

Aportaciones al posible mecanismo de acción de un extracto tisular hidrosoluble sobre la presión arterial en rata

J. M. de Gandarias, M. C. Iribar, L. Casis y J. Múgica

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad del País Vasco
Lejona Vizcaya (España)

(Recibido el 18 de mayo de 1983)

J. M. DE GANDARIAS, M. C. IRIBAR, L. CASIS and J. MUGICA. *Contributions to Possible Mechanisms of Action from Hydrosoluble Tissue Extract on Arterial Pressure of Rats*. Rev. esp. Fisiol., 40, 37-42. 1984.

A double hypo-hypertension effect is seen when a hydrosoluble splenic extract at pH 5 is injected to rats intravenously. The hypotensive effect may be caused by local vasodilating agents, such as histamine. The hypertensive one does not appear in adrenalectomized animals or in rats treated with inhibitors of prostaglandin synthesis which suggests that the mechanism for this effect is complex.

Key words: Splenic extract, Hypo- hypertension, Prostaglandin, Adrenal.

Desde los primeros experimentos de BROWN-SEQUARD en 1889, diversas escuelas fisiológicas han seguido el estudio de los efectos de extractos tisulares. La escuela escandinava de VON EULER (5) experimentó con extractos tisulares liposolubles llegando al espectacular descubrimiento de las prostaglandinas.

La metódica de investigación que se ha seguido comenzó en 1959 (7) con la preparación de un extracto tisular, fundamentalmente esplénico, desproteinizado y centrifugado (Factor Esplénico de Gandarias) (2, 7). Hay que tener presente que el medio extractor ha sido siempre hidrosoluble, por lo que no cabe emparentar

estos extractos directamente con las prostaglandinas. El extracto conseguido presenta colina, acetil colina, adenina, adenosina y diferentes aminoácidos estudiados por cromatografía (16).

Este extracto hidrosoluble de bazo provoca contractura del músculo liso intestinal aislado de rata y una discreta contracción de la musculatura uterina de rata (6). Sobre músculo liso vascular provoca vasodilatación con el consiguiente efecto hipotensor, comprobado en rata y gato.

Los extractos hidrosolubles de bazo se han empleado asociados a insulina en el tratamiento de algunas formas de diabetes, por su efecto hipoglucemiante.

Según el pH al que se ajustara el extracto obtenido, se podían conseguir efectos de hipo o hipertensión (1), por lo que era preciso convenir que las reacciones vasomotoras no tenían relación directa con los receptores adrenérgicos de ALHQUIST. Nuestro propósito inicial fue abordar la posible actuación del extracto mediante liberación de prostaglandinas (PGs) sistémicas, ya preformadas, para lo que preparamos un lote de animales tratados con inhibidores de la biosíntesis de PGs (15).

Material y métodos

Se emplearon un total de 80 ratas machos de raza Wistar, con pesos comprendidos entre los 200 y 300 g, a los que se anestesió con Nembutal 0,01 g/ml en disolución acuosa. Las ratas de un lote se trataron con inhibidores de las prostaglandinas, acetilsalicilato de lisina (Dolomega) (0,225 g/ml). Las de un segundo lote fueron adrenalectomizadas bilateralmente, efectuándose el registro de presión arterial a la semana de la operación, considerándose estos animales como adrenoprivos crónicos.

Preparación del extracto esplénico. Se preparó a partir de bazo de vaca, mediante el siguiente procedimiento: Homogeneizado y desproteinización con arena de mar en relación 3:1, arena : bazo, añadiendo después las soluciones desproteinizantes en relación peso bazo : volumen solución, 1:5 de Na(OH) 0,3 N y SO_4Zn al 5 %, homogeneizando mediante ultrasonidos el macerado obtenido, durante 2-3 minutos. Centrifugado, en centrífuga refrigerada a 6.000 rpm durante 5 minutos. Filtrado del sobrenadante, obteniéndose un líquido transparente e incoloro, de pH aproximadamente neutro.

Fijación del pH. Se emplearon alícuotas fijadas a pH 5 con ácido sulfúrico,

para seguir utilizando los mismos iones que durante la desproteinización.

Preparación del registro de presión arterial. Tras anestesia con Nembutal inyectado por vía i.p., y habiendo realizado traqueotomía para evitar complicaciones respiratorias, se canuló la vena femoral para disponer de una vía de aplicación del extracto.

Se liberó la arteria carótida común y se introdujo una cánula cuyo extremo iba cerrado por una llave de triple paso que se conectaba a un transductor electrónico de presión, relleno de solución salina heparinizada. La tercera llave iba conectada a una jeringa con idéntico suero para evitar la formación de burbujas de aire en el sistema. El registro gráfico se efectuó mediante un registrador Hewlett-Packard tipo 7754 A de cuatro canales.

