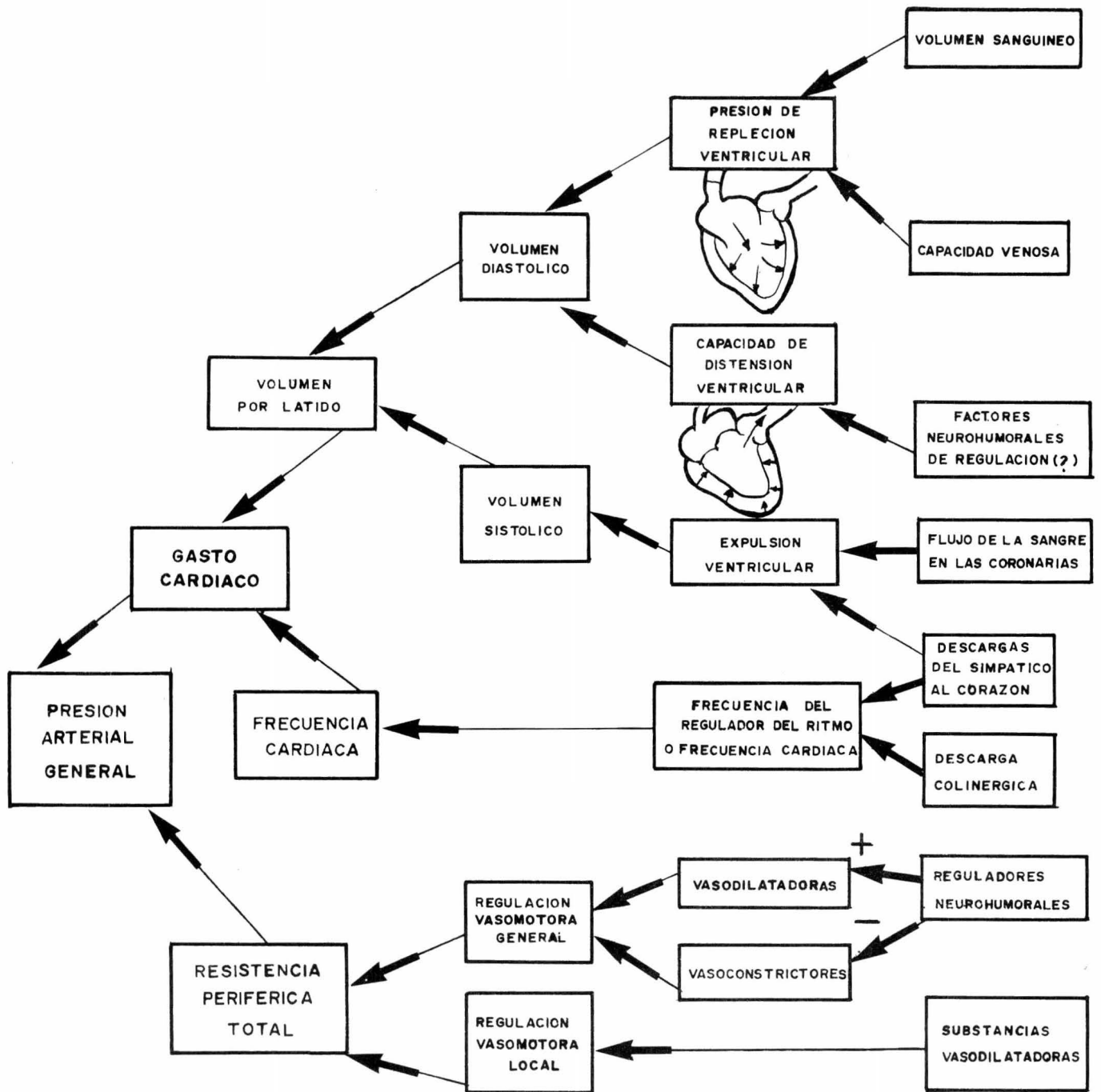


DIAGRAMA III  
(Tomado de Rushmer)

Factores que determinan la presión arterial general. Los muchos factores que actúan recíprocamente y que determinan el nivel de la presión arterial general, presentan amplia variedad de mecanismos alternativos de regulación. Obsérvese que cada punto que se ramifica representa un lugar potencial de regulación o de compensación para cualquier perturbación del sistema.

IV ).

El punto más alto de la presión sistólica en la aorta central es determinada, en gran parte, por la intensidad de la contracción ventricular izquierda, el volumen máximo de la expulsión y la capacidad de distensión de las paredes aórticas.

La presión diastólica arterial mínima, es determinada primordialmente por la resistencia-periférica total y por la frecuencia del corazón. La medición de la presión arterial comprende la determinación de las presiones sistólica y diastólica. ( Diagrama V ).

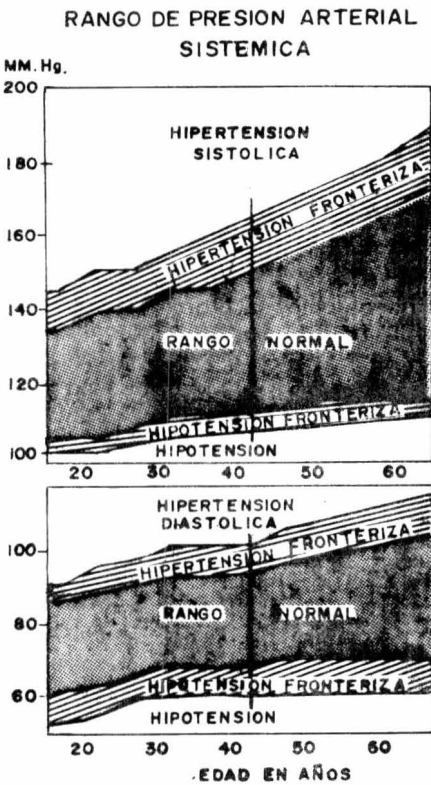
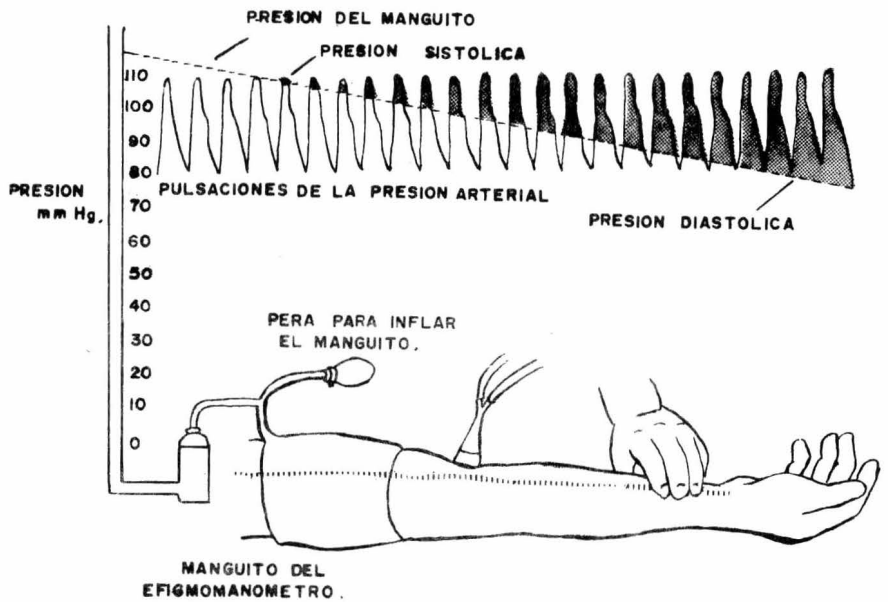


DIAGRAMA IV



ESFIGMOMANOMETRIA.

(tomado de RUSHMER)

DIAGRAMA V

## HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL. ( HAE )

Los múltiples mecanismos potenciales que explican la etiología de la hipertensión generalmente son agrupados en cuatro categorías: endócrina ( especialmente de médula suprarrenal ), renal, cardiovascular y neural.

La HAE ha sido definida como un síndrome caracterizado por elevación persistente de la presión arterial, con volumen sistólico normal, aumento de la resistencia vascular periférica y alteraciones peculiares de las arteriolas.

Todos los mecanismos causales combinados permitirían dar explicación a sólo del 5 al 25% de los casos de hipertensión, el restante 75 a 95%, son casos en los cuales la más cuidadosa investigación diagnóstica no encuentra una afección primitiva, por lo que la etiología permanece ignorada y sujeta a controversia. Según terminología de la OMS, al primer grupo se le denomina Hipertensión arterial Secundaria y a la de patogenia desconocida como Primaria o Esencial ( cuadro 1 ).

La HAE constituye una verdadera enfermedad que acorta la vida a consecuencia de las diversas complicaciones renales, cardíacas y cerebro-vasculares que ocasiona. En este numeroso grupo de pacientes la presión arterial se eleva en diferentes proporciones; en un pequeño grupo de pacientes hay un incremento abrupto ( hipertensión maligna ) y la muerte usualmente se presenta dentro del primer año por insuficiencia cardíaca, renal o accidente cerebro-vascular.

Aún cuando se señaló que la etiopatogenia de la HAE se desconoce diversos órganos y los sistemas endócrino y renal han sido involucrados ( Cuadro II ). Así, se señala la correlación observada entre la ingesta diaria de sal ( cloruro de sodio ) y la frecuencia de hipertensión en diferentes culturas; así como el grado de stress al que las personas se encuentran sometidas diariamente ( 1 ).

## CUADRO I

## PATOGENIA DE LA HIPERTENSION

ESENCIAL  
(Primaria)  
75 a 95%

Etiología desconocida, sujeta a controversia.

Nefrógena

Ptosis renal  
Nefropatía del Embarazo  
Lupus eritematoso  
Nefropatía Bilateral :  
    Glomerulonefritis aguda y crónica  
    Pielonefritis  
    Glomerulonefritis diabética  
    Amiloidosis renal  
    Colagenosis  
    Poliquistosis  
Nefropatía Unilateral  
    Pielonefritis atrófica  
    Perinefritis constrictiva  
    Hipoplasia renal  
    Hidronefrosis obstructiva  
    Tuberculosis esclerosante

SECUNDARIA  
5 a 25%

Endócrina

Síndrome de Cushing  
Síndrome de Conn  
Feocromocitoma  
Tirotoxicosis  
Toxemia gravídica

Cardiovascular

Estenosis ístmica de la aorta  
Arterioesclerosis aórtica  
Fistulas arteriovenosas  
Bloqueo cardiaco  
Poliglobulia  
Estasis de Sahli

Neurógena

Tumores cerebrales  
Traumatismos cerebrales  
Epilepsia  
Encefalitis  
Poliomielitis  
Saturnismo  
Porfiria  
Neurofibromatosis de Recklinghausen.

## CUADRO II

## FACTORES HUMORALES

- a) Sustancias Presoras ( vasoactivas ): Norepinefrina, pituitrina ( pitresín ), Tiramina, Guanidina; cuyas concentraciones sanguíneas o producción de hiperreactividad vascular no ha sido concluyentemente demostrada.
- b) Sistema renina-angiotensina- aldosterona.
- c) Sustancias presoras aún no identificadas, como las producidas por la modificación tisular del túbulo proximal encontrada en el riñón endócrino experimental.
- d) Sustancias vasodepresoras ( VDM, hepáticas ) o vasoexcitadoras ( VEM, renales ), que tienen efecto estimulante sobre la neurohipófisis con efecto antidiurético.
- e) Renotrofinas elaboradas durante dietas hiperproteicas.
- f) Hipernatremia del tejido vascular.

## FACTORES NEUROGENOS.

- a) Efectos vasoactivos hipotalámicos por descargas psíquicas, tal como sucede en la prueba de hipotermia.
- b) Influencia de factores centrales corticales y del centro vasomotor del cuarto ventrículo.
- c) Alteraciones del X por craneal ( vago ).
- d) Modificación del nivel de control en los receptores del arco aórtico, seno carotídeo, cavidades del corazón, arteria pulmonar y venas cavas.

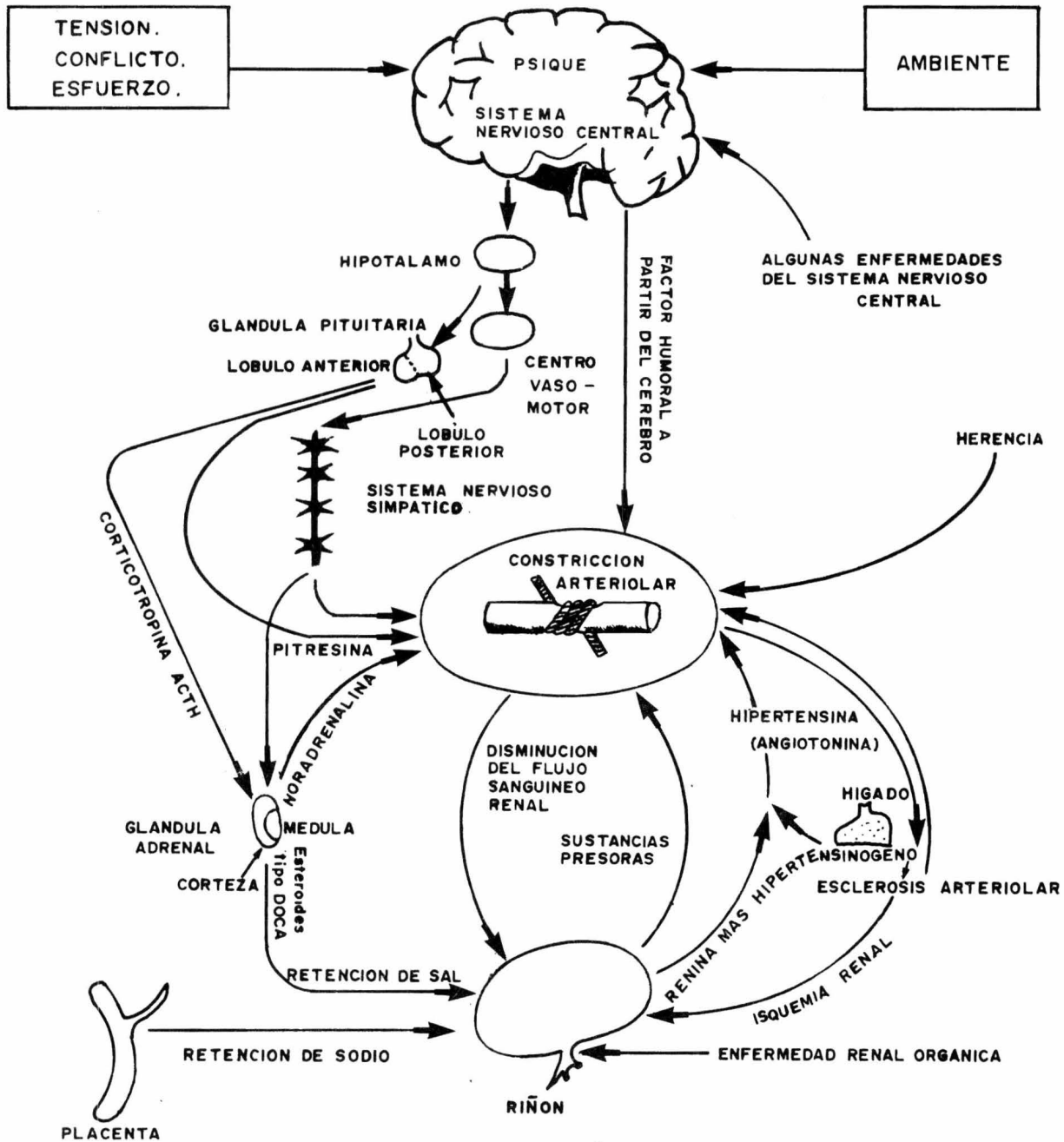
Se ha sugerido que el agente etiopatogénico de la hipertensión esencial es la resultante de la interrelación de todos estos factores; esquematizados en el dibujo II. La influencia secuencial sobre la presión arterial puede plantearse considerando que las catecolaminas dominan la producción de renina a través de la producción de mineralocorticoides, éstos a su vez pueden influir sobre los electrolitos y de este modo modificar el metabolismo, producción y acción de las catecolaminas. En este sentido, de gran utilidad resulta el concepto propuesto por Page, como su Mosaico ( figura 2 ), en donde señala a la perfusión hística como el motor de la presión arterial, cuyo nivel estará determinado por el equilibrio que alcanzan todos los factores interrelacionados. ( 2 )

Diversos estudios del enfermo hipertenso indica que no hay modificación del volumen sanguíneo, gasto cardíaco, perfusión tisular o elasticidad vascular; pero sí se han encontrado divergencias del calibre vascular interno, especialmente en la microcirculación, reactividad vascular frente a sustancias vasoactivas y parámetros bioquímicos relacionados con el sistema aminérgico ( Cuadro III ). ( 3 )

Clínicamente hay casos de hipertensión arterial esencial que requieren de la asociación de diuréticos con otros fármacos que actúan sobre el complejo de las catecolaminas ( síntesis, almacén, liberación o metabolismo ) para obtener una terapéutica eficaz. Esta evidencia constituye una base sólida para pensar en la posible participación del sistema aminérgico y del sistema renina angiotensina aldosterona en la etiopatogenia de la HAE. ( 4 )

El considerar a la Norepinefrina como la catecolamina vasoactiva más importante se debe a dos causas: primero, se encuentra preferencialmente periférica, a diferencia de la Epinefrina que se ubica en médula suprarrenal y, porque después de la administración endovenosa de Norepinefrina, los signos son más similares a los observados en el paciente considerado como hipertenso esencial ( Cuadro IV ). ( 5 )





**FACTORES DE HIPERTENSION ARTERIAL**  
(tomado de PONS, P.A.)

**DIBUJO II**

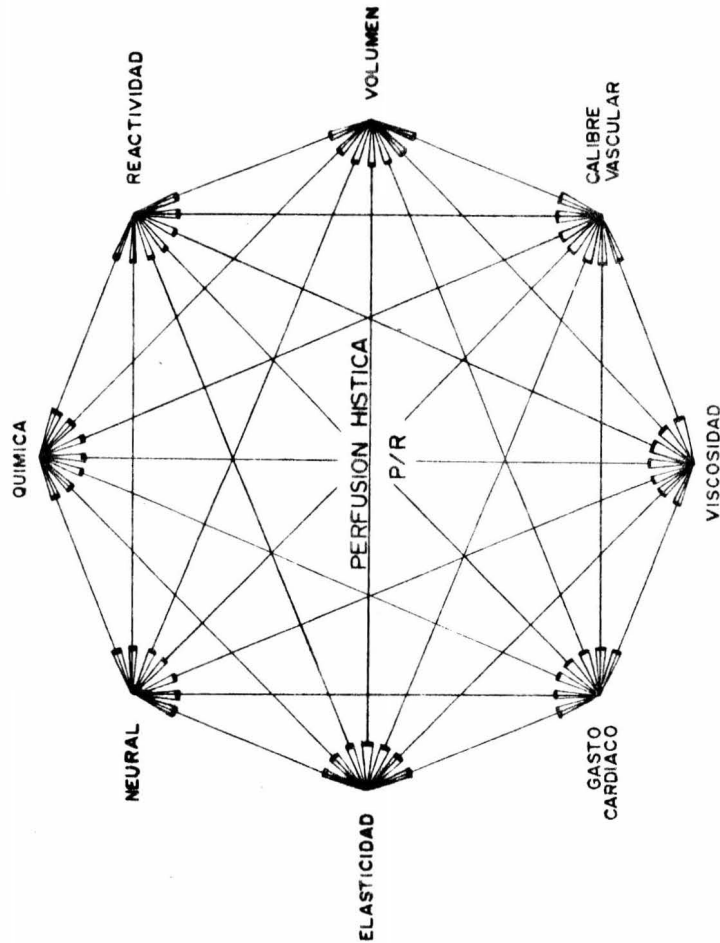


FIGURA 2

## TEORIA DEL MOSAICO DE PAGE

La tensión arterial, es decir, la fuerza de sentido opuesto que se opone a la presión de la sangre impulsada por el corazón, depende del volumen sistólico ( tensión máxima o sistólica ) y de la resistencia periférica ( tensión mínima o diastólica ). Esta última depende de la cantidad de sangre circulante, ó volemia, de la capacidad del sistema arterial ( ley de Poiseuille ), de la reactividad de los vasos, de su elasticidad y de la viscosidad de la sangre.

