III. LA HISTAMINA Y GABA CENTRALES COMO NEUROTRANSMISORES ENDOCRINOS: SU PARTICIPACION EN EL CONTROL NEURAL DE LA SECRECION DE PROLACTINA Y HORMONA LUTEINIZANTE*

A. O. Donoso

Instituto de Investigaciones Cerebrales, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

* Conferencia pronunciada en el VII Congreso Latinoamericano de Farmacología, San Pablo, Brasil, el 7 de diciembre de 1978.

RESUMEN

Se ha sugerido que la histamina y el GABA (ácido gamma-aminobutírico) actuarían como transmisores centrales, participando en los mecanismos que controlan la secreción hormonal. Resultados recientemente obtenidos en nuestro laboratorio avalan esa hipótesis. Administración intraventricular de histamina en ratas induce aumento de la liberación de prolactina en ratas. Esta amina también aumenta la secreción de LH en ratas hembras en proestro y en ratas ovariectomizadas, sensibilizadas con estradiol y progesterona. Esto último sugiere una eventual participación de la histamina en el proceso ovulatorio en la rata. Los efectos de la histamina no parecen ser mediados por otros transmisores, como la serotonina, acetilcolina o noradrenalina, pues los mismos no son bloqueados por antagonistas de estos últimos. Además, varios experimentos han mostrado que los efectos de la histamina sobre la prolactina se ejercen a través de receptores histaminérgicos tipo H_2 , siendo bloqueados por la metiamida y no por la pirilamina.

No se conoce aún el lugar donde actúa la histamina, pero se sugiere que es a nivel hipotalámico donde se han demostrado núcleos conteniendo a la amina y a diversas hormonas hipofisotrópicas.

Recientemente se ha señalado que el GABA influye en la liberación de prolactina y LH en la rata. Sin embargo, los resultados correspondientes no han sido bien demostrativos. En consecuencia, estamos intentando definir su papel empleando drogas que aumentan los niveles de GABA endógeno. Una de esas drogas, el gamma acetil-GABA, que sólo causa una ligera disminución de los niveles de prolactina en el plasma, al ser administrada antes de histamina bloquea su efecto facilitador sobre la prolactina. Este último resultado sugiere que ambos compuestos, histamina y GABA, participan en un mecanismo común que controla la secreción de prolactina en la rata.

SUMMARY

There is increasing evidence to suggest that histamine and GABA (γ -aminobutyric acid) act as neurotransmitters in the brain and play some role in neuroendocrine mechanisms. Evidence recently obtained in our laboratory support this hypothesis.

Injection of histamine into the 3rd ventricle causes release of prolactin in male, proestrous and ovariectomized, steroid-primed rats. Histamine also give rise to a marked increase in the level of LH in the plasma when administered to proestrous and ovariectomized, steroid-primed rats. Results obtained in animals treated with transmitter antagonists, which are unable to prevent histamine-induced hormone release, suggest that the actions of this amine are not mediated by cholinergic, serotonergic or noradrenergic mechanisms. In addition, the involvement of specific histamine receptors in the hormone responses has been shown. The increase of prolactin release induced by histamine is prevented by metiamide, a H_2 -receptor antagonist but not by pyrilamine, a classical H_1 -receptor antagonist.

The stimulatory action of histamine on LH release in female but not in male rats suggests some participation in the ovulatory process.

Although until now is unknown its site of action, it is possible that histamine evokes hormone release by influencing the hypothalamic neuronal systems. There is available evidence on the localization of histamine in hypothalamic nuclei containing releasing hormones.

Recent work has shown that GABA causes modifications in prolactin and LH release in rats. However, results obtained are unclear due to the different experimental models and doses employed. In an attempt to define the role of GABA we have used an enzyme-blocking agent that interferes its metabolic degradation. Our preliminary results indicate that such compound, γ acetylenic-GABA, which increases GABA levels in brain, causes only a small decrease of prolactin. When γ acetylenic-GABA was injected previously to histamine a complete block of the increase of prolactin induced by histamine in male rats, was found. The latter result appears to indicate that both transmitters, histamine and GABA, participate in a common mechanism regulating prolactin release in the rat.

