

## EFFECTO RADIOPROTECTOR DE LA HISTAMINA ENDÓGENA

ILSE BRIEDIS

Laboratorio de Biofísica de las Radiaciones,  
Facultad de Biología y suelos de la Universidad Estatal de Moscú, URSS.

### RESUMEN

Al aplicar cistamina previamente al tratamiento de ratas con rayos x se obtuvo protección (el factor de reducción de la dosis letal media en 30 días fue de 1.5) notándose además un incremento en el contenido de histamina en varios tejidos de los animales así tratados. Congruente con estos resultados, se encontró, que los tejidos de mamíferos con resistencia natural a las radiaciones ionizantes, a su vez contienen altos niveles de histamina endógena. Asimismo, al aplicar la histamina como pretratamiento a la exposición a rayos x se incrementó la sobrevivencia de *Zygosaccharomyces bailii*, el factor de reducción de dosis letal media en 30 días fue de 1.3.

### ABSTRACT

Protection against x irradiation was observed when cystamine was administrated to rats 10-15 minutes before irradiation. ( $DRF_{LD50/30} = 1.5$ ). In these experiments, histamine content increased in the tissues of pretreated rats. High levels of endogenous histamine were also determined in several tissues of naturally radioresistant mammals. Histamine pretreatment protected *Zygosaccharomyces bailii* against x irradiation increasing their survival ( $DRF_{LD50/30} = 1.3$ ).

Abreviaturas: FRD ó DRF factor de reducción de dosis  
 $LD_{50/30}$  ó  $DL_{50/30}$  dosis letal media en 30 días  
AET  $\beta$ -aminoetilisotioronio  
MEA, mercaptoetilamina  
ADN, ácido desoxirribonucleíco

### INTRODUCCIÓN

Son numerosos los estudios que se han realizado para explicar los mecanismos de acción que exhiben las sustancias radioprotectoras (Alexander *et al.*, 1955; Romantsev, 1968; Villalobos-Pietrini, 1969). El estado bioquímico de los organismos en el momento en que se aplica la irradiación tiene influencia en los efectos produ-

cidos (Grayevskiy, 1969). El descubrimiento del "choque bioquímico" (Bacq y Alexander, 1961) permitió considerar que la acción de las sustancias protectoras tiene lugar mediante los cambios inducidos en los procesos bioquímicos específicos de los organismos. Se ha demostrado el efecto de algunas sustancias protectoras sobre eta-

pas definidas de la biosíntesis del ADN (Romantsev, 1968). También se ha descrito la acción de sustancias radioprotectoras que aumentan la concentración de grupos sulfhídricos endógenos (Grayevskiy, 1969), así como la alteración en el contenido de otras sustancias endógenas en los tejidos de los mamíferos, tales como la serotonina, los fosfolípidos, los ácidos grasos mono-saturados, las quinonas, la histamina, etc. (Konoplyannikov y Kudryashov, 1966; Kudryashov, 1966; Kudryashov, *et al.*, 1969; Kulinskiy, 1968; Goncharenko *et al.*, 1969a, b, 1970; Kuzin *et al.*, 1966). Con dichos antecedentes, Goncharenko *et al.* (1969a, 1970) postularon que un componente de la radiorresistencia artificial es la disminución de la concentración de los radiosensibilizantes endógenos (Deev, 1970). Otro factor observable es el incremento de las sustancias endógenas biológicamente activas, con cualidades protectoras (Goncharenko *et al.*, 1969a, 1970). Asimismo, Goncharenko *et al.* (1969b, 1970) demostraron que sustancias radio-

protectoras, tales como algunos compuestos que contienen S<sub>2</sub>, el AET, la cistamina, la cisteína y la cisteamina, incrementan la cantidad de serotina, que es reconocida por Langendorff *et al.* (1959) y van den Brenk y Haas (1961), sobre las bases moleculares del proceso, como el agente radioprotector más potente de los conocidos. Por otra parte, la histamina es considerada por Koch (1965) como un eficaz radioprotector a dosis bajas de radiación.