Uno o varios de dichos factores pueden predominar e influir sobre la relación irrigación hística = presión/resistencia, introduciendo un desequilibrio en el sentido de producir hipertensión.

## CUADRO III

HIPERTENSOS / NORMOTENSOS

Grosor de la pared arteriolar	▲
Reactividad vascular	▲
Excreción de catecolaminas	▲
Vida media Norepinefrina	▼
Captación tisular de NE con dieta hipersódica	▼
Recambio tisular de NE con dieta hipersódica	▲
Captación tisular de NE durante admon. DOCA	▼
Captación de NE con dieta hiposódica	▼
Excreción urinaria en ortostatismo Renina	▲
NE	▲
DA	▼
Actividad de dopamina-beta-hidroxilasa	▼
Niveles plasmáticos de NE	▲
Niveles plasmáticos de catecolaminas totales.	▲

## CUADRO IV

Infusión Intravenosa a sujetos NORMOTENSOS

		Epinefrina	Norepinefrina	Dopamina
GASTO CARDIACO		↑	↓	↑
TA. DIASTOLICA		↓	↑	↓
RESISTENCIA PERIFERICA		↓	↑	↓
FRECUENCIA CARDIACA		↑	↑	
NIVELES SANGUINEOS	COLESTEROL	↑	↑	
	GLICEMIA	↑		↑
	AC. GRASOS LIBRES	↑	↑	↑
	AC. LACTICO	↑		
	AC. URICO	↑	↑	↑
NIVELES URINARIOS	AC. URICO	↑	↑	↑
	AC. V. MANDELICO		↑	↑
	AC. HOMOVAINILICO			↑
	P.B.I.			↑
	EPINEFRINA	↑		
	NOREPINEFRINA		↑	
	DOPAMINA			↑

En 1946, Ulf Von Euler aisló el neurotransmisor del sistema nervioso simpático y lo identificó como Noradrenalina ( NE ) ( 6 ). La noradrenalina es el transmisor en la mayoría de las fibras postganglionares simpáticas y probablemente en algunos tractos del SNC; la dopamina es el transmisor predominante en el sistema extrapiramidal de los mamíferos y la adrenalina, es el principal autacoide de la médula suprarrenal. Por ello, conocer más detalladamente los procesos biodinámicos que afectan a las catecolaminas resulta fundamental.

La síntesis de estas tres catecolaminas es a partir de la fenilalanina, tal como se muestra en la Figura 2. Los sitios celulares y los mecanismos de síntesis, almacenamiento y liberación de las catecolaminas provienen de estudios hechos en tejidos de médula suprarrenal y órganos con innervación adrenérgica. Casi toda la noradrenalina está confinada en las fibras simpáticas postganglionares y desaparece en pocos días cuando son seccionados los nervios. La pequeña cantidad de catecolamina residual es principalmente adrenalina, la cual probablemente este localizada en las células cromafines.

Las catecolaminas que hay en médula suprarrenal, nervios espléncicos y varias regiones del SNC se encuentran dentro de gránulos osmófilos de 0.05 a 0.2 micras de diámetro, y constituyen aproximadamente el 7% en peso húmedo de los gránulos. El complejo granular catecolaminanucleótido-proteína es el fondo de reserva, el principal depósito de adrenalina en la médula suprarrenal y de noradrenalina en las terminaciones de fibras adrenérgicas. Este fondo se halla en equilibrio activo con fondos móviles menores situados dentro de los gránulos y en el citoplasma. Durante su síntesis, la hidroxilación de la tirosina a dopa y la descarboxilación de la dopa a dopamina suceden en el citoplasma. La dopamina entra entonces a los gránulos, donde se convierte en noradrenalina. En la médula suprarrenal la noradrenalina deja los gránulos, es metilada en el citoplasma a adrenalina y ésta ingresa en un grupo distinto de gránulos intracelulares, donde es almacenada hasta su liberación.

Además de esta síntesis, hay una segunda fuente importante de noradrenalina en las porciones terminales de las fibras adrenérgicas, que es la recaptación por transporte activo de la noradrenalina previamente liberada. Este proceso es, muy probablemente, la principal causa de la rápida ter-



minación de los efectos producidos por los impulsos adrenérgicos. A fin de realizar la recaptación de noradrenalina funcionan dos sistemas de transporte activo; uno en la membrana axoplásmica, desde el líquido extracelular al fondo móvil citoplásmico; el otro, desde este almacén citoplásmico al fondo móvil intragranular.

Así las catecolaminas pueden ser concentradas contra un gradiente múltiplo de 200, a través de la membrana granular al fondo móvil intragranular; que entonces está en equilibrio con el complejo catecolamina-ATP-proteína que constituye el fondo de reserva. El sistema es activado por ATP y por el ión magnesio; es interferido por muy pequeñas concentraciones de reserpina. El sistema de transporte a través de la membrana axoplásmica puede ser bloqueado selectivamente por fármacos como cocaína, imipramina y ouabaína. Fármacos como efedrina y tiramina producen sus efectos indirectamente por desplazamiento de la noradrenalina del fondo móvil citoplásmico al líquido extracelular.

La rapidez de síntesis de noradrenalina es regulada probablemente por un sistema de retroalimentación que depende del nivel de sustancia en el fondo móvil citoplásmico y es mediado por un factor tetrahidropteridínico de la hidroxilasa tirosínica.

La secuencia completa de los pasos por los que el impulso nervioso efectúa la liberación de noradrenalina en las fibras adrenérgicas no es conocida. En médula suprarrenal el fenómeno disparador es la liberación de acetilcolina por las fibras preganglionares y la combinación del ester con los receptores en las células cromafines; el paso sucesivo es la entrada de iones calcio en estas células, el cual es seguido por la extrusión del contenido granular al líquido extracelular y de ahí a la circulación. Según Burne-Rand ( 1965 ) un mecanismo similar parece operar en las terminaciones nerviosas, incluyendo la importancia del ión calcio.

Las dos enzimas de importancia en la transformación metabólica de las catecolaminas -- Monoamina-oxidasa ( MAO ) y Catecol-O-metil transferasa ( COMT ) se encuentran extensamente distribuidas en el cuerpo, incluido el cerebro; las mayores actividades de una y otra están en hígado y ri-

ción. Sin embargo, la localización histológica de estas enzimas es bien diferente, MAO se asocia principalmente con las mitocondrias, incluso en terminaciones nerviosas; mientras que gran parte de COMT está confinada en la fracción citoplásmica soluble y no tiene asociación selectiva con los nervios adrenergicos. Sin embargo, estos procesos metabólicos de degradación parece tienen una importancia muy reducida en relación a otros procesos como recaptación en terminales axónicas, difusión y adsorción temporal a proteínas plasmáticas.

La relación cuantitativa entre las vías metabólicas descritas en la figura 1 se ilustran por los datos obtenidos después de la administración intravenosa de adrenalina radiactiva a sujetos humanos, en dosis equiparables a las excretadas normalmente. ( La Brosse, 1961 ). Aproximadamente el 40% de la dosis administrada fué recuperada en la orina como ácido 3-metoxi-4-hidroximandélico ( AVM ), 40% como metanefrina ( libre y conjugada ), 7% como 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol y pequeñas cantidades de ácido 3-4-dihidroximandélico y adrenalina inalterada.

La cantidad normal de orina excretada en 24 horas contiene de 2 a 4 mg. de AVM ( que representa principalmente la noradrenalina producida por las fibras adrenérgicas y desaminada en ellas por MAO antes de la liberación ); 100 a 300 ug de normetanefrina ( que representa la noradrenalina fisiológicamente activa liberada por las fibras adrenérgicas ); 100 a 200 ug de metanefrina ( que representa la adrenalina liberada por la médula suprarrenal ), 25 a 50 ug de noradrenalina y 2 a 5 ug de adrenalina.

La adrenalina y noradrenalina producen marcada disminución del flujo sanguíneo renal, así como de la excreción de sodio y potasio. La adrenalina puede producir antidiuresis por efecto central mediado por la hipófisis posterior.

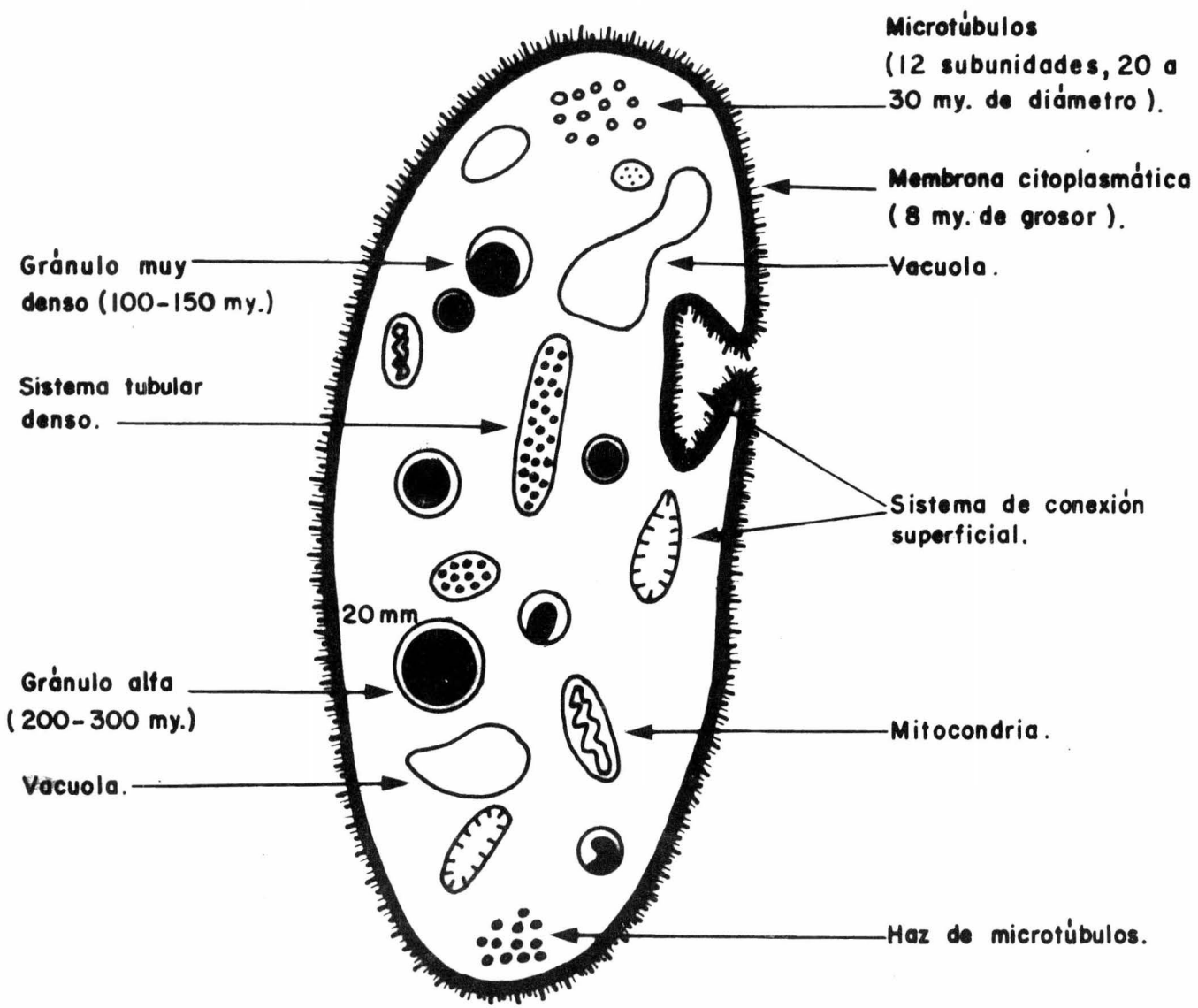
Ambas aminas tienen un efecto inhibitorio sobre la musculatura lisa del aparato gastrointestinal, aunque también puede llegar a observarse relajación; producen constricción arteriolar pulmonar.



La adrenalina provoca tres respuestas distintas en el corazón; a) efecto cronotrópico, a través del nodo senoauricular, b) efecto inotrópico positivo, c) alteraciones de la función rítmica del ventrículo. Su acción inotrópica es independiente del efecto cronotrópico, aún cuando ambos impliquen receptores beta.

En el hombre con la infusión intravenosa de 4 ug. de adrenalina hay incremento de la frecuencia cardíaca, aumento de la presión sistólica y la presión media; usualmente hay disminución de la presión diastólica, el gasto cardíaco aumenta y la resistencia periférica total disminuye. Con noradrenalina, a la misma dosis, las presiones sistólica, diastólica y media se elevan, aumenta la resistencia periférica y la frecuencia cardíaca; el gasto cardíaco disminuye. Aunque debe tenerse en mente que estas respuestas pueden modificarse en función de la dosis administrada.

La adrenalina y sus afines producen un grupo importante de efectos metabólicos, que se manifiestan por hiperglucemia, hiperlactacidemia, hiperlipemia, mayor consumo de oxígeno e hiperkalemia. Se ha demostrado que la adrenalina facilita la acumulación de AMP cíclico, al parecer por estimulación de actividad enzimática ligada a la membrana ( adenilciclasa ) ( 7 ).



**REPRESENTACION ESQUEMATICA  
 DE UN CORTE ELIPTICO DE PLAQUETA  
 (adaptado de Ham).**

## LAS PLAQUETAS Y SEROTONINA.

La Plaqueta fué descrita por primera vez, en 1883, por Osler, como el Tercer Corpúsculo Sanguíneo.

Cuando se tiñe una extensión sanguínea con colorante de Wright, y se observa al microscopio de luz, las plaquetas aparecen como cuerpos esféricos u ovoides granulosos, de color rojizo o violeta y de 2 a 4  $\mu$ . de diámetro.

Esta estructura discoidal de las plaquetas es muy lábil; el cambio de su forma es la primera respuesta que dá la plaqueta a cualquier estímulo; especialmente, con el frío se observa la formación de pseudópodos, cuyo tamaño puede ser de 3 a 5 veces el diámetro de la plaqueta.

La explicación sobre el origen de la plaqueta, que generalmente se acepta, es la propuesta por Wright, quien sugiere que son fracciones desprendidas del citoplasma de los megacariocitos, células que se encuentran en la médula ósea. El megacariocito empuja sus prolongaciones citoplásmicas hacia los capilares, éstos se desprenden y aparecen en la circulación como plaquetas. El volumen aproximado de las plaquetas es de 5 a 7  $\mu$  cúbica.

Las plaquetas contienen gran cantidad de proteínas de la cual el 30% son trombostenina (proteína contráctil presente en la membrana) y fibrinógeno; además, existe una proteína albuminoide, éstas dos últimas muy similares a las plasmáticas.

Los lípidos plaquetarios constituyen el 17% el peso seco total. De estos, la cuarta parte son neutros (principalmente colesterol no esterificado), y el resto son varios fosfátidos (lecitina, esfingo mielina, fosfatidiletanol amina, fosfatidil inositol y fosfatidil serina). Las plaquetas sintetizan-

activamente ácidos grasos.

Los adenin-nucleótidos, fosfatos de guanosina, citidina y uridina que se encuentran en las plaquetas son proveídos por el megacariocito, se piensa que hay en cantidad suficiente para la preservación fisiológica de la plaqueta durante su vida, ya que in vivo no hay síntesis de éstos compuestos.

En la plaqueta existen enzimas para la vía glicolítica, el ciclo de Krebs, síntesis de glicógeno y su catabolismo ( tabla 1 ).

Se han determinado también cantidades importantes de calcio, potasio y magnesio; hay evidencias que señalan sólo una fracción de estos componentes como intercambiable con el medio extracelular.

Las plaquetas, como fragmento citoplásmico del megacariocito, no poseen núcleo; además de que no presentan retículo endoplásmico liso y aparato de Golgi, a pesar de que la membrana citoplásmica de la plaqueta derive de estructuras intracelulares relacionadas con estos sistemas.

La plaqueta humana está limitada por una membrana bien definida que, como en el resto de las células orgánicas, es considerada como un conglomerado de macromoléculas protéicas y lípidos en constante movimiento. Exhibe, además, un alto grado de deformabilidad.

Inmediatamente por fuera de la plaqueta, se observa una cubierta de tipo esponjoso, o bien un grupo de filamentos radiados, que la recubren totalmente. Esta capa es de 500 Å, cuando es homogénea y parece estar compuesta de carbohidratos.

El análisis de la membrana plaquetaria ha mostrado la presencia de diversas enzimas; entre éstas, la ecto-ATP-asa ha sido involucrada en el transporte de sustancias, pero su verdadero papel en este sentido es dudoso. La membrana plaquetaria es la única que posee grandes cantidades de glicosil-transferasa, enzima que se encuentra prácticamente ausente en la sangre y células endoteliales, y -

## TABLA 1

## ENZIMAS PRESENTES EN LAS PLAQUETAS

## ESTEASAS

Acetil-colinesterasa, Alísterasa, Fosfomonoesterasa.

## FOSFATASAS

Glicerofosfatasa ácida, Nitrofenil fosfatasa ácida, fosfatasa ácida, Piro-fosfatasa ácida, Adenilpirofosfatasa, Fosfatasa alcalina, ATP-asa, Monofosfatasa, 5-nucleotidasa.

## DESHIDROGENASAS

Deshidrogenasa láctica, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, 6-fosfogluconico deshidrogenasa.

## OXIDASA

Citocromo-oxidasa, DPNH-oxidasa, Monoamino-oxidasa.

## TRANSAMINASA

Glutámico oxalacética, Glutámico pirúvica.

## PROTEASA

Alanilglicinasa, Triptasa.

## CARBOHIDRASA

Amilasa, Hialuronidasa.

## AMINOACIDO DESCARBOXILASA

L-Histidina descarboxilasa.

## SULFATASA

Arisulfatasa.

## DIVERSAS

Catalasa, beta-glucoronidasa, Histaminasa, Tirosinasa.

se le ha atribuido la función de receptor para colágena.

Muchas fracciones proteicas de la membrana han sido aisladas, pero su función se desconoce.

Dentro del citoplasma hay tres tipos de organelos que son predominantes y típicos de las plaquetas: gránulos alfa, cuerpos densos y mitocondrias.

Una plaqueta humana contiene de 20 a 200 gránulos alfa, cuyo tamaño es de 200 a 300  $\mu$ m, distribuidos regularmente en el citoplasma y delimitados por una membrana de 20  $\mu$ m de grueso. Contienen enzimas hidrolíticas ( hidrolasas ácidas ), por lo que son considerados como los lisosomas plaquetarios. Ocasionalmente se agrupan o presentan zonas excéntricas con mayor densidad electrónica.

Los cuerpos densos, presentes de 2 a 10 por plaqueta, son muy osmiófilos y sólo aparecen cuando las plaquetas son fijadas con glutaraldehído-teróxido de osmio. Estos gránulos tienen un diámetro de 100 a 250  $\mu$ m y están rodeados de membrana. Algunas veces dan el aspecto de vacuolas debido a la distribución heterogénea de las granulaciones interiores. Existe mucha evidencia de que estos gránulos son los sitios donde se almacenan aminas ( el 10% de la serotonina corporal, dopamina y noradrenalina ). En organelos aislados se ha demostrado que más del 90%, están constituidos por serotonina y ATP ( en proporción 2.3 a 1 ), mientras que el contenido de proteína es menor de 1%.

Se encuentran de 10 a 60 mitocondrias por plaqueta y son fácilmente reconocidas por tener una doble membrana; son muy pequeñas comparadas con las de otras células y sólo tienen unas cuantas crestas. No se han observado partículas elementales en las crestas, sin embargo, la elevada producción de ATP encontrada en las plaquetas indica que funcionan muy importantemente.

Las plaquetas presentan estructuras semejantes a vacuolas, pero existen de dos tipos diferentes: las vacuolas reales y las que constituyen el sistema conector superficial. Este sistema está abierto al exterior de la plaqueta y se relaciona con el interior de la célula a través de canales. La fun-

ción de este sistema no se conoce con exactitud, pero se ha observado que absorbe macromoléculas, y es esta característica, la que lo diferencia de las vacuolas reales.

