

INFLUENCIA DE FARMACOS QUE MODIFICAN EL CONTENIDO DE CATECOLAMINAS SOBRE LA FIBRILACION VENTRICULAR INDUCIDA POR FALTA DE GLUCOSA (*)

Influence of drugs affecting catecholamine stores on ventricular fibrillation induced by lack of glucose.

FRANCISCO LINARES (**), SONIA AVENDAÑO y MARIO PENNA

Instituto de Farmacología, Universidad de Chile, Casilla 12967, Santiago, Chile.

Recibido para su publicación el 12 de Mayo de 1964

RESUMEN

Se estudia el efecto de fármacos que interfieren de diversa manera en la acción de las catecolaminas sobre la fibrilación ventricular producida por perfusión del corazón aislado de cobayo con solución de Tyrode sin glucosa.

El tratamiento previo de los animales de experimentación con drogas que inducen la depleción de catecolaminas de los receptáculos cardiacos (Reserpina, Guanetidina y α -metildopa) prolongó significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular inducida por falta de substratos.

La condición opuesta, o sea, el tratamiento previo de los animales de experimentación con Nialamida y Pirogalol simultáneamente, sustancias que bloquean los dos mecanismos principales de degradación de la Noradrenalina, acertó significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular.

La adición de serotonina a la solución de Tyrode sin glucosa prolongó significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular.

Por otra parte, la fibrilación ventricular en el grupo testigo fue convertida a ritmo regular mediante la adición de dimetilfenilpiperazinium (DMPP) o de 5-hidroxi-triptamina (5HT) a la solución de Tyrode sin glucosa.

INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores (1-5) se ha demostrado que la perfusión del corazón aislado de cobayo o de gato con una solución de Tyrode desprovista de glucosa produce bradicardia, prolongación del tiempo de conducción A-V, extrasístoles ventriculares, disociación aurículo-ventricular y finalmente fibrilación ventricular con conservación de la actividad rítmica de la aurícula. La fibrilación producida en estas condiciones experimentales puede convertirse más fácilmente a ritmo regular en el corazón de cobayo que en el de gatos. En efecto, en el corazón de cobayo la fibrilación se consigue convertir a ritmo sinusal mediante la adición de glucosa (1), de butirato (2) o de fármacos antifibrilatorios (3), así como median-

te cambios de la concentración de los electrolitos, sea aumentando la concentración de potasio (4) o disminuyendo la concentración de calcio en el medio (5). En este último trabajo (5) se demostró que la fibrilación producida por falta de sustrato puede recuperarse también con aldosterona, así como mediante la adición de adrenalina o isoproterenol. El isoproterenol produjo en todos los casos una regularización duradera del ritmo, mientras que la Adrenalina produjo sólo regularización transitoria y en forma inconstante. La agregación de Noradrenalina no produjo recuperación de la fibrilación ventricular en ningún caso.

Estos hechos nos han movido a estudiar si el tratamiento previo del animal de experimentación con sustancias que vacían los depósitos de catecolaminas (Reserpina, Guanetidina), o impiden su síntesis en las terminaciones del simpático (α -metildopa) (6, 11), tienen alguna influencia en el tiempo de aparición de los

(*) Este trabajo fue financiado por la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Proyecto Nº 59.7) y la Fundación Rockefeller (Grant Nº 60033) según programa conjunto.

(**) De la Universidad de Trujillo, Perú, becado por la Organización de Estados Americanos.

trastornos del ritmo y de la fibrilación ventricular producida por falta de sustrato.

Por otra parte, es de interés investigar la condición opuesta, es decir, el efecto del tratamiento previo del animal con sustancias que perturban la inactivación de las catecolaminas, como son los inhibidores de la monoaminooxidasa y de la O-metiltransferasa (12).

Como el efecto cardiaco de algunos estimulantes ganglionares como el 1,1-dimetil-4-fenilpiperazinium (DMPP) ha sido atribuido a la liberación de catecolaminas (13), nos pareció de interés estudiar el efecto de esta sustancia en la fibrilación ventricular inducida por falta de glucosa y compararlo con el efecto del compuesto McN-A-343 (14) que aparentemente carece de efectos directos sobre el miocardio, a juzgar por lo observado en preparaciones de corazón aislado.