La finalidad del presente trabajo es la obtención de datos experimentales sobre los cambios en el contenido de histamina que tienen lugar después de la irradiación, en tejidos de ratas tratadas con cistamina y de verificar el nivel natural de histamina en los tejidos de mamíferos particularmente radiorresistentes, así como el papel radioprotector de la histamina contra los efectos de los rayos x en los experimentos en los que se trabaja sobre la supervivencia de las levaduras *Zygosaccharomyces bailii*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon animales de laboratorio y de campo, de 4 especies: ratas blancas de cepa no determinada, proporcionadas por el bioterio de la Universidad Estatal de Moscú, machos de la misma especie cuyo peso fue de 120 a 150 gramos y tres especies de animales de campo: *Meriones unguiculatus*, *Marmota baibacina*, *Citellus pigmeus*, procedentes de las zonas de desierto y estepa de la Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas, proporcionados por N. K. Ogrizov, investigador del Laboratorio de Biofísica de Radiaciones de la Universidad Estatal de Moscú. La fuente de rayos x empleada fue un aparato RUM-11 (con filtros de 1.00 mm de co-

bre + 0.5 mm de aluminio) de la Facultad de Biología y Suelos de la Universidad Estatal de Moscú. La dosis aplicada a las ratas fue de 500 rads y de 2 a 20 Krads a *Zygosaccharomyces bailii* (razón de dosis = 33 rads/min).

Se estudio la cantidad de histamina endógena (total) en los tejidos de la piel, del estómago, del hígado y de los riñones de ratas cuando hubo radioprotección, inducida por la introducción de sustancias profilácticas (radiorresistencia artificial) y en los tejidos mencionados de los animales de campo cuya radiorresistencia natural es diferente. Como sustancias protectoras fueron empleadas la cistamina, en

la concentración de 200 mg/kg, y la histamina, a la concentración 0.03 M.\* Las soluciones acuosas de cistamina se inyectaron peritonealmente 10-15 minutos antes de la irradiación, durante el lapso de máxima resistencia artificial (Tiunov *et al.*, 1964; Briedis, 1971). A los grupos testigo se les inyectó una solución de NaCl al 0.85%. La cantidad de histamina en los tejidos se determinó empleando el método de cromatografía en papel (Krichevskaya, 1958, 1959). Se utilizaron aproximadamente 20 ratas en 5 experimentos.

Para determinar la efectividad de la histamina como radioprotector se siguió el método recomendado por Korogodin (1957), empleándose células de levaduras haploides de *Zygosaccharomyces bailii*. La histamina se aplicó en concentraciones de 0.03 M. Las suspensiones celulares (20,000-40,000 células por 1 ml) se irradiaron en vasos de precipitado. A continuación, se tomó 0.1 ml de la suspensión, que se diluyó en 10 ml de agua de la llave

estéril. De aquí se tomó 1 ml de la suspensión, que se sembró en una caja de Petri, previamente preparada con 10 a 15 ml de una solución de agar al 2.0% mantenida a 37-40°C. Se mezcló la suspensión celular con la solución de agar moviendo continuamente la caja de Petri y dejándola después en reposo hasta que el agar se solidificó. El material así tratado se colocó en una esufa a 30°C durante 48 horas a partir del momento de la siembra, entonces se contaron las colonias y se observó su crecimiento. El procedimiento se repitió a las 96 horas. Se emplearon células haploides de *Z. bailii* porque son más sensibles a la irradiación que las células diploides. Para obtener los datos de sobrevivencia de las células se empleó la fórmula  $S = (1 - (1 - e^{-\alpha D})^n) \times 100$ , donde S, es el porcentaje de sobrevivencia de las macrocolonias; D, es la dosis de radiación empleada; el coeficiente  $n = 1$  para células haploides y el coeficiente  $\alpha$  indica numéricamente la radiosensibilidad.