Si se secciona una plaqueta elípticamente, en ambos polos se identifica una estructura denominada Haz de microtúbulos ( doce subunidades de 20 a 30  $\mu$  de diámetro ) y que, al seccionar ecuatorialmente la plaqueta, se observan justo por debajo de la membrana. Se cree que su función es la de mantener la forma de la plaqueta.

Otro sistema tubular observado, es el sistema tubular denso, que a diferencia del haz - puede ser visto en cualquier parte de la plaqueta. No se le ha atribuido función alguna.

El glicógeno es almacenado por la plaqueta como gránulos dispersos en el citoplasma.

Frecuentemente las plaquetas presentan partículas que no se parecen a organelos o estructuras de las descritas. La naturaleza de estas inclusiones varía de gotas de lípidos a bacterias, virus y partículas de carbón, indicando que las plaquetas tienen actividad fagocitaria, y esto constituye una de sus funciones.

En el plasma, las plaquetas tienen carga negativa y se mueven más rápidamente en el campo electroforético. Al menos la mitad de esta carga superficial es atribuible al ácido siálico, pero probablemente estén involucrados también grupos carboxilos de aminoácidos y radicales sulfato y fosfato.

La fisiología plaquetaria puede ser inducida o inhibida por gran variedad de sustancias. La importancia de la membrana surge cuando se observa que los inductores no actúan sobre los organelos aislados, pero sí afectan el contenido del organelo cuando interaccionan con la plaqueta intacta. Claramente se ve que el estímulo es recibido en la superficie celular, y un mensaje debe ser enviado de la membrana al interior de la plaqueta. Con la única excepción del ADP, todos los inductores de la fisiología plaquetaria producen cambios de membrana, es decir, inducen alteraciones conformaciona-

les. El ADP no es transportado a través de la membrana, pero es indudable que se une, con lo que - promueve una alteración conformacional probablemente de tipo alostérico. Estas ideas, aunado a hechos como que la trombina interactúe específicamente con el fibrinógeno y el factor XIII, ubicados en la membrana; y que colágeno lo haga con glicosil-transferasa, también ubicada en la membrana, han - dado bases para postular y dar pruebas, aún indirectas, de la presencia de receptores ( o sitios de -- unión específicos ) para ADP, serotonina y adrenalina.

Los inductores e inhibidores de la fisiología plaquetaria se clasifican en las tablas 2 y - 3.

Holmsen ( 1972 ) propuso un diagrama que representa el mecanismo de respuesta de la - plaqueta a estímulo, el diagrama 4 es una modificación de esta idea.



T A B L A 2

INDUCTORES TIPICOS DE LA FISIOLOGIA PLAQUETARIA HUMANA

TIPO DE INDUCCION	INDUCTOR	CAMBIO FORMA	ADHESION AGREGACION	LIBERACION I	LIBERACION II	RECEPTOR ( membrana )
DEBIL Sustancias de bajo peso Molecular	ADP	+	+	+	—	Efecto alostérico Alfa y Beta
	ADRENALINA	—	+	+	—	
	NORADRENALINA	—	+	+	—	Serotoninérgicos
	SEROTONINA	+	+	—	—	
	VASOPRESINA	+	+	+	—	
FUERTE Enzimas Proteolíticas	TROMBINA	+	+	+	+	Fibrinógeno, factor XIII
	TRIPSINA	+	+	+	+	
	PAPAINA	+	+	+	+	
	VENENOS VIPERINOS	+	+	+	+	
		+	+	+	+	
Otras sustancias	COLAGENA	+	+	+	+	Glicosil-transferasa
	PARTICULAS LATEX	+	+	+	+	
	MICELAS DE AC. GRASOS	+	+	+	+	
	ENDOTOXINAS	+	+	+	+	
	DIOXIDO TORIO	+	+	+	+	
	VIRUS	+	+	+	+	
		+	+	+	+	

( Tomado de Holmsen ).

TABLA 3

## INHIBIDORES DE LA FISOLOGIA PLAQUETARIA HUMANA

- 1.- Agentes quelantes, especialmente de cationes divalentes ( EDTA )
- 2.- Adenosina, sus fosfatos y análogos.
- 3.- Inhibidores metabólicos, especialmente los que bloquean la producción de ATP ( deoxiglucosa más anti-úoligo-micina y monoiodoacetato con cianuro ).
- 4.- Activadores de la adenil ciclasa ( Prostaglandina E, y varios pirimido-pirimidinas, fluor ) o inhibidores de la fosfodiesterasa cíclica ( papaverina, metilxantinas ).
- 5.- Bloqueadores alfa ( derivados del imidazol: fentolamina y derivados del cornezuelo de centeno: - dihidroergotamina ).
- 6.- Inhibidores específicos de la reacción de liberación:
  - a) Anti-inflamatorios ( aspirina, fenilbutazona, sulfinpirazona )
  - b) Estabilizadores de membrana ( imipramina, amotriptilina, alcaloides de Vinca colchicina ).
- 7.- Diversos: productos de degradación del fibrinógeno; iones cromo y lantano, fosfatidilserina.

( Tomado de Holmsen ).

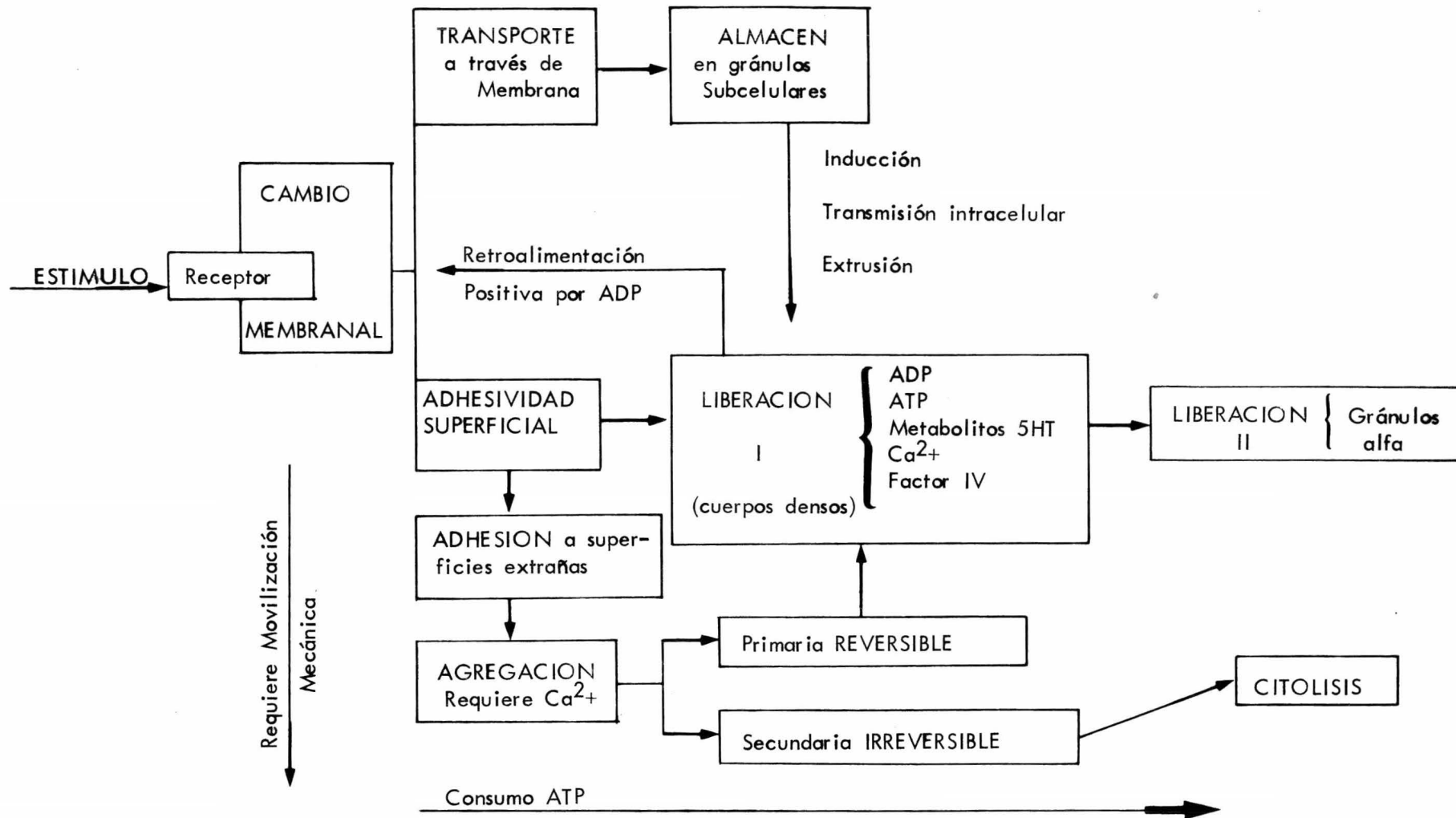


DIAGRAMA 4

( Adaptado de Holmsen )

La vida media de las plaquetas circulantes es de 9 a 11 días y el total de plaquetas -- puede ser renovado en 3 a 5 días. El número de plaquetas circulantes se mantiene debido al equilibrio funcional de las actividades trombopoyética ( médula ósea ) y trombocitolítica ( células endoteliales y bazo ).

Diversos métodos han sido descritos para el recuento de plaquetas en sangre periférica, - y aún cuando ninguno es enteramente satisfactorio, la cuenta directa, que se hace en cámara hemoci- tométrica, es preferible a cuentas indirectas, en las que el cálculo se hace en términos del número de plaquetas por cada mil eritrocitos. La inexactitud en el recuento se debe fundamentalmente a las pro- piedades de adhesividad e inestabilidad morfológica de las plaquetas, así como a su variación de tama- ño.

Las cuentas totales en sangre venosa y arterial son, aproximadamente, 15% más eleva-- das que en sangre capilar.

El número total de plaquetas varía según la edad, aunque no tanto como los leucocitos o eritrocitos, pero el ejercicio agotante, las grandes altitudes y los climas fríos pueden producir ligero aumento.

En general se acepta que, terminada la niñez, las cifras pueden fluctuar de 200 a ---- 400,000 plaquetas por mm cúbico.

## LA SEROTONINA ( 5-HT ).

En los mamíferos, la 5-HT se sintetiza a partir del triptofano en secuencia como la mostrada por el diagrama ( 1 ). En condiciones normales, se convierte en 5HT el 2% del triptofano ingerido.

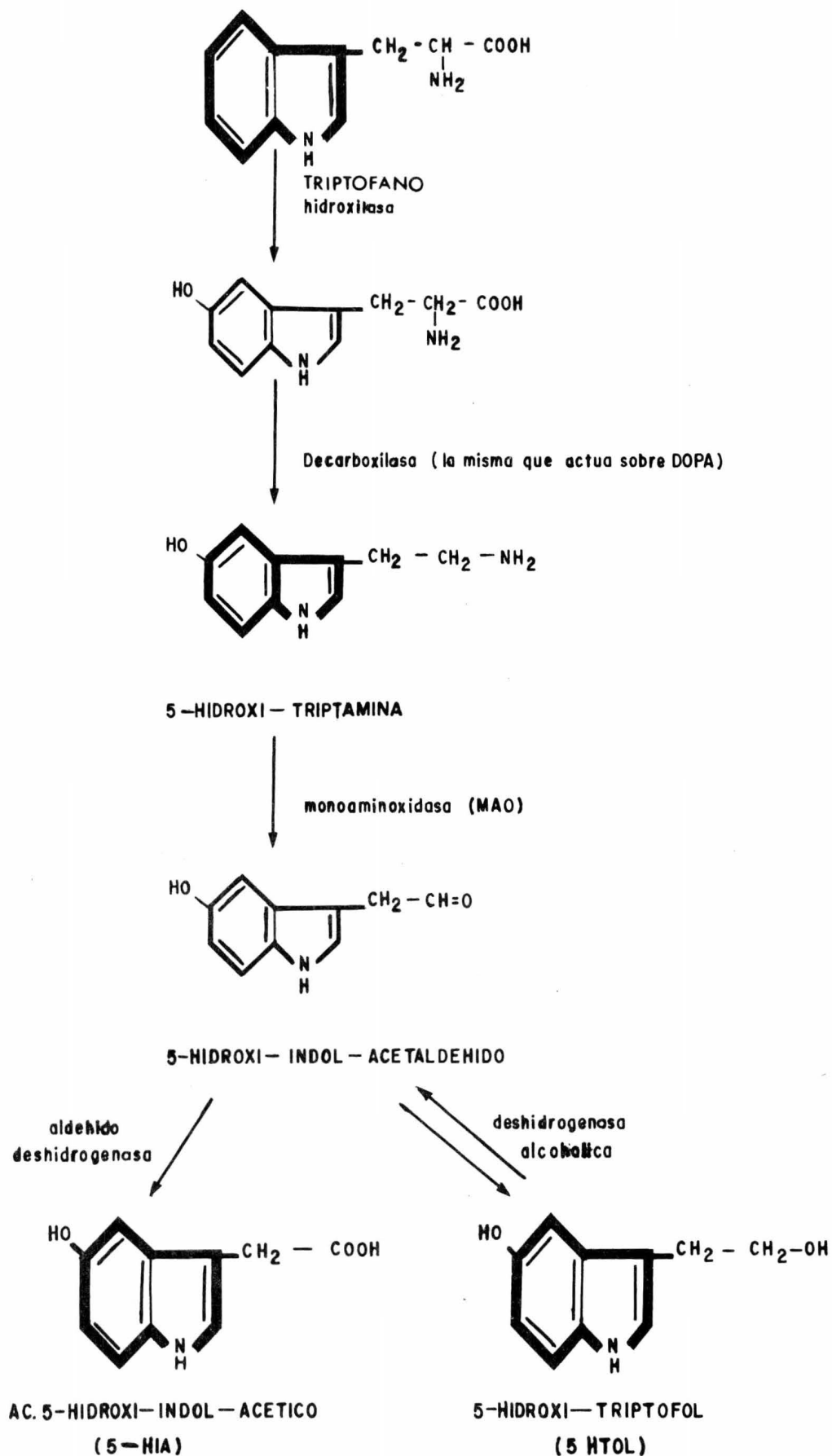
El 90% de la cantidad de 5HT existente en el cuerpo, que en el hombre adulto es de 10 mg aproximadamente, se halla en el intestino, casi toda en células enterocromafines. Del resto, gran parte está contenida en las plaquetas y en el cerebro; pequeñas cantidades pueden detectarse en otros tejidos.

Cada día se sintetiza una cantidad de 5HT aproximadamente igual a la que existe en el cuerpo, lo que indica un metabolismo muy activo. El tiempo de renovación de la 5HT contenida en el cerebro y en el intestino se ha calculado en una hora y 17 horas respectivamente.

La función del sistema de células enterocromafines es todavía oscura, no obstante que el sistema contiene la mayor cantidad de la 5HT en el cuerpo; así como tampoco se ha encontrado solución al enigma de su presencia en las plaquetas; la amina no parece tener un papel significativo en la hemostasia ni en la coagulación, aún cuando teóricamente como vasoconstrictor que es, lo esperado sería que su papel fuera el de aumentar la contracción del vaso para evitar la pérdida de sangre cuando hay lesión.

La 5HT es un autacoide de interés extraordinario y ha dado origen a diferentes especulaciones sobre su papel en diferentes funciones; existen pruebas que enfocan a la 5HT como una sustancia neurohumoral en los mamíferos, ya que en el SNC hay amplia distribución de nervios triptaminérgicos, además de ser precursor de la melatonina, hormona de la glándula pineal.

La serotonina tiene efecto sobre diversos músculos lisos y tejidos nerviosos, lo que da lugar a respuestas muy variadas que abarcan los aparatos cardiovascular, respiratorio y digestivo.



**METABOLISMO DE SEROTONINA (5HT)**

Este autacoide en condiciones adecuadas, estimula la frecuencia cardíaca, la fuerza de contracción y el gasto cardíaco, por acción directa sobre el corazón humano; sin embargo, estos efectos directos pueden ser anulados por los reflejos simpático y parasimpático que se inician como modificaciones concomitantes a variaciones de la presión arterial; o por la misma acción directa de la 5HT sobre los barorreceptores, quimiorreceptores y terminaciones vagales del lecho coronario.

Los cambios de la presión arterial general, por inyección intravenosa de 5HT, son el resultado de tres fases sucesivas: la fase depresora inicial, resultado del quimiorreflejo coronario, que es inhibida por la sección de los vagos y suprimida por agentes bloqueadores colinérgicos ganglionares; este efecto es complementado por la estimulación de barorreceptores. La fase presora se debe principalmente a la acción directa de la 5HT que aumenta la resistencia periférica total y el gasto cardíaco, pero también toma parte en ella la estimulación de quimiorreceptores. La fase depresora final es atribuible a su acción dilatadora directa, principalmente en el músculo esquelético.

La sección simpática a nivel espinal permite una acción presora de la 5HT muy importante, y los vasos más sensibles son los renales. Hay evidencia experimental del aumento de producción de aldosterona como respuesta a la 5HT, pero hay inhibición del efecto antidiurético después de suprarrenalectomía.

Además, la 5HT aumenta la actividad peristáltica en el tracto digestivo estimulando o sensibilizando las terminaciones nerviosas intramurales de células ganglionares; efecto sensibilizante este no exclusivo, ya que una sensibilización mayor también ha sido demostrado en fragmentos de vaso perfundido.

Por efecto indirecto, sobre la liberación de adrenalina, la 5HT aumenta la glicemia, disminuye el glicógeno hepático y estimula la actividad de la fosforilasa hepática.

Su mecanismo a nivel celular, como en el caso de otras aminas autacoides, parece suceder a nivel de membrana aumentando la permeabilidad a iones inorgánicos (facilitando la entrada de -

calcio ); y este movimiento de iones resultante altera el potencial de la membrana y el ambiente iónico intracelular.

Las plaquetas no sólo captan la amina liberada del sistema enterocromafín sino, además, como desprendimientos citoplásmicos del megacariocito, ya poseen serotonina; y a la administración exógena de este compuesto, lo ubican principalmente en las plaquetas. Enorme capacidad cuyo papel fisiológico se desconoce.

Considerando la variedad de funciones con las que ha sido involucrado un posible sistema triptaminérgico, tal como mecanismo inductor del sueño, termorregulación hipotalámica, su aún conjeturada participación en las funciones intelectuales de percepción y talante; y, muy particularmente, - su posible control sobre la inervación simpática y parasimpática, especialmente su acción sobre el sistema cardiovascular, fundamentan su estudio.



## EL MODELO EXPERIMENTAL.

La participación del sistema nervioso simpático en la patogenia de la HAE ha sido fuertemente sospechada, pero su contribución cuantitativa es aún incierta ( 1 ). El hecho de que en ortostatismo, pacientes hipertensos tengan una excreción urinaria aumentada de norepinefrina y disminuída de dopamina ( 2 ), plantea diversas posibilidades de alteración en la cinética metabólica de las catecolaminas, ó bien una modificación en los mecanismos de captación o recaptación tisular de aminas en el organismo.

Asignar un papel a las catecolaminas, en la patogenia de la HAE resulta especialmente importante si se considera la posibilidad de plantearla como el desequilibrio fisiopatológico de un mecanismo de autorregulación, operante de modo normal, tal y como ha sugerido Page ( 3 ). Sin embargo, su demostración requiere un estudio más detallado sobre el funcionamiento del sistema nervioso simpático, a nivel central y periférico, para tener un mayor conocimiento de las causas que propician o constituyen la disfunción.

La complejidad experimental que esta idea representa, plantea un problema de difícil acceso; por lo que el empleo de un sistema libre de inervación simpática directa, que refleje de modo real la situación imperante dentro de los sinaptosomas resultaría de gran utilidad.

Desde 1955 ( 4 ), muchos intentos se han avocado para demostrar la validez del uso de las Plaquetas como modelo experimental para el estudio de la fisiología de las neuronas monoaminérgicas; hasta el momento gran cantidad de evidencias funcionales han sido expuestas para establecer el paralelismo fisiológico entre las Plaquetas, células enterocromafines y terminaciones nerviosas.

