



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

BO 1259/96

Ej. 1

"IDENTIFICACION DE LOS RECEPTORES
HISTAMINERGICOS INVOLUCRADOS EN LA
PERMEABILIDAD VASCULAR EN RATA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

FERNANDO MORENO PLAZA

400282



61060



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.

Dios, tu que eres la inteligencia suprema de éste universo y permites que poco a poco el homo sapiens le arranque secretos a la naturaleza, no permitas que éste los utilice soberbiamente para la destrucción de los pueblos, sino más bien , para su felicidad. Esto es solo una petición que te hago, sin embargo tu sabes señor si me lo concedes o no, porque he aprendido a decir : hágase tu voluntad y no la mía. GRACIAS.

Quiero dedicar éste trabajo, muy especialmente a mis padres : Reyes Moreno Estrada y Francisca Plaza Alcantar, en primer lugar por haberme dado la vida y también por todos esos sacrificios que desinteresadamente me han brindado en la vida. ! LOS AMO PAPAS !

A mis hermanos (as) : Margarita, Luz María, Reyes, Norberto, Mary, Miguel, Sandra, Edith y Manuel, que directa o indirectamente me estimularon a seguir adelante, gracias hermanos.

A Mónica y Raxzanell : Por haber llegado a mi vida, por compartir tristezas y alegrías, por ser el motor que impulsa a mi vida, por su comprensión y amor, gracias familia, te amo moni, te amo hijo.

Al Biólogo Javier Alonso Trujillo, amigo y director de ésta tesis, gracias por tu amistad, gracias por tus consejos como profesionista, sin las cuáles no hubiera sido posible éste trabajo.

A los revisores de ésta tesis :

M. en C. Bertha Segura Alegría
M. en C. Ismael Ledesma Mateos
Dr. Fernando García Hernández
Dr. Luis Arturo Baiza Gutman

Gracias por sus acertadas observaciones, correcciones y enfoque que contribuyeron de manera muy importante para la realización de éste trabajo.

Le agradezco al Dr. Librado Rodríguez Segura, del Hospital General de Tlalnepantla, las facilidades otorgadas para la realización de la parte experimental de éste trabajo.

Al campus Iztacala : Gracias por soportarme tanto tiempo y por permitirme estar una parte de mi vida en tus aulas y laboratorios.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

No se como expresar lo mucho que estoy agradecido contigo, porque me has permitido formarme como persona y como profesionista, me has enseñado a amar a mi familia y a mi país. Creo que, a pesar de todos los problemas que te aquejan, saldrás adelante, porque creo en ti y sobre todo porque sigues siendo el alma mater de nuestro pueblo.

! VIVA LA UNAM ! ! VIVA MEXICO !

Septiembre de 1996.

ÍNDICE

RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	3
1.- Generalidades	3
2.- Antagonistas histaminérgicos	7
3.- Principales acciones de la histamina y papel de los receptores H1, H2 y H3	15
4.- Mecanismos de transducción de los receptores H1, H2 y H3	16
II - ANTECEDENTES	22
III - JUSTIFICACIÓN	30
IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	32
V.- OBJETIVOS	33
VI.- HIPÓTESIS	35
VII.- MATERIAL Y MÉTODOS	36
VIII.- RESULTADOS	38
IX.- DISCUSIÓN	48
X.- CONCLUSIONES	56
XI.- BIBLIOGRAFIA	58

RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron ratas Wistar machos de 350 a 400 gramos de peso, con el propósito de identificar los receptores histaminérgicos involucrados en los cambios en los parámetros séricos, que indirectamente nos indiquen aumento en la permeabilidad vascular (albúmina, proteínas totales, globulinas, sodio, cloro, calcio y potasio), mediante el empleo de antagonistas de los receptores H1 (astemizol) y H2 (ranitidina) de la histamina.

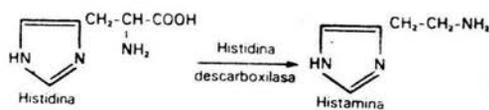
En el grupo de ratas tratadas con histamina (10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), se observó un decremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) de las concentraciones séricas de albúmina, proteínas totales y globulinas, (en relación con el grupo control); lo que podría, al disminuir la presión osmótica del plasma, producir un decremento del volumen plasmático, lo que traería como consecuencia que, en éste grupo de ratas, las concentraciones de los electrolitos sodio, cloro y calcio se encontraron incrementadas significativamente. No se encontró efecto sobre la concentración sérica de potasio. Los resultados en las concentraciones séricas de electrolitos, también pueden explicarse por una reacción compensatoria en el organismo.

En los grupos de ratas tratadas con los antagonistas H1 (astemizol, 0.16 mg/Kg) y H2 (ranitidina, 0.13 mg/Kg) simultanea e independientemente cada uno de ellos, se observó que el sodio y el calcio (excepto en el grupo tratado con ranitidina) regresan a su concentración normal, en cambio el cloro sigue aumentado. Es probable que éstos resultados se deban a mecanismos compensatorios que el organismo tiende a llevar a cabo, principalmente a través de la función renal, cuando hay la disminución del volumen plasmático (ya que en éstos grupos sigue observándose una disminución de las proteínas totales y las globulinas). En éstos grupos de ratas también se observó que la albúmina retorna a su concentración normal, respecto al control, ésto debido posiblemente a que ambos bloqueadores revierten la acción de la histamina (inhibiendo el aumento en la permeabilidad vascular); no así las concentraciones de proteínas totales y de globulinas que se encuentran disminuidas en el suero. Todo esto, al parecer indica que, los receptores H1 y H2 de la histamina están involucrados en el aumento en la permeabilidad vascular a la albúmina, sin embargo no se puede decir lo mismo de las globulinas, las cuáles continúan extravasándose del plasma hacia los espacios intersticiales, posiblemente a través de la activación de un receptor de la histamina diferente a H1 y H2.

I. - INTRODUCCION.

1. - GENERALIDADES.

La histamina, 4 (2-aminoetil) imidazol o beta imidazoliletilamina (1), es una amina que se deriva de la histidina al ser ésta descarboxilada por acción de la descarboxilasa de la histidina :



Distribución tisular y celular de la histamina.- La histamina se encuentra en casi todos los tejidos de los vertebrados. Las concentraciones más elevadas se hallan en los pulmones, la piel y el estómago. En la mayoría de los órganos la concentración de histamina esta relacionada con el número de mastocitos, los cuales están asociados con el tejido conjuntivo laxo y distribuidos a lo largo de los pequeños vasos sanguíneos. Otra fuente de histamina son los leucocitos basófilos. Estas células, al igual que los mastocitos, participan en las reacciones alérgicas e inflamatorias.

La histamina también se encuentra en la mucosa gástrica y, en pequeña cantidad, en el cerebro, el corazón y otros órganos (2-5)). También se produce en las neuronas del sistema nervioso central y periférico (6,7).

En los mastocitos y basófilos, la histamina se encuentra almacenada en gránulos lisosomales. En dichos gránulos, el proteoglicano predominante, es la heparina, la cuál está formada por un núcleo proteico central, a base de residuos alternados de serina y glicina ; del que surgen cadenas colaterales de aminoazúcares sulfatados en un grado variable y que se denominan glicosaminoglicanos (GAG); la histamina y la serotonina (en roedores) se encuentran unidas por fuerzas iónicas a los GAG, específicamente a los grupos carboxilo de los ácidos glucurónico e idurónico (5).

Para que ejerza su acción, la histamina tiene que ser liberada de los depósitos celulares correspondientes, la que es estimulada por una serie de factores como (8-10):

- a) polipéptidos y proteínas que ponen en marcha una respuesta secretoria no citolítica , como : anafilatoxinas, protamina, substancia P, etc.
- b) sustancias que causan daños tisulares y pueden considerarse como estímulos fisiopatológicos que inducen la liberación de la histamina y que sigue al daño celular.

- c) Se libera en la piel por estímulos físicos produciendo la llamada "triple respuesta de Lewis" con dilatación capilar, dilatación arterial y edema
- d) Por algunos compuestos básicos como amidas, amidinas, y diversos alcaloides ; como el compuesto 48/80.
- e) El ionóforo de calcio A 23187.
- f) Polisacáridos.
- g) Lectinas.
- h) La histamina también se libera en algunas condiciones fisiológicas como la inflamación, la anafilaxia y en los estados alérgicos.
- i) También ciertos tiobarbitúricos como el tiopental y el tiamilal causan la liberación de histamina (11,12); así como algunos opioides como la morfina (13); y finalmente algunos antibióticos como la vancomicina, (14).

Todas las sustancias mencionadas anteriormente causan la liberación de la histamina de los mastocitos y los basófilos a través de diferentes mecanismos, la secuencia completa de los procesos bioquímicos implicados en ésta respuesta no es bien conocida. Sin embargo, actualmente se ha establecido que los antígenos parecen ser los estímulos más importantes para los mastocitos y los basófilos, y por ello sus mecanismos son los que se han estudiado con mayor detalle. La estimulación de basófilos

de humanos sensibilizados con un antígeno específico, induce la fusión de las membranas que envuelven a los gránulos individuales con la membrana citoplásmica. En consecuencia las partículas de los gránulos (y los mediadores almacenados en ellos , entre otros, la histamina), se liberan a través de diversas comunicaciones estrechas existentes entre los gránulos y la superficie celular.

La desgranulación anafiláctica de los mastocitos pulmonares humanos (mediada por IgE), también da lugar a la fusión de las membranas de los gránulos con la membrana citoplásmica. Sin embargo, en éstas células, los primeros cambios estructurales identificados, fueron el aumento del volumen de los gránulos y la disminución de la densidad electrónica de la matriz granular. Posteriormente los gránulos citoplásmicos individuales se fusionan, formando cadenas interconectadas de gránulos dilatados llenos de una matriz fibrilar alterada; luego éstas cadenas se amplían progresivamente, adoptando el aspecto de numerosos canales tortuosos citoplásmicos. La liberación de histamina se inicia con la abertura de éstos canales al exterior, a través de numerosos puntos estrechos de fusión con la membrana citoplásmica (15,70,71).

La acción de la histamina es fugaz porque se difunde en los tejidos y se metaboliza rápidamente (fig. 1) por cualquiera de

las vías siguientes : a) se desamina oxidativamente por la histaminasa o diaminoxidasa, luego una oxidación debida a la xantinoxidasa, que la transforma en ácido imidazolacético que, finalmente sufre una conjugación con la D-ribosa; b) se metila por la imidazol-N-metiltransferasa y oxida posteriormente por la monoaminooxidasa, seguida por la xantinoxidasa, lo que da ácido metil imidazolacético; c) la histamina se conjuga con ácido acético, ésta acetilación se lleva a cabo por la acetilasa, siendo ésta última transformación metabólica de poca importancia. Todos éstos procesos son rápidos, lo que explica la fugacidad de los efectos de la histamina, ya que los metabolitos formados son inactivos. Estos metabolitos, a saber el ácido imidazol acético y su ribósido, así como la 1-metilhistamina y el ácido metilimidazol acético, junto con pequeñas cantidades de acetil histamina, se excretan en la orina (19).

2.- ANTAGONISTAS HISTAMINÉRGICOS.

