

Cátedra de Fisiología Animal Aplicada
Facultad de Farmacia
Sección de Fisiología comparada del Instituto Español
de Fisiología y Bioquímica del C.S.I.C.
Madrid

Efectos de la hipoxia sobre la serotonina

por

F. García-Pérez y J. Lucas-Gallego

(Recibido para publicar el 20 de junio de 1967)

La 5-hidroxitriptamina o serotonina se encuentra en los tejidos de mamíferos como una amina biógena. Su verdadero papel fisiológico está aún por determinar. En los mamíferos aparece fundamentalmente en el tejido intestinal, sangre, tejido cerebral y pulmón. De ahí que se le haya relacionado con fenómenos tan diversos como la actividad mental, movimiento peristáltico, hemostasis y fenómenos inflamatorios.

Su metabolismo es conocido. Se produce a expensas del triptófano por procesos enzimáticos de hidroxilación y descarboxilación. La principal ruta catabólica es su transformación en ácido 5-hidroxindolacético que se elimina por la orina como metabolito inactivo.

Es conocido que muchos agentes físicos influyen sobre el contenido tisular de serotonina. Así la acción del frío, calor, estímulos eléctricos y ejercicios violentos modifican sensiblemente la tasa normal de 5-hidroxitriptamina. Este efecto es consecuencia del *stress* producido en los animales de experimentación.

Hemos considerado interesante estudiar el efecto que la hipoxia aguda dis-

continua produce sobre los principales niveles de serotonina.

Material y métodos

Como animal de experimentación se utilizaron cobayas machos con un peso comprendido entre los 400 y 600 g, sometidos a las condiciones normales del laboratorio.

La hipoxia se produjo haciendo respirar al animal en una cámara de circuito abierto una mezcla de oxígeno (5 %) y nitrógeno (95 %) durante seis horas diarias hasta hacer un total de exposición de 24 horas. La mezcla de gases se obtuvo con un aparato mezclador provisto de rotámetros.

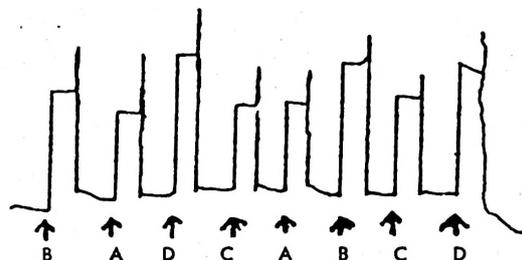
La extracción de la serotonina se realizó sacrificando los animales y tratando los tejidos con cinco veces su peso en volumen de acetona al 90 %, que es un buen disolvente para la serotonina tisular (2). Se hace una segunda extracción, manteniéndose ambas durante 24 horas a baja temperatura y fuera de la acción de la luz. Los líquidos acetónicos procedentes de ambas extracciones se mezclan

y evaporan en un desecador con sulfúrico, a la temperatura ambiente, en la oscuridad y auxiliando el proceso con vacío. Probablemente el sulfúrico del desecador condiciona un ambiente protector al complejo, sulfato de creatina-5-hidroxitriptamina, porque comprobamos que en estas condiciones no existe pérdida de la actividad extraída.

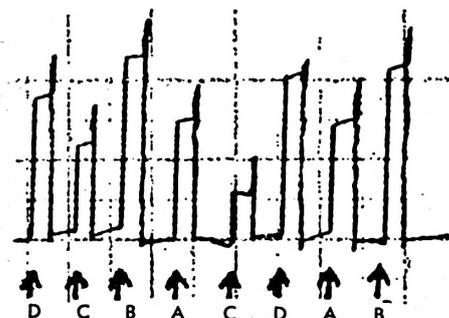
La dosificación de la serotonina se realizó con un ensayo biológico que utiliza la porción fundida del estómago de rata, bioensayo basado en la descripción de VANE (19), a la cual hemos hecho algunas modificaciones. Esta preparación presenta una exquisita sensibilidad; permite apreciar cantidades de serotonina del orden de la milésima a la centésima de gamma. El órgano preparado según técnica original está perfundido en la siguiente solución: cloruro sódico, 85 g; cloruro potásico, 3,10 g; cloruro magnésico cristalizado, 1,9 g; cloruro cálcico cristalizado, 1,3 g; bicarbonato sódico, 7,5 g; glucosa cristalizada, 7,5 g; fosfato sódico cristalizado, 1,0 g; sulfato de atropina, 0,003 g; p-cloro-bencil-2-pirrolidimetil-bencilimidazol, 0,003 g; diluyendo a un volumen final de 10 litros con agua destilada. El pH de esta solución se ajusta potenciométricamente a 7,3.

