

## Efecto de una proteína presente en el infarto de miocardio experimental sobre la excitabilidad del útero aislado de rata \*

J. Viña, M. Sopena \*\*, V. Antón y J. Cabo

Cátedra de Bioquímica y Fisiología. Facultad de Medicina de Valencia (España)

(Recibido el 6 de octubre de 1970)

J. VIÑA, M. SOPENA, V. ANTON and J. CABO. *Effect of a Protein Founded in the Experimental Myocardial Infarction on the Excitability of the Isolated Rat Uterus*. R. esp. Fisiol., 27, 55-62, 1971.

We have studied the effects of the extracts of homogenates of normal and infarcted myocardium on the contractil activity of the isolated uterus of rat, and also the modifications caused by these extracts on the response of the uterus to the action of Acetylcholine and Oxytocin.

The extracts of homogenates of infarcted myocardium cause an irregular and not sistematic uterine contractil activity in 75 % of the experiences we have realized and increased the effects of the Acetylcholine and Oxytocin in all (100 %) of them. The grade of increasing of the effects of the Acetylcholine has been of  $22 \pm 8.5$  % and the grade of increasing of the Oxytocin was of  $35.5 \pm 10.2$  % using always the same quantities of extracts of infarcted myocardium (0.5 ml).

The extracts of homogenates of a normal zone of myocardium, did not show any effect on the uterine contrality and neither increased the effects of the agonistic agents used.

In the experiences in which the isolated uterus of rat had spontaneous contractil activity, the extracts of homogenates of infarcted myocardium determined a total inhibition of that activity in 65 % of experiences. In the rest, the effect of the extracts was to decrease in a considerable degree the frequency and intensity of the contractions, which presented a variable an irregular ampleness or width. In this group of experiences the extracts of homogenates of normal myocardium did not have any effect at all.

We think the observed effects with the extracts of homogenates of infarcted myocardium are due to the presence in them of a protein with a double type of activity, first on the structure and permeability of the membrane of the muscular cell and second on the conductivity system. The results we have obtained are compared with those we had obtained previously on batracius and mamalian hearts.

En publicaciones anteriores (4, 5, 6), investigamos los efectos que sobre corazo-

nes de batracio y mamífero tenían los extractos de homogenados procedentes de miocardio sano y de miocardio portador de un infarto experimental.

Al perfundir corazones aislados de rana con extractos de homogenados procedentes de miocardio infartado, se obtenía una

\* Trabajo realizado con una Ayuda para el Fomento de la Investigación en la Universidad.

\*\* Con una Beca para la Formación de Personal Investigador.

parada diastólica del corazón. Si dichos extractos se inyectaban por vía intracoronaria a perros sanos, sin interrumpir el flujo sanguíneo fisiológico, se producía de forma casi inmediata graves trastornos del ritmo, que abocaban rápidamente a una fibrilación ventricular irreversible. Tanto el efecto sobre el corazón aislado de rana como sobre corazón de mamífero, no se producían cuando se empleaban extractos de homogenados procedentes de miocardio sano.

El hecho de que los efectos deletéreos observados con los extractos de homogenados de miocardio infartado fuesen prevenidos de forma total y constante por la previa ebullición de los extractos, indujo a pensar en la existencia en ellos de una proteína capaz de desarrollar los antedichos efectos. Dicha proteína fue identificada por técnicas electroforéticas y de cromatografía en capa fina, y más tarde aislada por cromatografía en columna y estudiada por espectroscopía de rayos infrarrojos (5, 6).

En el presente trabajo se inicia el estudio del mecanismo por el cual los extractos de homogenados procedentes de miocardio infartado provocan fibrilación ventricular cuando se inyectan intracoronariamente sin interrumpir el fisiológico flujo sanguíneo por dicho sistema. Para ello, se utiliza el útero aislado de rata, con el fin de investigar las posibles relaciones con diversos agentes agonistas de la contracción uterina.

### Material y métodos

Los extractos de homogenados de miocardio infartado procedían de corazones de perros portadores de un infarto experimental obtenido según técnica ya descrita (1, 3, 6). Los extractos de homogenados de miocardio sano procedían de corazones de perros sanos considerados como testigos. Todos los extractos, se obtuvieron por filtración de los homogenados de

miocardio realizados en C1Na al 9 % con un volumen doble del peso en gramos.

