

Acción de un extracto desproteínizado de sangre de ternera sobre algunos parámetros de la función respiratoria del ratón en hipoxia

E. E. Guidi, J. E. Teruel y J. L. Scaro

Instituto de Biología de la Altura. Facultad de Medicina
Universidad Nacional de Tucumán. San Salvador de Jujuy (Argentina)

(Recibido el 11 de noviembre de 1970)

E. E. GUIDI, J. E. TERUEL and J. L. SCARO. *Effect of a Protein Free Extract Obtained From Calves Blood Over Some Parameters of the Respiratory Function of the Mouse in Hypoxia*. R. esp. Fisiol., 27, 125-130. 1971.

The effects of a protein-free extract obtained from the blood of calves on the following parameters of the respiratory function of the mouse were studied: Oxygen consumption, tissue partial oxygen tension and raise of plasma erythropoietin caused by exposure to acute hypoxia. We have also determined the effects of the treatment on the per cent of mortality caused by exposure to a severe degree of hypoxia (200 mm Hg) during a 60-minute period.

An increase of oxygen consumption and tissue partial oxygen tension was found either in normoxic or hypoxic conditions after 10 daily administration of the extract. The raise in plasma erythropoietin brought about by exposure to low O₂ ambient air (0.4 atmosphere) was also significantly lower in the treated group. The per cent of mortality drops from 83 % in normal unmanipulated animals to 45 % in the treated group.

El Solcoseryl* es un extracto desproteínizado de sangre de ternera con elevada actividad sobre el SRE. Se preconiza su uso como medicamento estimulante del metabolismo oxidativo de los tejidos, siendo utilizado como mejorador de la disponibilidad y/o utilización de oxígeno a nivel tisular (3, 11, 12, 15). Con la intención de proveer más información sobre el mecanismo de acción de esta sustancia se ha estudiado en ratones los efectos del tratamiento con la misma sobre el consumo de oxígeno, la tensión parcial de oxí-

geno a nivel de los tejidos y la tasa de mortalidad causada por la exposición a grados severos de hipoxia hipóxica. En otra serie de experimentos se determinó los cambios que el tratamiento produce sobre el aumento de la eritropoyetina plasmática causada por la exposición a la hipoxia hipóxica aguda.

Material y métodos

El producto utilizado se presenta como una solución acuosa, hipertónica, transparente, ligeramente amarillenta, con un pH débilmente alcalino. Su residuo sólido contiene el 70 % de sustancias inorgánicas

* Producto de los Laboratorios Solco de Basilea.

y el 30 % de compuestos orgánicos, tales como aminoácidos, oxi y cetoácidos, desoxirribósidos, purina y polipéptidos. La dosis letal media por vía intravenosa en ratones es de 50 ml/kg de peso.

En todos los casos se realizó el tratamiento por vía intraperitoneal inyectando 0,1 ml de Solcoseryl, diariamente durante 10 días a ratones hembras del criadero de este Instituto cuyo peso oscilaba entre 25 y 30 gramos.

En un grupo de ratones normales se midió el consumo de O_2 en tres condiciones distintas: hiperoxia, normoxia e hipoxia. Posteriormente se realizó tratamiento al mismo grupo al término del cual se repitió la experiencia en las tres condiciones antedichas. Para esta experiencia, el consumo de O_2 se determinó por el método descrito por GRAD (6). En otro lote de ratones normales, respirando en un ambiente con concentración normal de oxígeno, se determinó la tensión de O_2 tisular que se repitió después de ser expuestos a una concentración de 10 % de oxígeno durante 4 horas. Se instituyó tratamiento a todo el lote repitiendo posteriormente las mediciones en ambas condiciones (normoxia e hipoxia). Paralelamente, en otro lote, se determinó la tensión de O_2 tisular antes y después de ser anemizados por sangría. En esta última experiencia se incluyó otro lote con tratamiento con Solcoseryl previo a la sangría.