## RESULTADOS

Para determinar la efectividad radioprotectora de la cistamina en las ratas se calculó el factor de reducción de dosis al nivel de la  $DL_{50/30}$  que fue de 1.5. Los análisis bioquímicos mostraron que la histamina total en piel, estómago, hígado y riñones alcanzó a los 15 minutos después del tratamiento con la cistamina hasta el 160% de la determinada en los tejidos del estómago de ratas, del grupo testigo (Fig. 1). Al irradiar a los animales con 500 rads, se observó que la cantidad de histamina disminuyó en la piel (hasta 50% de

la cantidad presente en el testigo), así como en los riñones (hasta 60% de la cantidad presente en el testigo), sin cambios significativos en los tejidos del estómago y del hígado. Al aplicar cistamina 15 minutos antes de la irradiación (lapso de máxima eficiencia de la substancia protectora) se observó que las cantidades de histamina eran más altas comparadas con las obtenidas de los tejidos de ratas irradiadas sin pretratamiento con cistamina. En el estómago y en la piel la histamina alcanzó respectivamente los niveles de 154% y 123% en comparación con el testigo. En el hígado y en los riñones las cantidades de histamina así determinadas fue-

\* Proporcionadas por el Laboratorio de Química de la Facultad de Biología y Suelos de la Universidad Estatal de Moscú.

TABLA 1

CANTIDAD DE HISTAMINA EXPRESADA COMO % DEL TESTIGO (RATAS) EN TEJIDOS DE DIFERENTES ÓRGANOS DE TRES ESPECIES DE ANIMALES DE CAMPO CON ALTO NIVEL DE RESISTENCIA NATURAL.

Organo	Cantidad de histamina como % del testigo		
	<i>Meriones unguiculatus</i>	<i>Marmota baibacina</i>	<i>Citellus pigneus</i>
piel	112	80	113
estómago	147	127	84
hígado	320	197	104
riñones	380	220	106

cantidad de histamina en los tejidos de piel, estómago, hígado y riñones de tres especies de animales de campo con alta resistencia natural a las radiaciones (Ogrizov *et al.*, 1969). Los datos porcentuales de la cantidad de histamina obtenida de estos animales comparada con la de ratas, se presentan en la Tabla I. Las cantidades de histamina endógena en hígado y riñones de *Meriones unguiculatus* y de *Marmota baibacina*, alcanza valores hasta 2 y 3 veces mayores que en los mismos tejidos de las ratas consideradas como testigos. En general, con la prueba de  $X^2$  se encontraron diferencias altamente signifi-

cativas ( $P < 0.001$ ) en la cantidad de histamina en 2 especies de animales de campo (*Meriones unguiculatus* y *Marmota baibacina*); en relación con el testigo, no se determinaron diferencias significativas en el caso de *Citellus pigneus*, que es la especie considerada como menos resistente de las tres, a las radiaciones ionizantes (Ogrizov *et al.*, 1969). Al pretratar con histamina levaduras irradiadas con rayos x se encontró que la concentración 0.03 M fue eficiente en sus efectos contra los rayos x con un factor de reducción de dosis al nivel de la  $DL_{50/30}$  de 1.3.

## DISCUSIÓN

Grayevskiy (1969), Romantsev (1968) y Goncharenko *et al.* (1969) demostraron que los compuestos radioprotectores alteran los procesos bioquímicos normales. Por otra parte, existe una correlación negativa entre la efectividad de los radioprotectores y los valores del potencial de oxidación-reducción (Sumarukov, 1970). Al ser tratadas ratas con cistamina, MEA, AET, serotonina e hipoxia, disminuye el nivel correspondiente del potencial de oxidación y reducción (Dee, 1970; Brie-

dis, 1971). Los factores de reducción de dosis a la  $LD_{50/30}$  fueron de 1.5 para cistamina, MEA Y AET, de 1.4 para serotonina y 5-metoxitriptamina y 1.6 para la hipoxia. La serina y la 6-metoxitriptamina no afectan el nivel del potencial de oxidación-reducción ni producen protección, pues su factor de reducción de dosis es de 1.0 (Briedis, 1971).