Por técnicas histoquímicas, se han demostrado cuatro tipos generales de células asocia--

das con la captación de precursores de aminas autacoïdes o su almacén: las terminaciones nerviosas -- adrenérgicas, las células argentafines o enterocromafines, las células argirófilas o pseudo-enterocromafines ( también llamadas ricas en colinesterasa ) y las células de los mastocitos. Las células pseudo y enterocromafines son parte de un grupo o sistema de células, muchas con función endócrina establecida, las cuales comparten la capacidad de captar y decarboxilar los precursores aminoácidos de las aminas autacoïdes, almacenar la amina y sintetizar o secretar productos determinados ( 5 ).

De las funciones estudiadas en plaquetas tratando de establecer semejanzas con alguno de los cuatro tipos generales de células, sólo dos limitaciones han sido demostradas al modelo experimental:

- 1.- No se ha detectado actividad biosintética de aminas en las plaquetas humanas ( 6 ), y
- 2.- Hay diferencias morfológicas relacionadas con el tamaño de los almacenes granulares subcelulares de aminas. Los gránulos plaquetarios son casi del mismo tamaño que los de células adrenomedulares, células enterocromafines de la mucosa intestinal y vesículas granuladas de las células nerviosas del hipotálamo; pero, son más grandes que los de axones adrenérgicos postganglionares, y menores que los gránulos gigantes de las células del mastocytoma. Además, su densidad en gradiente de sucrosa parece ser el mayor de todos ( 7 ).

Las características comunes que comparte tanto con células cromafines como terminaciones nerviosas son:

- a) Mantienen iones hidrógeno contra un gradiente de concentración; el pH interno de la plaqueta es ácido comparado con el medio en condiciones fisiológicas ( 8 ).
- b) Captan, almacenan y transportan activamente, en diferentes concentraciones, aminoácidos ( 9 ), carbohidratos ( 10 ), pequeños polipéptidos ( 11 ) y otras sustancias orgánicas ( 12 ); pero su papel fisiológico se desconoce.
- c) Autacoïdes como Serotonina ( 13 ), Histamina ( 14 ), Adrenalina ( 15 ), Noradrenalina ( 16 ) y Dopamina ( 17 ) son captados, almacenados y transportados activamente por las

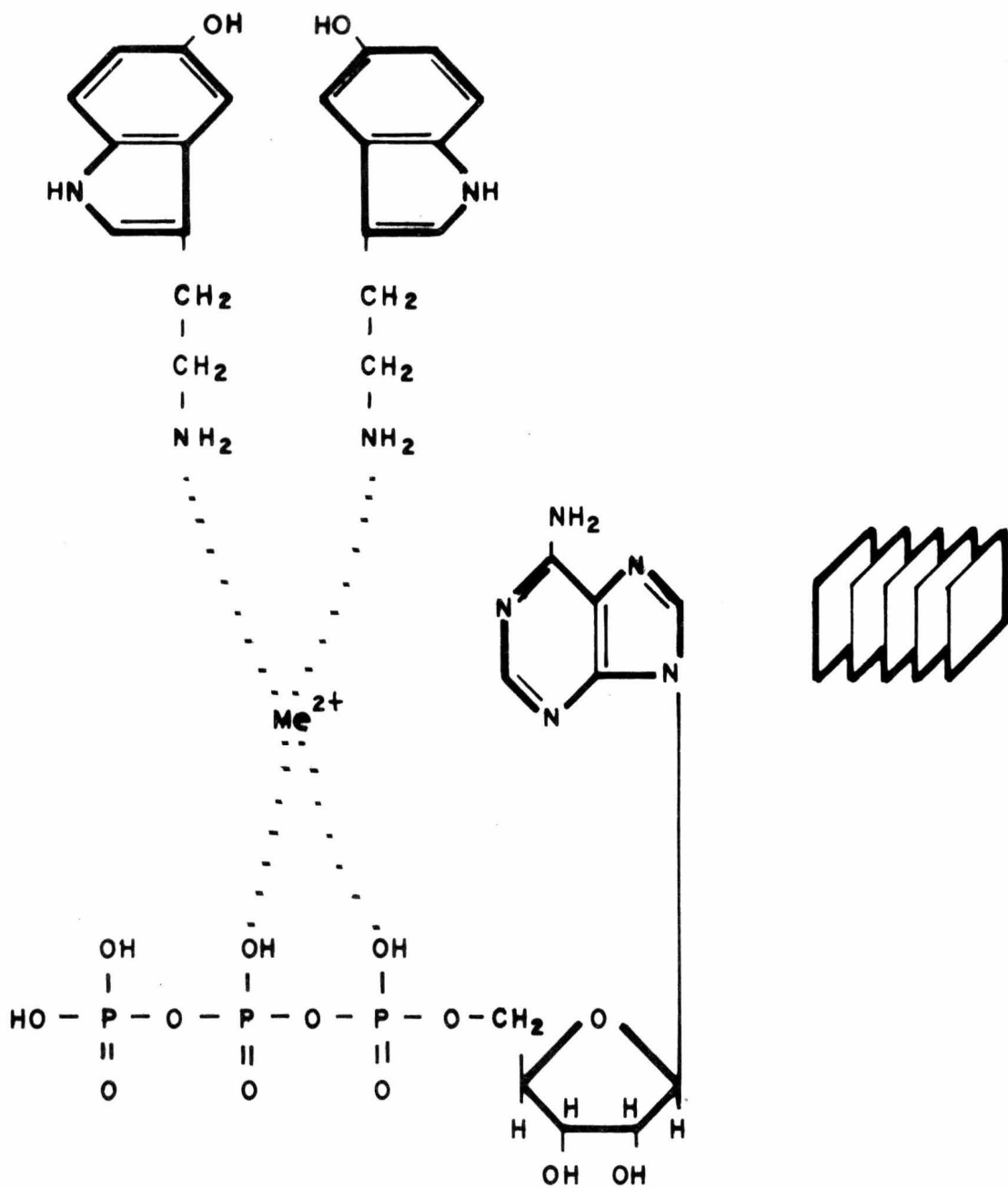


FIG. 1

Da Prade M, A. Pletscher (Life Sci 10, 639, 1971).  
 Estructura hipotética de los agregados formados por  
 serotonina, adenosina 5' trifosfatos y cationes biva-  
 lentes.

plaquetas.

- d) El mecanismo de transporte de aminas se realiza contra un gradiente de concentración. Este proceso funciona en dos etapas: i) la amina al ser transferida a través de la membrana celular presenta requerimiento absoluto de sodio para el funcionamiento del acarreador tal como lo sugieren en su modelo para terminaciones nerviosas adrenérgicas, Bogdansky y Brodie ( 45 ) y que ha sido demostrado para la serotonina en las plaquetas ( 18 ). La absorción de aminas en los fosfolípidos de la membrana plaquetaria, por proceso saturable que es influido por la proporción de colesterol, se ha observado que funciona con NE y 5HT de modo similar a lo encontrado en médula adrenal y sinaptosomas ( 19 ). ii) Durante la segunda fase, la amina es captada por los gránulos subcelulares; en el caso de la 5HT se ha demostrado que la amina se une de modo reversible a agregados de trifosfonucleótidos y cationes bivalentes, como Calcio y Magnesio, hasta alcanzar un estado de equilibrio. Se piensa que la formación de agregados de alto peso molecular sea un principio general para almacenar aminas biogénicas, ya que evidencia como ésta ha sido obtenida para catecolaminas y ATP en gránulos cromafines de médula adrenal. La estructura que ha sido propuesta para los agregados ( 20 ) se esquematiza en la figura 1.
- La importancia de los cationes bivalentes se observa cuando se compara la captación de aminas empleando Heparina o EDTA como anticoagulantes ( 21 ).
- e) La velocidad inicial de captación, a través de la membrana, sigue una cinética de Michaelis-Menten ( 22 ).
- f) La captación de autacoides involucra un mecanismo acarreador de capacidad limitada (estructurado por la membrana), el cual es dependiente de pH ( 23 ), temperatura (24) y es afectado por diferentes inhibidores metabólicos ( 25 ). Se ha propuesto que una ATP-asa, dependiente del balance  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , esté involucrada ( 26 ).
- g) En los tejidos simpáticos, además de la captación de las terminaciones nerviosas, existe

otro mecanismo de captación el cual probablemente representa la captación en tejido extraneuronal. El segundo proceso ha sido llamado captación 2, para distinguirlo del primero. La captación uno, opera a bajas concentraciones de amina y el segundo a concentraciones de 100 a 1000 veces mayores ( 27 ). Estudios comparativos de la actividad inhibitoria específica de los dos mecanismos de captación para Norepinefrina, muestran diferencias importantes entre la captación de NE por neuronas adrenérgicas de rata y plaquetas humanas; sin embargo, dos compuestos con los cuales la inhibición del 50% de la captación es similar se presenta con Metanefrinas para la captación dos y Metaraminol en la captación uno; aunque el significado de estos hallazgos pudiera ser discutido tan sólo desde el punto de vista diferencias de especie, la importancia que puede darsele es considerando que las metanefrinas son un metabolito de las catecolaminas ( por acción de COMT ) y que el Metarminol es un compuesto, no endógeno, que ha demostrado gran afinidad por los sitios de almacén de la Norepinefrina ( 28 ).

- h) La Serotonina y Dopamina son captadas por plaquetas en cantidad y a velocidades muy importantes; la adrenalina, histamina y noradrenalina son captadas a velocidades menores ( 29 ). La proporción plaqueta/plasma de aminas captadas decrece en el orden: serotonina, dopamina, histamina, epinefrina, norepinefrina ( 30 ).
- i) Los mecanismos involucrados en la captación de fármacos como reserpina, guanetidina, quinidina, procaína, clorpromazina y derivados demetilados de la fenotiacina, en su paso a través de la membrana son similares, pero se ha demostrado que su afinidad por los gránulos subcelulares es diferente ( 31 ).
- j) El pretratamiento, *in vitro*, de las plaquetas con Litio aumenta la captación de monoaminas, tal como sucede en los sinaptosomas ( 32 ).
- k) La captación de Dopamina, Norepinefrina y Serotonina es disminuida o inhibida por ouabaina, quinidina, desipramina, reserpina, prenilamina y cocaína; tal como sucede en las células cromafines y terminaciones nerviosas. La 6-hidroxi-dopamina inhibe la captación-

de norepinefrina tal como sucede con células cromafines; pero ambas difieren importantemente de la inhibición en terminaciones nerviosas, no afecta la captación de serotonina. La inhibición de la captación puede ubicarse en tres niveles distintos: en el mecanismo de transferencia de la membrana, acción directa sobre la membrana o interferencia con los almacenes granulares ( 33 ).

- l) Los fármacos que interfieren la captación neuronal de NE tienen un efecto similar sobre la plaqueta: es disminuida por serotonina, triptamina, tiramina, amfetamina, bretilio, debrisoquin y antidepresores tricíclicos ( 34 ).
- m) Posterior a la administración peritoneal de serotonina, dopamina, y norepinefrina, se ha observado que estas aminas tienen una localización preferencial en los organelos subcelulares demostrados antes sólo para serotonina, lo que establece el constante intercambio exógeno de aminas en las plaquetas, proceso ya señalado como reversibilidad de la --- unión de aminas al agregado subcelular de alto peso molecular. Las aminas almacenadas en las plaquetas pueden ser liberadas ( 35 ). La Dopamina se libera más rápidamente -- que la Serotonina ( 36 ).

La liberación de aminas acumuladas es estimulada por reserpina, prenilamina, clorpromazina, tiramina y derivados demetilados de la fenotiacina. En general, se ha observado que las sustancias que liberan serotonina, también liberan Histamina y catecolaminas después que se han acumulado ( 37 ).

La liberación de serotonina e histamina plaquetaria puede ser causada por agentes citolí ticos, enzimas proteolíticas ( trombina, tripsina ), endotoxinas bacterianas, algunos venenos animales, reacciones antígeno-anticuerpo y glicógeno. La reacción siempre es rápida y algunas veces requiere calcio ( 38 ).

La aplicación de las Plaquetas, como modelo experimental, al estudio de diversos estados patológicos, tal como síndrome de Down ( 39 ) enfermedad de Parkinson ( 40 ), corea de Huntington, ( 41 ), autismo ( 42 ), cirrosis e hipertensión ( 43 ) y esquizofrenia ( 44 ); ha permitido la de--

tección de un manejo diferente de las monoaminas por las plaquetas; lo que pudiera estar reflejando - alteraciones del sistema nervioso a nivel de estructura ó mecanismos de transporte en la membrana ó - bien una modificación de los niveles circulantes, tanto central como periféricamente, de aminas autacoides.

Aunque la causa, a nivel bioquímico, de la diferencia observada no ha sido aclarada - en todos los casos, el aplicar este modelo experimental como un intento más en el esclarecimiento de la etiopatogenia de la HAE, constituye una oportunidad inapreciable.

La elección de aminas para el estudio se hizo considerando dos aspectos :

- i) Dopamina y Norepinefrina, dos catecolaminas ampliamente involucradas en la patogenia de la HAE, y
- ii) Serotonina, por ser una autacoide vasoactivo que se encuentra en grandes cantidades en las plaquetas, y al cual no se ha atribuído un papel fisiológico determinado.

## 5.- MATERIAL Y METODO.

### Materiales.

Los compuestos radiactivos empleados son :

- a)  $^{14}\text{C}$ -Dopamina (  $^{14}\text{C}$ -2C etilamina-dopamina; actividad específica 56 Ci/mol) de Radiochemical Centre, Amersham. Solución  $10^{-3}\text{M}$
- b)  $^{14}\text{C}$ -Serotonina ( 5 hidroxil-3indolil / 1- $^{14}\text{C}$ etil -2 amina, creatinina sulfato; actividad específica 59 Ci/mol.) de Radiochemical Centre Amersham. Solución  $10^{-3}\text{M}$
- c)  $^3\text{H}$ -Norepinefrina ( levo-Norepinefrina-7-  $^3\text{H}/\text{N}$ ); actividad específica 3.8 Ci por mol ) de New England Nuclear. Solución  $1.2 \times 10^{-3}\text{M}$ .
- d)  $^{14}\text{C}$ -Sorbitol ( D/U- $^{14}\text{C}$  /Sorbitol; actividad específica 9.5 Ci/mol ) de Radiochemical Centre Amersham. Solución  $2 \times 10^{-3}\text{M}$ .

La dopamina, serotonina, y sorbitol se encontraban en solución de ácido ascórbico (1 mg/ml); la norepinefrina en solución de ácido acético (0.2 N): etanol ( 96°) en proporción 90:10; con volúmen suficiente para obtener las concentraciones señaladas.

PPO ( 2-5 difenil oxazida ) y POPOP ( 1,4 bis 2-5 fenil oxazolil/benceno ) grado centelleo, tolueno ( QP ) y Arkopal ( N-100, M; de Química Hoechst de México. Detergente no iónico) fueron empleados en solución PPO-POPOP-Tolueno ( 2.5% ), tolueno y Arkopal en proporción 42:1000: 344 ( v:v:v ) como líquido de centelleo para cuantificación de la radiactividad ( emisión beta ).

### SUJETOS ESTUDIADOS :

Grupo testigo formado por 25 personas con rango de edad 17 a 57 años, peso 46 a 77 -



kg. Presión Arterial diastólica 64 a 90 mm de Hg y sistólica de 90 a 132 mm Hg; 14 mujeres y 11 hombres.

Hipertensos.- Clasificados como Esenciales Fronterizos ( Servicio de Angiología del Instituto Nacional de Cardiología ) constituido por 15 pacientes con rango de edad 26 a 60 años, peso 47 a 68 kg , Presión arterial diastólica 80 a 114 mm Hg y sistólica de 120 a 190 mm Hg; 13 mujeres y 2 hombres.

Los recuentos de plaquetas en sangre venosa fueron 1.35 a 5.95 y 0.95 a 5.45  $\times 10^5$  por  $\text{mm}^3$ , en los grupos control e hipertenso respectivamente.

#### METODO :

Los pacientes fueron citados con una semana de intervalo para realizar primero el estudio de captación y después liberación. A los sujetos en estudio, entre 8 y 10 a m en ayunas, se les practicó venupuntura ( aguja No. 21 y Jeringas de plástico ) para obtener 30 ml de sangre, la cual fué colectada en tubos de centrífuga ( de plástico ) conteniendo 1.0 ml de solución anticoagulante EDTA disódico ( al 1% en solución de cloruro de sodio 0.85 %, pH = 7.4 ) y que se encontraban sumergidos en hielo. La proporción anticoagulante-sangre es 1:10.

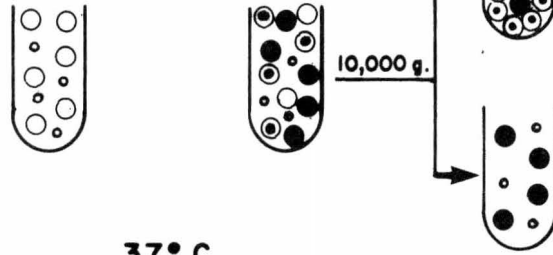
El plasma rico en plaquetas fué obtenido separando el paquete globular ( eritrocitos y leucocitos ) por centrifugación ( 100 g, 20 min, 4°C ), dentro de los 15 minutos siguientes al sangrado.- Toda la manipulación posterior del plasma se hizo con material plástico. La separación del plasma fué inmediata y el tiempo transcurrido hasta el momento de iniciar el ensayo, que fué aproximadamente una hora, el plasma se conservó en hielo.

El recuento microscópico de las plaquetas se hizo por contraste de fases, en cámara de Neubauer por duplicado, empleando 20 microlitros de plasma rico en plaquetas diluido ( 1: 200 ) con solución de oxalato amónico ( 1% ), reciente y filtrado ( 1 ).

Los ensayos de captación y liberación se realizan como los descritos por Stacey R S, -- modificados por Boullin D J ( 2 ).

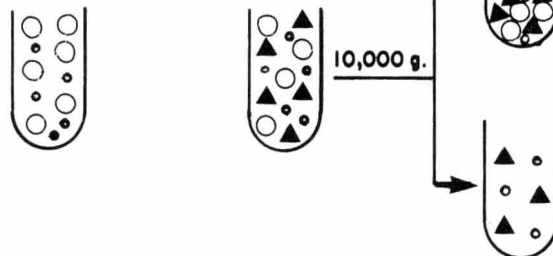
**CAPTACION.**

● Amina



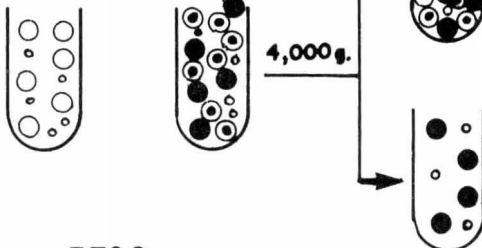
37° C  
t(min.)

▲ sorbitol



**CAPTACION.**

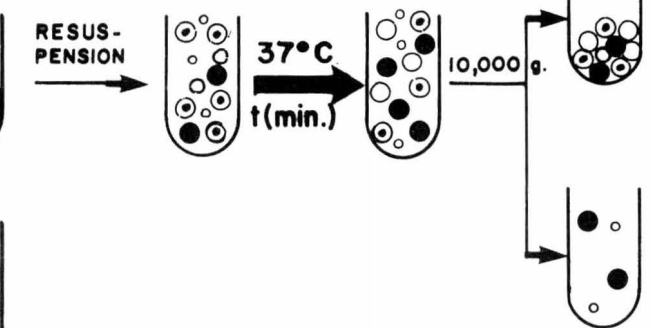
● Amina



RESUS-PENSION

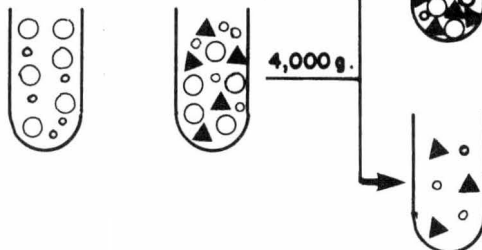
**LIBERACION.**

37° C  
t(min.)