La histamina posee una amplia variedad de acciones biológicas mediadas por la activación de receptores localizados en la membrana plasmática celular. El descubrimiento de sustancias químicas que antagonizan específicamente los efectos farmacológicos de la histamina, ha dado lugar a la definición de tres subtipos de receptores denominados receptores H1, H2 y H3

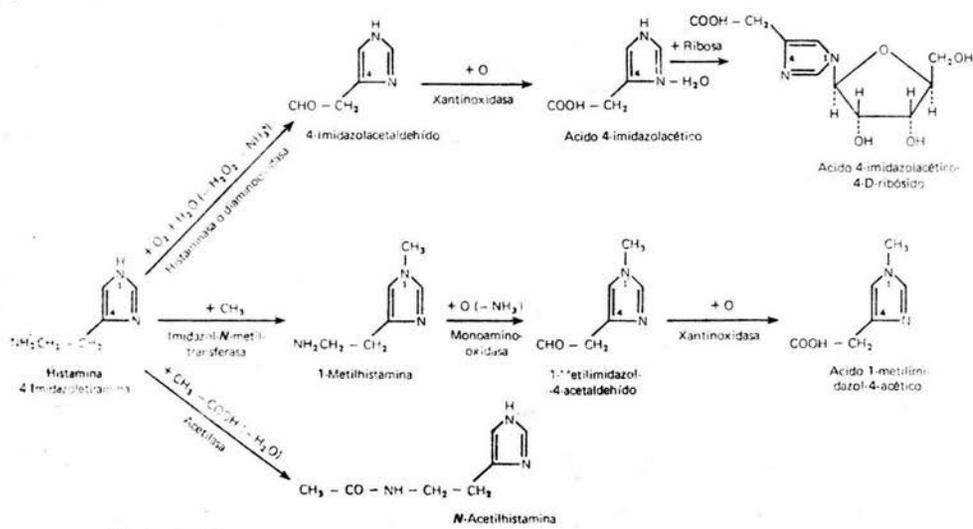


Fig. 1.- Catabolismo de la histamina.

El descubrimiento de éstos antagonistas ha contribuido al conocimiento de la farmacología y de los efectos fisiológicos de la histamina.

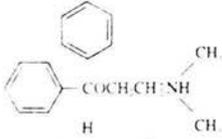
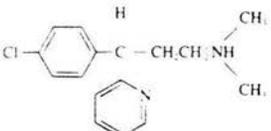
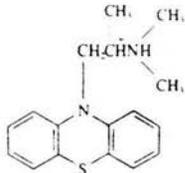
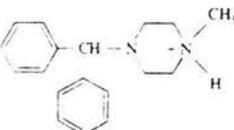
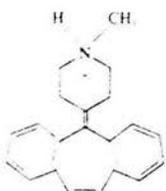
Los antagonistas H₁, H₂ y H₃ suprimen las acciones debidas a estímulo de los receptores H₁, H₂ y H₃ respectivamente. Casi todos éstos antagonistas tienen acciones farmacológicas y terapéuticas. Así mismo, cada uno de ellos se subdividen de la siguiente manera (7,16) :

1) Antagonistas H₁. - Se pueden subdividir en dos clases, en función de sus aplicaciones terapéuticas:

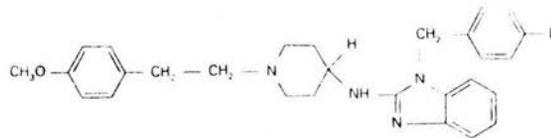
A) Antagonistas H₁ clásicos (tabla I). - Estos actúan por afinidad con los receptores H₁. A diferencia de la histamina, la afinidad de los antagonistas por el receptor no provoca la respuesta hística. Sus efectos adversos más comunes son sedación, depresión o estimulación del sistema nervioso central, efectos anticolinérgicos y trastornos gastrointestinales.

B) Antagonistas H₁ no sedantes. - La terfenadina y astemizol son dos antagonistas H₁ recientemente sintetizados (fig. 2) que se diferencian de los antihistamínicos clásicos principalmente por : la cinética de su afinidad y disociación del receptor H₁ y por la ausencia de efectos secundarios centrales y de efectos anticolinérgicos apreciables; razón por la cuál fueron aprobados para su uso terapéutico en Estados Unidos en 1985.

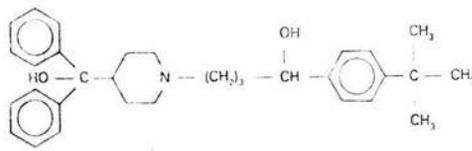
Tabla I. Los seis grupos mayores de antihistamínicos H₁ clásicos

Atómicos en el anillo	Grupo	Ejemplo	Otros miembros	Características
N	Etilendiaminas	 <p>Pirilamina</p>	CH ₃ Antazolina Metapirileno Tripienamina CH ₃	Efectos centrales relativamente débiles, aunque en algunos pacientes puede haber somnolencia, son comunes los efectos secundarios gastrointestinales
N	Etilendiaminas (éteres aminoalquilados)	 <p>Difenhidramina</p>	Bromodifenhidramina Carbinoxamina Clemastina Dimenhidrato Difenilpiralina Doxilamina Fenitoloxamina	Importante actividad antimuscarínica; es frecuente observar depresión del SNC en la mitad de los pacientes que utilizan compuestos de este grupo; incidencia relativamente baja de efectos secundarios gastrointestinales
C	Alquilaminas (derivados propilaminicos)	 <p>Clorfeniramina</p>	Bromofeniramina Dexbromofeniramina Desclofeniramina Dimetindeno Feniramina Pirrobotamina Triprolidina	Menos depresión central que los miembros de otros grupos, ocasionalmente estimulación del SNC, es el mejor grupo de antihistamínicos clásicos para utilizar durante el día
N (en el anillo enotriacínico)	Fenotiacinas	 <p>Prometiazina</p>	Metdilacina Trimepracina	Efectos sedantes muy importantes; la mayoría tiene una notable acción antimuscarínica; se suelen utilizar en primer lugar como antieméticos
N (en el anillo piperacínico)	Piperacinas	 <p>Piperidinas</p>	Buclizina Clorciclizina Hidroxicina Meclicina	Producen un efecto sedante y antimuscarínico relativamente débil; buclizina, ciclicina y meclicina se utilizan para tratar la cinetosis; la hidroxicina se utiliza como tranquilizante, sedante y antiemético
N (en el anillo piperidínico)	Piperidinas		Azatadina Fenindamina	Su potencia sedante es comparable con la del grupo etilendiamina; el efecto secundario más común es la somnolencia

Tomado de Trzciakowsky, antihistamínicos, Salvat, México 1992. (16).



Astemizol



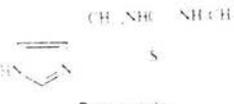
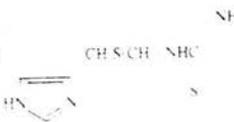
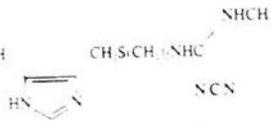
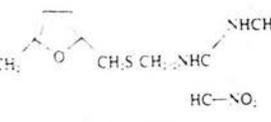
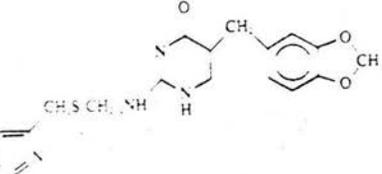
Terfenadina

Fig. -2. Estructuras químicas de astemizol y terfenadina.

2) Antagonistas H₂.- La síntesis de ésta nueva clase de antihistamínicos, denominados H₂, fue impulsado por la curiosidad farmacológica y el interés de la industria farmacéutica por descubrir un nuevo tipo de agente antisecretor gástrico. Las modificaciones sistemáticas de la molécula de histamina, análogas a las utilizadas previamente en el desarrollo de antagonistas adrenérgicos selectivos, produjeron cientos de compuestos en los que se evaluó la capacidad para antagonizar las acciones histamínicas "no H₁", por ejemplo, la secreción ácida gástrica en las ratas y la estimulación de la aurícula aislada del cobayo. De ésta manera se sintetizaron una gran cantidad de antagonistas H₂ como : la burimamida, la metiamida, la cimetidina, la ranitidina etc. (tabla II); sin embargo de todos éstos antihistamínicos el más utilizado por las ventajas que posee, es la ranitidina que se emplea como inhibidor de la secreción ácida gástrica.

El primer paso para establecer el mecanismo de acción de una droga es establacer primero las relaciones de magnitud entre la dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas (curva dosis-respuesta). La forma de la curva es sigmoidea y a través de ésta se puede deducir la dosis que produce un efecto determinado en el 50% de los casos, es decir la

Tabla II. Antihistamínicos H₁ comparados con la histamina

Nombre del fármaco	Tipo de anillo	Potencia (relativa)	Referencias
 Histamina	Imidazólico	1	
 N-guanilhistamina	Imidazólico	0,001	Durant y cols. (1975) (108); Durant y cols. (1977) (109); Ganellin (1978) (109)
 Burimamida	Imidazólico	0,1	Black y cols. (1972) (101); Durant y cols. (1977) (109); Ganellin (1978) (110)
 Metiamida	Imidazólico	1	Black y cols. (1973) (103); Durant y cols. (1977) (109); Forrest y cols. (1975) (104); Ganellin (1978) (110)
 Cimetidina	Imidazólico	1	Brimblecombe y cols. (1975) (111); Durant y cols. (1977) (109); Ganellin (1978) (110)
 Ranitidina	Furano	3-5	Britan y Daly (1981) (112)
 (Benzimidazólico)	imidazólico	1-4	Blakemore y cols. (1980) (113); Mills y cols. (1982) (114)

Tomado de Trzciakowsky, antihistamínicos, Salvat, México 1992. (16).

dosis efectiva 50% o dosis efectiva media, que se abrevia DE 50 (19).

La DE 50 para la histamina, determinada a partir de la disminución de la presión arterial sistémica, es de 10 μ g/Kg de peso (19,57).

El astemizol es un antagonista del receptor H1 de la histamina, con una acción de 24 horas aproximadamente. Otras ventajas que presenta con respecto a otros bloqueadores H1, es que no deprime el sistema nervioso central (no es sedante). En una curva dosis-respuesta (% de receptores H1 ocupados), la dosis efectiva media es de 0.16 mg/Kg de peso corporal (54).

Experimentos realizados en ratas Wistar anestesiadas y perfundidas del estómago, tratadas con ranitidina y cimetidina intravenosamente causó un decremento de la secreción ácida gástrica inducida por histamina. Los valores de DE 50 para la ranitidina y cimetidina fueron de 0.13 y 0.73 mg/Kg respectivamente. La ranitidina es 5.6 veces más potente que la cimetidina. La ranitidina es altamente específica para los receptores H2 y además no tiene efectos antiandrogénicos (disminución del peso de la próstata) como la cimetidina (55,56).

3.- PRINCIPALES ACCIONES DE LA HISTAMINA A TRAVES DE LA ACTIVACION DE SUS RECEPTORES H1, H2 Y H3.

Las principales acciones de la histamina son las siguientes (7):

- Produce un aumento en la permeabilidad capilar y venular, a través de la activación de los receptores H1.
- En el corazón, la histamina produce un efecto cronotropico positivo, via receptor H2, un efecto inotropico positivo a través de los receptores H1 y H2.
- Cuando se introduce en las capas superficiales de la piel, causa prurito, estimulando a los receptores H1.
- En el músculo liso extravascular provoca contracción o relajación, según el tipo de músculo y tipo de receptor presente (H1 y H2 respectivamente).
- La histamina es un poderoso secretagogo gástrico y produce una copiosa secreción de jugo gástrico de gran acidez. Este efecto esta mediado por los receptores H2.
- Tiene efectos estimulantes sobre las células cromafines suprarrenales y los ganglios autónomos.
- Presenta acciones sobre las secreciones exócrinas salivales, lagrimales, pancreáticas, intestinales y bronquiales.
- Se ha sugerido que el sistema histaminérgico esta involucrado en el control del sueño e insomnio, circulación cerebral y secreción

de hormonas hipotalámicas. Estas acciones están reguladas por el receptor H3 (6).

4.- MECANISMOS DE TRANSDUCCION DE LOS RECEPTORES H1, H2 Y H3.