Todas las experiencias se han realizado en útero aislado de rata, siguiendo la técnica descrita por GARCÍA DE JALÓN (2) y aumentando a 2 g la carga de la palanca. Como líquido de perfusión se empleó Ringer hipocálcico. El vaso de órganos fue enrasado a 20 ml y aireado con oxígeno. La temperatura del baño fue mantenida a  $32 \pm 0,5^\circ$ .

El útero procedía de ratas sensibilizadas 24-48 horas antes de la experiencia, mediante la administración intraperitoneal de  $5 \mu\text{g/g}$  de benzoato de estradiol.

Como agentes agonistas se emplearon la acetilcolina y la oxitocina. Ambas fueron utilizadas según la técnica de dosis únicas y la oxitocina, además, según la técnica de dosis acumulativas en progresión geométrica de razón 2.

Los extractos de homogenados procedentes de miocardio infartado y sano (0,5 ml) fueron añadidos al vaso de órganos 5 minutos antes de administrar las dosis únicas o acumulativas de los agentes agonistas.

En los casos en que el útero aislado estaba dotado de actividad contráctil espontánea, se estudió la modificación de ella por la acción de los extractos.

### Resultados

#### ACTIVIDAD CONTRÁCTIL Y POTENCIACIÓN DEL EFECTO DE LA ACETILCOLINA

En la figura 1 puede comprobarse el efecto de los extractos de homogenados de miocardio sano e infartado sobre la contractilidad del músculo liso uterino. Tras la provocación de una contracción testigo con acetilcolina, se añade 0.5 ml de extracto de homogenado de miocardio sano, no apreciándose modificación alguna de la actividad contráctil del útero. A los 5 minutos de incubación con el extracto sano, se agrega una dosis de acetilcolina idéntica a la que provocó la con-



Fig. 1. Efecto de extractos de miocardio sano (EMS) e infartado (EMI) sobre la contracción del útero aislado de rata y potenciación de los efectos de la acetilcolina.  
ACh = acetilcolina; L = lavado.

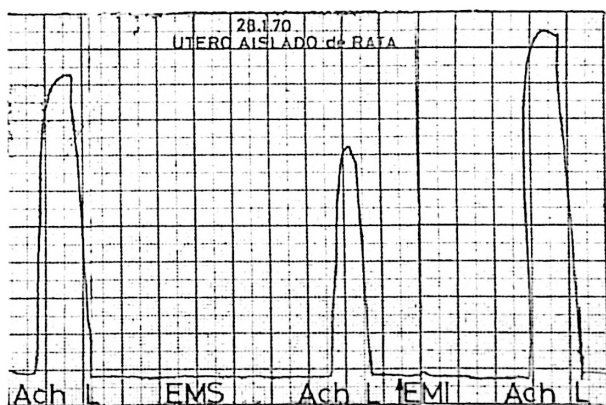


Fig. 2. Efecto de los extractos de homogenado de miocardio sobre la contracción del útero aislado de rata y potenciación de los efectos de la acetilcolina.

ACh = acetilcolina; EMS = 0,5 ml de extracto de miocardio sano; EMI = 0,5 ml de extracto de miocardio infartado; L = lavado.

tracción testigo, observándose una inhibición de dicha contracción.

Tras el lavado, se agregan 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio infartado, observándose de forma instantánea la instauración de una actividad contráctil uterina irregular y no sistematizada. A los 5 minutos se añade una dosis de acetilcolina idéntica a la empleada anteriormente, comprobándose una clara potenciación de los efectos de la acetilcolina.

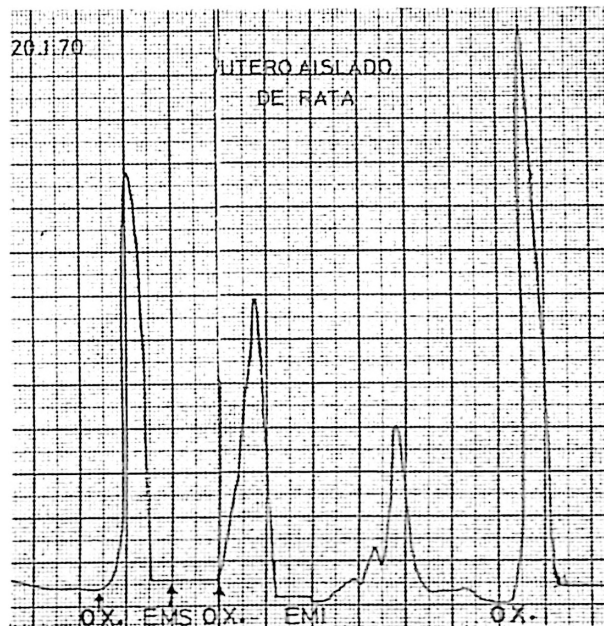


Fig. 3. Efecto de los extractos de miocardio sano e infartado sobre la contracción del útero aislado de rata y potenciación de los efectos de la oxitocina.