Resultados

En un lote de 30 animales, sin ningún tipo de tratamiento, se realizaron registros de presión arterial. Tras la inyección del extracto ácido esplénico se produjo un descenso en la presión arterial media, valorado en un 18 % negativo, es decir, de valores medios de tensión de 125 mm Hg se pasó a valores del orden de 100 mm Hg (errores estándar de 7,7 y 7,3 respectivamente). Sin embargo, la presión revertía a sus valores normales y se conseguía posteriormente una clara hipertensión, con un valor medio de 137 mm Hg a los 9 minutos post-inyección del extracto (figura 1).

Ante un posible efecto hipertensor secundario a liberación de catecolaminas medulares, se preparó un lote de 20 ratas adrenalectomizadas una semana antes del registro de presión. En este grupo se comprobó que, aunque el efecto hipotensor se mantenía, aparecía un intento de retorno a valores basales que no alcan-

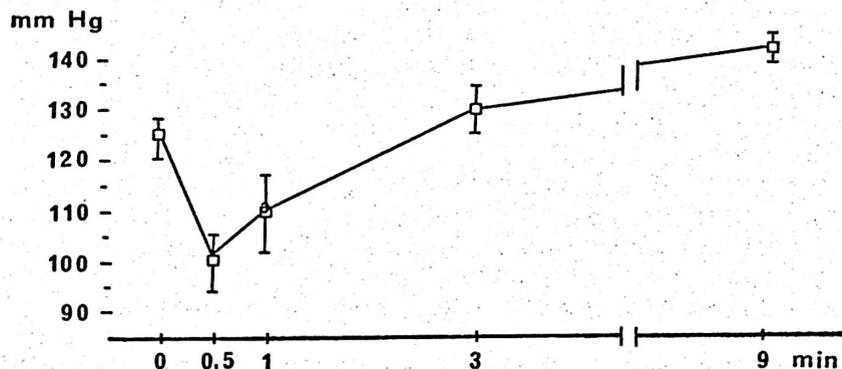


Fig. 1. Registro de presión arterial en ratas íntegras inyectadas endovenosamente con extracto esplénico. Se aprecia una caída precoz de la presión (de corta duración), seguida de recuperación lenta y gradual que culmina finalmente en una respuesta hiperpresora.

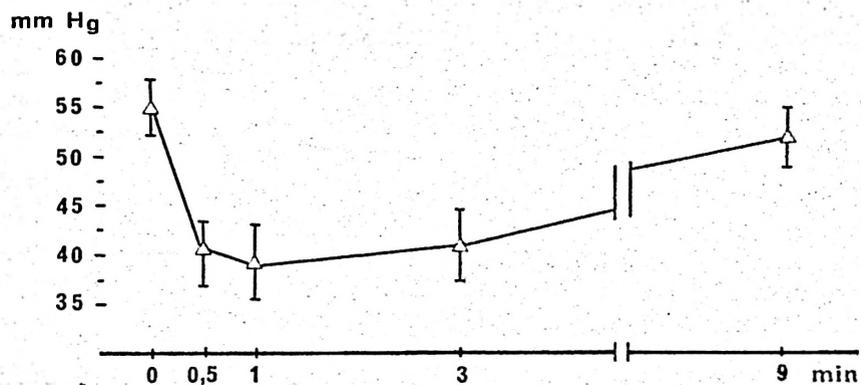


Fig. 2. Registro de la presión arterial en ratas adrenoprivas inyectadas (i.v.) con extracto esplénico. Se comprueba que aunque el efecto hipotensor se mantiene, no se alcanza el efecto hipertensor.

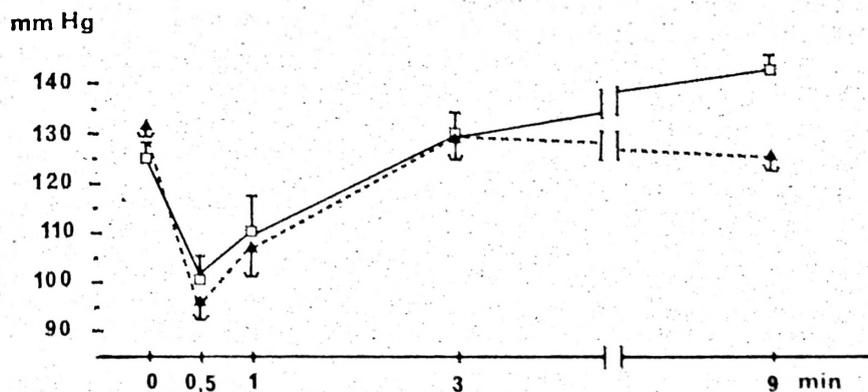


Fig. 3. Efecto del acetilsalicilato de lisina sobre la presión arterial en rata. Se observa mayor descenso tensional en las ratas tratadas (\blacktriangle --- \blacktriangle) que en las íntegras (\square --- \square), aunque no se retorna a valores basales, ni se consigue el efecto hiperpresor.