La tensión de O_2 tisular fue determinada mediante la técnica del bolsillo de gas descrita por Campbell y modificada por RAHN (13), con la modificación ulterior de los autores descrita en una publicación anterior (8).

Las mediciones de la concentración de oxígeno en el bolsillo de gas se hicieron con el microanalizador de gases de SCHOLLANDER (16), corrigiendo los valores en función de la presión atmosférica y temperatura.

El porcentaje de mortalidad se determinó en cuatro lotes de ratones: normales; normales + tratamiento; policitemi-

cos con Ht promedio de 60 %, y policitemicos con Ht de 74 %. Cada uno de estos grupos fue sometido durante 60 minutos a 200 mm de Hg de presión barométrica registrándose cada 10 minutos la mortalidad provocada por estas condiciones de hipoxia severa. El método consistió en una cámara cerrada herméticamente conectada a un motor aspirativo y a un barómetro. La presión se redujo en forma progresiva alcanzándose el valor de 200 mm de Hg en 30 minutos y en el cual se mantuvo durante una hora. La policitemia fue inducida por exposición de los animales a hipoxia hipóxica (0,4 atmósferas) durante 15 días.

La actividad eritropoyética del plasma se midió en tres lotes de animales: normales; expuestos a hipoxia sin tratamiento, y expuestos a hipoxia con tratamiento. En todos los casos la hipoxia se provocó en cámara cerrada con un ambiente de 9 % de O_2 , durante 24 horas. La actividad de estos plasmas fue medida utilizando para el bioensayo ratones preparados con el siguiente método: El primer día recibieron 0,5 ml de eritrocitos por vía intraperitoneal y simultáneamente se inició el ayuno total que se extendió durante cuatro días con libre acceso al agua de bebida. En los días tercero y cuarto recibieron 0,4 ml del plasma a ensayar por vía intraperitoneal. El quinto día se inyectó una dosis de 0,25 μC de Fe^{59} . La tasa de actividad eritropoyética se determinó tres horas después de inyectar el trazador calculándose la misma por el test de HODGSON (9).

Resultados

En la figura 1 se observa el porcentaje de mortalidad en ratones expuestos a 200 mm de Hg. En todos los casos la mayor mortalidad ocurre en los primeros diez minutos. Los valores totales para 60 minutos de exposición son de 83 % en los ratones de Ht normal y 80 % para aquellos con Ht de 60, mientras que el

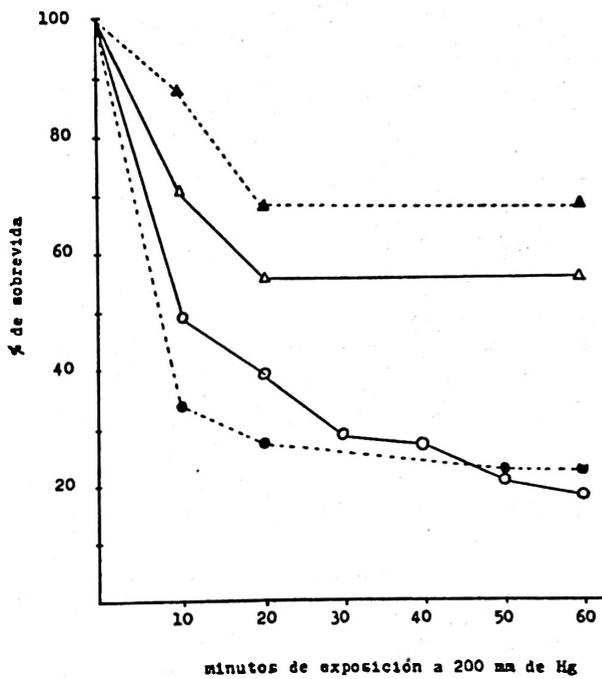


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad de los animales expuestos durante 60 minutos a 200 mm de Hg.