PROCEDIMIENTO

Los experimentos se realizaron en corazones de cobayos de ambos sexos, en ayunas, que fueron perfundidos según el procedimiento de Langendorff modificado en la forma descrita anteriormente (1). La perfusión se realizó con solución de Tyrode oxigenada sin glucosa, a una temperatura de 38°C. La composición de la solución fue la misma que se ha mencionado en trabajos anteriores, en milimoles por litro: NaCl 138; KCl 2.7; CaCl₂ 1.8; MgCl₂ 0.1; NaHCO₃ 11.9; NaH₂PO₄ 0.37.

Se registró el electrocardiograma en tres derivaciones bipolares simultáneas, a saber: aurícula derecha - aurícula izquierda; aurícula derecha - ventrículo izquierdo y aurícula izquierda - ventrículo izquierdo.

Treinta preparaciones de corazón aislado que constituyeron el grupo testigo fueron perfundidas desde el comienzo con solución de Tyrode oxigenada sin glucosa hasta 5 minutos después de establecida la fibrilación ventricular.

En otras series experimentales los animales fueron tratados previamente mediante sustancias simpaticoplégicas e inhibitoras de la inactivación de las catecolaminas y se compararon los tiempos de aparición de la fibrilación ventricular con respecto al grupo testigo.

Las series experimentales fueron las siguientes:

(a) Nueve cobayos se sometieron al tratamiento previo con guanetidina en dosis de 15 mg/kg por vía intraperitoneal 24 horas antes del experimento.

(b) Cinco cobayos recibieron α -metildopa (Aldomet) por vía intraperitoneal en dosis diarias de 50 mg/kg en dos inyecciones 72, 48, 24 y 1 hora antes del experimento.

(c) Cinco cobayos recibieron Reserpina por vía intraperitoneal en la dosis de 1,5 mg/kg

diarios 48 y 24 horas antes del experimento.

(d) Seis cobayos recibieron Nialamida por vía intramuscular en dosis de 25 mg/kg 48 y 24 horas antes del experimento y 1 hora antes la misma dosis por vía intraperitoneal. En otros siete experimentos se administró Nialamida en la forma señalada anteriormente y Pirogalol, por vía intramuscular en la dosis de 20 mg/kg/día, 48, 24 horas y 1 hora antes del experimento en la misma dosis, por vía intraperitoneal.

(e) Cinco corazones fueron perfundidos desde el principio con una solución de Tyrode sin glucosa que contenía 200 μ g de 5-Hidroxi-triptamina (5HT) por litro.

En los corazones perfundidos con solución de Tyrode sin glucosa que constituyeron el grupo testigo se intentó la recuperación mediante estimulantes ganglionares como el DMPP, el McN-A-343, así como con 5HT. Después de establecida la fibrilación ventricular durante 5 minutos se intentó la recuperación agregando a la solución de perfusión las sustancias antes mencionadas. En 9 casos se empleó el DMPP en la concentración de 25 μ g/litro; en 4 casos McN-A 343 en la concentración de 200 μ g/litro y en 5 casos 5HT en la concentración de 400 μ g/litro.

RESULTADOS

Influencia de diversos fármacos sobre el tiempo de aparición de la fibrilación

Testigos. Treinta corazones aislados de cobayo perfundidos desde el comienzo con una solución de Tyrode sin glucosa constituyeron el grupo testigo. En estos experimentos (Tabla I) el tiempo medio de aparición de la fibrilación en los 30 casos fue de $84 \pm 4,9$ minutos; antes de los 180 minutos de perfusión todos los corazones habían llegado a la fibrilación ventricular.

