

Acción inhibidora de la (Sarcosina-1-Isoleucina-8)-Angiotensina II en rata anestesiada

J. M. Gandarias*, L. Casis, E. Casis, R. Gómez y C. Iribar

Departamento de Fisiología, Bioquímica y Biofísica
Facultad de Medicina
Universidad del País Vasco
48080 Bilbao (España)

(Recibido el 26 de septiembre de 1985)

J. M. GANDARIAS, L. CASIS, E. CASIS, R. GOMEZ and C. IRIBAR. *Inhibitory Action of (Sarcosine-1-Isoleucine-8)-Angiotensin II in Anesthetized Rat*. Rev. esp. Fisiol. 43 (1), 77-80, 1987.

The peptidic sequence (Sarcosine-1-Isoleucine-8)-Angiotensin II has been demonstrated to be an *in vitro* specific and competitive antagonist of the Angiotensin II action. The present results show it to be a competitive antagonist also *in vivo* since pA_2 values are similar, always reaches a 100% response on increasing the Angiotensin II dose, and when relating log (DR-1) and log dose of agonist, the slope is very near to one (0.925).

Key words: Angiotensin II, (Sarcosine-1-Isoleucine-8)-Angiotensin II, Hypertension, Inhibition.

El sistema renina-angiotensina es un importante mecanismo implicado en la regulación a corto plazo de la presión arterial (1, 9). Dentro de este sistema, el elemento más decisivo es el octapéptido angiotensina II (A II), el cual tiene *per se* actividad vasoconstrictora.

Desde hace varios años, se viene estudiando por distintos laboratorios diversas secuencias peptídicas capaces de interactuar específicamente con los receptores de A II (2). Así, se ha visto que la modificación clave es la sustitución de la fenilalanina carboxi-terminal, indispensable para las propiedades agonistas características del péptido (4, 6).

En el presente trabajo, se presenta el estudio de uno de estos péptidos, la (Sarcosina-1-Isoleucina-8)-A II, frente a distintas dosis de A II sintética sobre la presión arterial de rata anestesiada. La selección de este producto se realizó en base a que es mucho menos utilizado que otros péptidos similares, como puede ser la (Sarcosina-1-Alanina-8)-A II (Saralasin).

Material y Métodos

Se emplearon 110 ratas Wistar macho, con peso comprendido entre 350-450 g, en las que se realizó bajo anestesia con uretano al 25% (0,6 ml/100 g peso), vía i.p., registro *in vivo* de presión arterial.

* A quien se dirigirá la correspondencia.

Se realizó traqueotomía para evitar posibles complicaciones respiratorias debidas al anestésico, se canuló la vena femoral para disponer de una vía de acceso a los fármacos a probar y, posteriormente, se liberó la arteria carótida común, introduciéndose una cánula cuyo extremo se conectaba a un transductor electrónico de presión, lleno de solución salina heparinizada. El registro gráfico se efectuó mediante un registrador Hewlett-Packard tipo 7754-A de cuatro canales.

Las dosis empleadas de A II (Sigma) fueron de 0,005 μg , en proporción geométrica hasta 0,32 μg , y de 0,1 μg en progresión geométrica hasta 1,6 μg para la (Sar-1-Ile-8)-A II (Sigma), siendo el diluyente en ambos casos ClNa al 0,9%.

Los fármacos se inyectaron en todos los casos en forma de bolo de 30 s de duración, en un volumen constante de 0,5 ml, habiendo sido previamente atemperadas en baño termostático a 37°C. A un mismo animal se le inyectaban la dosis control, la del antagonista y las dosis problema. Previamente se observó que la infusión en bolo de 1,5-2 ml de solución fisiológica inyectada en 3-4 dosis con los mismos intervalos que los fármacos, no producía variaciones significativas en la presión arterial.

Todas las respuestas se calcularon como porcentaje de la respuesta máxima agonista, siendo al menos 5 los experimentos para cada dosis.