Ratones de Ht normal: ● (n = 39). Policitémicos con Ht 60 %: ○ (n = 15). Ratones de Ht normal con tratamiento: △ (n = 20). Policitémicos con Ht 74 %: ▲ (n = 15).

grupo que recibió tratamiento y cuyo Ht también es normal, el porcentaje bajó a 45 %. El porcentaje de mortalidad en el grupo de animales con Ht alrededor de 74 es de 33. La figura 2 muestra los valores de la tensión de O₂ a nivel de los tejidos normales con y sin tratamiento respirando en condiciones de normoxia como también los cambios que en dicha tensión ocasiona la hipoxia ambiente (0,4 atmósferas). Como puede verse los ratones sin tratamiento acusan una disminución promedio de 27,72 %. En el grupo tratado la reducción es solamente de 19,08 %. Dichos porcentajes fueron tomados con respecto a los valores obtenidos mientras los animales respiraban un ambiente con concentración de oxígeno normal. La correlación estadística entre estas observaciones dio una significación de P < 0,001.

En la misma figura se muestra el porcentaje de disminución de la tensión de O₂ tisular de los lotes anémicos tratados y no tratados comparándolos con los valores de

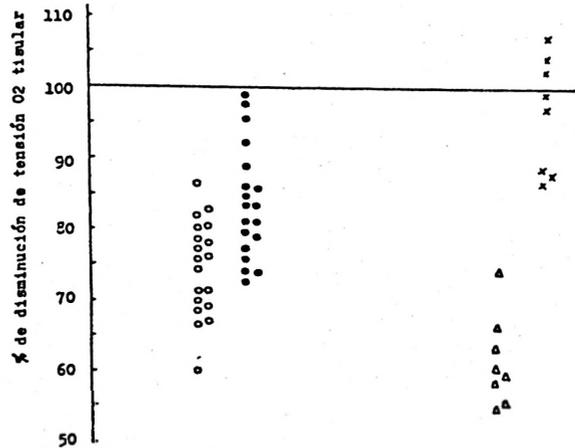


Fig. 2. Disminución de la tensión parcial de O₂ tisular causada por la hipoxia y la anemia.

Los valores se expresan como porcentaje del valor encontrado en los animales respirando un ambiente con concentración de O₂ normal y con hematocrito normal, representado por la línea horizontal. ○: Ratones en hipoxia sin tratamiento. ●: Ratones en hipoxia con tratamiento. △: Anémicos sin tratamiento. ×: Anémicos con tratamiento.

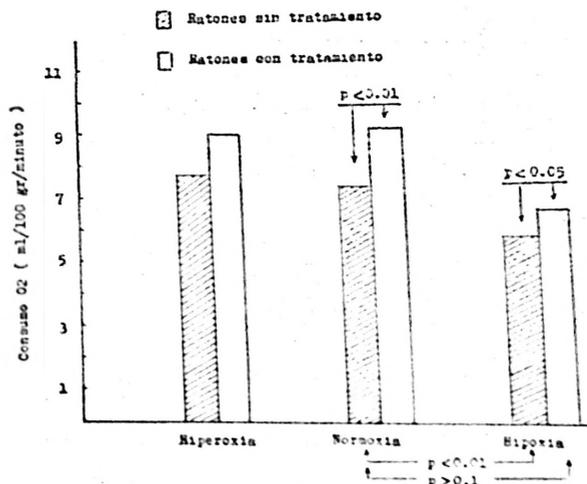


Fig. 3. Consumo de O₂ (ml/100 g/min) en ratones en condiciones de hiperoxia, normoxia e hipoxia.

Cada grupo corresponde a 16 animales.