En general existen dos vías principales de acoplamiento o transducción estímulo-respuesta para la histamina en las células blanco :

a) La primera, está regulada por la activación de los receptores H1 de la histamina (fig. 3) y comprende acciones que alteran la permeabilidad de la membrana citoplásmica a iones inorgánicos, particularmente mayor permeabilidad al sodio y al calcio, lo que les permite entrar en la célula por medio de gradientes electroquímicos, además de que se induce la movilización de calcio intracelular, lo cual se ve reflejado en el aumento del calcio citosólico (17,18,20). Algunos estudios señalan que los depósitos de calcio intracelular pueden ser las mitocondrias (24,25), otros sugieren al retículo endoplásmico (26-28). Con excepción de la membrana plasmática el sitio de donde se movilizará calcio requiere de la intervención de una molécula que actuará como segundo mensajero. Mitchell (29) propuso que el recambio de fosfatidilinositol trifosfato (IP3) en la membrana plasmática era la respuesta primaria a la intervención de las hormonas dependientes de calcio con su receptor. La interacción

de la histamina con sus receptores H1 (21-23,30) activa a una fosfodiesterasa (PDE). lo que resulta en un incremento de la degradación del IP3 en la membrana convirtiendolo en 1,2-diacilglicerol (DG) y fosfatidil inositol 4,5 difosfato (PIP2). La fosforilación del grupo hidroxilo libre del diacilglicerol por ATP produce ácido fosfatídico, el que es transformado a IP3 por una diacil-glicerol inositol transferasa en el retículo endoplásmico.

Berridge e Irvine (31) demuestran en la glándula salival de la mosca que la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-difosfato (PIP2) en inositol 1,4,5, trifosfato (IP3) y 1,2 diacilglicerol ocurría en 3 segundos. éstos resultados dan la idea de que IP3 puede funcionar como segundo mensajero en la movilización de calcio intracelular. Otros trabajos realizados por ellos demuestran que la adición de IP3 en el rango micromolar induce la movilización del calcio del retículo endoplásmico. éste efecto se puede interpretar como específico del IP3. También se cree que una proteína kinasa activada por el diacilglicerol, llamada proteína kinasa C puede tener importancia en éste mecanismo de transducción (32). Este tipo de mecanismo también está propuesto para otras hormonas cuya acción es dependiente de calcio.

Las consecuencias de la activación del receptor, mostradas en la figura 3, son generalmente complejas; teniendo en cuenta que la

activación de la kinasa C tiene lugar a través de dos vías (DG y Ca^{2+} vía IP 3). Además de la activación de la kinasa C, el calcio liberado por la acción del IP 3 activa al menos otra Kinasa sensible al calcio, así como otras moléculas reguladoras y efectoras, tal es el caso de la calmodulina, que activa la kinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina, la cuál a su vez puede dar lugar a la activación de una gran variedad de enzimas (dependiendo del tipo celular) y sistemas de transporte, que resultan en cambios en la permeabilidad de la membrana celular, alteraciones en el citoesqueleto y la función contractil (33-35).

b) La segunda vía que involucra a los receptores H2 y H3 (fig. 4), se refiere a la activación de la adenilato ciclasa y a la generación de AMP cíclico(36,37). A través de estudios realizados (38,39), se ha establecido que, algunos receptores y la adenilato ciclasa forman parte de un complejo integrado por tres entidades: el receptor, una proteína reguladora denominada "G", la cuál posee alta afinidad por nucleótidos de guanina y la adenilato ciclasa. Recientemente se ha demostrado que la proteína "G" involucrada en la activación de la adenilato ciclasa es diferente de la que participa en su inhibición (38,40-42). Eckert (33), asignó la abreviatura Gs a la proteína que estimula a la adenilato ciclasa y Gi a la que la inhibe. Por consiguiente, la

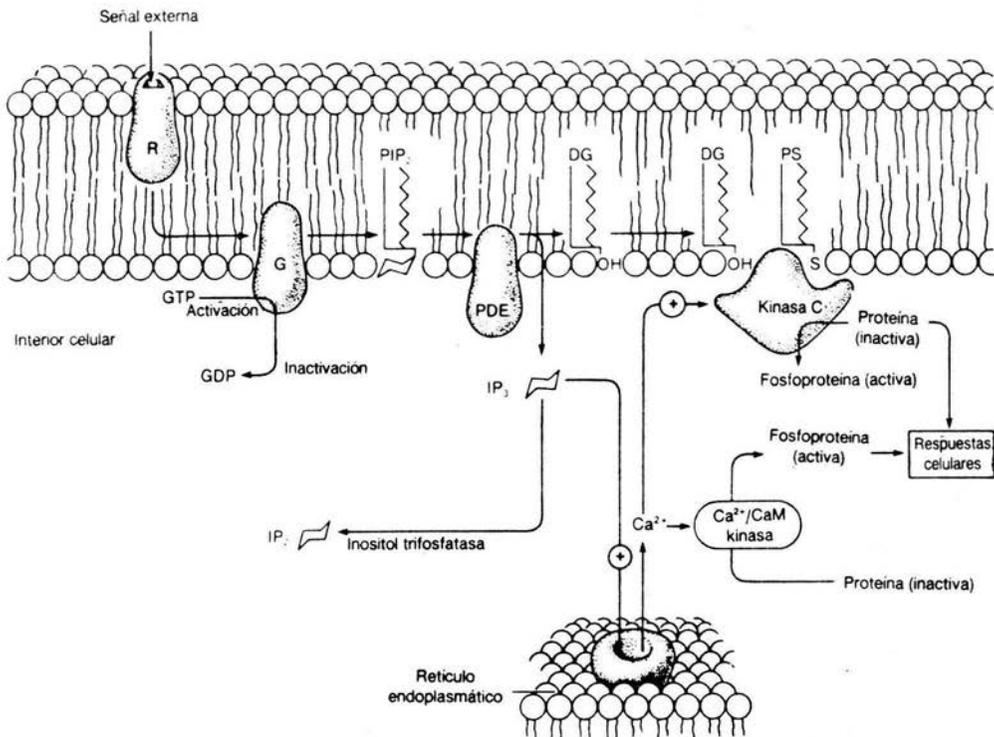


Fig. 3 Las cascadas del DG y el IP_3 . La unión de una hormona a su receptor le proporciona una configuración con la que fomenta la fijación de GTP a una proteína G. En este estado, la proteína G activa la PDE, que cataliza la hidrólisis del PIP_2 en DG, que permanece en la membrana, y el IP_3 , que difunde hacia el citosol.

El DG favorecerá la activación de la kinasa C fijada a la membrana. El IP_3 favorece la liberación de Ca^{2+} desde depósitos intracelulares, como el retículo endoplasmático. El ion calcio se une a la calmodulina para activar la kinasa dependiente de Ca/calmodulina, o promover la activación de la kinasa C. [Basado en Berridge, 1985.]

Abreviaturas :

- DG =** Diacil glicerol
- IP_3 =** Fosfatidil inositol trifosfato
- GTP =** Guanosin trifosfato
- PDE =** Fosfolipasa
- PIP_2 =** Fosfatidil inositol 4,5, difosfato

respuesta inmediata a la interacción hormona-receptor se inicia con la formación de un complejo oligomérico que controla la actividad de la unidad catalítica de la adenilato ciclasa que transforma al ATP en AMP cíclico, que es el segundo mensajero. Las modificaciones en los niveles de AMP cíclico son detectados por una serie de enzimas llamadas proteínas kinasas, éstas están formadas por dos tipos de subunidades; unas de reconocimiento del AMP cíclico o reguladoras y otras con actividad catalítica, las cuáles se activan por éste proceso y desencadenan una cascada de fosforilación de enzimas reguladoras que resultan en cambios tales como la estimulación de la glucogenólisis, lipólisis, síntesis de proteínas, cambios en la permeabilidad de la membrana celular etc. Las propiedades de la proteína kinasa activada y la naturaleza de las proteínas fosforiladas subsecuentemente, determinan la serie de fenómenos que ocurren en una célula en respuesta al AMPc. Por ésta razón, diversas hormonas pueden activar a la misma enzima, la adenilato ciclasa, en diferentes células blanco y pueden dar lugar a respuestas celulares distintas (33)

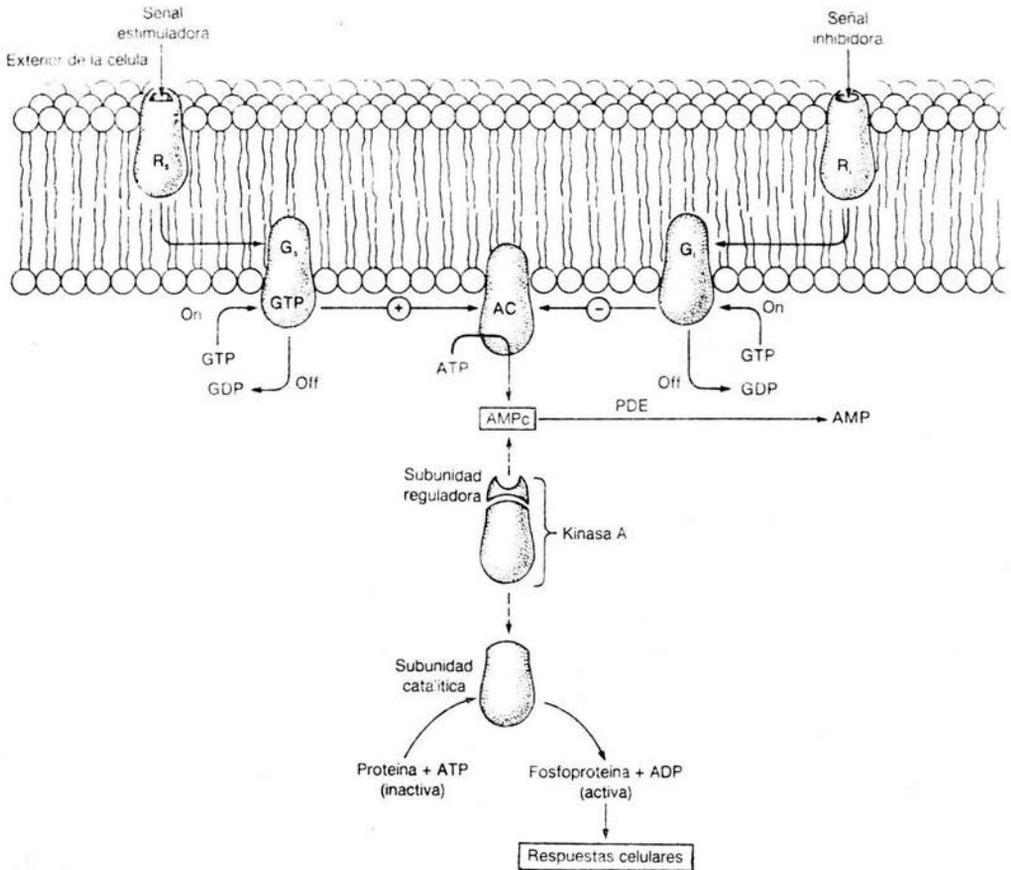


Fig. 4 La cascada de AMPc. Hormonas u otros ligandos capaces de producir acciones estimuladoras o inhibitorias se fijan a sus respectivos receptores R_s y R_i; estos catalizan la unión del GTP a sus respectivas proteínas transductoras G_s y G_i. Las proteínas G activadas por el GTP son ahora capaces de estimular o inhibir la acción catalítica de la subunidad ciclasa (AC) hasta que el GTP es desfosforilado enzimáticamente a guanosin difosfato (GDP) cesando el efecto sobre la ciclasa. La AC, mientras está activada, cataliza la síntesis de AMPc a partir de ATP. El AMPc suprime la inhibición de

la kinasa A por eliminación de la subunidad reguladora de la kinasa, liberando la subunidad catalítica, que a continuación puede fosforilar distintas fosfoproteínas intracelulares, activándolas. De este modo, el incremento de la concentración de AMPc inducido por la hormona desemboca en respuestas celulares, cuya naturaleza depende de las propiedades de la kinasa A activada por las diferentes fosfoproteínas presentes en la célula diana. Tras la activación de la kinasa A, el AMPc es degradado a AMP por una fosfodiesterasa (PDE). [Basado en Berridge, 1985.]

II.- ANTECEDENTES.

Para comprender la importancia de las alteraciones en la permeabilidad vascular es necesario que tomenos como primer antecedente los estudios que desde hace mucho tiempo se han realizado sobre este tema y que actualmente forman parte de la hemerografía clásica que se encuentra en los libros de Fisiología.