Ox. = Oxitocina; EMS = 0,5 ml de extracto de miocardio sano; EMI = 0,5 ml de extracto de miocardio infartado.

El desencadenamiento de la actividad contráctil irregular tras la adición de 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio infartado, se ha encontrado en el 75 % de las experiencias, y la potenciación de los efectos de la acetilcolina en el 100 % de ellas, incluidas aquellas en las que el extracto de homogenado de miocardio infartado no inducía la actividad contráctil del útero (figura 2). Esta potenciación de los efectos de la acetilcolina ha sido del  $22 \pm 8,5$  %.

#### ACTIVIDAD CONTRÁCTIL Y POTENCIACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA OXITOCINA

Cuando se ha empleado la oxitocina como agente agonista de la contracción uterina, se han obtenido efectos similares a los ya descritos con acetilcolina, pero cuantitativamente superiores (fig. 3).

La potenciación de la respuesta a la oxitocina, del útero incubado con el extracto

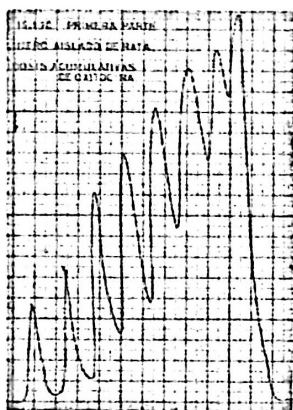


Fig. 4. Serie patrón de dosis acumulativas de oxitocina en progresión geométrica de razón 2.

de homogenado de miocardio infartado, se presenta en el 100 % de las experiencias y alcanza valores de  $35,1 \pm 10,2$  %.

Las figuras 4 y 5 corresponden a los resultados obtenidos al emplear la técnica de dosis acumulativas de oxitocina en progresión geométrica de razón 2. En la figura 4 puede observarse una serie patrón de contracciones uterinas. Tras el lavado (figura 5) se agregan al vaso de órganos 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio infartado, instaurándose inmediatamente la actividad contráctil uterina. Tras un período de 5 minutos de incubación con el extracto, se repite la misma serie de dosis de oxitocina, obteniéndose una marcada potenciación de las respuestas obtenidas con las primeras dosis, y no existe modificación en las respuestas, en relación con el testigo, con la adición de las dosis mayores.

#### EFFECTOS SOBRE LA ACTIVIDAD ESPONTÁNEA DEL ÚTERO DE RATA

En aquellas experiencias en las que el útero manifestaba actividad contráctil espontánea, se ha estudiado la modificación de la misma por los extractos de homogenados de miocardio sano e infartado.

La adición de 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio sano no provoca

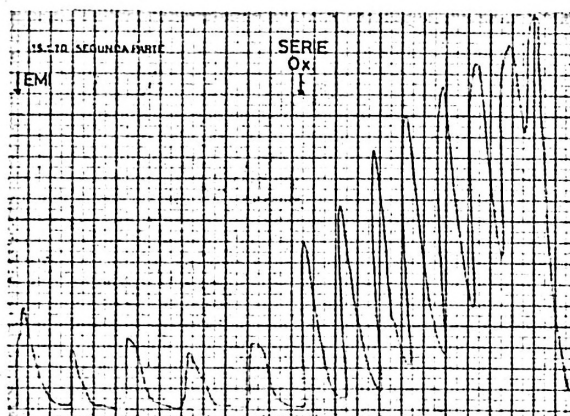


Fig. 5. Actividad contráctil del útero aislado de rata por la adición al baño de 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio infartado (EMI) y potenciación de los efectos de la oxitocina.

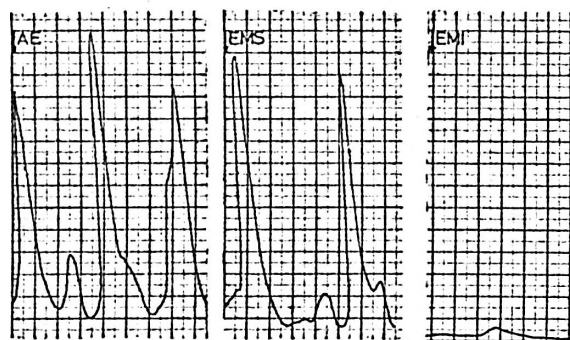


Fig. 6. Modificación de la actividad contráctil espontánea (AE) del útero aislado de rata por extractos de homogenado de miocardio. EMS = 0,5 ml de homogenado de miocardio sano; EMI = 0,5 ml de homogenado de miocardio infartado.

variación alguna en la actividad contráctil espontánea del útero (fig. 6). En cambio, tras la adición de 0,5 ml de extracto de homogenado de miocardio infartado, determina una instantánea y total inhibición de la actividad uterina.