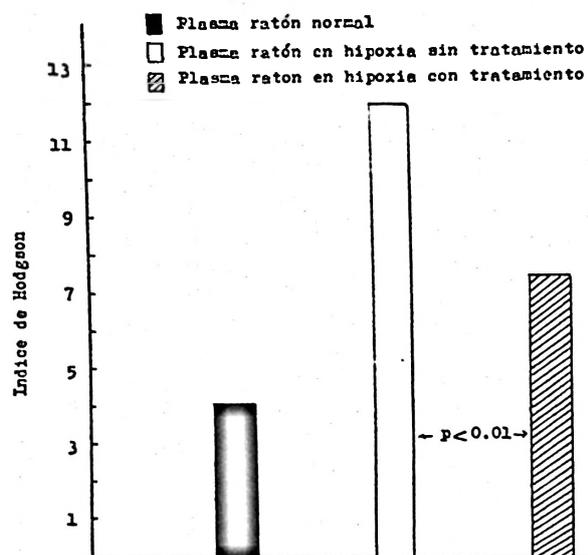


Fig. 4. Actividad eritropoyética del plasma producida por la exposición a la hipoxia (0,4 atmósfera durante 24 horas) en ratones con y sin tratamiento con Solcoseryl.

En la escala vertical se indican los valores de incorporación de Fe en tanto por ciento por hora por el tejido eritropoyético (índice de Hodgson). Cada grupo corresponde a 20 ratones.

dicha tensión antes de ser sangrados. Los anémicos sin Solcoseryl tienen una disminución promedio de 37,72 % contra 3,60 % de los tratados. El estudio estadístico entre estos últimos lotes muestra una significación de $P < 0,02$.

La figura 3 ilustra sobre el consumo de O_2 de ratones respirando ambientes de hiperoxia, normoxia e hipoxia y sus diferencias después del tratamiento. En los tres casos se aprecia el mayor consumo de este gas en los animales que recibieron tratamiento. La correlación estadística entre los valores de consumo en estado de normoxia con los de hipoxia antes de recibir el extracto desproteinizado de sangre, muestra que la disminución estadísticamente es significativa ($P < 0,01$), mientras que no existe significación cuando se los compara con las cifras de disminución de los animales tratados ($P < 0,1$).

En la figura 4 se registra la actividad eritropoyética en el plasma, desarrollada

como consecuencia de la exposición de los animales durante 24 horas a un ambiente de 9 % de concentración de oxígeno. La misma es significativamente mayor en los ratones que no recibieron tratamiento. La menor actividad se aprecia en los ratones normales que no fueron expuestos a hipoxia y en un grado intermedio entre ambas, la de los tratados. Las diferencias obtenidas entre el lote de animales expuestos a hipoxia sin tratamiento con el que sí lo recibió y también sufrió la exposición a la hipoxia es significativa ($P < 0,01$).

Discusión

El valor de los extractos desproteinizados de sangre con elevada actividad sobre el sistema retículo-endotelial, como mejoradores de la oxigenación celular, es conocido a través de diversos trabajos de índole terapéutica y clínica (1, 2, 11, 14). Aunque existen experiencias que tienden a demostrar su acción sobre el proceso respiratorio a nivel celular, no se llegó aún a determinar el mecanismo íntimo de acción de estos compuestos. Tampoco han podido ser identificados químicamente los factores sanguíneos responsables de sus efectos.

Los resultados que aquí se presentan aportan una serie de evidencias sobre la acción compensadora de la sustancia en estudio cuando disminuye la tensión parcial de oxígeno en el aire inspirado. Resulta evidente que uno de los mecanismos más importantes de adaptación a la hipoxia, como es la policitemia, no es suficiente para proteger al animal expuesto a grados de hipoxia letales cuando el hematocrito es menor de 60 %, siendo en cambio notable cómo el porcentaje de mortalidad en animales con Ht de 74 % desciende a niveles que comparativamente se acercan a los encontrados en los animales tratados previamente con el extracto de sangre.