Existen evidencias obtenidas en sistemas elementales, por ejemplo en crustáceos, que indican que la histamina y el GABA actuarían como transmisores sinápticos. El primero, como facilitador, y el GABA, como inhibidor. En los mamíferos, en cambio, la información que se dispone en este sentido es más indirecta. Mediante administración intracerebral por microelectroforesis se han detectado acciones de alta especificidad tanto de la histamina^(7, 12) como del GABA,⁽¹⁾ sobre la ac-

tividad unitaria neuronal en diferentes áreas corticales, hipotálamo, amígdala, etc.

Histamina. La distribución de la histamina en el cerebro de los mamíferos presenta algunas particularidades. En varias especies se han detectado al menos dos *pools* de histamina. Uno de ellos, el denominado *pool neuronal*, se halla incluido en fracciones sinaptosomales que corresponden a terminaciones nerviosas; este *pool* presenta un

rápido recambio^(15, 16) y corresponde a la histamina que participaría en la transmisión nerviosa. La enzima de síntesis, histidina decarboxilasa, se encuentra también asociada a los sinaptosomas. La enzima de degradación, histamina-N-metiltransferasa, se la detecta en gran parte extraneuronalmente (tal vez en glia). El restante *pool* de histamina está contenido en células cebadas o *mastcells* que en el animal adulto se distribuyen en algunas zonas de la eminencia media, habénula y plexos coroideos,⁽⁶⁾ siendo muy escasas en los hemisferios. Esta histamina sólo representaría un 30 % de la monoamina presente en el cerebro, y su ritmo de recambio es muy lento. Coexiste en la rata y en el hombre con la serotonina y la heparina, como integrantes del elemento granular de las células cebadas. En otros animales (gato, vaca), con la dopamina y la heparina.

Es particularmente llamativo que la histamina se concentre en diversos núcleos del hipotálamo asociados al control neural de las funciones adenohipofisarias. Es por esto que en los últimos años ha surgido un gran interés en analizar las acciones y papel de esta imidazolamina sobre la secreción de diversas hormonas.

En nuestro laboratorio hemos realizado numerosos experimentos destinados a analizar esos aspectos. En 1976, señalamos que la histamina estimula la liberación de prolactina en la rata macho y hembra y de LH en la rata hembra.^(3, 5) Sus efectos sobre estas hormonas dependen de la dosis administrada en el tercer ventrículo, vía que hemos elegido a efectos de evitar la barrera hematoencefálica, que constituye un obstáculo para el pasaje de la amina. Sólo con dosis muy altas de histamina (x 50) es posible aumentar los niveles de prolactina sanguínea cuando se la inyecta por vía sistémica.⁽¹³⁾ Los efectos facilitadores de la histamina sobre la liberación de prolactina también se han comprobado en hombres adultos normales.⁽¹¹⁾ El aumento en la liberación de LH no se obtiene en ratas machos, sino solamente en ratas hembras durante el proestro o en ratas ovariectomizadas y pretratadas con estradiol y progesterona.⁽⁷⁾ Estos resultados sugieren que la respuesta del LH a la histamina está condicionada al "ambiente" hormonal del hipotálamo; sin embargo, en la rata macho, a pesar de un tratamiento previo con hormonas sexuales, no se obtienen respuestas facilitatorias de LH con histamina. Es posible que la respuesta esté ligada al "sexo" del hipotálamo, que depende del *imprint* hormonal perinatal, pues hemos comprobado que está ausente en ratas hembras androgenizadas al nacer.

Los transmisores neuroendocrinos tradicionales, noradrenalina, serotonina y acetilcolina, no parecen mediar las acciones de la histamina sobre la prolactina y LH, pues el pretratamiento con drogas bloqueantes no interfiere con los efectos facilitadores de la histamina. En efecto, la fenoxibenzamina, propranolol, metilsérgida o atropina, son incapaces de bloquear los efectos de la histamina.⁽²⁾

La participación de receptores específicos en las respuestas de la prolactina a la histamina ha

sido estudiada utilizando antagonistas y agonistas diversos. El aumento de la liberación de prolactina inducido por dosis umbrales de histamina pudo ser bloqueado con metiamida, antagonista H₂, y no con pirilamina, antagonista H₁. El agonista H₂, 4-metilhistamina, reprodujo los efectos de la histamina sobre la prolactina, siendo antagonizados por la metiamida. En cambio, el agonista selectivo H₁, 2-piridiletilamina, aun en dosis altas, fue incapaz de alterar la liberación de prolactina. En conjunto, estos resultados apuntan a una participación preponderante de receptores tipo H₂ en las respuestas facilitatorias de la prolactina (Donoso y Banzan, en preparación).