Una de las manifestaciones de la acción de los agentes radioprotectores (serotonina, cistamina, cisteamina, cisteína, etc.)

en diversos tejidos de ratas, es el incremento de las cantidades de histamina y de serotonina endógenas (Goncharenko, *et al.*, 1969a, 1970). El tratamiento con serina, que aunque tiene estructura química parecida a la de los aminotioles, que no contienen protección contra las radiaciones ionizantes ( $FRD_{DL_{50}/30} = 1.0$ ), tampoco cambia las cantidades de histamina o serotonina (Goncharenko *et al.*, 1969, 1970). Al tratar ratas con adrenalina y veneno de víbora (*Vipera lebetina* Cernov) se encontró un efecto protector acompañado del incremento de histamina que fue hasta 1.5 veces mayor en la piel de ratas en relación con el testigo (Goncharenko *et al.*, 1969b). Al aplicar hipoxia también se observa un aumento en el contenido de la histamina endógena (Briedis, 1971). En resumen, los datos anteriores indican que tanto la hipoxia como las sustancias protectoras incrementan la cantidad de histamina endógena y que las sustancias no protectoras no producen cambios en el contenido de dicha amina.

Se encontró previamente, que el efecto máximo de los protectores tiene lugar al aplicarlos de 10 a 30 minutos antes de la irradiación (Tiunov *et al.*, 1964) que coincide con el nivel máximo de histamina endógena determinado a diversos tiempos después del tratamiento con las sustancias radioprotectoras (Briedis, 1971).

Aunque se ha demostrado que la histamina tiene efectos farmacológicos sobre la presión sanguínea y sobre el sistema circulatorio, y por lo tanto la inyección de cantidades elevadas puede ser peligrosa para el organismo (Romantsev, 1968), existen trabajos que demuestran que la inyección a ratones de concentraciones variables de 500 a 1.000 mg/kg de histamina no produce cambios notables de su estado fisiológico normal (Krichevskaya y Kapitonova, 1959, 1966).

La descarboxilasa y la diaminoxidasa son dos de las principales enzimas de las que depende la concentración de histamina endógena en los tejidos (Safronov y Protasova, 1964; Soloimskaya, 1967). La diaminoxidasa libera al organismo de cantidades innecesarias de histamina y disminuye la actividad de esta enzima, por otra parte, bajo la acción de las sustancias radioprotectoras, mientras que los procesos de descarboxilación se incrementan (Briedis, 1971).

En dos especies silvestres (*Meriones unguiculatus* y *Marmota baibacina*), cuya resistencia a las radiaciones es 2 a 3 veces mayor que la de las ratas (Ogrizov *et al.*, 1969), se encontró que la cantidad de histamina endógena está incrementada de 1.5 a 3 más que en las ratas. Las dos especies mencionadas son consideradas como las más resistentes entre las estudiadas.

Al comprobar los datos sobre el contenido de histamina en los tejidos de los animales resistentes y de los animales tratados con radioprotectores, con los que no son resistentes, se concluyó, que tanto en el caso de la resistencia natural como en el de la artificial se presenta una elevación del contenido de histamina endógena y que la acumulación de este compuesto incrementa a su vez, la resistencia a las radiaciones. La histamina, la triptamina, la 1-epinfrina y otras aminas biológicas protegen efectivamente a los ratones al aplicar dosis letales de radiación ionizante, cuando son administradas antes de la irradiación (Bacq y Herve, 1952). Algunos autores han explicado el modo de acción de este grupo de sustancias químicas, por mecanismos indirectos. Van der Meer y van Bekkum (1959) consideran que la protección surge como resultado de la anoxia local en los tejidos debido a la conocida acción que tienen estos com-

puestos sobre la circulación. Sus resultados demuestran además, una excelente correlación entre la anoxia resultante y la actividad protectora de la histamina. Alexander *et al.* (1955) observaron que las aminas aromáticas son buenos protectores de los polimetacrilatos *in vitro*, de lo que concluyeron, que la protección *in vivo* podía resultar de la combinación de esas aminas con las radicales libres producidos por irradiación, en particular con las radicales HO<sub>2</sub>.