La permeabilidad capilar, es un fenómeno por el que se intercambian sustancias entre la sangre de los capilares y los tejidos, el principal mecanismo implicado es la difusión. Este intercambio se presenta a través de cuatro rutas básicas :

- a) a través de las uniones entre las células endoteliales.
- b) por vía de vesículas pinocíticas.
- c) directamente a través de las membranas de los capilares y
- d) a través de las fenestraciones de algunos capilares.

Sin embargo en su mayor parte se da a través de las uniones endoteliales de los capilares continuos y los poros de los capilares fenestrados.

El intercambio de algunas moléculas de gran tamaño tiene lugar debido al gran número de vesículas pinocíticas que estan atravesando constantemente la pared de la mayoría de los capilares (43,44).

La movilización del agua y de las sustancias disueltas, con excepción de las proteínas, a través de las paredes de los capilares depende de varias fuerzas o presiones opuestas (fig. 5.). Algunas de éstas empujan el líquido fuera de los capilares hacia los espacios intersticiales circundantes, lo que da por resultado su filtración. La acumulación de líquido en los espacios intersticiales que resultaría de su movimiento en una sola dirección, se evita en virtud de la presencia de fuerzas opuestas que lo desplazan de dichos espacios hacia los capilares sanguíneos, dando por resultado su reabsorción. En primer término se consideran las presiones hidrostáticas que participan en el proceso. La presión de la sangre en los capilares, llamada presión hidrostática de la sangre tiende a movilizar los líquidos de los capilares hacia la región intersticial. Esta presión hidrostática de la sangre es en promedio de 30 mm de Hg en el extremo arterial de un capilar y cerca de 15 mm de Hg en el extremo venoso. En contraposición a la presión hidrostática de la sangre se encuentra la presión hidrostática del líquido intersticial, el cual tiende a movilizar líquido fuera de los espacios intersticiales hacia los capilares; ésta presión es muy difícil de medir, pero se piensa que es muy pequeña y para efectos prácticos se toma como cero.

Las presiones osmóticas también participan en la movilización hídrica. Estas se deben a la presencia de proteínas no difundibles en la sangre y en el líquido intersticial. La presión osmótica de la sangre tiende a movilizar el fluido desde los espacios intersticiales hacia los capilares; ésta presión es en promedio de 28 mm de Hg en ambos extremos de los capilares. En contraposición a la presión osmótica de la sangre, se encuentra la presión osmótica del líquido intersticial, la cuál tiende a movilizar fluido plasmático fuera de los capilares hacia el espacio intersticial, y es en promedio aproximadamente de 6 mm de Hg en ambos extremos.

Si los líquidos abandonan o entran a los capilares depende de la forma en la que las presiones se relacionan entre sí. Si las fuerzas que tienden a movilizar el líquido fuera de los capilares son mayores que las fuerzas que tienden a movilizarlo hacia dentro de ellos, éste se desplazará de los capilares hacia los intersticios (filtración). Si sucede todo lo contrario, entonces el líquido se movilizará a la inversa, es decir ocurre una reabsorción (45-47).

El término de presión efectiva de filtración se utiliza para demostrar la dirección del movimiento hídrico. Este se calcula así:

$$PEF = (PHS + POLI) - (PHLI + POS)$$

donde:

PEF= presión efectiva de filtración

PHS= presión hidrostática de la sangre

POLI=presión osmótica del líquido intersticial

PHLI=presión hidrostática del líquido intersticial

POS=presión osmótica de la sangre

Sustituyendo los valores de presión (mm de Hg) en el extremo arterial del capilar:

$$PEF = (30 + 6) - (0 + 28)$$

$$PEF = 36 - 28$$

$$PEF = 8 \text{ mm Hg}$$

En el extremo venoso del capilar:

$$PEF = (15 + 6) - (0 + 28)$$

$$PEF = 21 - 28$$

$$PEF = -7 \text{ mm Hg}$$

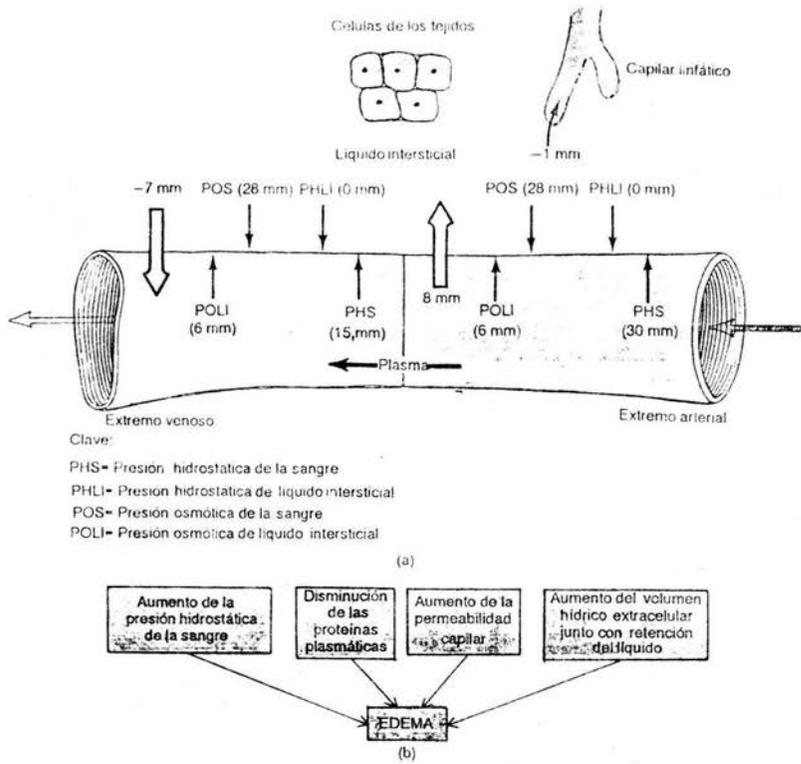


Fig. 5 Dinámica del intercambio capilar. a) Presión hidrostática y osmótica que participan en la movilización hídrica de los capilares (filtración) y hacia los capilares (reabsorción). b) Factores que contribuyen al edema.

tomado de Tortora, Principios de anatomía y fisiología Harla, México 1993 (43)

Así, en el extremo arterial de un capilar, hay una fuerza neta hacia fuera (8 mm de Hg) y el líquido se moviliza de los capilares hacia los intersticios, es decir ocurre la filtración.

En el extremo venoso de un capilar (-7 mm de Hg) el valor negativo representa una fuerza neta interna y el líquido se moviliza hacia los capilares (se reabsorbe) proveniente de los espacios intersticiales.

No todo el líquido que se filtra en un extremo del capilar se reabsorbe en el otro extremo, pero es factible observar que cierta cantidad del líquido filtrado que escapa de la sangre hacia el líquido intersticial, regresan por medio del sistema linfático hacia el sistema cardiovascular. De ésta forma, en condiciones normales existe un equilibrio en los extremos arterial y venoso de un capilar, en el cual el filtrado y el líquido reabsorbido, además del que regresa al sistema linfático son iguales. Este equilibrio se conoce como "Ley de Starling de los capilares". (45-47).

Los cambios en la permeabilidad capilar que son consecuencia de la acción de la histamina, pueden involucrar un proceso de movilización de solutos a través del endotelio vascular:

a) por una parte, se altera la permeabilidad de la membrana plasmática a iones inorgánicos, particularmente mayor

permeabilidad al sodio, cloro y calcio, lo que les permite entrar en la célula por medio de gradientes electroquímicos.

b) permeabilidad a las proteínas del plasma.- En efecto, la histamina hace que las células endoteliales que revisten a las vénulas y los capilares se separen ligeramente donde los bordes no están unidos estrechamente. En consecuencia, éstos vasos de pared delgada se dilatan y exudan plasma, del que resulta el paso de líquido y proteínas plasmáticas a los espacios extracelulares y con ello la formación de edema.

La dilatación causada por la histamina se debe a que tiene un efecto inhibitorio en las fibras musculares de los vasos sanguíneos algo mayores corriente arriba (arteriolas terminales); la dilatación que ocurre en las vénulas postcapilares, que alcanzan hasta unos 50 μm de diámetro carecen de fibras musculares, parece que es principalmente pasiva, causada de una parte, por la pérdida de resistencia corriente arriba (con aumentado gasto sanguíneo), y de otra parte, por el aumento de la presión de las grandes venas constriñidas por la histamina (2,4,7)

Otros estudios señalan que, la histamina induce los cambios en la permeabilidad vascular, a través de la liberación de calcio desde los depósitos intracelulares de las células endoteliales de

capilares y vénulas, lo cuál provoca la contracción de dichas células (se ha confirmado la existencia de actina y miosina endotelial, las cuáles accionan un mecanismo contráctil parecido al de las células musculares lisas) y la subsecuente formación de espacios entre las células endoteliales de los capilares y las vénulas, por donde ocurre la extravasación de proteínas plasmáticas (principalmente albúmina) hacia los espacios intersticiales. La histamina promueve ésta acción después de unirse a los receptores H1, pero no a los H2 (48-52).

III.- JUSTIFICACION.

Se han realizado estudios (53, 67) que demuestran el aumento en la permeabilidad capilar y venular inducido por histamina. Para éste fin se ha empleado la albúmina sérica humana marcada con yodo radioactivo (RISA), la cuál disminuye gradualmente en el plasma, en función de el tiempo y aumenta en los espacios intersticiales. Esta disminución de albúmina plasmática provocada por la histamina, se debe a la extravasación de el plasma sanguíneo hacia los espacios intersticiales, lo que conduce a la formación de edema (acumulación de fluidos plasmáticos en los espacios intersticiales).

La exudación de el plasma hacia los espacios intersticiales conduce a alteraciones en las concentraciones de proteínas y electrólitos en la sangre y ésto resulta en alteraciones metabólicas de diversa índole. Esta acción de la histamina de inducir un aumento en la permeabilidad capilar y venular, esta mediada por la activación de los receptores H1, sin embargo es incierta la participación de los receptores H2 (49, 51, 53).

Por éstas razones, es importante conocer los mecanismos que incrementan la exudación de el plasma sanguíneo provocada por la histamina, de tal forma que en el presente estudio, el propósito

es. identificar los receptores de la histamina involucrados en los cambios en los parámetros séricos (proteínas y electrolitos) que estén relacionados con los cambios en la permeabilidad vascular, a través del empleo de antagonistas de los receptores H1 (astemizol) y H2 (ranitidina) de la histamina.

IV - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La liberación de histamina por parte de los tejidos bajo diversas condiciones de estrés fisiológico, resulta en respuestas vasculares entre las que destacan el incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos.

El aumento en la permeabilidad capilar, está mediado por los receptores H1 de la histamina, sin embargo es incierta la participación de los receptores H2 (7,49,51,53.).

Es razonable cuestionarnos ¿ En que medida participa el receptor H1 en las alteraciones de la permeabilidad vascular? ¿Contribuye el receptor H2 en ello ?

¿Que efecto produce la histamina aplicada por vía intravascular sobre las concentraciones de proteínas totales, albúmina y globulinas, además de los electrólitos como el sodio, el cloro, el calcio y el potasio en la sangre y si éstos efectos dependen de su acción sobre la permeabilidad vascular.

En esta investigación se pretendió dar respuesta a las interrogantes antes planteadas con el fin de identificar los tipos de receptores histaminérgicos involucrados en la permeabilidad vascular. La acción de la histamina sobre ella fué determinada a través de los cambios en las concentraciones de proteínas y electrólitos en el suero de rata, que indirectamente

nos indiquen cambios en la permeabilidad vascular. Sobre esta base, el objetivo del presente proyecto es :

V.- OBJETIVO GENERAL:

Identificar los receptores histaminérgicos involucrados en la permeabilidad vascular, medida ésta de manera indirecta, por la determinación de la concentración de proteínas y electrólitos en el suero de la rata. Para lograr lo anterior se establecen los siguientes objetivos particulares:

1.- Determinar la acción de la histamina en las concentraciones de electrólitos y proteínas totales en suero de rata macho de la variedad Wistar.