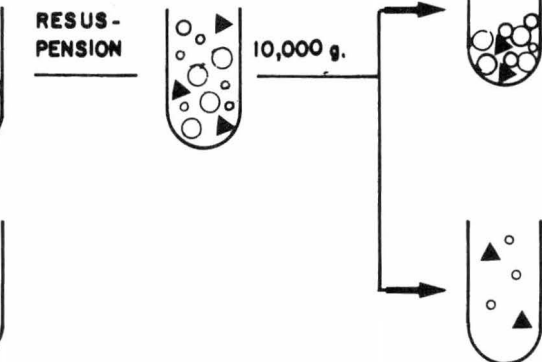
37° C  
60 min.

▲ sorbitol



RESUS-PENSION

10,000 g.



La amina marcada (●) se distribuye dentro de la plaqueta (⊙) y en los intersticios formados durante la centrifugación. El sorbitol marcado (▲) solo se ubica en los intersticios.

### Ensayo de Captación.

Se emplean alícuotas de 1.0 ml de plasma rico en plaquetas y se incuban, en baño de agua a 37°C; después de 5 minutos de preincubación se adiciona la amina correspondiente ( dopamina, norepinefrina o serotonina ), contenida en 10 microlitros, mezclando por agitación ( Vortex ) y sellando inmediatamente el tubo ( Parafilm ); de este modo se obtiene una concentración final de amina en el mililitro de plasma de  $10^{-6}M$ . Empleando una alícuota independiente en cada caso, se estudia la captación incubando a 10, 30 y 90 minutos con cada una de las tres aminas propuestas. Al término del tiempo correspondiente los tubos se sacan del baño y sumergen en hielo, para detener la captación, y las plaquetas son separadas inmediatamente por centrifugación ( 10000 g, 5 minutos, 4°C ). El plasma pobre en plaquetas que se obtiene, es decantado a otro tubo; el interior de cada tubo que contiene el botón de plaquetas se seca con papel absorbente, para eliminar el plasma residual.

Al botón de plaquetas se adiciona 1.0 ml de agua bidestilada para lisarlas por sonicación ( MSE Sonifier, L - 2, 10 segundos ).

Alícuotas del plasma pobre en plaquetas ( 0.1 ml ) y de la suspensión de plaquetas lisadas ( 0.5 ml ) son mezcladas con 10 ml de líquido de centelleo ( señalado en materiales ) y el contenido de radi-actividad cuantificado en un espectrómetro de centelleo líquido ( Packard 3375, Tri-carb. Realizado en el departamento de Investigación Científica, IMSS. ). Cada muestra se contó durante 10 minutos y la eficiencia de conteo fué corregida usando estándar externo. (  $^{226}Ra$  ) para  $^{14}C$  y  $^3H$ .

### Ensayo de Liberación.

Se procede tal como se indica en Captación deteniendo ésta a los 60 minutos. Las plaquetas son separadas por centrifugación ( 4000 g, 5 minutos, 4°C ), el plasma pobre en plaquetas es decantado a otro tubo y conservado para cuantificación posterior. El botón de plaquetas es resuspendido; primero, con una gota de solución anticoagulante diluido ( 1:10 en cloruro de sodio 0.9% ) y agitación vigorosa ( Vortex ) hasta desintegración visual del botón ( aproximadamente 10 segundos ) y, segundo, adición de 1.0 ml. de plasma pobre en plaquetas ( obtenido por centrifugación del paquete -

globular a 1500 G y diluido, 1:1, con cloruro de sodio 0.9%). Durante el proceso de resuspensión las plaquetas fueron siempre conservadas en hielo.

El plasma rico en plaquetas, así obtenido, se incuba a 37°C en tubos sellados (parafilm) durante 10, 30 y 60 minutos. Empleando tubos independientes para cada tiempo. Al término del tiempo correspondiente los tubos son sumergidos en hielo y centrifugados inmediatamente (10000 g, 5 min, 4°C); el plasma pobre en plaquetas que se obtiene (resuspendido) se decanta a otro tubo; el botón de plaquetas secado y lisado tal como en captación. Alícuotas del plasma decantado primero (0.1 ml), plasma resuspendido (0.5 ml) y suspensión de plaquetas lisadas (0.5 ml) son mezcladas con 10 ml de líquido de centelleo para cuantificación de radiactividad.

La cantidad de material radiactivo que, no habiendo entrado a las plaquetas, queda atrapado en los intersticios durante la centrifugación se corrige usando Sorbitol -<sup>14</sup>C, que se sabe no entra a las plaquetas. Un ml de plasma rico en plaquetas de cada paciente es ensayado para captación a 10 minutos empleando Sorbitol -<sup>14</sup>C en vez de amina. Para la corrección de volumen atrapado en los intersticios en los ensayos de liberación, se emplean dos alícuotas de plasma (1.0 ml), una para corrección de captación a 60 minutos y otra para determinar el volumen atrapado durante el proceso de resuspensión sin reincubar.

La corrección se aplica como porcentaje de dpm (desintegraciones por minuto) atrapadas relativas a la dpm totales para cada alícuota de plasma estudiado, en cada tiempo con cada amina. El número de dpm atrapadas totales es restado de las dpm presentes en la suspensión de plaquetas lisadas.

Ejemplo :

dpm en suspensión de plaquetas con Sorbitol = 1595

dpm en plasma decantado con Sorbitol = 76793

dpm Totales = 77120, entonces % volumen atrapado = 0.41 %.

Caso de alícuota en que se estudia captación de DA a 10 minutos: dpm en suspensión de plaquetas con dopamina = 2983.

dpm en plasma decantado = 9573; entonces, dpm Totales = 101696

% volumen atrapado = 0.41, por lo que dpm atrapadas totales = 417

Por lo tanto, dpm dentro de las Plaquetas = 5549.

Los esquemas de trabajo, para un tiempo con una amina, durante el ensayo de captación y liberación se esquematizan en la figura 1.

Los resultados de captación se expresan como nmol de amina/ $10^{11}$  plaquetas (diez a la once:  $10^{11}$  son el número aproximado de plaquetas contenidas en un gramo y que se encuentran en 0.5 litro de sangre total).

Los datos de liberación pueden establecerse de tres modos: a) como la cantidad residual de amina en las plaquetas; b) la cantidad que salió, es decir, la diferencia entre lo que entró a los 60 minutos y la que se encuentra a 10, 30 ó 60 minutos después de resuspender y volver a incubar; ó bien, c) lo mismo del inciso (b), pero expresado como porcentaje relativo a la máxima cantidad que entró a los 60 minutos.

La relación general empleada para los cálculos es :

$$\frac{\text{nmol}}{10^{11} \text{ plaquetas}} = \frac{(\text{dpm en suspensión de plaquetas} - \text{dpm atrapadas totales}) \times 10^{11}}{(\text{dpm totales adicionadas}) \times \text{plaquetas / ml.}}$$

Ejemplo.:

a) Captación de DA a 60 minutos

dpm suspensión plaquetas = 12970

dpm plasma decantado = 7822

% de volumen atrapado = 0.53%

Plaquetas/ml =  $2.15 \times 10^8$

Sustituyendo en la relación general :

$$\frac{(25490 - 552) \times 10^3}{(104160 \times 2.15)} = 113.37 \text{ nmol}/10^{11} \text{ plaquetas}$$

b) Liberación de DA, después de reincubación a 10 minutos. (el mismo caso anterior).

$$\text{dpm suspensión plaquetas} = 10750$$

$$\text{dpm plasma decantado} = 7325$$

$$\text{dpm plasma resuspendido} = 1299$$

$$\% \text{ volumen atrapado} = 0.02$$

$$\text{Plaquetas / ml.} = 2.15 \times 10^8$$

Sustituyendo en la relación general :

$$\frac{(21500 - 41) \times 10^3}{(97348 \times 2.15)} = 102.53 \text{ nmol}/10^{11} \text{ plaquetas.}$$

Por lo tanto :

$$\text{i) Captación a 60 minutos} = 113.37 \text{ nmol}/10^{11} \text{ plaquetas (Co: 60)}$$

$$\text{Cantidad residual a 10 minutos} = 102.53 \text{ nmol}/10^{11} \text{ Plaq.}$$

$$\text{ii) Liberación a 10 minutos} = 10.74 \text{ nmol}/10^{11} \text{ Plaq.}$$

$$\text{iii) \% de aminas liberadas} = 9.47\%$$

Estimaciones estadísticas empleadas.

1.- Coeficiente de variación (C.V.)

Siendo necesario conocer la precisión de la técnica, se estimó la variabilidad intrasujeto, ya que está relacionada directamente con la variación del error de medida; para lo cual se determinó la varianza entre duplicados ( $V_i$ ) y se estimó la varianza media entre las diferentes determinaciones ( $\bar{V}$ ). Las relaciones empleadas para su cálculo son :

$$V_i = \sum x^2 - (\sum x)^2 / 2, \text{ por tratarse de duplicados.}$$

$$\bar{V} = \sum V_i / n$$

donde,  $x$  es el valor de cada uno de los duplicados y  $n$  el número de determinaciones por duplicado.

El coeficiente de variación (c.v.) se expresa como porcentaje y se obtiene mediante la relación :

% c.v. =  $\sqrt{\bar{V}}$  x 100 /  $\bar{X}$  , donde  $\sqrt{\bar{V}}$  es la desviación estandar y  $\bar{X}$  el valor promedio.

a) Para estimar el (c.v.) intraensayo se hicieron determinaciones por duplicado del mismo sujeto con intervalos de una hora (in vitro) y en tres tiempos diferentes. Realizando éstas de terminaciones el mismo día.

b) El c.v. interensayo corresponde a la varianza media de duplicados de muestras independientes en experimentos realizados en días al azar.

Habiendo hecho ésto para captación y liberación.

2.- Para determinar si había diferencia entre los grupos estudiados se empleó la técnica de la hipótesis nula; se supuso que no había diferencia entre los grupos ( $\mu_1 = \mu_2$ ) es decir, el valor medio de los parámetros estudiados en la población Normotensa es igual a la Hipertensa. Se supuso que los parámetros medidos se distribuyen normalmente (modelo gaussiano) y se empleó una distribución de  $t$ , por desconocer la verdadera dispersión ( $\sigma$ ) de la población; y se seleccionó de dos colas por ignorar la probable ubicación del grupo de prueba en relación al control. Así, para inferir sobre la media de las poblaciones ( $\mu$ ) se consideró la confiabilidad de las estadísticas  $\bar{X}$  (media aritmética) y  $S$  (desviación estándar) como estimados de  $\mu$  y  $\sigma$  de la población, respectivamente.

Los límites de confianza para la población se estiman como :

$$0.95 = \Pr \left\{ \bar{X} - t_{n-1,0.05} S/n \leq \mu \leq \bar{X} + t_{n-1,0.05} S/n \right\}$$

Por lo que cualquier  $\mu_0$  no incluida en los límites de confianza será **significativamente diferente** en el nivel de 5% de error por variación muestral.

La comparación de medias ( $\bar{X}$ ) se trabajó como muestras independientes, con diferente número de observaciones por grupo. La prueba de  $t$  de Student fué precedida por una prueba de homogeneidad de varianza en los dos grupos. Esto se hizo con la prueba de  $F$ , en la cual se emplea la hipótesis nula de que las estadísticas de dispersión son iguales en las poblaciones estudiadas ( $S_1 = S_2$ ); se empleó una distribución de dos colas y un nivel de confianza de 0.05.

Las relaciones empleadas fueron :

$$F = S^2_N/S^2_H, \text{ con } n-1 \text{ grados de libertad por grupo}$$

Para la prueba de 't' se determinó el valor de la t exp. con la siguiente relación, cuando las varianzas fueron homogéneas.

$$t = \frac{\bar{X}_N - \bar{X}_H}{\sqrt{\left\{ \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2_N + \sum (X_i - \bar{X})^2_H}{n_N + n_H - 2} \right\} \left( \frac{1}{n_N} + \frac{1}{n_H} \right)}}$$

Y la t teórica se definió con  $n_N + n_H - 2$  grados de libertad de una tabla de distribución de t de Student de dos colas.

Para los casos en que las varianzas fueron heterogéneas se empleó la aproximación de Cochran; así la t exp. y la t teórica se calcularon como se indica :

$$t \text{ exp.} = \frac{\bar{X}_N - \bar{X}_H}{\sqrt{\frac{S_N^2}{n_N} + \frac{S_H^2}{n_H}}}$$

donde  $\bar{X}$  es el valor medio para N: normotensos y H: hipertensos.  $S^2$  es la varianza y n el # de sujetos por grupo.

$$\text{la t teórica} = \left\{ \frac{S_N^2 \times t_N}{n_N} + \frac{S_H^2 \times t_H}{n_H} \right\} \left\{ \frac{S_N^2}{n_N} + \frac{S_H^2}{n_H} \right\}^{-1}$$

donde S y n significan lo mismo que en la relación anterior, y  $t_N$  y  $t_H$  es el valor de t de Student de la distribución de 2 colas con n-1 grados de libertad respectivos y un nivel de confianza de 0.05

El análisis por correlación lineal que se realizó con los datos de captación incluye dos etapas :

a) Se determinó el coeficiente de correlación de acuerdo con Pearson :

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x}) (y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$



donde  $x$  son los tiempos de incubación y la magnitud de la captación.

b) La regresión lineal por mínimos cuadrados para estimar el valor de la "pendiente" - ( tangente del ángulo que forma la recta con el eje de las abscisas ) y el intercepto con la ordenada.

La expresión general para realizar la regresión lineal por mínimos cuadrados:

$$\bar{Y} = b + mx$$

donde  $b = \bar{Y} - m\bar{x}$  y  $m = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sum(x - \bar{x})^2}$

$b$ : ( ordenada de origen )  $m$ : ( pendiente )

$\bar{y}$  es el valor promedio de la captación y  $\bar{x}$  es el valor promedio del tiempo.

## 6.- RESULTADOS.

Se expresan como valor promedio  $\pm$  error tipo; primero para el grupo testigo y segundo para el grupo Hipertenso.

En el CUADRO I se muestran las características de los Grupos Testigo e Hipertenso --- Esencial Fronterizo. Los valores de Presión Arterial (  $109.44 \pm 2.91/ 77.44 \pm 2.01$  y  $144.00 \pm 5.84/ 100.00 \pm 3.36$  ) y Edad (  $29.00 \pm 2.29$  y  $47.66 \pm 2.58$  ) son significativamente mayores en el grupo Hipertenso.

Plaquetas/ $\text{mm}^3$  en sangre venosa y Peso Corporal no son significativamente distintos en los grupos estudiados.

Para la valoración de los datos que se incluye, se seleccionaron aquéllos pacientes a los que máximo les faltaba una determinación; no considerando a más de dos pacientes en este caso -- por grupo.

Comparando la evaluación estadística, CUADRO II: CAPTACION y CUADRO III: LIBERACION, con la de todos los datos obtenidos, que no se incluye, se obtienen diferencias significativas sólo en los mismos tiempos y aminas. Sin embargo los valores promedio difieren; especialmente si se -- comparan los valores obtenidos para Captación a 60 minutos de DOPAMINA (  $111.76 \pm 11.19$  y  $64.50 \pm 9.44$  ), NOREPINEFRINA (  $21.25 \pm 2.19$  y  $16.39 \pm 1.13$  ) y SEROTONINA (  $326.22 \pm 62.32$  y  $146.98 \pm 22.85$  ) con los esperados por interpolación con los datos de Captación, CUADRO II, que se rían, para DOPAMINA (  $90.16$  y  $63.83$  ) NOREPINEFRINA (  $17.58$  y  $17.18$  ), y para SEROTONINA (  $221.31$  y  $184.08$  ). Esta divergencia se consideró es atribuible a diferentes factores, entre los cuales la reducida casuística, la heterogeneidad mayor del grupo Testigo y, posiblemente, la diferencia en --

edades.

La captación de DOPAMINA se encontró significativamente disminuída en el grupo Hipertenso a los 30 (  $63.13 \pm 2.85$  y  $44.25 \pm 2.11$  ), 60 (  $111.76 \pm 11.19$  y  $64.50 \pm 9.44$  ) y 90 minutos (  $127.85 \pm 7.12$  y  $91.62 \pm 4.54$  ); es dependiente del tiempo hasta 90 minutos (  $r = 0.99$  y  $-0.99$  ), no alcanzando máxima saturación. El análisis por correlación lineal ( TABLA I ), establece que la velocidad de Captación es significativamente menor en el grupo Hipertenso (  $1.38 \pm 0.07$  y  $-0.99 \pm 0.06$  ).

En los grupos estudiados la Captación de NOREPINEFRINA no presenta diferencia significativa en ningún tiempo; es dependiente de el tiempo hasta 90 minutos (  $r = 0.99$  y  $0.99$  ). Se determinó que la velocidad de Captación no difiere significativamente.

En los ensayos de Captación de SEROTONINA no se encontraron diferencias significativas; pero es importante señalar la gran heterogeneidad operante en ambos grupos, siendo mayor en el grupo Testigo ( c.v.% -57.85, 58.08, 56.88-y -37.79, 51.03, 50.25-para 10, 30 y 90 minutos respectivamente ), lo que no permite delimitar a cada grupo claramente. No se encontró dependencia entre la Captación y el tiempo (  $r = 0.66$  y  $0.54$  ), estableciéndose que la máxima captación se obtuvo desde el primer tiempo estudiado. Es interesante puntualizar que la gran dispersión encontrada con los experimentos de Captación de Serotonina ( 30 a 50% ) ya ha sido reportada por otros autores trabajado en condiciones similares y a la misma concentración; lo que puede pensarse sea originada porque una gran cantidad de factores afectan la Captación de Serotonina in vitro, lo que fundamentalmente requiere un análisis más detallado del método.

En los experimentos de LIBERACION: CUADRO III, se determinó Captación de DOPAMINA, a 60 minutos, significativamente menor en el grupo Hipertenso (  $111.76 \pm 11.19$  y  $64.50 \pm 9.44$  ). NOREPINEFRINA y SEROTONINA no muestran diferencia.

La valoración de la cantidad de amina residual en las plaquetas, CUADRO IV, muestra

una disminución significativa de DOPAMINA a los 10 (  $91.05 \pm 7.52$  y  $47.85 \pm 12.14$  ), 30 (  $84.54 \pm 7.41$  y  $42.58 \pm 11.79$  ) y 60 minutos (  $74.50 \pm 5.22$  y  $37.99 \pm 8.79$  ) de reincubación, para el grupo Hipertenso.

Con NOREPINEFRINA la amina residual es significativamente menor en el grupo Hipertenso a los 30 (  $15.06 \pm 1.53$  y  $9.99 \pm 1.60$  ) y 60 minutos de reincubación (  $14.50 \pm 1.63$  y  $9.48 \pm 1.69$  ).

La cantidad residual de SEROTONINA es significativamente menor en el grupo de Hipertensos a los 10 minutos (  $316.55 \pm 61.57$  y  $120.27 \pm 26.22$  ) de reincubación.

Para determinar la cantidad de amina liberada ( Cuadro V ) y el porcentaje de liberación ( Cuadro VI ), se estimaron los valores individuales y con éstos se hizo la evaluación estadística.

En ningún tiempo y con ninguna amina se encontraron diferencias significativas en la cantidad ó porcentaje de amina liberada.

Si se consideran los valores promedio del porcentaje de liberación de SEROTONINA ( -3.10, 3.61, 4.51 y -22.20, 18.68, 17.37; para 10, 30 y 60 minutos respectivamente ), se vé que el grupo de Hipertensos parece liberar seis veces más Serotonina que el grupo de Normotensos, pero la comparación carece de valor al considerar la heterogeneidad de ambos grupos.