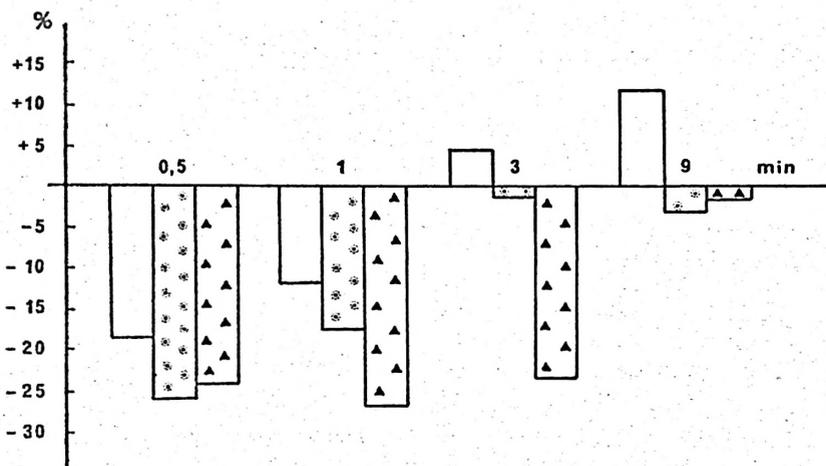


Fig. 4. Comparación de las diferencias porcentuales de presión en los tres grupos experimentales de ratas empleadas.

□ íntegras, * tratadas con acetilsalicilato de lisina y ▲ adrenoprivas.

zaba el efecto hipertensor (fig. 2). Los valores medios encontrados fueron: Basal 55 mm Hg—hay que recordar que se trata de animales adrenoprivos—; al minuto post-inyección 39 mm Hg y 52 mm Hg a los 9 minutos.

A un tercer grupo de 30 animales se les administró acetilsalicilato de lisina por vía intramuscular en dosis de 45 mg, con objeto de interferir la síntesis de prostaglandinas. Estos animales presentaban una presión media basal discretamente superior a la encontrada en animales íntegros no tratados, de 132 mm Hg. El descenso porcentual de tensión fue también superior, 26 % negativo, sin que tampoco en este caso pudiera volverse a los valores tensionales basales, encontrándose al cabo de 9 min de la inyección del extracto una presión arterial media de 127 mm Hg (fig. 3).

Dado que se parte de condiciones basales diferentes en los tres lotes de animales, lo que supone presiones basales diversas, se expresan gráficamente (fig. 4) las diferencias porcentuales de presión, para incluir y comparar los tres grupos experimentales.

Discusión

El extracto esplénico ácido, pH 5, inyectado por vía i.v. provoca un descenso de presión importante y rápido (3), independientemente de la situación basal del animal íntegro, adrenalectomizado o tratado con inhibidores de las PGs. El efecto no se debe al problema de aumento de volumen post-inyección, ya que la administración de un placebo a pH 5 produce un discretísimo aumento de presión que revierte a valores basales en menos de un minuto.

El animal íntegro, en una segunda vez, consigue recuperar sus valores tensionales e incluso experimenta una hipertensión a los 9 minutos post-inyección.

La primera parte del efecto, es decir, la inmediata hipotensión, cabría ser atribuida a la liberación de sustancias vasodilatadoras a nivel local, lo que explicaría su rapidez de acción y su posible revocación a expensas de otros factores. Así, es importante considerar la posible liberación de histamina endógena tras la inyección del extracto esplénico, hecho comprobado en íleon aislado de cobaya (2),

que causa un aumento de contractilidad posiblemente mediado por estimulación de receptores H_1 -histamínicos.

Sin embargo, la reacción secundaria de aumento de presión arterial parece estar en relación con la glándula suprarrenal, ya que en animales adrenaoprivos no aparece. Las catecolaminas podrían verse implicadas en el desarrollo del efecto hipertensor, pero éste persiste en animales tratados con bloqueantes adrenérgicos (8), tanto alfa como beta. Así cabría considerar la posible actuación presora de la corteza suprarrenal.