2.- Determinar si los efectos de la histamina sobre las concentraciones de electrólitos y proteínas plasmáticas dependen de su interacción con sus receptores H₁, mediante la administración de histamina exógena después de un antagonista a ellos (astemizol).

3.- Determinar si los efectos de la histamina sobre las concentraciones de electrolitos y proteínas plasmáticas dependen de su interacción con sus receptores H₂, mediante la administración de histamina después de un antagonista a ellos (ranitidina).

4.- Determinar la acción de la histamina sobre las concentraciones de electrolitos y proteínas plasmáticas después de inyectar astemizol y ranitidina simultáneamente.

5.- A partir de las determinaciones anteriores, analizar la posible participación del receptor H₁ o del H₂, en los cambios de permeabilidad vascular inducidos por la administración intravenosa de histamina.

VI.-HIPOTESIS.

La histamina induce un incremento en la permeabilidad vascular, manifestado por la extravasación de el plasma hacia los espacios intersticiales (principalmente de proteínas plasmáticas), ésto trae como consecuencia la disminución de la presión osmótica sanguínea y del volumen plasmático; entonces es de esperarse que las concentraciones de las proteínas séricas (albúmina, proteínas totales y globulinas) disminuyan y las concentraciones de los electrolitos se incrementen en respuesta a un mecanismo compensatorio que la función renal tiende a llevar a cabo, cuando existe una disminución del volumen y proteínas plasmáticas. Este proceso es regulado a través de la activación de los receptores H1 de la histamina, y posiblemente también estén involucrados los receptores H2, dada su distribución en los tejidos que estan directamente relacionados con la permeabilidad vascular, como el músculo liso y las células endoteliales.

VII MATERIAL Y METODOS.

En el presente trabajo, se utilizaron un total de 38 ratas macho de la cepa Vistar entre 350 y 400 gramos, proporcionados por el bioterio del campus Iztacala-UNAM, los cuáles se distribuyeron de manera aleatoria en cinco grupos con 8, 10, 7, 7 y 6 animales cada uno. El grupo 1 (n=8) fungió como control, recibiendo intravenosamente (iv) 1 ml. de solución salina al 0.9 %. Al grupo 2 (n=10) se le aplicó una inyección iv de 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de histamina (Sigma Chemical). El grupo 3 (n=7) recibió una solución inyectable del antihistamínico H1 (astemizol) a una dosis de 0.16 mg/Kg , después de una hora se le aplicó iv, 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de histamina. El grupo 4 recibió una inyección iv. de antihistamínico H2 (ranitidina) a una dosis de 0.13 mg/Kg , y al cabo de una hora, histamina 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Finalmente el grupo 5 recibió una inyección iv. de astemizol y ranitidina a las dosis ya mencionadas; al cabo de una hora se les aplicaron una inyección iv. de histamina 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. 30 minutos después, las ratas fueron anestesiadas con cloroformo y se les practicó una incisión para exponer la vena cava inferior, y extraerles una muestra de sangre (3 ml), las cuáles se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto durante 15 minutos para la obtención del suero sanguíneo. Después se realizó la respectiva determinación

de proteínas séricas tales como proteínas totales, albúmina y globulinas mediante el aparato 550 express de Ciba Corning para química sanguínea. La determinación de los electrolitos en el suero: sodio, cloro, calcio y potasio, se realizó en el equipo de medición 664 Na⁺/K⁺/Cl⁻/ Analyzer de Ciba Corning.

Para el análisis de los resultados se utilizó la prueba estadística de ANOVA para establecer si existen o no diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos en general, y la prueba honesta de Tukey para establecer específicamente entre que grupos existe dicha diferencia.

VIII.- RESULTADOS.

En las tablas III y IV se han resumido las medias de los datos obtenidos de las concentraciones de proteínas séricas y electrólitos respectivamente. Aplicando la prueba estadística de ANOVA, se encontró que algunos de los tratamientos afectaron significativamente ($p < 0.05$) a las concentraciones plasmáticas de los electrólitos sodio, cloro, calcio (excepto en el potasio) y proteínas totales, albúmina y globulinas. Se realizó la prueba honesta de Tukey (excepto para el K^+), para determinar específicamente que grupos o tratamientos son estadísticamente diferentes al grupo control. También se elaboraron las gráficas correspondientes que, permiten visualizar las diferencias de los resultados obtenidos en las tablas III y IV. A continuación se describen los resultados obtenidos para cada parámetro :

Albúmina.- Los resultados que se observan en la figura 6A muestran que, el grupo de ratas tratadas con histamina presentan una disminución en la concentración de ésta proteína plasmática, en comparación con el grupo control, lo que es estadísticamente significativa ($p < 0.05$). También se observa que, las ratas tratadas con los bloqueadores de los receptores H1 (astemizol) y H2 (ranitidina) , así como con ambos, revierten la acción de la

histamina, es decir que, los bloqueadores restablecen las concentraciones séricas de la albúmina, evitando la disminución provocada por la histamina.

Proteínas totales.- En éste caso (fig. 6B), la histamina también disminuye su concentración sérica, en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). Al tratar a los diferentes grupos de ratas con los dos bloqueadores juntos, así como separados cada uno de ellos y compararlos contra el grupo control, se observa que no restablecen su concentración en el suero, la que permanece similar al grupo tratado con histamina y menor al control no tratado ($p < 0.05$); sin embargo existe la tendencia a revertir la acción de la histamina (inhibir la disminución en la concentración sérica de proteínas totales) pero no es estadísticamente significativa.

Globulinas.- Para éstas proteínas (fig. 6C), de la misma forma que la albúmina y las proteínas totales, la histamina también provoca una disminución en su concentración sérica, esto en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). Los bloqueadores simultánea e independientemente cada uno de ellos, no evitan la acción de la histamina, ya que su concentración también se encuentra disminuida con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

Sin embargo en éste caso a diferencia del anterior (proteínas totales), no existe la tendencia de los bloqueadores a revertir la acción de la histamina.

Electrólitos :

En el presente estudio, las concentraciones séricas de los electrólitos cuantificados como el sodio, el cloro y el calcio (fig. 6D, 6E y 6F respectivamente), se encuentran aumentadas en el grupo de ratas tratadas con histamina, en relación con el grupo control ($p < 0.05$).

En el caso específico de el sodio (fig. 6D), los grupos de ratas tratadas con los bloqueadores juntos, así como separados cada uno de ellos, mantienen su concentración normal con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

Sin embargo en el caso de el cloro (fig. 6E), cuando los grupos de ratas fueron tratadas con los dos bloqueadores simultánea e independientemente, ésto no implicó un regreso a la concentración normal, sino que éste electrólito se encuentra elevado en su concentración, en relación con el control ($p < 0.05$).

El calcio (fig. 6F), al igual que el sodio y el cloro, se incrementó en su concentración en el grupo de ratas tratadas con histamina, en relación con el grupo control ($p < 0.05$). Sin embargo a diferencia de el cloro, el calcio si retorna a su

concentración normal, cuando las ratas son tratadas con los dos bloqueadores juntos, así como con el astemizol ($p < 0.05$), no así con la ranitidina, la cuál disminuyó los niveles de calcio por debajo del grupo control ($p < 0.05$).

El potasio (fig. 6G), permanece relativamente invariable en cada uno de los tratamientos.

TRATAMIENTO	ALBUMINA g/dl	PROTEÍNAS TOTALES g/dl	GLOBULINAS g/dl
CONTROL n=8	3.23 ± 0.14	7.35 ± 0.66	4.11 ± 0.40
HISTAMINA n=10	2.98 ± 0.20 *	5.99 ± 0.41 *	3.01 ± 0.24 *
ASTEMIZOL + HISTAMINA n=7	3.37 ± 0.11	6.41 ± 0.15 *	3.04 ± 0.16 *
RANITIDINA + HISTAMINA n=7	3.40 ± 0.14	6.47 ± 0.21 *	3.07 ± 0.13 *
ASTEMIZOL + RANITIDINA + HISTAMINA n=6	3.36 ± 0.20	6.50 ± 0.38 .. *	3.13 ± 0.23 .. *

Tabla III.- Acción de la histamina y sus antagonistas H1 (astemizol) y H2 (ranitidina) sobre las concentraciones de proteínas en el suero. Los resultados muestran la media ± la desviación estándar. ($\bar{X} \pm DE$); n, es el número de ratas utilizadas. Dosis empleadas: histamina 10 μ g/Kg, astemizol 0.16 mg/Kg; ranitidina 0.13 mg/Kg.

* Tratamientos que presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo control.

TREATAMIENTO	sodio	cloro	calcio	potasio
	mmol/L	mmol/L	mg/dl	mmol/L
CONTROL n=8	142.8 ± 2.53	103.0 ± 2.13	10.22 ± 0.56	4.73 ± 0.60
HISTAMINA n=10	150.1 ± 2.42 *	108.2 ± 1.81 *	12.03 ± ± 0.99 *	5.78 ± 0.83
ASTEMIZOL + HISTAMINA n=7	142.4 ± 1.61	107.7 ± 1.11 *	9.61 ± 0.27	5.09 ± 0.87
RANITIDINA + HISTAMINA n=7	141.7 ± 1.38	107.8 ± 2.26 *	9.24 ± 0.22 *	5.03 ± 0.41
ASTEMIZOL + RANITIDINA + HISTAMINA n=6	141.6 ± 1.36	110. ± 1.54 *	9.56 ± 0.39	5.34 ± 1.36

Tabla IV.- Acción de la histamina y sus antagonistas H1 y H2 sobre las concentraciones de electrolitos en el suero. Se muestra la media ± la desviación estándar. ; n, es el número de ratas utilizadas. Dosis empleadas: histamina 10 µg/Kg, astemizol 0.16 mg/Kg; ranitidina 0.13 mg/Kg.

* Tratamientos que presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo control.