CUADRO I

	NORMOTENSOS	HIPERTENSOS	P* (menor de)
EDAD ( años )	29.00 $\pm$ 2.29 ( 25 )	47.66 $\pm$ 2.58 ( 15 )	0.05
PESO ( kg )	60.52 $\pm$ 1.89	58.53 $\pm$ 1.34	-----
PLAQUETAS / mm <sup>3</sup> ( x10 <sup>5</sup> )	3.11 $\pm$ 0.21	2.94 $\pm$ 0.36	-----
PRESION ARTERIAL ( mm de Hg )	SISTOLICA		
	109.44 $\pm$ 2.91	144.00 $\pm$ 5.84	0.05
	DIASTOLICA		
	77.44 $\pm$ 2.01	100.00 $\pm$ 3.36	0.05

\* ( P por t de Student )

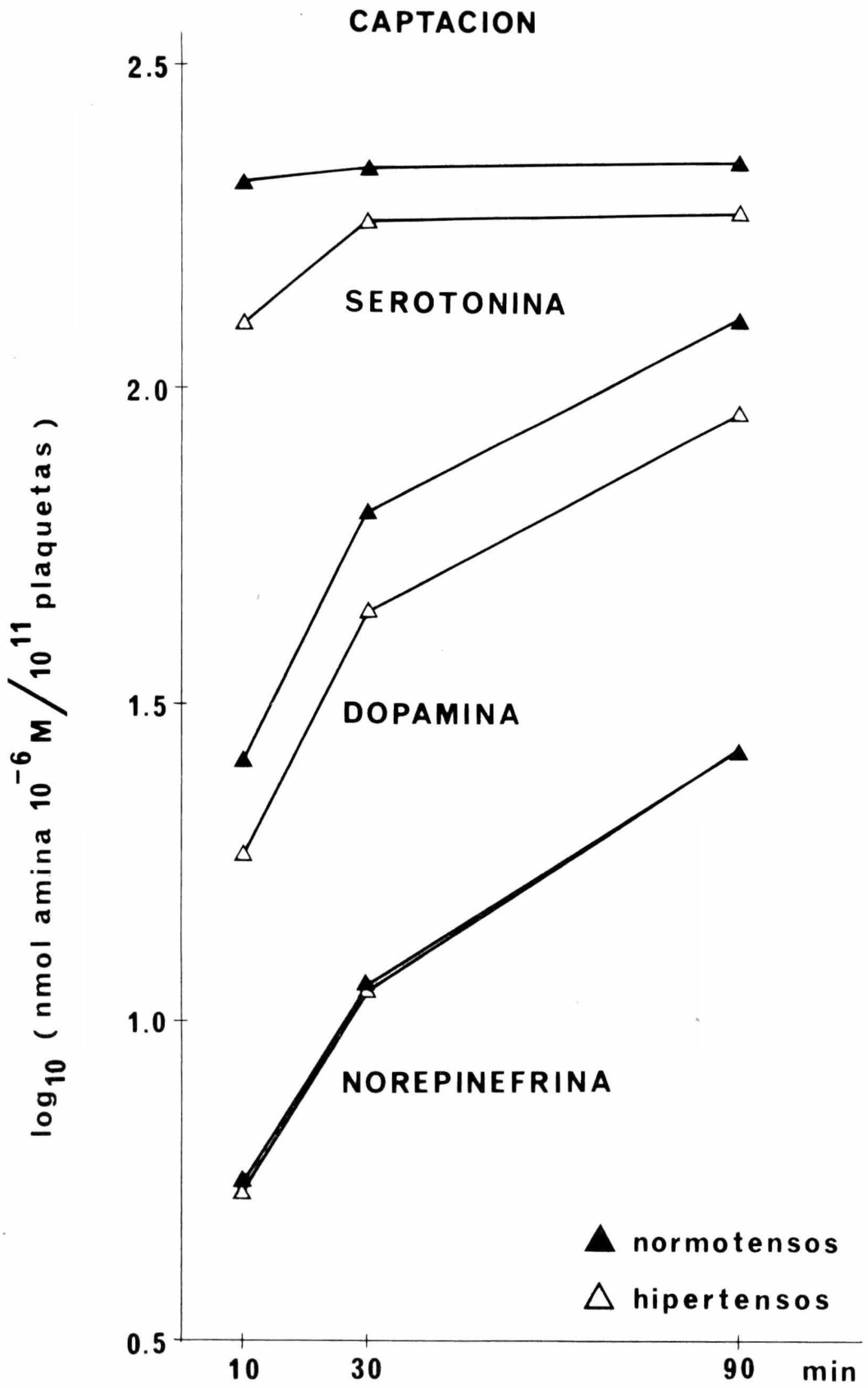
/ Valores promedio  $\pm$  Error estándar /

CUADRO II : CAPTACION

	DOPAMINA			NOREPINEFRINA			SEROTONINA		
	( nmol de amina $10^{-6}$ M/10 <sup>11</sup> plaquetas )								
	10	30	90	10	30	90	10	30	90
	( min )								
<u>NORMOTENSOS*</u>	25.84	63.13	127.85	5.51	11.28	27.13	209.52	220.64	224.65
( <u>+</u> Error st. )	1.66	2.85	7.12	0.55	1.01	2.82	38.33	40.52	40.41
No. de sujetos	24	24	24	15	15	15	10	10	10
HIPERTENSOS*	18.12	44.25	91.62	5.37	11.07	27.25	126.60	182.22	184.86
( <u>+</u> Error st. )	1.23	2.11	4.54	0.71	2.12	4.34	19.53	37.96	37.89
No. de sujetos	4	5	5	5	5	5	6	6	6
p**	----	< 0.05	< 0.05	----	-----	-----	----	-----	-----

/Donde, \*: valor promedio; \*\* = P por t de Student /.

AMINA DENTRO DE LAS PLAQUETAS (gráfica 1).



gràfica 1

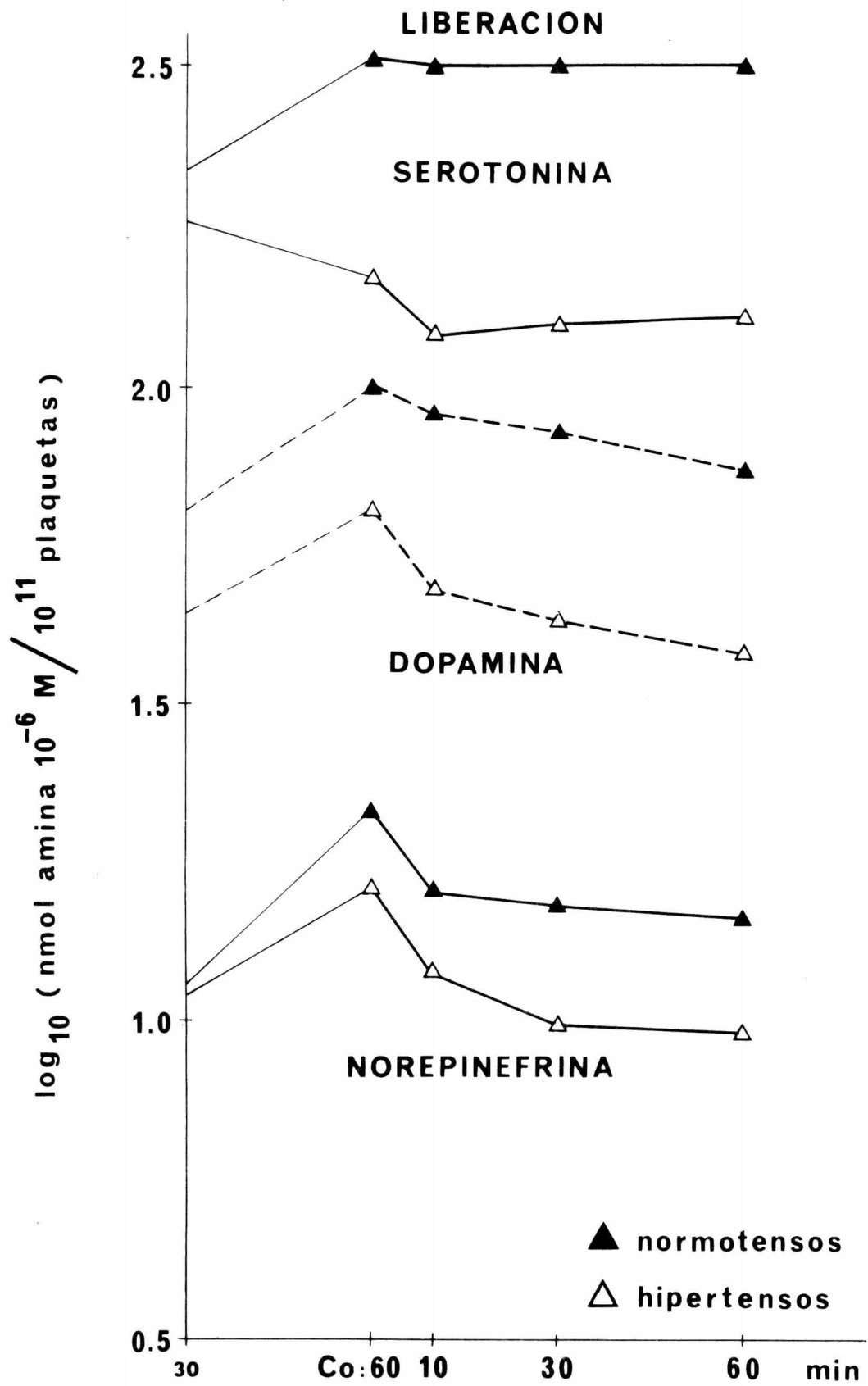
CUADRO III: LIBERACION

Co:60	DOPAMINA			NOREPINEFRINA (nmol de amina $10^{-6}$ M/ $10^{11}$ plaquetas)				SEROTONINA			
	10	30	60	Co:60	10	30	60	Co:60	10	30	60
<u>NORMOTENSOS</u>				(min)							
111.76*	91.05	84.54	74.50	21.25	15.83	15.06	14.50	326.22	316.55	315.33	315.08
11.19"	7.52	7.41	5.22	2.19	1.95	1.53	1.63	62.32	61.57	61.72	63.90
9*"	9	9	9	8	8	8	8	5	5	5	5
<u>HIPERTENSOS</u>											
64.50*	47.85	42.58	37.99	16.39	11.79	9.99	9.48	146.98	120.27	126.59	129.02
9.44"	12.14	11.79	8.79	1.13	1.38	1.60	1.69	22.85	26.22	28.25	28.82
6*"	5	5	6	5	5	5	5	5	5	5	5
p" "											
<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	-----	-----	<0.05	<0.05	-----	<0.05	-----	-----

/Donde, \*: valor promedio; ": Error estandar; \*": Número de sujetos estudiados; "": P por t de Student/

AMINA RESIDUAL EN LAS PLAQUETAS ( gráfica 2 )





gráfica 2

## ANALISIS INDIVIDUAL POR CORRELACION LINEAL

CAPTACION

Por inspección visual de los datos anteriores se estimó que durante los ensayos de Captación, para DOPAMINA y NOREPINEFRINA, no se había alcanzado la meseta de saturación, o Captación Máxima esperada teóricamente; encontrándose los valores en la porción lineal de la gráfica, por lo que cada paciente puede entonces ser tipificado individualmente por su velocidad de Captación.

Este parámetro que es constante, estará representado por la relación captación/tiempo, - lo que geoméricamente es la pendiente de la línea recta que, partiendo del punto ( 0,0 ), pasa por la captación a los 10, 30 y 90 minutos.

Este criterio no se aplica a la Captación de SEROTONINA ya que se encontró un valor máximo desde el primer tiempo estudiado.

( VER TABLA I )

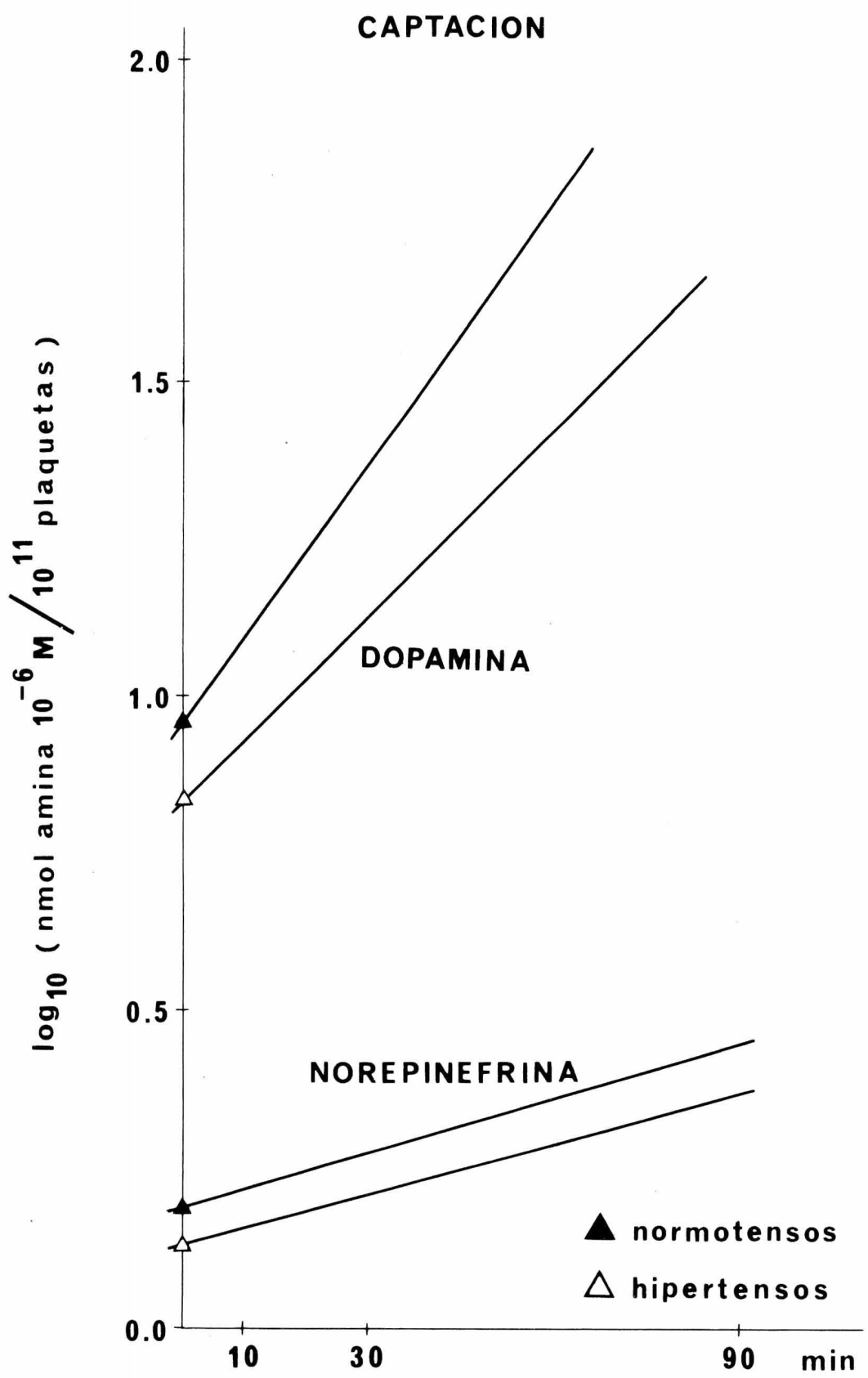
Para determinar si la diferencia observada con DOPAMINA no se debe exclusivamente a la diferencia de edad entre los grupos estudiados, se extrajo un subgrupo de normotensos mayores de 30 años ( 6 ) y se encontró que la diferencia significativa persiste y los coeficientes de variación se emparejan, (  $1.71 \pm 0.11$  ( 6 ), c.v. = 16.36% para normotensos; y  $0.99 \pm 0.06$  ( 5 ), c.v. = 13.03 - % para hipertensos ).

## ANALISIS INDIVIDUAL POR CORRELACION LINEAL DE CAPTACION: TABLA 1

( gráfica 3 )

	DOPAMINA			NOREPINEFRINA		
	r	m	b	r	m	b
NORMOTENSOS*	0.99	1.38	9.05	0.99	0.29	1.57
( $\pm$ Error st. )	0.001	0.07	1.02	0.001	0.03	0.15
No. de sujetos	24			17		
HIPERTENSOS*	0.99	0.99	6.71	0.99	0.27	1.35
( $\pm$ Error st. )	0.001	0.06	0.93	0.001	0.04	0.39
No. de sujetos	5			5		
p**	----	< 0.01	----	----	----	----

/Donde, \*: valor promedio, \*\*: P por t de Student, m: pendiente de la línea con correlación r; b: ordenada al origen./



**gràfica 3**

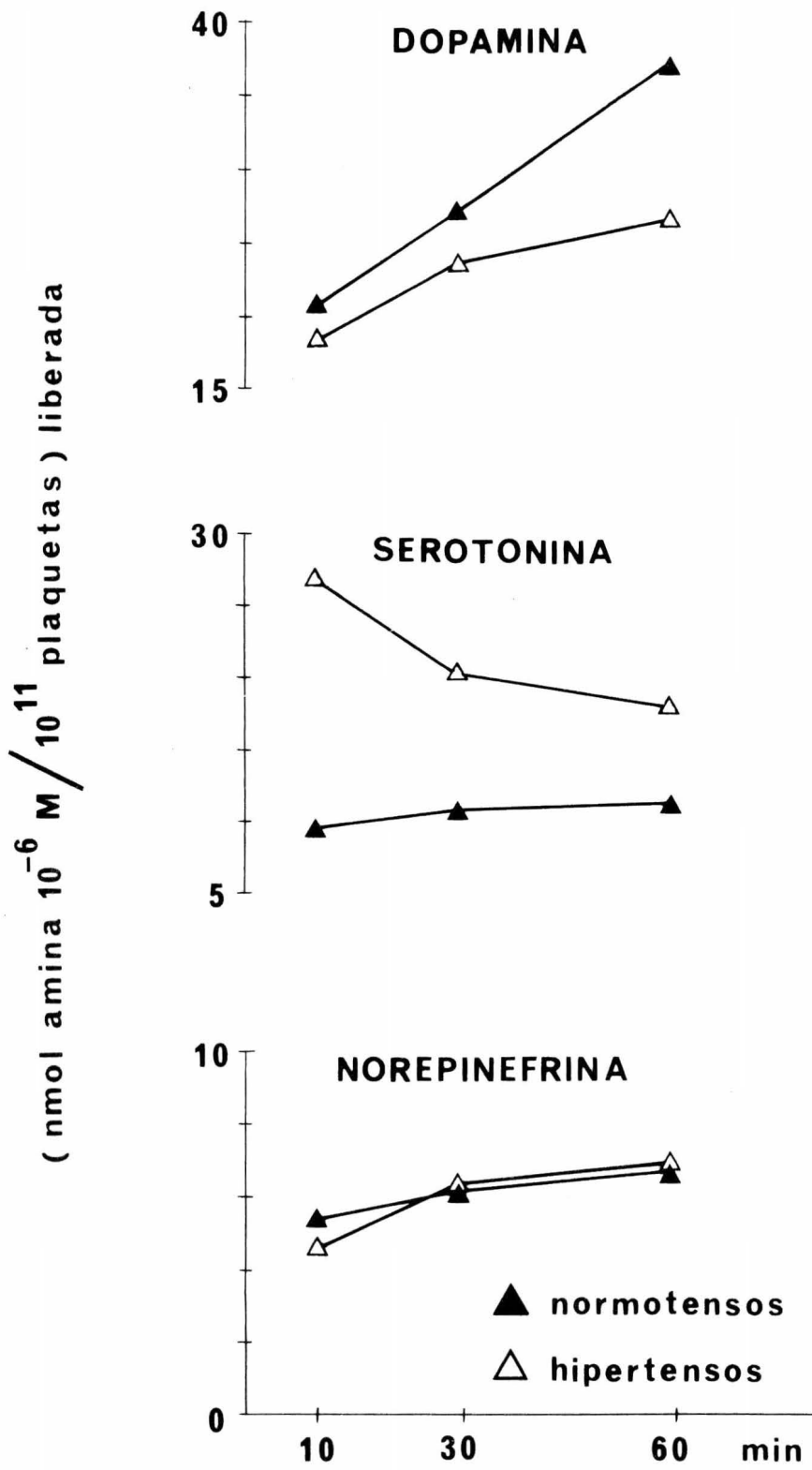
CUADRO IV: LIBERACION

	DOPAMINA			NOREPINEFRINA			SEROTONINA		
	(nmol de amina $10^{-6}$ M/ $10^{11}$ plaquetas )								
	10	30	60	10	30	60	10	30	60
	( min )								
<u>NORMOTENSOS*</u>	20.71	27.22	37.26	5.41	6.19	6.74	9.67	10.85	11.41
( <u>±</u> Error st. )	6.00	6.32	7.20	0.68	0.83	0.86	4.39	3.77	3.30
No. de sujetos	9	9	9	8	8	8	5	5	5
<u>HIPERTENSOS*</u>	18.41	23.65	26.52	4.60	6.39	6.90	26.71	20.39	17.96
( <u>±</u> Error st. )	4.41	4.09	2.33	1.36	1.48	1.65	6.84	6.15	6.35
No. de sujetos	5	5	6	5	5	5	5	5	5
p**	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