Al demostrarse los mecanismos bioquí-

micos y fisiológicos involucrados en la acción radioprotectora de la histamina, es lógico el considerar que el aumento de histamina endógena tenga un papel importante, en la integración del fondo bioquímico que confiere a los organismos una cierta resistencia a las radiaciones.

#### AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Rafael Villalobos-Pietrini y Rodolfo Félix Estrada por las críticas y sugerencias hechas al manuscrito.

#### LITERATURA

- ALEXANDER, P., BACQ, Z. M., COUSSENS, S. F., FOX, M., HERVE, A. y LAZAR, J. (1955). Mode of action of some substances which protect against the lethal effects of X-rays. *Radiat. Res.* 2, 392-415.
- BACQ, Z. M. (1965). *Chemical Protection against Ionizing Radiation*. Thomas, Illinois.
- y HERVE, A. (1952). Sur un nouveau protecteur contre le rayonnement X. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 82, 1018-1020.
- y ALEXANDER, P. (1961). *Fundamentals of Radiobiology*. Pergamon, Oxford.
- BILUSHI, S. G., GONCHARENKO, E. N. y KUDRYASHOV, YU. B. (1963). Izmneniye urovnya svobodnogo gistamina v tkanyah kris pod deistviem fizicheskikh i khimicheskikh faktorov. *Radiotoksini*, Atomizdat, Moskva, 203-208.
- BRIEDIS, I. A. (1971). Ob uchastii endogennoho gistamina v zaschitnom effekte radioprofilakticheskikh sredstv. *Avtoref. diss. na soiskanie ych. st. kand. biol. nauk.* Izd. MGU, Moskva, 1-12.
- DEEV, L. I. (1970). O roli nekotorykh produktov obmena lipidov v khimicheskoi zaschite zhivotnih ot luchevoho porazheniya. *Avtoref. diss. na soiskanie ych. st. kand. biol. nauk.* Izd. MGU, Moskva, 1-12.
- GONCHARENKO, E. N., KUDRYASHOV, YU. B. y ALIEVA, L. I. (1969a). Role played by endogenous serotonin in radioprotective action of aminotriols. *DAN SSSR* 184, 1437.
- DEEV, L. I., SOBOLEV, A. S., ALIEVA, L. A., BRIEDIS, I. A. y GORSKAYA, T. G. (1969b): The protection of irradiated rats by poison of *Vipera lebetina cernov* DOB SSSR 1, 30-31.
- , KUDRYASHOV, YU. B. y BRIEDIS, I. (1970). Role of endogenic histamine in radioshielding effect of radioprotectors. *DAN SSSR* 191, 948-949.
- GRAYEVSKIY, E. Ya. (1969). *Sulfhidrilniye gruppi i radiochuvstvitelnost*. Atomizdat, Moskva.
- KOCH, R. (1965). The radioprotective action of different radioprotectors for doses below 100 r. *Progr. biochem. Pharmac.* 1, 427-431.
- KONOPLYANNIKOV, A. G. y KUDRYASHOV, YU. B. (1966). Obrazovaniye lipidnih radiotoksinov u zhivotnih posle oblucheniya neitronami deleniya, protonami visokhikh energii i  $\gamma$ -luchami Co<sup>60</sup>. *Radiotoksini*, Atomizdat, 126-130.
- KOROGODIN, V. U. (1957). Nekotorie zakonomernosti rosta makrokolonii posle oblucheniya drozevikh kletok gamma-luchami radiokobalta *Biofizika* 2, vip. 2.
- KRICHEVSKAYA, E. I. (1958). Metod opredeleniya gistamina. *DAN SSSR* 123, 68.
- (1959). Metod opredeleniya gistamina. *DAN SSSR*, 129, 435.
- y KAPITONOVA, G. V. (1959). Deistviya rentgenovskin luhei na mehanizmi, reguli-