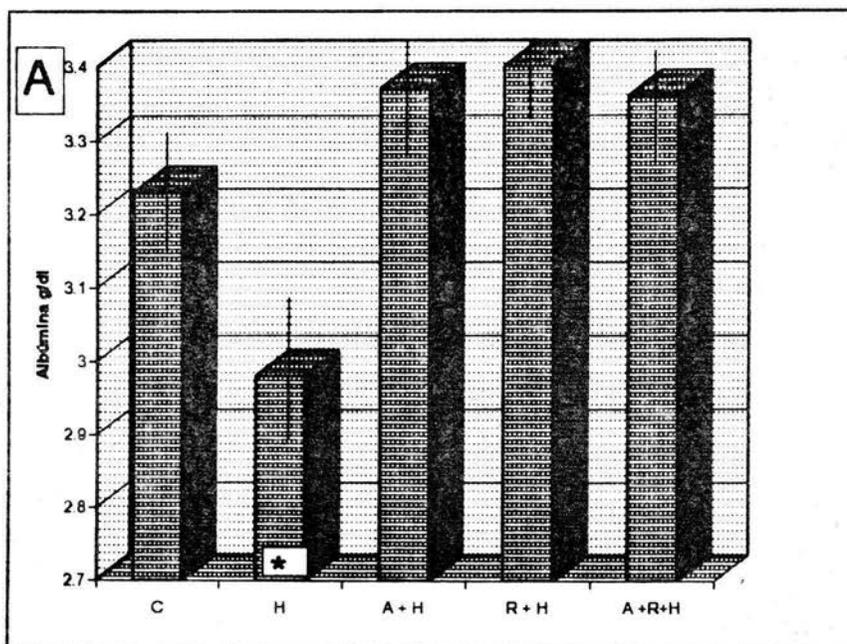
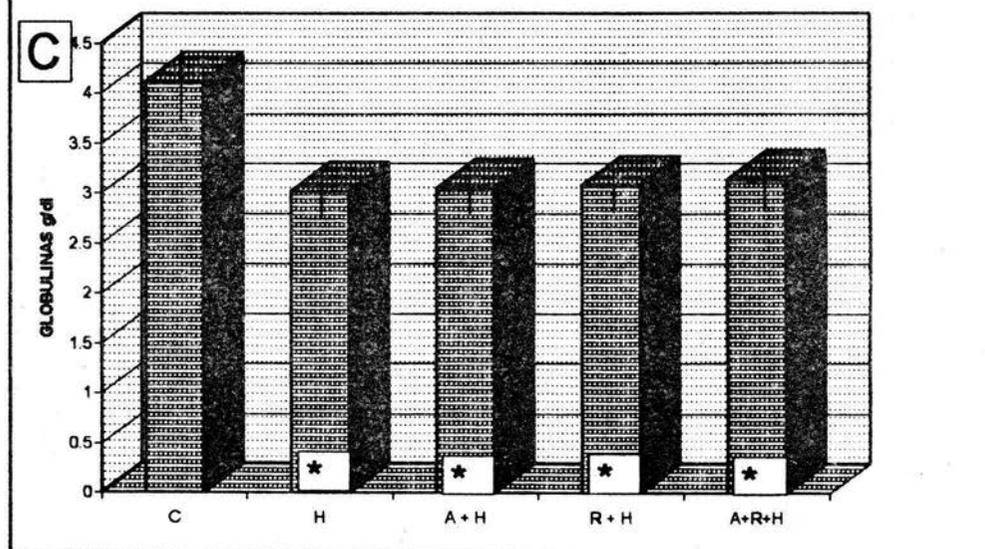
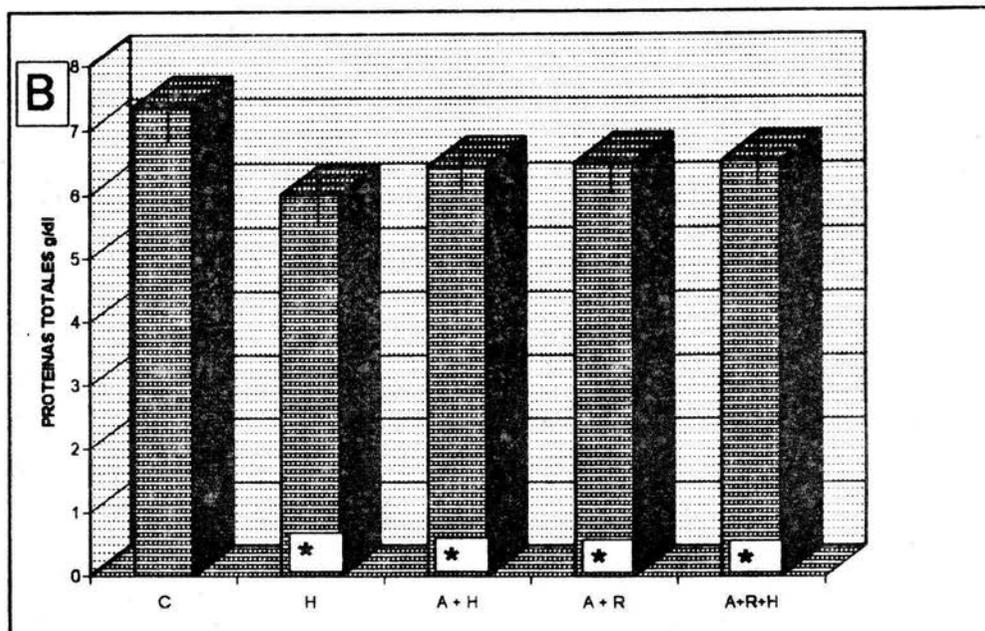


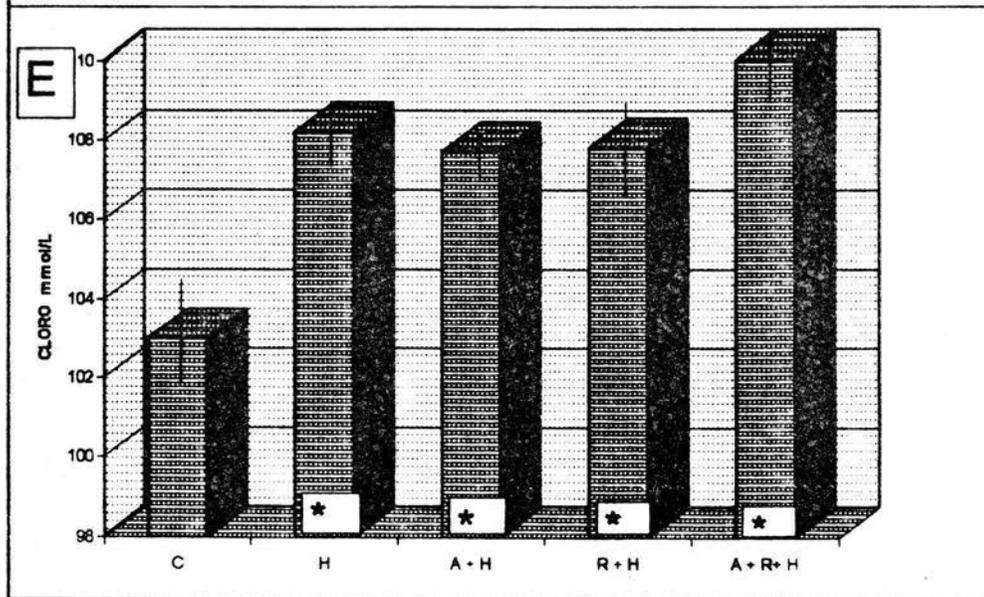
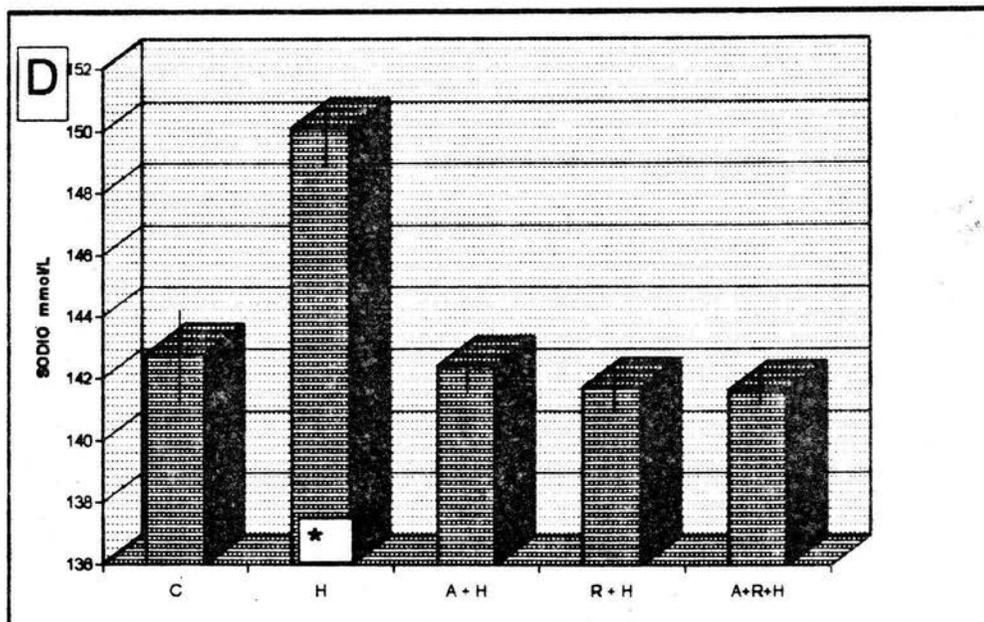
Figura 6.- Acción de la histamina y sus antagonistas H1 y H2 sobre las concentraciones de proteínas y electrolitos en el suero. Se muestra la media \pm la desviación estándar ($\bar{X} \pm D.E.$).

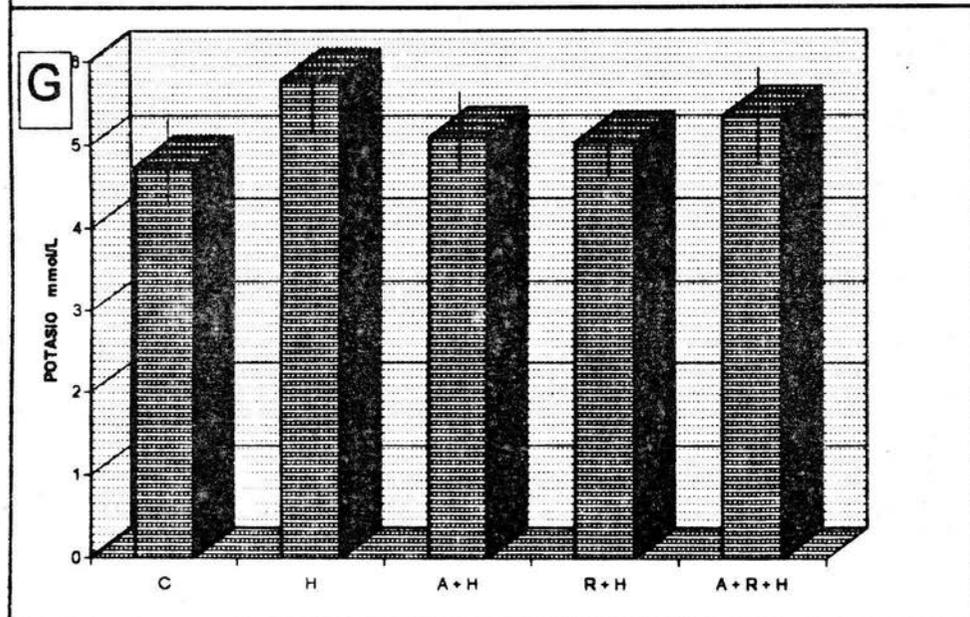
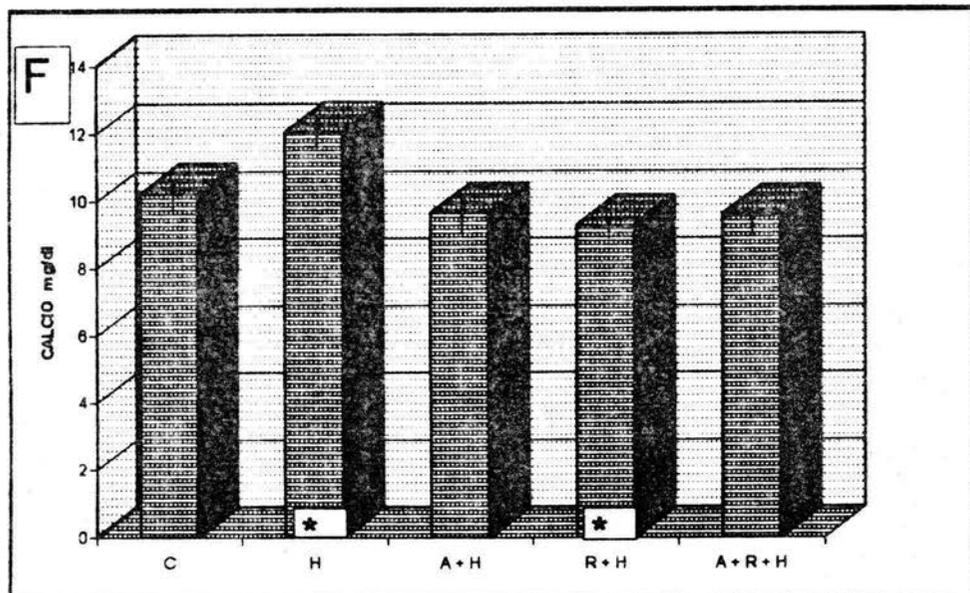
C: es el grupo control, H: grupo tratado con histamina, A + H: tratamiento con astemizol e histamina, R + H: tratamiento con ranitidina e histamina, A + R + H: Tratamiento con ambos bloqueadores e histamina.

En el panel A se muestra a la albúmina, en el B a las proteínas totales, en el C a las globulinas, en el D al sodio, en el E al Cloro, en el F al calcio y en el G al potasio.

* Tratamientos que presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al control.