El órgano está perfundido en un vaso de 15 ml. La palanca es de tipo isotónico. La solución de referencia o *standard* se prepara con sulfato de creatinina y 5-hidroxitriptamina conteniendo 0,010 μg por ml de 5-hidroxitriptamina base.

Para la valoración, los extractos son diluidos con el líquido de perfusión convenientemente, determinándose los volúmenes de solución *standard* y de extracto diluido que producen efectos contráctiles semejantes. La experiencia biológica se plantea siguiendo el criterio del método *dos más dosis*. La serotonina actúa sobre la preparación durante tres minutos. La relajación del órgano debe hacerse lentamente, en uno o dos minutos,



GRÁFICA 1. Valoración del contenido de serotonina en el tejido intestinal de cobaya normal, mediante la técnica de VANE (19). A y B, solución standard diluida; C y D, extracto del tejido diluido



GRÁFICA 2. Valoración del contenido de serotonina del tejido cerebral de cobaya hipóxico, mediante la técnica de VANE (19). A y B, solución standard diluida; C y D, extracto del tejido diluido

con el auxilio de un peso adicional de 0,8 gramos.

Con esta técnica se obtienen gráficas como las que representan las figuras 1 y 2.

Como complemento del estudio de la serotonina tisular se determinó la tasa de excreción del ácido 5-hidroxiindolacético, mediante la técnica de HANSON y colaboradores (9) haciendo una concentración previa mediante extracción etérea, con lo que se aumenta la especificidad (18).

Resultados

Se realizó el estudio de las variaciones tisulares de la serotonina en un grupo de nueve animales, valorando esta amina en

TABLA I

Contenido en serotonina (nanogramos de 5-hidroxitriptamina base/g de tejido fresco) del cerebro, intestino, sangre y pulmón de cobayas normales e hipóxicos.

Cerebro		Intestino		Sangre		Pulmón	
Normal	Hipóxico	Normal	Hipóxico	Normal	Hipóxico	Normal	Hipóxico
93,27	231,57	2.667,4	306,0	39,35	37,94	36,45	171,82
85,10	193,86	3.097,7	698,0	51,97	33,02	42,3	264,11
302,6	271,39	2.121,0	491,9	45,13	32,28	90,70	140,62
160,4	279,45	2.990,0	250,9	45,34	44,05	75,27	166,16
127,80	237,21	1.488,6	426,0	39,31	76,01	98,92	226,75
194,24	251,66	2.349,0	1.155,0	91,92	34,99	175,44	301,50
230,08	285,62	4.995,8	295,2	34,07	54,84	90,38	189,50
224,96	133,75	3.815,2	209,0	20,74	40,58	74,09	146,22
108,05	195,78	2.729,5	307,0	55,14	47,58	117,15	231,21
M = 169,5 Dt = 23,3 Ls = 186 Li = 151,6	M = 231,1 Dt = 15,5 Ls = 242,9 Li = 219,3	M = 2.917 Dt = 1.016 Ls = 3.259 Li = 2.575	M = 465,5 Dt = 280,6 Ls = 682 Li = 248,7	M = 46,99 Dt = 80,6 Ls = 66,59 Li = 27,39	M = 44,54 Dt = 13,9 Ls = 55,19 Li = 33,9	M = 89,0 Dt = 39,9 Ls = 119 Li = 58,7	M = 204,2 Dt = 52 Ls = 249,6 Li = 158
t = 2,06 0,1 < P < 0,5		t = 0,65 P < 0,01		t = 0,42 P < 0,5		t = 5 P < 0,001	

M, media aritmética; Dt, desviación típica; Ls y Li, límites superiores e inferiores, respectivamente, con un 90 % de probabilidades en relación al valor medio; t, valor de la significación en la prueba de Student; P, probabilidad. Se admiten como significativos los valores de P superiores al 0,1.

cerebro, intestino, pulmón y sangre. En otro grupo de nueve animales se determinaron los niveles normales. La hipoxia aplicada fue discontinua y aguda.