La dosis que producía el 50% del efecto máximo (ED_{50}) se estimó gráficamente a partir de las curvas dosis-respuesta obtenidas.

La relación de dosis (RD) se estimó como la relación de la ED_{50} en presencia del antagonista comparándola con el control ED_{50} . Los valores de pA_2 fueron calculados usando la ecuación $\text{pA}_2 = \text{pA}_x + \log (\text{RD}-1)$, todo ello siguiendo la metodología de VAN ROSSUM (8). El empleo de esta sistemática ha sido debido a que la A II, a pesar de tener varias acciones conocidas, actúa directamente sobre sus recep-

tores vasculares, siendo rápidamente degradada, y en el presente trabajo se ha tenido en cuenta únicamente el inmediato efecto presor producido por la misma.

Resultados

Las distintas respuestas presoras obtenidas tras la infusión en bolo de A II sola y tras la adición previa de las diversas dosis de antagonista, demuestran que en todos los casos se alcanza el 100% de respuesta forzando la dosis del agonista (A II) (fig. 1).

Los distintos valores de pA_2 para cada dosis (en orden creciente) fueron de

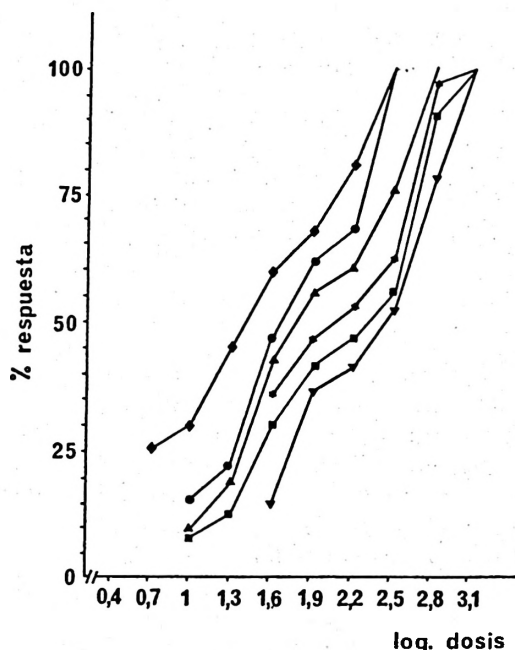


Fig. 1. Representación de las respuestas presoras al tratamiento con angiotensina II y (Sar-1-Ile-8)-Angiotensina II en sus diversas dosis (◆ = 0; ● = 0,1 μg ; ▲ = 0,2 μg ; ★ = 0,4 μg ; ■ = 0,8 μg ; ▼ = 1,6 μg).

Se observa el desplazamiento de las curvas a medida que se incrementa la dosis de antagonista. Asimismo, en todos los casos se alcanza el 100% de respuesta aumentando la dosis de agonista.

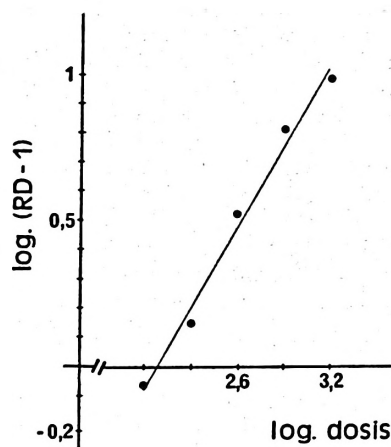


Fig. 2. Recta de regresión obtenida al representar log de dosis de (Sar-1-Ile-8)-A II frente a log (RD - 1).

La pendiente de la recta presenta un valor de 0,925, lo cual confirma, en parte, que este antagonista es de tipo competitivo.

10,97, 10,83, 10,79, 10,64 y 10,40. Las relaciones de dosis arrojaron unos valores de 1,862, 2,398, 4,365, 7,586 y 10,716. Para poder realizar los anteriores cálculos metamáticos, las dosis, tanto de A II como de (Sar-1-Ile-8)-A II, se transformaron en moles (8).