/Donde, \*: Valor promedio; \*\*: P por t de Student/

AMINA LIBERADA DE LAS PLAQUETAS ( gráfica 4 )

# LIBERACION



gráfica 4

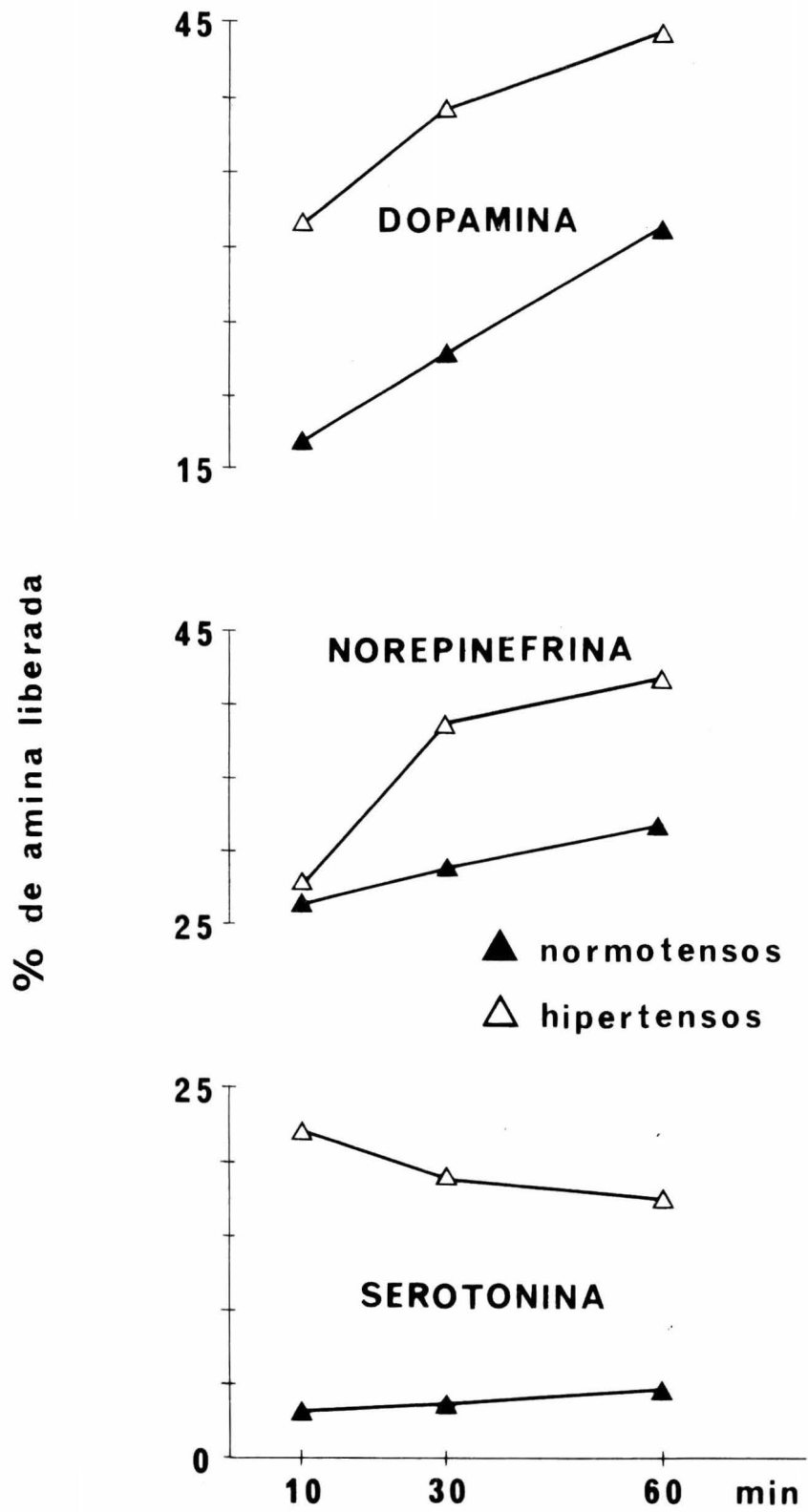
CUADRO V: LIBERACION

	DOPAMINA			NOREPINEFRINA			SEROTONINA		
	( nmol de amina $10^{-6}$ M/ $10^{11}$ plaquetas )								
	10	30	60	10	30	60	10	30	60
	( min )								
<u>NORMOTENSOS*</u>	16.83	22.93	31.25	26.40	28.80	31.83	3.10	3.61	4.51
( $\pm$ Error st. )	3.56	3.04	3.12	3.11	1.86	3.11	1.25	1.04	2.05
No. de sujetos	9	9	9	8	8	8	5	5	5
<u>HIPERTENSOS*</u>	31.57	39.33	44.29	27.67	38.93	41.81	22.20	18.68	17.37
( $\pm$ Error st. )	9.44	7.88	5.35	7.75	8.66	9.68	7.85	8.25	8.98
No. de sujetos	5	5	6	5	5	5	5	5	5
p**	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

/ Donde, \*: Valor promedio; \*\*: P por t de Student/

PORCENTAJE DE AMINA LIBERADA DE LAS PLAQUETAS ( gráfica 5 )

# LIBERACION



gráfica 5



## DISCUSION.

Los niveles de captación de Dopamina para el grupo control observados en el presente trabajo son comparables a los reportados por Boullin ( 1970 ) y Barbeau ( 1975 ), quienes realizaron trabajos en condiciones similares experimentalmente y a la misma concentración; sin embargo, la liberación de Dopamina, Norepinefrina y Serotonina, así como la captación de Norepinefrina y Serotonina no permiten comparación con otros autores, debido fundamentalmente, a divergencias metodológicas, de concentración y modo de expresión de los resultados.

Siendo el objetivo primario de éste trabajo determinar las posibilidades del método en el estudio del enfermo hipertenso ( colaboración personal del Dr. D. Boullin, 1975 ), en esta investigación se desarrollaron experimentos piloto para determinar el grado de repetibilidad del procedimiento en el laboratorio, y sobre algunos aspectos de la técnica, llegando a la conclusión de que el método mismo requerirá estudios posteriores más detallados y la investigación será necesario ampliarla en casuística.

Las modificaciones que puede presentar la actividad fisiológica plaquetaria, dependen de diversos factores que pueden considerarse intrínsecos ó extrínsecos, entendiéndose por éstos a los debidos a características del paciente, así como a los artefactos ocasionados por la naturaleza misma del ensayo; situación que enfatiza la necesidad de una metodología que, convenientemente analizada y estandarizada, permita comparaciones adecuadas.

Entre los factores intrínsecos que pueden modular la actividad plaquetaria, se incluirían:

- a) El tipo de tratamiento que haya ó esté recibiendo el paciente en el momento del estudio. Este aspecto fué controlado en ambos grupos, ya que los pacientes no recibieron medicación de dos a

cuatro semanas antes del ensayo; pero es importante analizar el efecto trans- y post-tratamiento sobre la captación, tanto con diuréticos como fármacos antihipertensivos, especialmente los que afectan sistemas aminérgicos, si se considera que hay fármacos, como la Reserpina, cuyo efecto bioquímico persiste tiempo después de su administración única ( Goodman Gilman: 473, 1974; - - Drill: 387, 1973 ).

- b) El estado basal de parámetros bioquímicos como glicemia, triglicéridos, fracciones lipoproteicas y niveles de electrólitos, especialmente sodio, potasio, calcio y magnesio son importantes; ya que, algunos estados patológicos que cursan con anomalía de estos elementos, se ha observado que modifican la respuesta frente a estimulantes de la fisiología plaquetaria ( Kwan - Colwell, 1972; Saleh - Hashim, 1974; Cole - Britt, 1953; Sneddon, 1971 ). Aunque en este sentido no se hizo hincapié en este estudio, la experiencia clínica del personal médico del INC, es indicativa sobre cierta incidencia de alteración en dichos factores en el enfermo hipertenso esencial. Por lo que, dadas las características del método empleado, ésta situación no permite diferenciar si los fenómenos estudiados obedecen a factores intrínsecos ó constituyen un artefacto in vitro.
- c) Edad y sexo son dos aspectos que pueden interferir con la fisiología plaquetaria ( Karpatkin, - - 1972; Ross, 1975 ), pero que de acuerdo a lo reportado por Barbeau ( 1975 ), no hay correlación entre la captación de Dopamina y la edad ó el sexo; concordando ésto con lo observado en este trabajo. La utilidad de comparar grupos similares, dentro de lo posible, disminuye la dispersión de valores, tal como sucede cuando se hace el análisis por correlación lineal para captación de Dopamina, en que el coeficiente de variación de 24.6%, para el grupo total de normotensos formado por sujetos con rango de edad de 17 a 57 años, se mejora a 16.36% en un subgrupo de normotensos resultante de seleccionar a 6 mujeres mayores de 30 años.

En lo referente a factores extrínsecos, de tipo experimental, cabe señalar la influencia cuantitativa que pueden tener, entre otros, los siguientes :

- a) La temperatura usada para conservar el plasma rico en plaquetas antes y durante el ensayo. En la sección de Material y Método se indican 4 °C, pero en la literatura se reportan 22°C, como la temperatura más adecuada para almacenar plaquetas durante breves períodos de tiempo ( Rytting - Chaterji, 1975 ).
- b) Considerando la heterogeneidad del tamaño intra- e inter-individual de las plaquetas ( Paulus, 1975 ), se estudió la pérdida cuantitativa durante la centrifugación. Al centrifugar plasma rico en plaquetas, con cuentas originales de  $3.24 \pm 0.47 \times 10^5$  plaquetas/mm<sup>3</sup> ( obtenido como se describe en Material y Método ), se obtuvo una separación de  $84.34 \pm 4.19$  % empleando 1500 G, 4 °C, por 20 minutos, quedando la diferencia en el sobrenadante; éstos datos son el resultado de 7 determinaciones realizadas al azar. Los resultados indican una separación aceptable que, además, evita las alteraciones morfológicas que se producen al centrifugar a velocidades mayores ( Rytting - Chaterji, 1975 ).
- c) También se estudió la utilidad de trabajar las muestras con una concentración constante de plaquetas realizando diluciones proporcionales con plasma pobre en plaquetas, lo que permitiría disminuir el volúmen necesario de plasma para cada determinación. Para ésto se hicieron experimentos tendientes a determinar la repetibilidad intraensayo de la captación, encontrándose un c.v. de 8.85% usando el plasma concentrado y un c.v. de 13.5% empleando el plasma diluido ( 1:2 ) del mismo sujeto; las determinaciones se hicieron por duplicado en tres tiempos diferentes.
- d) En un intento por evaluar el efecto sobre los ensayos de captación de los procesos de resuspensión, señalado por Born-Gillson ( 1959 ) y Pletscher ( 1971 ), se hicieron dos experimentos estudiando la captación de las tres aminas en dos tiempos, a través de concentrados de plaquetas obtenidos por centrifugación que, después de resuspendidos, fueron diluidos secuencialmente con plasma pobre en plaquetas hasta tener una concentración mínima de, aproximadamente, el 10% de la cantidad de plaquetas en el plasma rico en plaquetas. Estas determinaciones se com-

para con la determinación en el plasma obtenido directamente del paciente ( 100 G ), para tener el nivel referencia ( control ). Los ensayos de captación se realizaron como se describe en Material y Método.

La diferencia entre el control y cada uno de los puntos estudiados se expresa como porcentaje; - para las plaquetas se refiere como valor control el número de plaquetas presentes en el plasma rico en plaquetas del paciente ( nivel 100% ), y con éste dato se establecen los porcentajes correspondientes al número de plaquetas presentes en cada dilución. Para los datos de captación se procede de modo similar, estableciendo el nivel 100% con la captación del plasma rico en plaquetas y se determina el % correspondiente a la captación con cada una de las concentraciones de plaquetas empleadas.

Caso 1: ♀, 22 años, 60 kg, 1.50 mt, 120/70 mm Hg,  $4.85 \times 10^5$  plaquetas/mm<sup>3</sup>

% plaquetas/mm <sup>3</sup>	% captación		% captación	
	DOPAMINA		SEROTONINA	
	10 min	60 min	10 min	60 min
7.22	227.95	329.22	343.81	940.87
26.80	142.99	147.66	188.40	373.84
46.39	110.08	137.14	175.70	213.88
103.09	72.77	77.92	74.61	72.32
183.51	103.17	87.33	56.13	54.96

Caso 2: ♀, 57 años, 62 Kg, 1.61 mt, 170/110 mm Hg,  $3.65 \times 10^5$  plaquetas/mm<sup>3</sup>

% plaquetas/mm <sup>3</sup>	% captación		% captación		% captación
	DOPAMINA		SEROTONINA		NOREPINEFRINA
13.97	137.84	111.35	196.06	446.58	137.04
30.14	106.47	128.07	197.27	311.62	192.07
58.90	116.67	121.44	156.02	167.17	119.84
158.90	75.74	71.42	60.84	63.48	96.30
324.66	247.96	51.07	31.26	31.04	79.89

Estos resultados indican una reducción en la captación de aproximadamente el 30% debido sólo -

al procesamiento, pero además son indicativos de la inexistencia de relación lineal entre la captación y la concentración de plaquetas en el medio de incubación. También muestra lo inadecuado de la concentración de Serotonina empleada, ya que, se puede obtener una captación de dos o más veces mayor con la décima parte de las plaquetas.

- e) Considerando la necesidad de establecer la concentración óptima de amina para obtener una relación gradual captación-tiempo; se comparó la captación de Serotonina usando dos concentraciones con las que se obtuvieron incrementos, relacionados a los primeros 10 minutos, de 1.32 y 0.49% para 30 y 90 minutos respectivamente con  $10^{-6}$  Molar, y de 78.54 y 157.62% para 30 y 90 minutos con  $10^{-5}$  Molar. En donde se ve que una concentración diez veces mayor que la empleada parece ser más adecuada, aunque se requiere estudiar la captación dentro de un rango mayor de concentraciones.
- f) La divergencia en la metodología empleada y los puntos reportados por Genefke ( 1971 ) sobre la necesidad del control de pH, en el medio de incubación, el volumen y tipo de solución empleada para adicionar la amina marcada; son aspectos que por su influencia sobre la captación de Serotonina, será necesario confirmar y modificar.
- g) En virtud de que hay sustancias que inducen la liberación de aminas de las plaquetas, como se indica en el capítulo de Modelo Experimental, se plantea la necesidad de establecer la composición óptima del líquido de resuspensión para los ensayos de liberación; ya que ésto no sucede con el plasma pobre en plaquetas de cada sujeto, constituyéndose así una fuente de variación incierta.
- h) Con experimentos piloto se estimaron los coeficientes de variación ( c.v. ) intra- e inter-ensayo.  
 C.v. intraensayo para captación:  $11.17 \pm 2.19\%$  con seis determinaciones por sextuplicado, de un mismo sujeto, en tres tiempos diferentes.  
 C.v. intraensayo para liberación: 5.67% con dos determinaciones por quintuplicado.  
 C.v. interensayo para captación:  $8.64 \pm 2.44\%$  con duplicados de 17 determinaciones realizadas -

al azar a través de diversos experimentos.

C.v. interensayo para liberación:  $11.31 \pm 5.37\%$  con duplicados de 5 determinaciones en diversos experimentos.

La gran dispersión que se obtuvo en los datos de captación y liberación de Serotonina no permite establecer con claridad si los grupos son diferentes o sólo fluctuaciones alrededor de un grupo común de valores tales que por su magnitud, arroja variaciones extremas; aspecto muy notable con los resultados de porcentaje de liberación de Serotonina. Aunque ésto también puede interpretarse como indicativo de la variedad de factores que afectan estas determinaciones, lo que requiere estudios diferentes; sin embargo, todos estos aspectos cuya razón metodológica ó de variabilidad individual, son los que abren campos de investigación para incrementar el conocimiento del estado fisiopatológico con que cursa el enfermo hipertenso arterial esencial.

La interpretación de los resultados obtenidos en la presente investigación, analizados con la debida cautela tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, su valoración estadística mostró que la captación de Dopamina se encontraba significativamente disminuída en el enfermo hipertenso, al compararlo con el grupo de normotensos; plantea dos posibles alternativas:

- a) La existencia de alteración en los mecanismos de transporte transmembranal o primario, puede ser traducción de una diferencia morfológica o fisiológica, que involucre a su vez un fenómeno de tipo primario o secuencial. Y,
- b) la resultante de la magnitud de saturación previa en el sistema plasma/plaqueta, o en el almacén intraplaquetario; lo que parcialmente explicaría la vasoconstricción operante en el enfermo hipertenso sin una modificación realmente importante del nivel circulatorio libre de amina.

Aunque ambas tesis son razonables, aceptar o descartarlas implica la necesidad de estudios más profundos y detallados.

La diferencia observada en la velocidad de captación de Dopamina parece inclinar los

argumentos en favor de una alteración en los mecanismos de transporte. Se requiere determinar el nivel de captación máxima en ambos grupos, para así establecer la capacidad máxima del almacén intraplaquetario.

Las diferencias estadísticamente significativas, encontradas en la cantidad de amina residual; pero no así en la cantidad o porcentaje de amina liberada en los grupos estudiados, parece proveer fundamento a la alteración de mecanismos de almacén intraplaquetario modificados; es decir, en el grupo hipertenso entra menos dopamina a las plaquetas, la cantidad que queda es menor, pero la que sale proporcionalmente es igual en los dos grupos estudiados; con norepinefrina entra la misma cantidad, la fracción de amina residual es menor, pero la liberación proporcional a la cantidad inicial es idéntica en los grupos hipertenso y normotenso. Sin embargo, dadas las características del ensayo de liberación, es necesario insistir en mejorar la metodología.

El hecho de que la velocidad de captación de Dopamina sea diferente y la de Norepinefrina no muestre diferencias significativas entre los grupos estudiados, es interesante, ya que podría interpretarse de un modo más definitivo en el sentido de que ambas aminas, en las condiciones estudiadas, emplean sistemas de transporte que son ó bien funcionan en forma diferente. De aquí que, siendo dos sustancias química y farmacológicamente muy relacionadas y con importante efecto sobre la presión arterial, el hecho de que sean manejadas cualitativa y cuantitativamente en forma distinta dentro del torrente circulatorio, plantea la posibilidad de que sea la Dopamina el autacoide que tenga un papel más trascendental durante el desarrollo o mantenimiento del cuadro hipertensivo. Aunado a esto, cabe señalar que sólo se han encontrado alteraciones en el metabolismo de la Dopamina en la mayoría de los pacientes hipertensos esenciales ( excreción urinaria de dopamina y ácido homovainílico disminuidos/ Serrano, 1964; Vincent, 1965; Mendlowitz, 1970; Chávez Lara, 1975/ ); mientras que con Norepinefrina se ha detectado aumento, muy moderado, sólo en el 16% de los casos estudiados ( Goodall 1961 ). La validez de estos argumentos deberá reconfirmarse a través de una casuística mayor.