IX. - DISCUSION

El efecto de la histamina sobre las concentraciones de las proteínas séricas, como la de albúmina, proteínas totales y globulinas, es provocar una disminución de éstas; tales resultados reflejan de manera indirecta la extravasación que *in vivo* e *in situ* llevan a cabo las proteínas plasmáticas hacia los espacios intersticiales, dicho proceso es a consecuencia del aumento en la permeabilidad capilar y venular inducido por la histamina.

La acción de los bloqueadores H1 y H2 sobre las concentraciones séricas de la albúmina, proteínas totales y globulinas, es diferente. En el caso de la albúmina, el tratamiento con dichos bloqueadores, simultánea e independientemente, produjo una reversión del efecto de la histamina (ésto en virtud de que la concentración sérica de ésta proteína permanece en su valor normal), es decir inhibieron el aumento en la permeabilidad vascular; ésto sugiere la posible participación de los receptores H1 y H2 en la permeabilidad vascular a ésta proteína. Sin embargo de las proteínas totales y globulinas no se puede decir lo mismo, ya que para las primeras, los bloqueadores (juntos y separados) sólo tienen la tendencia a revertir la acción de la histamina; no así para las globulinas, en donde los bloqueadores no tienen ésta

tendencia y menos aún inhibir totalmente la extravasación de éstas, ya que la concentración sérica de éstas proteínas está muy por debajo de su valor normal. Antes de emitir un juicio sobre la posibilidad de que los receptores H1 y H2 estén o no involucrados en la permeabilidad vascular a las proteínas totales y globulinas, se puede formular el siguiente análisis: Las proteínas totales del plasma están constituidas por albúmina y globulinas, de éstas, la albúmina es la proteína más pequeña y las globulinas son más grandes en cuanto a su diámetro molecular (43,63); otros estudios (58-60) señalan que, la histamina induce la extravasación de la albúmina plasmática hacia los espacios intersticiales, principalmente a través de la formación de espacios entre las células endoteliales adyacentes de capilares y vénulas.

En cambio, la histamina induce un aumento en la permeabilidad para las moléculas de gran tamaño como las alfa, beta y gamma globulinas, a través de la formación de vesículas pinocíticas de las células endoteliales de los capilares y las vénulas, que las transportan del plasma hacia los espacios intersticiales (43,44,61,62).

De éste razonamiento, se puede decir lo siguiente:

Al bloquear los efectos de la histamina, el astemizol y la ranitidina bloquean solamente la formación de los espacios entre las células endoteliales adyacentes de capilares y vénulas (que es por donde se filtra la albúmina), pero no son capaces de evitar la extravasación de globulinas hacia los intersticios, que como ya se mencionó, es probable que se de a través de la formación de vesículas pinocíticas.

En función de éstos razonamientos, se puede plantear la hipótesis de que la histamina ejerce su acción, incrementando la permeabilidad capilar específica para globulinas a través de la activación de un receptor diferente a H1 y H2.

Del presente análisis, se entiende que existe una extravasación de proteínas totales, albúmina y globulinas, influenciada por la histamina; en virtud de esto, las proteínas plasmáticas y principalmente la albúmina (64) que proporciona el 80 % o más de la presión osmótica sanguínea y en menor grado las globulinas y al existir una disminución por extravasación de éstas proteínas hacia los espacios intersticiales, ocurre una disminución de la presión osmótica sanguínea y por consecuencia se produce un desbalance de las fuerzas que regulan el movimiento de fluidos entre los compartimientos intravascular e intersticial, referido a las fuerzas de Starling, tal que mueven fluidos (principalmente

agua) a través de la pared capilar hacia el espacio intersticial, con la consecuente disminución del volumen plasmático (45,65,66).

La pérdida continua de fluidos, principalmente de agua, desde el plasma hacia los espacios intersticiales, incrementa la concentración de los electrolitos más abundantes en el plasma como el sodio, el cloro y el calcio, ésto a consecuencia de la disminución del volumen plasmático por el mecanismo mencionado anteriormente (45,65).

Efectivamente en el presente trabajo, los electrolitos cuantificados como el sodio, el cloro y el calcio se encuentran incrementados en su concentración, en el grupo de ratas tratadas con histamina, en relación con el grupo control; en el caso específico del sodio, en el grupo de ratas tratadas con histamina, la concentración de éste electrolito aumenta significativamente en relación con el grupo control, posiblemente debido a la perturbación de las fuerzas de Starling, que conduce a la disminución del volumen plasmático y a la retención renal de sodio (45,65). Sin embargo, los grupos de ratas tratadas con los bloqueadores juntos y separados retornan a su concentración normal con respecto al grupo control. Sin embargo en el caso del cloro, cuando los grupos de ratas fueron tratadas con los dos bloqueadores simultanea e independientemente, ésto no implicó un retorno a la concentración normal, sino que permanecen elevados.

Para explicar éste hecho se puede decir lo siguiente: Dado que existe una disminución del volumen plasmático (por perturbación de las fuerzas de Starling), el organismo tiende a llevar a cabo una regulación homeostática del volumen y de la composición iónica específica del líquido plasmático, la cuál se lleva a cabo principalmente a través de la función renal (64,65).

Efectivamente cuando el volumen sanguíneo disminuye, la presión sanguínea también lo hace y en ese momento entra en operación el sistema renina-angiotensina-aldosterona. La hormona aldosterona, estimula a los túbulos contorneados distales y colectores del riñón a realizar una gran reabsorción de cloro, el cuál es regresado a la sangre (65). Es probable que los resultados obtenidos en cuanto al cloro, representen un mecanismo de compensación que equilibre las pérdidas por extravasación de proteínas aniónicas (las globulinas) y de éste modo se minimize la alteración en el equilibrio ácido-básico del plasma que probablemente haya sido alterado por el incremento en la permeabilidad capilar inducido por la histamina, ya que los electrolitos son una parte importante en la regulación del pH plasmático (43,64).

La concentración de calcio, al igual que la de sodio y del cloro se incrementó en su concentración en el grupo de ratas tratadas con histamina en relación al grupo control; ésto debido

al desbalance en las fuerzas de Starling, mencionadas anteriormente. El tratamiento con astemizol y asociado con ranitidina, inhiben el aumento en la concentración de éste electrólito, ya que entre éstos grupos y el control no existen diferencias significativas. Sin embargo, de la ranitidina no se puede decir lo mismo, ya que ésta lo impide y además lo disminuye con respecto al control. Esto podría deberse a lo siguiente :

Dentro del plasma, el calcio aparece en dos formas: 1) Calcio libre ionizado y 2) Calcio unido a proteínas plasmáticas (albúmina y globulinas). La mayor parte del calcio se une a la albúmina (del 75 al 90 %) y en menor grado a las globulinas (del 10 al 25 %). No está por demás mencionar que el calcio cuantificable en el suero, es el calcio libre ionizado. Es importante recordar que puede variar el grado de fijación del calcio a las proteínas. En particular esta fijación depende del pH, puesto que el número de cargas negativas de las moléculas de proteína varía con los cambios de pH. Cuanto más ácido se vuelve el plasma, menos sitios de fijación con cargas negativas estarán disponibles para fijar calcio. Así que el calcio libre tenderá a elevarse. Por lo contrario, cuanto menos ácido sea el plasma, más calcio se fijará a las proteínas. En los estados de alcalosis disminuye la cantidad de calcio libre (45,65).

También existen estudios (67,68), que sostienen que aún cuando el pH está muy regulado por los amortiguadores del plasma (electrolitos y proteínas), pueden existir pequeñas variaciones del mismo; por ejemplo de 7.44 a 7.14 y de 7.44 a 7.65, lo cuál indica una acidosis y una alcalosis muy importantes, debido a un exceso de cationes o aniones respectivamente.

En virtud de lo anterior, recordemos que en el suero de las ratas con los diferentes tratamientos, existe un exceso de cargas negativas de cloro, que probablemente hayan contribuido para producir una alcalosis, lo cuál a su vez disminuyó la concentración sérica de calcio, ya sea porque éste se fijó a la albúmina o porque se haya "escapado" junto con las globulinas que no pudieron ser evitadas en su extravasación a través de los bloqueadores.

El potasio, permanece relativamente constante en cada uno de los tratamientos del experimento. Para explicar éste hecho, se puede decir lo siguiente: la concentración plasmática de potasio es estrechamente regulada. La importancia de mantener ésta concentración, se origina sobre todo, por la función del potasio en la excitabilidad nerviosa y muscular. Cerca del 98 % del potasio total del organismo se localiza dentro de las células, debido a la bomba de sodio-potasio, encargada de transportar en forma activa el potasio a su interior. Puesto que la

concentración de potasio en el plasma es tan pequeña, en comparación con la del interior de la célula, incluso variaciones muy bajas de el potasio dentro o fuera de las células puede producir grandes cambios en la concentración plasmática de potasio. Por lo tanto, cuando la concentración de potasio en el plasma cambia debido a variaciones en el potasio corporal total o a alteraciones internas causadas por otros acontecimientos, el potasio se desplaza hacia dentro o hacia fuera de las células, así se reducen al mínimo los cambios en su concentración plasmática debido a la excreción renal de éste electrólito. Los principales factores que participan en éstos procesos homeostáticos son la aldosterona, que se produce cuando existe una disminución del volumen plasmático, y así facilita el movimiento del potasio hacia dentro de las células y finalmente su excreción para evitar que éste se eleve en el plasma (43,45, 64,65,69).

X. - CONCLUSION.

1). - Existen diferentes acciones de la histamina sobre las concentraciones séricas de proteínas y electrolitos :

a) Provoca una disminución en las concentraciones de albúmina, proteínas totales y globulinas, posiblemente por su extravasación de éstas hacia los espacios intersticiales.

b) Induce un aumento en las concentraciones de el sodio, el cloro y el calcio, probablemente por la disminución del volumen plasmático y la reabsorción renal (al menos para el sodio y el cloro). El potasio no varió significativamente en cada uno de los tratamientos.

2. - La administración de los bloqueadores H1 y H2 de la histamina, en el caso de :

a) Proteínas plasmáticas. - Ambos bloqueadores revierten la acción de la histamina, al menos para la albúmina, no así para las globulinas. Esto sugiere que, en función de los resultados obtenidos, los receptores H1 y H2 de la histamina, están involucrados en la permeabilidad vascular a la albúmina, sin

embargo no se puede decir lo mismo de las globulinas; ésto sugiere la hipótesis de que la histamina ejerce su acción, incrementando la permeabilidad vascular a éstas proteínas, a través de la activación de un receptor diferente a H1 y H2 y que el mecanismo de transporte de albúmina y globulinas es diferente.

b) Electrólitos. - Los dos bloqueadores revierten la acción de la histamina, en el caso del sodio, sin embargo para el calcio, dicha acción sólo es revertida por el bloqueador H1, el bloqueador H2 no solo la revierte sino que la disminuye, probablemente porque haya aumentado el grado de fijación de éste ión a la albúmina. El cloro permanece aumentado cuantitativamente, aún cuando se administraron los dos bloqueadores, posiblemente para compensar la pérdida de cargas aniónicas de las globulinas. El potasio no cambió significativamente en su concentración, posiblemente porque su concentración debe regularse muy cuidadosamente por la excreción renal de éste ión.

XI.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Lehninger, A.L., *Bioquímica*. Ediciones Omega, 2a. edición, pp. 591, 728. Barcelona, 1993.
- 2.- Ham, A. W., *Tratado de histología*. Interamericana, pp. 125-129. México, 1984.
- 3.- Strand, F.L., *Fisiología humana*. Interamericana, pp. 88-90. México, 1982.
- 4.- Ganong, W.F., *Fisiología médica*. El Manual Moderno, 10a. edición, pp 117-122. México, 1986.
- 5.- Holgate, S.T., Robinson, C., *Mediadores de la hipersensibilidad inmediata*. En *Alergia, principios y prácticas* (Middleton, E.J.), Salvat Editores, pp. 128-154. México, 1992.
- 6.- Arrang, J.M., Garburg, M., Highly potent and selective ligands for histamine H3-receptors. *Nature*, 327: 117-123. 1987.
- 7.- Garrison, J.C., *Histamina, bradiquinina, 5-hidroxi-triptamina y sus antagonistas*. En *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* (Goodman, G.A., Rall, T.W.), Editorial Médica Panamericana, pp. 565-587. México, 1993.
- 8.- Clark, W.G., *Farmacología clínica*. Editorial Médica Panamericana, 12a. edición, pp. 130-133. México, 1990
- 9.- Lagunoff, D., Martin, T.W., Agents that release histamine from mast cell. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23: 331-351. 1983.