Se están realizando experimentos destinados a rastrear las vías histaminérgicas en el cerebro de la rata, tomando como referencia sus acciones sobre la liberación hormonal. En nuestro laboratorio, el Dr. E. O. Alvarez (Universidad Austral de Chile) ha implantado cánulas conteniendo histamina en diversas áreas del cerebro. Los resultados iniciales muestran que en el área preóptica y en la eminencia media la histamina estimula la secreción de prolactina. Por el contrario, el agente liberador de histamina celular, el compuesto 48/80, es inefectivo, señalando que la acción hormonal obtenida no depende de las células cebadas, sino del *pool* neuronal de histamina. La ausencia de células cebadas en zonas cercanas al tercer ventrículo también fue comprobada por la imposibilidad de estimular la liberación de prolactina con el compuesto 48/80 inyectado por esa vía. Estos experimentos se realizan en ratas machos previamente canuladas en el cerebro, y mediante cánulas permanentes implantadas en la vena yugular externa se extraen las muestras de sangre, no utilizándose, por lo tanto, anestésicos.

Aún no se ha establecido que la histamina ejerza efectos directos sobre la hipófisis; los resultados disponibles sugieren que éste no es el caso, pues agregando histamina a cultivos de hipófisis⁽¹³⁾ la liberación de prolactina no se modifica. Tampoco cambia cuando se inyecta histamina directamente en la hipófisis.⁽⁹⁾ Por lo tanto, la hipófisis que se propone es que la histamina actuaría a nivel hipotalámico, actuando sinápticamente sobre neuronas productoras de hormonas hipotalámicas o aminas hipofisotropas, que controlan normalmente la secreción de prolactina.

El aumento de los niveles plasmáticos de LH con la histamina, obtenido en ratas durante el proestro,⁽²⁾ sugiere algún papel de esta amina en los mecanismos que controlan la ovulación. A este respecto, Sawyer⁽¹⁴⁾ halló que la histamina inyectada en conejas anestesiadas con nembutil induce ovulación. En nuestro laboratorio hemos realizado experimentos en ratas con drogas que inhiben la síntesis de histamina. Se trata de la co-hidrazino histidina y de la hidroxibenzotribenziloxiamina, que bloquean a la enzima histidino-decarboxilasa. Las drogas fueron inyectadas por vía endovenosa durante el día del proestro. Los resultados hasta ahora obtenidos sugieren que el tratamiento altera la descarga de LH durante el pico ovulatorio.

GABA. El ácido gamma aminobutírico (GABA) ha sido también localizado en diferentes áreas del cerebro, incluido hipotálamo, ya sea mediante metodologías neuroquímicas o mapeo electrofisiológico, que muestran sinapsis sensibles a este compuesto.⁽¹⁾ En el sistema dopaminérgico tuberoinfundibular se han identificado fibras recurrentes gabérgicas con propiedades inhibitorias de la actividad eléctrica de las neuronas dopaminérgicas.⁽²⁾ Un sistema semejante se ha demostrado en las fibras dopaminérgicas nigro-estriatales.

Con relación a las funciones gonadotrópicas, varias investigaciones han señalado que el GABA modifica la secreción de prolactina y LH en la rata macho⁽¹⁰⁾ y hembra.⁽¹⁴⁾

Los resultados son, sin embargo, dispares, lo que puede atribuirse a las diferentes dosis y modelos utilizados (se han observado aumento, disminución o no efectos, sobre los niveles plasmáticos hormonales).

Es comprensible que el ácido pueda afectar diferentes mecanismos cuando se varían las concentraciones inyectadas, así como actuar en forma diferente si las condiciones experimentales

difieren. Por este motivo, hemos iniciado experimentos tendientes a aclarar algunos aspectos de interés con relación al GABA, utilizando drogas que modifican los niveles y acciones del ácido endógeno. Nuestros resultados son aún preliminares, pero se puede adelantar que aumentando la concentración cerebral de GABA mediante inhibición de la enzima GABA-T (transaminasa) con el compuesto γ -acetilénico-GABA o ácido 4-aminohexanoico⁽⁸⁾ los niveles de prolactina en el plasma de ratas machos conscientes disminuyen sólo ligeramente. Este compuesto también inhibe las acciones facilitatorias de la histamina sobre la prolactina, reproduciendo los efectos de GABA exógeno.⁽¹³⁾ Este último hallazgo vincula a los dos posibles transmisores, la histamina y el GABA, en un mismo mecanismo regulador de la secreción de prolactina, actuando ambos en sentido inverso.