Relacionando log (RD-1) frente a log de dosis de antagonista, se obtuvo una ecuación de la recta $y = 0,925x - 1,92$, con un coeficiente de correlación (r) de 0,99 y un error estándar de la estimación (e) de $6,20 \times 10^{-2}$ (fig. 2).

Discusión

La presencia de la 8-Fen resulta esencial para mantener la acción presora y miotrópica de la A II. La sustitución de este aminoácido por una cadena alifática elimina la actividad biológica y conforma a menudo un antagonista específico (4, 6, 7).

Los derivados sarcosílicos de la A II,

parecen actuar sobre los mismos receptores del péptido, pero si bien la actuación del (Sar-1-Leu-8)-A II, resulta específica, no cumple por completo los requisitos para ser considerado un antagonista competitivo (5). Muchos de los estudios realizados hasta ahora para comprobar el tipo de inhibición que realizan los péptidos símil-A II han sido realizados *in vitro*, ya que los estudios *in vivo* (3) comprueban que efectivamente estos compuestos actúan como inhibidores de la A II, centrándose fundamentalmente en sus efectos sobre el resto de los componentes del sistema renina-angiotensina, pero no especificando su efecto inhibidor.

Los resultados aquí expuestos trabajando con (Sar-1-Ile-8)-A II, parecen confirmar la actuación de esta sustancia como inhibidor de tipo competitivo, ya que se obtiene siempre un 100% de respuesta agonista forzando la dosis de A II, las pA_2 resultan todas de rango semejante (e.s. = 0,108) y la pendiente de la recta que relaciona log (RD-1) frente a log de dosis de antagonista, está muy cercana a 1 ($a = 0,925$) (fig. 2).

Resulta interesante la diferencia obtenida para las características de antagonista, entre dos cadenas peptídicas tan similares como son la (Sar-1-Leu-8)-A II y la (Sar-1-Ile-8)-A II.

Resumen

Se estudia el tipo de acción inhibidora que presenta la (Sarcosina-1-Isoleucina-8)-Angiotensina II frente a la acción hipertensora de la Angiotensina II. Los resultados demuestran que *in vivo* también es un potente inhibidor de tipo competitivo, ya que las pA_2 resultan todas de rango semejante; siempre se alcanza el 100% de respuesta incrementando la dosis de Angiotensina II y la pendiente de la recta que relaciona log (RD-1) con log de dosis de agonista está muy cercana a uno (0,925).

Palabras clave: Angiotensina II, (Sarcosina-1-Isoleucina-8)-Angiotensina II, Hipertensión, Inhibición.

Bibliografía

1. Gandarias, J. M., Iribar, C. y Casis, L.: *Gac. Med. Bilbao*, 80, 521-538, 1983.
2. Khosla, M. C., Leese, R. A., Maloy, W. L., Ferreira, A. T., Smeby, R. R. y Bumpus, F. M.: *J. Med. Chem.*, 15, 792-795, 1972.
3. Kono, T., Ikeda, F., Oseko, F., Imura, H. y Endo, J.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52, 354-358, 1981.
4. Regoli, D. y Park, W. K.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 50, 99-112, 1972.
5. Regoli, D., Park, W. K. y Rioux, F.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 51, 114-121, 1972.
6. Regoli, D., Park, W. K., Rioux, F. y Chan, C. S.: *Rev. Can. Biol.*, 30, 319-329, 1971.
7. Rioux, F., Park, W. K., y Regoli, D.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 51, 108-113, 1972.
8. Van Rossum, J. M.: *Arch. Int. Pharmacol.*, 143, 299-330, 1963.
9. Vecsei, P., Hakental, E. y Ganten, D.: *Klin. Wochenschr.*, 56, 5-21, 1978.