Con los resultados obtenidos en cada grupo de experimentos se confecciona la tabla I, que recoge los datos en estado normal y en estado de hipoxia.

En otro grupo experimental se determina la excreción urinaria del ácido 5-hidroxiindolacético en las condiciones del laboratorio. Este mismo grupo de animales se somete a un proceso hipóxico análogo, dosificándose la excreción de este ácido durante el mismo.

Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla II. La orina de 24 horas se recoge sobre ácido clorhídrico 10 N, que protege al ácido 5-hidroxiindolacético. El cromóforo violeta producido en la reacción entre el dimetilbenzaldehído y el

TABLA II

Excreción urinaria de ácido 5-hidroxiindolacético ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) en cobayas normales e hipóxicos.

Animal 1		Animal 2		Animal 3	
Normal	Hipoxia	Normal	Hipoxia	Normal	Hipoxia
806	423	726	495	733	512
552	715	964	647	765	741
1.160	605	639	621	552	696
842	680	815	401	657	563

Valor medio de la excreción normal = 767.

Valor medio de la excreción en hipoxia

= 591.

Límite superior de la media normal = 886.

Límite inferior de la media normal = 648.

Límite superior de la media hipóxico = 669.

Límite inferior de la media hipóxico = 513.

Valor de la «t» de Student = 2,27.

Probabilidad de este valor = 0,05.

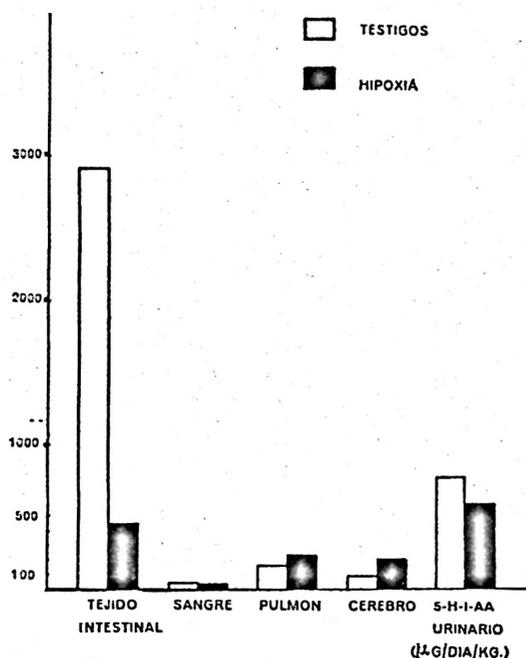


FIG. 3. Variación en el contenido de serotonina (nanogramos/gr de tejido), en distintos tejidos de cobaya normal y en hipoxia.

metabolito urinario de la serotonina se determina a $590 \text{ m}\mu$ en un fotocolorímetro espectral interpolando los valores con una curva de calibración construida al efecto con ácido 5-hidroxiindolacético.

Como resumen de todos los datos obtenidos se construye la gráfica 3.

Discusión

La falta de oxígeno produce una disminución del metabolismo general con caída de la temperatura basal, disminución de la diuresis, tono muscular y pérdida del trofismo de muchas mucosas. A nivel cerebral se observa una clara disminución de la actividad mental, con hipnosis. Si la falta de oxígeno se agudiza, aparece un cuadro convulsivo que lleva a la muerte. La hipoxia aguda deja lesiones definitivas a nivel de los núcleos optoestriados y de la corteza (11).

El aparato respiratorio es el primero

en acusar el déficit de oxígeno. Debido a una excitación refleja a través de las terminaciones sensibles a la anoxemia se produce un aumento de la ventilación pulmonar. También se produce un estado de hipertensión pulmonar debido a un probable mecanismo vasoconstrictor (15, 16), existiendo cierta relación entre la disminución de oxígeno y el efecto hipertensivo (5, 10).

Durante la hipoxia hay una evidente disminución de la actividad motora y secretora del aparato digestivo (4, 8, 13, 14, 17) con producción de alteraciones en las mucosas.

El método de valoración biológica de serotonina tiene una elevada sensibilidad. La presencia de atropina y del antihistamínico de síntesis aumenta la especificidad del ensayo al inhibir el posible efecto sinérgico de la histamina o acetilcolina que pudieran hallarse en los extractos tisulares. La acción contráctil de estos extractos queda anulada perfectamente con la presencia en el baño de un antiserotonínico. El balance hipóxico está representado por las lesiones acumuladas en las cinco primeras exposiciones más el efecto total de la última.