Considerando evidencias neurofisiológicas y neuroquímicas, puede especularse que ambos compuestos cerebrales controlan la función del sistema tuberoinfundibular dopaminérgico, cuyo papel fisiológico es el de regular tónicamente (mecanismo inhibitorio) la secreción de prolactina.⁽⁴⁾

BIBLIOGRAFIA

1. Ben-Ari, Y.; Kanazawa, I.; Zigmond, R. E.: "Regional distribution of glutamate decarboxylase and GABA within the amygdaloid complex and stria terminalis system of the rat". *J. Neurochem.*, 26:1279-1283, 1976.
2. Donoso, A. O.: "Induction of prolactin and luteinizing hormone release by histamine in male and female rats and the influence of brain transmitter antagonists". *J. Endocr.*, 76:193-202, 1978.
3. Donoso, A. O., y Banzan, A. M.: "Acute effects of histamine on plasma prolactin and luteinizing hormone levels in male rats". *J. Neural Transm.*, 39, 95-101, 1976.
4. Donoso, A. O.; Bishop, W.; Fawcett, C. P.; Krulich, L., y Mc Cann, S. M.: "Effects of drugs that modify brain monoamine concentrations on plasma gonadotropin and prolactin levels in the rat". *Endocrinology*, 89, 774-784, 1971.
5. Donoso, A. O.; Banzan, A. M., y Borzino, M. I.: "Prolactin and luteinizing hormone release after intraventricular injection of histamine in rats". *J. Endocr.*, 68, 171-172, 1976.
6. Edvinsson, L.; Cervós-Navarro, J.; Larsson, L. I.; Owman, C., y Ronnberg, A. L.: "Regional distribution of mast cells containing histamine, dopamine or 5-hydroxytryptamine in the mammalian brain". *Neurology*, 27, 878-883, 1977.
7. Haas, H. L.; Wolf, P., y Nussbaumer, J. C.: "Histamine action on supraoptic and other hypothalamic neurones of the cat". *Brain Res.* 88:166-170, 1975.
8. Huot, S.; Lippert, B.; Palfreyman, M. G., y Schechter, P. J.: "Inhibition of dopaminergic activity in the extrapyramidal and limbic system by γ -acetylenic GABA". *J. Pharmacol.*, 60, 26 P, 1977.
9. Libertun, C., y Mc Cann, S. M.: "The possible role of histamine in the control of prolactin and gonadotropin release". *Neuroendocrinology*, 20, 110-120, 1976.
10. Pass, K. A., y Ondo, J. G.: "Effects of gamma-aminobutyric acid on prolactin and gonadotropin secretion in the unanesthetized rat". *Endocrinology*, 100, 1437-1442, 1977.
11. Pontiroli, A. E., y Pozza, G.: "Histamine stimulates prolactin release in normal men". *Acta Endocrin.*, 88, 23-28, 1978.
12. Renaud, L. P.: "Histamine microelectrophoresis on identified hypothalamic neurons: 3 patterns of response in the ventromedial nucleus of the rat". *Brain Res.*, 115, 339-344, 1976.
13. Rivier, C., y Vale, W.: "Effects of γ -aminobutyric acid and histamine on prolactin secretion in the rat". *Endocrinology*, 101, 506-511, 1977.
14. Sawyer, C. H.: "Rhinoencephalic involvement in pituitary activation by intraventricular histamine in the rabbit under nembutal anesthesia". *Am. J. Physiol.*, 180, 37-46, 1955.
15. Schwartz, J. C.: "Histamine as a transmitter in brain". *Life Sci.*, 17, 503-518, 1975.
16. Schwartz, J. C.: "Histaminergic mechanisms in brain". *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17:325-339, 1977.
17. Vijayan, E., y Mc Cann, S. M.: "The effects of intraventricular injection of γ -aminobutyric acid (GABA) on prolactin and gonadotropin release in conscious female rats". *Brain Res.*, 155, 35-43, 1978.