Esta inhibición total de la actividad contráctil espontánea del útero se ha encontrado en el 65 % de los casos. En los restantes, el efecto del extracto de homogenado de miocardio infartado (fig. 7) ha sido

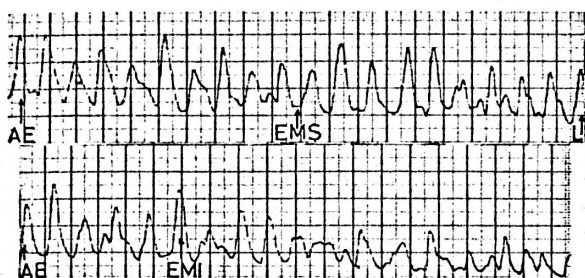


Fig. 7. Actividad contráctil espontánea (AE) del útero aislado de rata y modificación de la misma por extractos de homogenado de miocardio.

EMS = 0,5 ml de homogenado de miocardio sano; EMI = 0,5 ml de homogenado de miocardio infartado; L = lavado.

el de disminuir considerablemente la intensidad y frecuencia de las contracciones espontáneas, las cuales, a su vez, presentan una amplitud variable e irregular.

### Discusión

En nuestras experiencias se ha observado que la adición al baño de órganos de una pequeña cantidad de extracto de homogenado procedente de miocardio infartado, determina una doble acción: una contracción irregular y no sistematizada del músculo uterino y una potenciación de los efectos de la acetilcolina. Se interpretan estos resultados en el sentido de que, la proteína presente en el extracto de homogenado de miocardio infartado, determina una modificación de la estructura de la membrana celular con la subsiguiente perturbación de la permeabilidad de la misma a los iones de Na y K. Ello puede ser motivo suficiente para que se produzca esa contracción irregular del músculo uterino a la que anteriormente aludíamos. El hecho de que la mencionada proteína potencia los efectos de la acetilcolina, puede ser interpretado en el sentido de una actuación sincrónica de ambas sustancias.

Los mismos argumentos pueden emplearse para explicar la potenciación de

los efectos de la oxitocina. Las experiencias realizadas con la técnica de dosis acumulativas de oxitocina parecen confirmar esta noción, puesto que la potenciación es muy evidente con las pequeñas concentraciones de oxitocina, pero queda anulada al llegar a una concentración de la hormona posthipofisaria próxima a la saturación.

El hecho de que la potenciación provocada por la proteína en estudio sea mayor para la oxitocina que para la acetilcolina cabe ser atribuido a la mayor especificidad de la oxitocina como agente agonista de la contracción uterina.

En las experiencias en que el músculo uterino estaba dotado de actividad contráctil espontánea, se han obtenido resultados que, en principio, pueden parecer paradójicos y opuestos a los anteriores, pero que pueden tener su explicación en una doble y sucesiva acción de la proteína presente en el foco de necrosis miocárdica. Por un lado, se puede pensar en una actuación de ella interfiriendo la normal propagación del estímulo fisiológico de la contracción generando a nivel del marcapaso existente en el extremo tubárico del cuerno uterino de la rata. Por otro lado, hay que seguir pensando en la ya apuntada actuación a nivel de la membrana de la célula muscular uterina. Esta doble y sucesiva acción de la proteína en estudio podría explicar las características de la actividad contráctil uterina espontánea bajo el efecto de ella: la falta de ritmicidad y la desigualdad en la amplitud o intensidad de las contracciones.

El hecho igualmente observado de la cesación de toda actividad contráctil espontánea del útero, bajo el efecto de la proteína en estudio, cabe atribuirlo a la actuación de ésta sobre la membrana celular, con la consiguiente perturbación e interferencia en la propagación del estímulo fisiológico.