En el tejido cerebral se observa un aumento que no llega a ser significativo estadísticamente, pero está de acuerdo con el hecho de que muchos agentes físicos actúan sobre el tejido cerebral produciendo una elevación sistemática de la serotonina y una deplección de las catecolaminas (6, 7, 12).

El cambio más intenso se ha producido a nivel intestinal. La hipoxia produce una sensible disminución de la serotonina almacenada en este tejido. Este hecho podría guardar cierta relación con el descenso de la motilidad intestinal que aparece en la hipoxia, si se considera a la serotonina como participante del movimiento peristáltico (1, 3).

Otro hecho de elevada significación es el aumento de la serotonina en el pulmón hipóxico. Probablemente la hipoxia sea

un estímulo capaz de provocar la liberación de serotonina a nivel de este tejido, estímulo tal vez relacionado con los fenómenos de permeabilidad capilar y circulación pulmonar.

En sangre no se observa variación significativa. El mecanismo de transporte no parece afectarse en la hipoxia.

La excreción urinaria del ácido 5-hidroxiindolacético está significativamente disminuida, si bien no tan intensamente como la serotonina intestinal. Este hecho tendría relación con la disminución de la diuresis y no a la disminución del metabolismo degradante de la serotonina corporal, ya que en los estados interhipóxicos podría normalizarse.

Resumen

La hipoxia produce alteraciones de la tasa corporal de serotonina especialmente a nivel del tejido pulmonar e intestinal. En el primer caso se observa una elevación significativa en probable relación con el mecanismo hipertenso hipóxico. La disminución intestinal sería una consecuencia del deficiente trofismo de la mucosa. El metabolismo total disminuye durante la hipoxia como se interpreta de la disminución de la excreción del principal metabolito de la serotonina.

Summary

Effects of hypoxia on the serotonin

The hypoxia produces alterations of the corporal valuation of serotonin specially at level of the pulmonary and the intestinal tissue. In the first case a significant increase is observed in likely relation with the hypertensive hypoxia me-

chanism. The intestinal decrease might be the consequence of the deficient trofism of the mucosa. During the hypoxia there is a diminution of the excretion of serotonin namely, the wole metabolism diminishes.

Bibliografía

1. BESANCON, F. : *Compt. rend. soc. biol.*, **154**, 1771, 1960.
2. BORN, C., y GJLLSON, A. : *J. Physiol.*, **146**, 472, 1959.
3. BULBRING, E., y LIN, R. C. Y. : *J. Physiol.*, **140**, 381, 1958.
4. DANHOFF, I. E., y STTEGARDA, F. H. : *Aeros. Med.*, **326**, 520, 1961.
5. FOWLER, N. O. : *J. Clin. Invest.*, **31**, 72, 1952.
6. FREDMAN, X. D. : *Amer. J. Psychiat.*, **119**, 843, 1962/3.
7. PRESSIA, P., y GENOVESE, E. : *Boll. Soc. ital. biol. Sper.*, **33**, 888, 1957.
8. GIANOTTI, A., y GOLDERBERG : *Arch. Fisiol.*, **30**, 32, 1931.
9. HANSON, S., y SEIN, F.H *Lancet*, **21**, 359, 1955.
10. HARVEY, R. M. : *Am. J. Med.*, **10**, 719, 1951.
11. HOUSSAY, B. : *Fisiología Humana*, Ed. Ateneo, Buenos Aires, 1958.
12. JORI, A., VALSECHI, y A. VALZELLI : *Boll. soc. ital. Biol.*, **33**, 921, 1957.
13. KRUGLY, L. : *Fisiol. Z.*, **25**, 304, 1938.
14. MALLINSON, D. : *Luftfarthund*, **4**, 156, 1940.
15. MOTLEY, H. L. A. : *Am. J. Physiol.*, **150**, 315, 1947.
16. SHORE, P. A., y PLETSCHER, A. : *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **117**, 232, 1956.
17. STRELOW : *Pittinaja*, **10**, 21, 1941.
18. UDENFRIEND, S., WIESDACH, H., y CLARK : *J. Biol. Chem.*, **215**, 337, 1955.
19. VANE, J. : *Brist. J. Pharmacol.*, **12**, 344, 1957.