Al analizar los resultados obtenidos en

las mediciones de la tensión de oxígeno tisular se hace evidente, asimismo, la compensación que produce el medicamento cuando decrece la tensión parcial de oxígeno, apreciándose también la misma acción al reducirse la capacidad de transporte de dicho gas como en el caso de los animales anémicos. Un aumento de la secreción de eritropoyetina es uno de los primeros mecanismos de adaptación que se ponen en juego cuando el aporte de oxígeno a los tejidos es suficiente, es decir, que la detección de un aumento de eritropoyetina en el plasma circulante, es un firme indicio de la rotura del equilibrio entre oferta y demanda de oxígeno a nivel celular causado por la hipoxia hipóxica.

El hecho de que un mismo grado de hipoxia ocasione una menor secreción de eritropoyetina en los ratones en estado de hipoxia, pero con tratamiento previo durante 10 días con el extracto de sangre, se constituye en evidencia adicional sobre la capacidad del tratamiento para modificar favorablemente, a nivel celular, los efectos de la hipoxia hipóxica.

Los resultados de los estudios que aquí se comunican, aunque no permiten establecer el mecanismo de acción del extracto, aseguran, en cambio, que el mismo modifica favorablemente los parámetros en estudio en el ratón sometidos a la hipoxia.

Resumen

Se investiga, en ratones, el efecto que un extracto desproteinizado de sangre de ternera produce sobre distintos parámetros de la función respiratoria. Asimismo, se estudió el porcentaje de supervivencia a la exposición a un grado severo de hipoxia.

Después de 10 días de tratamiento con 0,1 ml de Solcoseryl ocurre un aumento en el

consumo de O_2 y la tensión de O_2 a nivel tisular tanto en condiciones de normoxia como en hipoxia.

La exposición durante 24 horas a 9 % de concentración de O_2 en el aire inspirado produce una actividad eritropoyética en el plasma de los animales tratados, menor que la encontrada en animales normales en las mismas condiciones.

La exposición a 200 mm de Hg de presión atmosférica causa un 83 % de mortalidad en ratones no tratados que se reduce a 45 % en los animales tratados.

Bibliografía

1. ALBRECH, E. y ALBRECH, H.: *Fed. Proc.*, **28**, 1118, 1969.
2. COHEN, A.: *Med. Proc.*, **12**, 108, 1966.
3. DUFFAU, E. y THOMAS, M.: *Orient. Med.*, **869**.
4. GASPAROVIC, I., POTHONAK, D. y STERM, P.: *Med. Tuenda*, **2**, 69, 1964.
5. GOSLAR, H., JAEGER, K. H., SCHEITHANER, E. y PICHOTKA, J.: *Arzneimittel-Forsch.*, **16**, 359, 1966.
6. GRAD, B.: *Endocrinol.*, **50**, 94, 1952.
7. GUEBEL, E., PAUL, O.: *Munch. Med. Wochenschr.*, **28**, 1377, 1961.
8. GUIDI, E. E. y J. L. SCARO: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 151, 1970.
9. HODGSON, G. S. y ESCUCHE, I.: En «Eritropoiesis», JACOBSON, J. O. y DOYLE, M. A., Edit. Grune & Stratton, New York, 1962, p. 222.
10. KAPPERT, A.: *Med. Welt.*, **15**, 752, 1965.
11. MEYTHALER, F.: *Therap.*, **15**, 57, 1965.
12. PALAU-SARRO, J. A.: *Folia Clin. Internal.*, **14**, 478, 1964.
13. RAHN, N.: *Fed. Proc.*, **16**, 685, 1957.
14. RAMEL, C.: *Praxis*, **51**, 1589, 1969.
15. REMEDI, J. C.: *Dia Méd.*, **41**, 614, 1969.
16. SCHOLANDER, P. F.: *J. Biol. Chem.*, **167**, 235, 1947.
17. WOLFRAM, S.: *Arz. Fortbild.*, **4**, 4, 1963.
18. WYSS, J. L. y BASTI, H.: *Praxis*, **47**, 1599, 1964.