A nuestras experiencias cabría hacerles varias objeciones. En primer lugar, podría pensarse que los resultados descritos no

fuesen desarrollados por la propia proteína, sino que fuesen inherentes a la preparación de los extractos de homogenados de miocardio. Sin embargo, esta posibilidad queda descartada, puesto que en tal caso, los extractos de homogenados de miocardio sano presentarían los mismos efectos que los procedentes de miocardio infartado, y ya hemos reseñado que los primeros no manifiestan efecto alguno sobre la actividad contráctil uterina ni potencian los efectos de los agentes agonistas empleados.

En segundo lugar, se nos podría objetar que los efectos encontrados fuesen desencadenados por la presencia de histamina en los extractos de homogenados de miocardio infartado. A este respecto debemos recordar que, previamente a la realización de estas experiencias, se realizó un análisis de la proteína por espectroscopía de rayos infrarrojos, sin que éste revelara la presencia del núcleo imidazólico propio de la histamina.

En tercer lugar, cabría atribuir los efectos desencadenados por los extractos de homogenados de miocardio infartado, a la presencia en ellos de una elevada concentración de iones de K, puesto que en el infarto de miocardio, al producirse la desorganización de la membrana celular, habría un libre trasiego de iones a ambos lados de ella. Piénsese, sin embargo, que la preparación de los extractos de homogenados de miocardio sano lleva consigo la destrucción de la membrana celular con salida al exterior de los iones de K, y, en cambio, estos extractos no manifiestan efecto alguno que pueda semejararse a los descritos para los extractos de homogenados procedentes de miocardio infartado.

Finalmente, debemos aclarar que la gran similitud, no sólo funcional, sino también estructural, de los músculos uterino y cardíaco puede permitirnos extrapolar los resultados aquí obtenidos y compararlos con los obtenidos en corazón de batracio y mamífero. En este sentido, pues, puede pensarse que la fibrilación ventricu-

lar del corazón de mamífero y la parada diastólica del corazón de batracio sean desencadenadas por la proteína presente en los extractos de homogenados de miocardio infartado, como consecuencia de esa doble actuación sobre la membrana celular y el sistema de conducción.

## Resumen

Se estudian los efectos de los extractos de homogenados de miocardio sano e infartado, sobre la actividad contráctil del útero aislado de rata, así como las modificaciones que ocasionan dichos extractos sobre la respuesta del útero a la acción de la acetilcolina y oxitocina.

Los extractos de homogenados de miocardio infartado determinan una actividad contráctil uterina irregular y no sistematizada en el 75 % de las experiencias realizadas, potenciando los efectos de la acetilcolina y de la oxitocina en el 100 % de ellas. La potenciación de los efectos de la acetilcolina ha sido del  $22 \pm 8,5$  % y la potenciación de los efectos de la oxitocina del  $35,1 \pm 10,2$  %, empleando siempre las mismas cantidades de extractos de homogenados de miocardio infartado (0,5 ml).

Los extractos de homogenados de miocardio sano no han manifestado efecto alguno sobre la contractilidad uterina ni han potenciado los efectos de los agentes agonistas empleados.

Cuando el útero aislado de rata estaba dotado de actividad contráctil espontánea, los extractos de homogenados de miocardio infartado han determinado una inhibición total de dicha actividad en el 65 % de las experiencias. En las restantes, el efecto de los mencionados extractos ha sido el de disminuir considerablemente la frecuencia e intensidad de las contracciones, las cuales, a su vez, presentan una amplitud variable e irregular. Tampoco en este grupo de experiencias manifestaron efecto alguno los extractos de homogenados de miocardio sano.

Se atribuyen los efectos observados con los extractos de homogenados de miocardio infartado a la presencia en ellos de una proteína dotada de una doble actuación sobre la estructura y permeabilidad de la membrana de la célula muscular y sobre el sistema de conducción. Se comparan los resultados aquí obtenidos con los hallados en corazones de batracio y mamífero.

**Bibliografía**

1. BELLIDO GÁMEZ, J.: Tesis Doctoral. Sevilla, 1967.
2. GARCÍA DE JALÓN, P., BAYO BAYO, J., y GARCÍA DE JALÓN, M.: *Farmacoter. Act.*, **3**, 313, 1945.
3. SOPENA DASI, M.: Tesis Doctoral. Sevilla, 1968.
4. VIÑA, J.: Libro Homenaje al Prof. V. Belloch Montesinos. Editorial Facta. Valencia, 1966.
5. VIÑA, J.: *Sandorama*, **13**, 10, 1969.
6. VIÑA, J., BELLIDO, J., GANDÍA, J., MORATO, F., y SOPENA, M.: «Mecanismo de la muerte por infarto de miocardio y otros estudios de cardiología experimental». Editorial Saber. Valencia, 1967.