- ryuschiye uroven svobodnogo gistamina v tkanyah. DAN SSSR 129, 435.
- (1966). Rol povishennoi chuvstvitelnosti k riadu biogennih faktorov v razvitii luchevoi toksemii. *Radiotoksini*, Atomizdat, 208-214.
- KUDRYASHOV, YU. B. (1966). Rol lipidnih radiotoksinov v luchevom toksicheskom efecte. *Radiotoksini*, Atomizdat, 105.
- , GONCHARENKO, E. N. y DEEV, L. I. (1969). O snizhenii endogennih radiosensibilizatorov-LTF kak ob odnom iz mekhanizmov radioprofilakticheskogo effecta. DAN SSSR 195, 206.
- KULINSKIY, V. I. (1968). O znachenii katecolaminov dlia radiorezistentnosti. *Nauchn. Konf.* Kiev, 90.
- KUZIN, A. M., KUDRYASHOV, YU. B., LEBEDEVA, N. E., BALTBARZDIS, Z. YA. y BILUSHI, S. T. (1966). Dinamika nakopleniya i vzaimosviyaz lipidnih radiotoksinov i xinonov. *Radiotoksini*, Atomizdat, 186-191.
- LANGENDORFF, M. M., MELCHING, J. y LADNER, H. A. (1959). 5-Hydroxytryptamine as a radiation protective substance in animals. *Int. J. Radiat. Biol.* 1, 24-27.
- OGRIZOV, N. K., NAUMOV, N. P., TARUSOV, B. N., KUDRYASHOV, YU. B., CHUGUNOV, YU. D., GORSKAYA, T. G., KISPOYEV, K. A. y TELESNIN, M. P. (1969). Ob ustoychivosti dikih grizunov k deistviyu ioniziruyushei radiacii, radiomimetika (LPT) i nekotorykh infekcionnih zabolevanii DOB SSSR 1, 15-16.
- ROMANTSEV, E. F. (1968). *Radiaciya i himicheskaya zaschita*. Atomizdat, Moskva.
- SAFRONOV, A. P. y PROTASOVA, T. N. (1964). Raspad gistidina v pecheni kris, podvergnutib vozdeistviyu ioniziruyushei radiacii. *Radio-biologia* 4, 3.
- SOLOIMSKAYA, E. A. (1967). K metodike opredeleniya aktivnosti gistaminazi, *Laboratornoe delo* 10, 598-599.
- SUMARUKOV, G. V. (1970). *Okislitelnoye ravnovesiye i radiochuvstvitelnost organizmov*. Atomizdat, Moskva.
- TIUNOV, L. A., VASILYEV, G. A. y PARIBOK, V. P. (1964). *Protivoluchevie sredstva*. Nauka, Moskva.
- VAN DER MEER, C. y VAN BEKKUM, D. W. (1959). The mechanism of radiation protection by histamine and other biological amines. *Int. J. Radiat. Biol.* 1, 5-23.
- VAN DEN BRENK, H. A. S. y HAAS, M. (1961). Studies of mechanisms of chemical radiation protection *in vivo*. I. 5-hydroxytryptamine in relation to effect of antimetabolites, antagonists and releasing agents. *Int. J. Radiat. Biol.* 3, 73-94.
- VILLALOBOS-PIETRINI, R. (1969). Acción radioprotectora y radorreparadora del complejo serotonina-sulfato de creatinina. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México* 40, Ser. Biol. Exp. (1) 37-44.