El descenso de presión arterial es el principal estímulo para la secreción de renina por parte de las células yuxtaglomerulares de riñón (4). Por tanto, sería posible pensar que la hipotensión provocada por la inyección del extracto esplénico produjera secundariamente liberación de renina, formación de angiotensina I y II y subsiguiente liberación de aldosterona. La angiotensina II presenta *per se* un claro efecto hipertensor (9), que podría relacionarse con la segunda fase de recuperación que acontece en el animal adrenaoprivo. Actualmente, se está investigando la posible liberación de renina en animal íntegro, así como en riñón perfundido y aislado, tras la infusión de extracto esplénico.

Por otra parte, la ausencia de glucocorticoides en el animal adrenalectomizado crónico, favorecería la falta de reacción vascular frente a una posible liberación de histamina, su efecto antiinflamatorio clásico (13).

PEACH, en una revisión sobre acciones moleculares de la angiotensina (14), indica que este polipéptido activa los sistemas de fosfolipasas A y C, lo que redundaría en una producción de ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de membrana. Este ácido araquidónico es transformado por la ciclooxigenasa en endoperóxido (PGG), iniciándose la síntesis de prostaglandinas (12).

Desde 1969, con los primeros estudios

de PIPER y VANE (17), se fueron acumulando evidencias que sugerían una explicación de los efectos antiinflamatorios de sustancias símil aspirina, mediante inhibición prostaglandínica, demostrándose finalmente que la síntesis queda detenida en su primer punto, ácido araquidónico. Las acciones de las PGs sobre músculo liso vascular son contradictorias; mientras PGA y E son potentes vasodilatadoras, las prostaglandinas del grupo F2 resultan vasoconstrictoras, a excepción de algunas especies animales (10), como es el caso de la rata.

En las ratas a las que se administró acetilsalicilato de lisina por vía intramuscular, no se produjo hipertensión secundaria. Cabría señalar a este respecto el efecto de las prostaglandinas sobre la glándula suprarrenal, estimulando la liberación de catecolaminas (11) por una parte, y mimetizando, por otro lado, los efectos de la ACTH sobre corteza adrenal, ya que ambos sistemas actúan a través del mecanismo de la adenilato-ciclasa.

Resumen

Se presenta el efecto doble, hipo-hipertensión, que aparece en el animal íntegro tras inyección intravenosa del extracto esplénico hidrosoluble de Gandarias ajustado a pH 5. La primera fase de la actuación, el efecto depresor, parece tener relación con liberación local de agentes vasodilatadores, si bien la segunda fase está supeditada a mecanismos de regulación presora más complejos, ya que no aparece en animales adrenaoprivos crónicos ni en aquellos que han sido tratados con inhibidores de la biosíntesis de prostaglandinas.

Bibliografía

1. AINZ, L. F.: Tesis Doctoral. Facultad de Medicina de Bilbao, 1974.
2. AINZ, L. F., CASIS, E., GANDARIAS, J. M., GIL-RODRIGO, C. E. y GOIRIENA-GANDARIAS, J. J.: *Br. J. Pharmac.*, **79**, 373-378, 1983.
3. COBBIN, L. B. y THORP, R. H.: *Br. J. Pharmac.*, **14**, 392-399, 1959.
4. DAVIS, J. Q.: *Am. J. Med.*, **55**, 333-350, 1973.

5. VON EULER, U. S.: *J. Physiol.*, **88**, 213-234, 1936.
6. GANDARIAS, J. M. DE: Real Academia Med., Discurso de Ingreso. Noviembre 1971. 36 págs.
7. GANDARIAS, J. M. DE: *Rev. Clin. Esp.*, **71**, 16-25, 1959.
8. GONZALEZ, J. A.: Tesis Doctoral. Facultad de Medicina de Salamanca, 1970.
9. GUYTON, A. C., COLEMAN, T. C. y GRANGER, M. J.: *Am. Rev. Physiol.*, **34**, 13-47, 1972.
10. HORTON, E. W.: Prostaglandins. Springer-Verlag, Berlín, 1972.
11. KAYAALF, S. O. y TURNER, P. K.: *J. Pharmacol.*, **2**, 175-180, 1967.
12. LANDS, W. E. M. y SAMUELSSON, B.: *Biochem. Biophys. Acta*, **164**, 426-429, 1968.
13. LEUNG, K. y MUNCK, A.: *Ann. Rev. Physiol.*, **37**, 245-271, 1975.
14. PEACH, M. J.: *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 2745-2751, 1981.
15. PIPER, P. J. y VANE, J. R.: *Nature*, **223**, 29-35, 1969.
16. STAMPA, A. y GARCÍA, J.: *Galenica Acta*, **18**, 113-121, 1965.
17. VANE, J. R.: *Nature*, **231**, 232-235, 1971.