- 10.- Inase, N., Schereck, R.E., Heparin inhibits histamine release from canine mast cell. *Am. J. Physiol.* 264 (4, parte 1): L 387-L390. 1993.
- 11.- Hirshman, C.A., Edelstein, R.A., Thiobarbiturate-induced histamine release in human skin mast cell. *Anesthesiology*, 63: 353-356. 1985.
- 12.- Levy, J.H., Histamine release during anesthesia. Clinical lecture INTERFACE. Communication.
- 13.- Levy J.H., Brister, N.W., Wheal and flare responses to opioids in humans. *Anesthesiology*, 70: 756-760. 1989
- 14.- Levy, J.H., Kettlekamp N., Histamine release by vancomycin: A mechanism for hypotension in man. *Anesthesiology*, 67: 122-125. 1987.
- 15.- Middleton, E.J., Reed, C.E., *Alergia, principios y prácticas*. Salvat Editores. pp. 111-112. México, 1992.
- 16.- Trzeciakowsky, J.P., Mendelsohn N., *Antihistaminicos, En Alergia, principios y prácticas* (Middleton E.J., Reed, C.E.), Salvat editores, pp. 670-691. México, 1992.
- 17.- Matsumoto, T., Kanaide H., Histamine anantirates H1-receptors to induce cytosolic free calcium transients in cultured vascular smoth muscle cell, from rat aorta. *Biochem. Biophy. Res. Commun.* 135: 172-177. 1986.

- 18.- Brown, R.D., Prenirelle, P., Adrenergic and H1 histamine receptor control of intracelular Ca++ in muscle cell line; the influence of prior agonist exposure on receptor responsireness. *Cell.Mol. Pharmacol.* 29: 531-539. 1986.
- 19.- Litter, M., *Farmacología Experimental y Clínica*. El Ateneo 7a Edición, pp: 51, 569, 571. México, 1988.
- 20.- Bootman, M.D., Berridge, M.J., Taylor, C.W., All or nothing Ca++ mobilization from the intracellular stores of sogle histamine-stimulated Hela cells. *J. Physiol.* 450:163-178. 1992.
- 21.- Berridge, M.J., Downes, C.P., Lithium amplities agoinst. Dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary gland. *Biochem. J.* 206: 587-595. 1982.
- 22.- Daum, P.R., Downes, C.P., Histamine stimulation of inositol 1-phosphate acumulation in lithium treated slices from regions of guinea pig brain. *J. Neurochem.* 43: 25-32. 1984.
- 23.- Villalobos, M.R., García, S.A., Histaminergic activation stimulates phosphatidylinos labelling in rabbit aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 90: 457-459. 1983.
- 24.- Blackmore, P E., Dehaye, J.P., Studies on alpha-adrenergic activation on hepatic glucose output. *J. Biol. Chem.* 254: 6945-6950. 1979.

- 25.- Murphy, E., Coll, K.E., Hormonal effects on calcium homeostasis in isolated hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 255: 6600-6608. 1980.
- 26.- Kimura, S., Kugai, N., Sources of calcium mobilized by alpha-adrenergic stimulation in perfused rat liver. *Horm. Metab. Res.* 14: 133-138. 1982.
- 27.- Shears, S.B., Kirk, C.J., Determination of mitochondrial calcium content in hepatocytes by a rapid cellular fractionation technique. *Biochem. J.* 219: 383-389. 1984.
- 28.- Joseph, S.K., Williamson, J.R., The origin, quantitation and kinetics of intracellular calcium mobilization by vasopressin and phenylephrine in hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 259: 10425-10432. 1983.
- 29.- Michell, R.H., Kirk, C.J., Why is phosphatidylinositol degraded in response to stimulation of certain receptors. *Trend in Pharmacological Sci.* 2: 86-89. 1981.
- 30.- Natarajan, V., Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J. Lab. Clin. Med.* 125: 26-37. 1995.
- 31.- Berridge, M.J., Irvine, R.J., Inositol triphosphates and calcium mobilization in inositol and phosphoinositides. In Bleasdale J.E., Eichberg and Hauser, G. pp. 351-366. 1985.

- 32.- Nishizuka, Y., The role of protein kinasa C in cell surface signal transduction and tumor promotion. *Nature*, (London), 308: 693-698. 1984.
- 33.- Eckert, R., Randall, D., Augustine, G., *Fisiología animal*. Interamericana, 3a. edición, pp : 266-291. México, 1992.
- 34.- Nishizuka, Y., Turnover of inositol phospholipids and signal transduction. *Science*, 225: 1365-1370. 1984.
- 35.- Rasmussen, H., The calcium messenger system. *New Eng. J. Med.* 314 (No.17): 1094-1101. 1986.
- 36.- Hegstrand, L.R., Kanof, P.D., Histamine sensitive adenylate cyclase in mammalian brain. *Nature (Lond)* 260: 163-165. 1976.
- 37.- Kanof, P.D., Pharmacological properties of histamine-sensitive adenylate cyclase from guinea pig ventricular muscle. *Mol. Pharmacol.* 15: 445-461. 1979.
- 38.- Rodbell, M., The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. *Nature*, 284: 17-22. 1980.
- 39.- Cooper, D.M.F., Schlegel, W., The fat cell adenylate cyclase system. *J. Biol. Chem.* 254: 8927-8931. 1979.
- 40.- Bokoch, G.M., Katada, M., Identification of the predominant substrate for ADP-ribosylation by islef-activatin-protein. *J. Biol. Chem.* 258: 2072-2075. 1983.

- 41.- Hildebrandt, J.D., Sekura, R.D., Stimulation and inhibition of adenyl cyclases mediated by distinct regulatory proteins. *Nature*, 302: 706-709. 1983.
- 42.- Smith, S.K., Limbird, L.E., Evidence that human platelet alpha-adrenergic receptors coupled to inhibition of adenylate cyclase are not associated with the subunit of adenylate cyclase ADPc-ribosylated by cholera toxin. *J. Biol. Chem.* 257: 10471-10478. 1982.
- 43.- Tortora, G.J., Anagnostakos, N.P., *Principios de anatomia y fisiologia*; Harla, sexta edición, pp: 749-763, 667-682. México, 1993.
- 44.- Junqueira, L.C., Carneiro, J., *Histologia básica*. Salvat Editores, 3ra. edición, pp: 67-76, 231-243. México, 1987.
- 45.- Maxwell and Kleeman's. *Clinical disorders in fluid and electrolyte metabolism*. Mc Graw-Hill, 5a. Edición, pp:5-13. México, 1994.
- 46.- Cogan, M. G., *Líquidos y electrolitos: Fisiología y Fisiopatología*. Manual Moderno. pp:6-8. México. 1993.
- 47.- Bonaventura, B. A., Coleman, L. G., Colley, R., *Balance hidroelectrolítico*. Doyma Ediciones, pp:49-54. España, 1986.
- 48.- Ziegelstein, C.R., Corda, E., Pili, R., Initial contact and subsequent adhesion of human neutrophils or monocytes to human aortic endothelial cells releases an endothelial

intracellular calcium store. *Circulation*, 90: 1899-1907. 1994.

49.- Rotrosen, D., Gallin, I.J., Histamine type I receptor occupancy increases endothelial cytosolic calcium, reduces F-actin, and promotes albumin diffusion across cultured endothelial monolayers. *J. Cell. Biol.*, 103 (No. 6 pt 1): 2379-2387. 1986.

50.- Hamilton, K.K., Sims, J.P., Changes in cytosolic Ca^{2+} associated with Von Willebrand Factor release in human endothelial cells exposed to histamine. *J. Clin. Invest.* 79: 600-608. 1987.

51.- Ron, J., Merrit, E.J., Hallam, J.T., Repetitive spikes in cytoplasmic calcium evoked by histamine in human endothelial cells. *Nature*, 335: 40-45. 1988.

52.- Easton, A.S., and Fraser, P.A., Histamine both increases and decreases the permeability of cerebral venules of the anaesthetized rat. *J. Physiol.* 467: 40 P. 1993.

53.- Akerstrom, G., Lisander, B., Antihistaminergic pretreatment prevents tissue extravasation of albumin from intra-abdominal trauma in rats. *Acta Anaesth. Scand.* 38:569-574. 1994.

54.- Richards, D.M., Brogden, R.N., Heel, R.C., Astemizole: A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, 28:38-61. 1984.

55.- Brittain, R.T., and Daly, M.J., A review of the animal pharmacology of ranitidine: A new, selective histamine H_2

- antagonist. Scand. J. Gastroentol., 16 (suppl. 69):1-8. 1981.
- 56.- Konturek, S.J., Obtulowicz, W., Kinetics and duration of action of ranitidine on gastric secretion and its effect on pancreatic secretion in duodenal ulcer patients. Scand. J. Gastroentol. 16 (suppl.69):91-97. 1981.
- 57.- Mohamed, S.P., Higenbttam, T.W. Effects of aerosol-applied capsaicin, histamine and prostaglandine E, on airway sensory receptors of anaesthetized cats. J. Physiol. 469:54-66. 1993.
- 58.- Majno, G., Shea, S.M., Leventhal, M., Endothelial cell contraction induced by histamine-type mediators. J. Cell. Biol. 42:647-651. 1969.
- 59.- Grega, G.J., Adamski, S.W., Effects of local mast cell degranulation on vascular permeability to macromolecules. Microcirc. Endoth. Lymphatics. 7:267-291, 1991.
- 60.- Blomback, B., Hanson, A.L., Plasma proteins. Edit. John Wiley and Sons LTD. pp 23-27, 60-61. Gran Bretaña, 1979.
- 61.- Renkin, E.M., Multiple pathways of capillary permeability. Circ. Res. 41:735-743, 1977.
- 62.- Simionescu, N., Simionescu, M., Palade, G., Structural basis of permeabilidad in sequential segments of the microvasculature of the diafragma. II. pathways folowed by microperoxidasa across the endothelium. Microvasc. Res. 15:17-36, 1978.

- 63.- Gras, J., *Proteínas plasmáticas*. Ed. Jims, pp 389-390
Barcelona, 1967.
- 64.- Novalés, C.X., Amato, M.J., *Sistema linfocémico*. Uthea,
pp:15-17. México, 1993.
- 65.- Smith, E.K.M., *Líquidos y electrolitos*. Manual Moderno, pp:
28, 33, 38, 39, 41, 43, 119, 134, 75, 59, 52, 61-71. México, 1982.
- 66.- Akerstrom, G., Lundin, S., Lisander, B., Decrease in plasma
volume from intra abdominal trauma in rats. *Acta Anaesthesiol.*
Scand. 33:272-276, 1989.
- 67.- Pitts, R.F., *Fisiología del riñón y líquidos corporales*.
Tercera edición, Interamericana, pp:163-180. México 1976.
- 68.- De Swan, R.C., Pitts, R.F., Neutralization of infused acid
dogs. *J. Clin. Invest.* 34:205-210. 1955.
- 69.- Vander, J.A., *Fisiología renal*. Interamericana-Mc Graw Hill,
4a. edición, pp:135-149. México, 1993.
- 70.- Dvorak, A.M., Schulman, E.S., and Mcglashan, D.W.,
Immunoglobulin E-mediated degranulation of isolated human lung
mast cells. *Lab. Invest.*, 53 (No. 1): 45-56. 1985.
- 71.- Dvorak, A.M., Stephen, M.D., Galli, M.D., Anaphylactic
degranulation of guinea pig basophilic leukocytes. *Lab. Invest.*
44 (No. 2): 174-191. 1981.