La utilidad que puede tener el hallazgo de la captación disminuída de Dopamina en el

paciente hipertenso esencial, puede ser enfocado también desde diferentes puntos de vista:

- a) Considerando la ignorancia sobre la etiopatogenia de la hipertensión en los pacientes estudiados, propicia que, si se analizan bajo condiciones similares a otros tipos de hipertensión, pueda conferírsele, a esta prueba, carácter diagnóstico diferencial o pronóstico, con lo que se incrementaría la prevención de secuelas que pueden ser de evolución fatal. Y,
- b) Que puede ser indicativa sobre la etiopatogenia de la hipertensión arterial esencial, enfocando la importancia de la Dopamina y la alteración en su manejo no sólo plaquetario, sino a nivel de terminaciones nerviosas y tejido enterocromafín de ésta catecolamina, a la cual, acorde a la tesis -- del Dr. Serrano, se le puede conferir el papel de protector fisiológico o modulador de la actividad hipertensógena de las otras catecolaminas o sustancias vasoactivas. De manera que una alteración en su transporte o almacén son, ambas tesis, compaginables y constituyen un fenómeno coadyuvante al cuadro hipertensivo.



## CONCLUSIONES

La afinidad cualitativa de las plaquetas por las aminas estudiadas es similar en el grupo Testigo e Hipertenso. En orden decreciente, captan: Serotonina, Dopamina y Norepinefrina; y, liberan: Dopamina, Norepinefrina y Serotonina.

La captación de Dopamina cuantitativamente disminuïda en el enfermo hipertenso arterial esencial, permite plantear la posible existencia de algùn tipo de alteración en los mecanismos de transporte o almacén de Dopamina a nivel de terminaciones nerviosas y tejido enterocromafïn. Pero, sólo el conocimiento detallado de la naturaleza de la disfunción plaquetaria, en el enfermo hipertenso, permitirïa definir si la modificación puede ser operante a nivel de terminaciones nerviosas centrales o periféricas y cuya traducción clïnica sea hipertensión arterial.

La disminución significativa en la cantidad de Dopamina y Norepinefrina residual en las plaquetas, pero no así en la cantidad o el porcentaje de amina liberada, parece proveer evidencia a favor de mecanismos de almacén intraplaquetario alterados. Sin embargo, el significado real de estos hallazgos requiere ulterior confirmación a través de estudios más amplios en casuística y metodología.

## BIBLIOGRAFIA.

### INTRODUCCION.

- 1.- Chávez Rivera I : Presión Arterial, Hipertensión. Cardioneumología fisiopatológica y clínica. ---- UNAM. México, D.F., 1973; Vol. 1, págs.: 66, 999.
- 2.- Serrano P A: Hipertensión arterial. Catecolaminas, Conceptos actuales. Interamericana S A, México, D.F., 1973; págs.: 115-12
- 3.- Goodman L S, A Gilman: The Pharmacological basis of therapeutics. Ed. 4a. Edit. Mc Millan - Pub. USA, 1970; págs. : 512

### PRESION ARTERIAL.

- 1.- Zweifach B W: The microcirculation of the blood. SCI AMER 200: 54-60, 1959.
- 2.- Burton A C: Physical principles of circulatory phenomena; the physical equilibria of the heart and blood vessels. Handbook of Physiology, Sec. II Circulation, Vol. I, W Hamilton Dir., - Bethesda, Amer Physiol Soc. , 1962.
- 3.- Smith O A: Anatomy of central nervous pathways mediating cardiovascular functions. Nervous -- Control of the Heart. WC Randall, Baltimore, 1965.
- 4.- Folkow B: Nervous control of blood vessels. PHYSIOL REV 35: 620-663, 1955.
- 5.- Ahlquist R P: Adrenergic drugs. Pharmacology in Medicine Vol 2, V A Drill, Mc Graw Hill Pub. New York, 1958, págs.: 378-407.
- 6.- Roy C S, J G Brown: The blood pressure and its variations in the arterioles, capillaries and --- small veins. J PHYSIOL 2: 323-359, 1879.
- 7.- Lutz B R y G P Fulton, Smooth muscle and blood flow in small blood vessels. Factors regulating blood flow. AMER PHYSIOL SOC, 1958 págs.: 13-23.
- 8.- Rushmer R F: Fisiopatología cardiovascular Ed. 2a. Edit. Saunder Co. USA, 1970.
- 9.- Master A M , C L Grafield y M B Walters: Normal blood pressure and hypertension. Philadelphia Lea & Febiger, 1952, pág. 144.

## HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL.

- 1.- Hinke A M: In vitro demonstration of vascular hyper-responsiveness in experimental hypertension. - CIRCULATION RES 17: 359-71, 1965.  
Ver también Mc Gregor; A, AM J PHYSIOL 219: 60, 1970.  
-Pedro-Pons A. Tratado de Patología y Clínica Médica: Enfermedades del aparato circulatorio Tomo II. Salvat Editores, S.A. Barcelona, España, 1969. Págs. 481-88.  
-Rushmer R F: Fisiopatología Cardiovascular. Saunders Co. USA, 1970. Capítulos 8, 9 y 10.
- 2.- Serrano P.A: Catecolaminas, conceptos actuales; Hipertensión arterial y catecolaminas. Ed. 1a. - Edit. Interamericana, S.A. México, D.F., 1971 pág. 115-124.  
-Wurtman R, J Axelrod: Adrenaline synthesis: control by the pituitary gland and adrenal corticoids SCIENCE 150: 1424, 19  
-De Champlain J, LR Krakoff, J Axelrod: Relationship between sodium intake and norepinephrine storage during the development of experimental hypertension. CIRCULATION RESEARCH 23: 479, 1969.
- 3.- Page I H: Hypertension, an important disease of regulation. ADVANCES IN CHEMISTRY SERIES - 45: 50-66, 1964.  
-Pickering G.W.: The nature of Essential Hypertension. London J y A Churchill Ltd., - 1961.  
-Page I H Arterial Hypertension. Davis Monograph Series. Davis F A Co. Pub. Philadelphia USA, 1960.
- 4.- Serrano P A, G Figueroa, Z M Torres y cols: Adrenaline, noradrenaline and dopamine excretion - in patients with essential hypertension AMER J CARDIOL 13: 484, 1964.  
-Goodall Mc C: Essential hypertension with elevated noradrenaline excretion AMER --- HEART J 61: 640, 1961.  
-Vincent W A: Vanillylmandelic acid excretion in labile hypertensive subjects: its variation and response to norepinephrine and angiotensin infusion. AMER J MED SCI 249: - 79, 1965.  
-Sato T, D Voshinaga y cols: Urinary excretion of catecholamines and their metabolites in normotensive and hypertensive subjects J EXPER MED 75: 151, 1961.  
-Mendlowitz M, R Wolf, S E Gitlow: Catecholamine metabolism in essential, hyperten--- sion AMER HEART J 79: 401, 1970.  
-Gitlow S E, M Mendlowitz, E Kruk-Wik y cols: Plasma clearance of H-3-norepinephrine in normal human subjects and patients with essential hypertension J CLIN INVEST - 43: 2009, 1964.  
-Gitlow S E, M Mendlowitz, M Bertani y cols: Tritium excretion of normotensive and hypertensive subjects after administration of tritiated norepinephrine J LAB CLIN MED -- 73: 129, 1969.
- 5.- De Quattro V, A Sjoerdsma: Catecholamine turnover in normotensive and hypertensive men, ---- effects of antiadrenergic drugs J CLIN INVEST 47: 2359, 1968.  
-Bennet JR, M Atkinson: Effect of propranolol in mild hypertension LANCET 11: 1148, -- 1966.
- 6.- Euler U S von: Twenty years of noradrenaline. PHARMAC REV 18: 29-38, 1966.
- 7.- Goodman L S, A Gilman: Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Interamericana S A , Trad. -

por Folch y Pi A, Mota Guzmán M A y Sapiña Renard S. México, 1970. Págs.: 346--351, 393-410.

-Drill V A. Farmacología Médica. La Prensa Médica Mexicana Trad. por Alcántara G y cols. México, 1973, Págs.: 455-464, 506-521.

## PLAQUETAS Y SEROTONINA.

Ham A W: Tratado de Histología. Trad. Español: Dr. A Foch, Interamericana S.A. México, 1970, --- págs.: 304-313.

Osler W: The third corpuscle of the blood, MEDICAL NEWS, 43: 701, 1883.

Holmsen H: The platelet: its membrane, Physiology and Biochemistry. CLINICS IN HAEMATOLOGY - 1 ( 2 ): 233-266, 1972.

Mustard J F, M A Packham: Factors influencing platelet function: adhesión, release and aggregation. PHARMACOLOGICAL REVIEWS 22: 97-102, 1970.

Doery JCG, J Hirsh, GC Gruchy: Platelet metabolism and function HAEMATOLOGICA 4: 405-411. -- 1970.

Marcus A S: Platelet function NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 280; 1213-1220, 1969.

Paasonen M K, Lahtee, E Solanturri: Blood platelet as a model for monoaminergic neurons PROGR ---- BRAIN RES 34: 269-279, 1971.

Lehninger A: Bioquímica Trad. Español: Calvet P F y Bozal F J Omega, S.A., Barcelona, España. -- 1972 págs. 201-229.

Kolmer JAS: Diagnóstico clínico por los análisis de Laboratorio. Trad, español Méndez L.A. Interamericana S.A. México, 1963, págs. 28-30.

Gross R, W Gerok: Quantitative determination of the aminoacids and the ninhydrin positive substances in normal human platelet THROMBOSIS ET DIATHESIS HAEMORRHAGICA 6: 462-469, - 1961.

Wright J H: The histogenesis of the blood platelets J MORPH 21: 263, 1910.

## EL MODELO EXPERIMENTAL.

1.- Koch-Weser J: Sympathetic activity in Essential hypertension N ENG J MED 288 ( 12 ): 627- -- 629, 1973.

2.- Serrano P A, G Figueroa, M Torres y cols,: Adrenaline, Noradrenaline and Dopamine excretion in patients with essential hypertension AMER J CARDIOL 13: 484, 1964.

-William J L, A E Doyle: Plasma Norepinephrine levels in essential hypertension N -- ENG J MED 288 ( 12 ): 599-601, 1973.

3.- Page I H: Hypertension, an important disease of regulation ADV CHEM SCI 45: 50-66, 1964.

- 4.- Hardisty R, A Stacey: 5-Hydroxytryptamine in normal human platelets J PHYSIOL ( LOND ) 130: 711-720, 1955.  
-Carlson A, P A Shore, B B Brodie: Release of serotonin from blood platelets in vitro J - PHARM EXP THER 120: 334-339, 1957.
- 5.- Landsberg L, H L Taubin: Uptake and metabolism of L 3-4 dihydroxyphenylalanine ( DOPA ) in - rat tissues. BIOCHEM PHARMACOL 22: 2789-2800, 1973.
- 6.- Holmsen H: The Platelet CLIN HAEMATOL 1: 235-266, 1972.  
-Doery J G C, J Hirsh, G C de Gruchy: Platelet metabolism and function HAEMATO- LOGICA 4: 405-411, 1970.
- 7.- Paasonen M D, L Ahtee, E Solanturri: Blood platelet as a model for monoaminergic neurons ---- PROGR BRAIN RES 34: 269-279, 1971.
- 8.- Zieve PD, HM Solomon: The intracellular pH of the human platelet J CLIN INVEST 45: 1251-54, 1966. \*
- 9.- Zieve P D, HM Solomon: Uptake of aminoacids by human platelet AM PHYSIOL 214: 58-61, --- 1968.
- 10.- Puszkin E, L Aledort, S Puszkin: The labeling of dicarboxylic aminoacids and their amides by glu- cose and acetate in human platelets J LAB CLIN MED 75: 234-243, 1970.
- 11.- Boullin D J: Mechanisms by which human blood platelets accumulate glycine, gaba, and aminoac- ids precursors of putative neurotransmitters BR J PHARMACOL 45: 83-94, 1972. También puede verse: Throm Diath Haemorrh 31: 411- 1974.
- 12.- Harvey M, HM Solomon, P D Zieve: The accumulation of organic bases by the human platelet - J PHARMAC EXP THER 155 ( 1 ): 112-116, 1967.  
-Zieve PD HM Solomon: Acumulation of lipid-insoluble compounds by the human plate- let AM J PHYSIOL 213: 1275-1277, 1967.  
-Boullin D J, R A O'Brien: The accumulation of anti-hypertensive drugs by human plate- let and its possible significance J PHYSIOL ( LOND ) 198: 17-19P. 1968.
- 13.- Born GVR: Relative activities on and uptake by human blood platelets of 5HT and several analo- gues BR J PHARMACOL 44: 117-39, 1972.
- 14.- Solanturri E, MK Paasonen: Intracellular distribution of monoamine oxidase, 5-HT and Histamine in blood platelets of rabbit AM MED EXP FENN 44: 427-430, 1966.
- 15.- Born G V R: The platelet membrane and its functions. Plenary session papers, pp 95-101, XII -- Congress of the International Society of Haematology, New York.
- 16.- Abrams W B, H M Solomon: The human platelet as a model for the adrenergic neuron The uptake and release of norepinephrine. CLIN PHARMAC THER 10: 702-709, 1969.
- 17.- Boullin D J: Uptake of Dopamine by platelets in vivo. BR J PHARMACOL 40: 522-3, 1970.
- 18.- Pletscher A: Two sites of 5- Hydroxytryptamine uptake in blood platelets. LIFE. SCI 6: - 273-280, 1967.

- 19.- Ver Referencia 7.
- 20.- Pletscher A,MDa Prada, KH Bernies, JP Tranzer: New aspects on the storage of 5-hydroxytryptamine by blood platelets EXPERIENTIA 27 ( 9 ): 993-1002, 1971.
- 21.- Genefke I K: Methodological investigations on the in vitro uptake of 5HT by human blood platelets ACTA PSYCHIATR SCAND 47: 411-19, 1971.
- 22.- Born GVR: Studies on the uptake of 5-hidroxytryptamine by blood platelets J PHYSIOL ( LOND) 146: 491, 1959
- 23.- Vea referencia 22.
- 24.- Stacey RS: Uptake of 5-hydroxytryptamine by platelets BR J PHARMAC CHEMOTHER 16: 284- - 295, 1961.
- 25.- Mustard J F, MA Packham: Factors influencing platelet function: adhesion, release and aggregation PHARMACOL REV 22: 97-187, 1970.
- 26.- Sneddon J M: Sodium dependent accumulation of 5-HT by rat blood platelets BR J PHARMACOL 37: 680-688, 1969.
- 27.- Iversen L L: The uptake and storage of Noradrenaline in sympathetic nerves, University Press, - Cambridge.
- 28.- Lahovaara S, MK Paasonen, MM Airaksinen: Inhibitor activity on the Norepinephrine uptake by blood platelets ANN MED EXP FENN 46: 453-56, 1968.
- 29.- Vea referencia 7.
- 30.- Vea referencia 7.
- 31.- Da Prada M, A Pletscher: Intracelular distribution of platelet 5-hydroxytryptamine LIFE SCI 8: - 65-76, 1969. Ver también BR J PHARMACOL 42: 114-126, 1971; y Boullin DJ: Uptake of debrisoquin and guanethidine by human blood platelets J PHARM PHARMACOL 20: - 403-404, 1968.
- 32.- Genefke I: The active uptake of 5HT in rat and human blood platelets under- influence of lithium - in vivo and in vitro. ACTA PSYCHIATR SACND 48: 394-9, 1972, Ver también NATUR- RE 215: 1395-99, 1967.
- 33.- Ver referencia 7.
- 34.- Da Prada M: Norepinephrine and 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors EUR J PHARMACOL 17: 107-12, 1972.
- 35.- Pletscher A: Storage of exogenous monoamines and reserpine in 5-HT organelles of blood plate-- lets EUR J PHARMACOL 7: 45-48, 1969.
- 36.- Solomon H M, NM Spirt, WB Abrams: The accumulation and metabolism of Dopamine by the hu-- man platelet CLIN PHARMACOL THER 11: 838-845, 1970.

- 37.- Cambell L C, A Todrick: The pharmacology and biochemistry of amines uptake by blood platelets BR J PHARMACOL 49: 279-87, 1973.
- 38.- Ver referencia 6.
- 39.- Boullin D J: Defective binding of 5HT by blood platelets from children with the trisomy 21 ( -- Down's syndrome ). J PHYSIOL ( LOND ) 204: 128P, 1969.  
-Loti I T: Down's syndrome. Transport, storage and metabolism in blood platelets. PEDIATR RES 6: 730-5, 1972.  
-Boullin D J: The metabolism of 5HT by blood platelets from children with mongolism -- BIOCHEM PHARMACOL 22: 1647-51, 1973.
- 40.- Barbeau A: Uptake and efflux of dopamine in platelets:evidence for a generalized defect in Parkinson disease. NEUROLOGY 25: 1-9, 1975.
- 41.- Aminoff H: Uptake of Dopamine and 5-hydroxytryptamine in Huntington's chorea.LANCET 2 -- ( 7889 ): 1115-16, 1974.
- 42.- Boullin D J: Uptake and loss of <sup>14</sup>C-dopamine by platelets from children with infantile autism J AUTISM CHILD SCHIZO 2: 67-74, 1972. Boullin D J: Abnormalities in platelet 5HT - in patients with infantile autism NATURE ( LOND ) 226: 371-2, 1970.
- 43.- Ahtee L, L Petinkäinen, M Paasonen: Decreased uptake of 5HT by blood platelets of cirrhotic and hypertensive subjects EXPERIENTIA 30 ( 11 ); 1328-29, 1974.
- 44.- Murphy D L: Reduced MAO activity in blood platelets from schizophrenic patients NATURE ( -- LOND ) 238: 225-6, 1972.
- 45.- Bogdanski DF, BB Brodie: The effects of inorganic ions on the storage and uptake of 3A-Norepinephrine by rat heart slices J PHARMACOL EXP THERAP 165 ( 2 ): 181, 1969.

#### MATERIAL Y METODO.

- 1.- Davidsohn I, J B Henry: Diagnóstico clínico por el Laboratorio Ed. 5a. Salvat editores, S.A. - España 1972, págs. 152-156, 386-388, 403-405, 410-411.
- 2.- Boullin D J, colaboración personal. Dpt. Clinical Pharmacology Radcliffe Infirmary Oxford OX26-HE, Eng.

#### DISCUSION.

- 1.- Boullin D J: Uptake of Dopamine by platelets in vitro BR J PHARMACOL 40: 522-3, 1970.
- 2.- Barbeau A: Uptake and efflux of Dopamine in platelets: evidence for a generalized defect in Parkinson disease NEUROLOGY 25: 1-9, 1975.
- 3.- Kwaan H C, J A Colwell, S Cruz: Increased platelet aggregation in diabetes mellitus J LAB --- CLIN MED 80 ( 2 ): 236-246, 1972.
- 4.- Saleh J W, S A Hashim: Altered sedimentation behavior and ultra-structure of platelets in hyper-

lipidemia CIRCULATION 50: 880-886, 1974.

- 5.- Cole J W, A G Britt, C W Laughry: The effect of alimentary and intravenously induced hyperlipemia on platelets SURG FORUM 4: 173, 1953.
- 6.- Sneddon J M: Sodium dependent accumulation of 5-hydroxytryptamine in blood platelets BRIT J — PHARMACOL 32: 1-16, 1969.
- 7.- Ross A: Sex and age differences in human platelet aggregation NATURE 253: 355-356, 1975.
- 8.- Rytting J H, D C Chatterji, T Higuchi: Effects of temperature and pressure on short term storage of platelets NATURE 253: 539-540, 1975.
- 9.- Paulus J: Platelet size in man BLOOD 46: 321-336, 1975.
- 10.- Born G V, R Gillson: Studies on the uptake of 5-hydroxytryptamine by blood platelets J PHYSIOL LOND 146: 472-491, 1959.
- 11.- Pletscher A, M Da Prada, K H Bernies, J P Tranzier: New aspects on the storage of 5-hydroxytryptamine by blood platelets EXPERIENTIA 27 ( 9 ): 993-1002, 1971.
- 12.- Genefke I K: Methodological investigations on the in vitro uptake of 5-hydroxytryptamine by human blood platelets ACTA PSYCHIATR SCAND 47: 411-19, 1971.
- 13.- Serrano P A: Catecolaminas, Conceptos actuales. Hipertensión arterial y catecolaminas. Ed. 1a. Editorial Interamericana, S.A., México 1973, págs. 115-123.
- 14.- Chávez Lara B, en publicación.