Influencia del tratamiento previo con Guanetidina. Nueve cobayos fueron sometidos al tratamiento previo con Guanetidina. Como puede observarse en la Tabla I, 5 de los 9 casos se mantuvieron más de 180 minutos sin fibrilar. El promedio del tiempo que demoró la fibrilación, considerando en 180 minutos los que no fibrilaron fue de $162 \pm 9,8$ minutos que es significativamente más largo que el tiempo de aparición de la fibrilación observado en los testigos ($t = 7,15$; $P < 0,001$). Un ejemplo aparece en la Fig. 1. (En los 4 corazones que fibrilaron antes de los 180 minutos el tiempo medio de fibrilación fue de 137 minutos y el que lo hizo más precozmente fibriló a los 125 minutos).

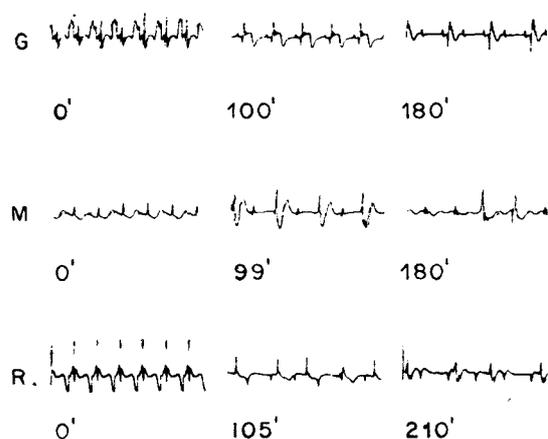


FIG. 1. Electrogramas en derivaciones bipolares aurícula derecha-ventrículo izquierdo de preparaciones de corazones aislados de cobayos perfundidos con solución de Tyrode sin glucosa. G, corresponde a un corazón de cobayo tratado previamente con Guanetidina; M, a un corazón de cobayo tratado previamente con α -metildopa y R, a un corazón de cobayo tratado previamente con Reserpina.

Influencia del tratamiento previo con α -metildopa. Cinco cobayos fueron tratados previamente durante tres días con α -metildopa. El tiempo medio de supervivencia fue mayor de 180 minutos, ya que ninguno de los casos fibriló hasta las 3 horas de observación ($t=19,6$; $P < 0,001$). Un ejemplo de este efecto aparece en la Fig. 1.

Influencia del tratamiento previo con Reserpina. Cinco cobayos se trataron pre-

viamente con reserpina. Como se observa en la Tabla I, en los 5 experimentos la Reserpina retardó significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular, no observándose ésta en ninguno de los casos hasta los 180 minutos ($t = 19,6$; $P < 0,001$). Un ejemplo de este efecto se observa en la Fig. 1.

Influencia de la perfusión con 5HT. En 6 experimentos se perfundió desde el comienzo solución de Tyrode sin glucosa que contenía 5HT en la concentración de 200 $\mu\text{g}/\text{lt}$. Como puede observarse en la Tabla I, la perfusión con 5HT retardó significativamente la aparición de fibrilación ventricular. (En los tres casos que fibrilaron antes de los 180 minutos el tiempo medio de aparición de la fibrilación fue de 152 minutos y el que fibriló más precozmente lo hizo a los 145 minutos).

Influencia del tratamiento previo en el animal de experimentación con Nialamida y Pirogalol. Seis animales recibieron previamente Nialamida. En esta serie experimental se observó gran dispersión de los resultados. El tiempo medio de la aparición de la fibrilación ventricular fue de $112,6 \pm 10,8$ minutos con un margen de variación de 55 minutos hasta más de 180 minutos. Por esta razón en una nueva serie experimental que aparece en la Tabla I, los animales se trataron simultáneamente con Nialamida y además Pi-

TABLA I

Efecto del tratamiento previo del cobayo con diversos fármacos y de la perfusión con 5HT sobre el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular, en el corazón aislado.

Condición	Número que no fibrilaron sobre el total a los 180 minutos	Tiempo (*) de supervivencia min	Estudio estadístico (**)	
			t	P
Testigo	0/30	$84 \pm 4,9$	—	—
Guanetidina	5/9	$162 \pm 9,8$	7,2	$< 0,001$
α -metildopa	5/5	$180 \pm 0,0$	19,6	$< 0,001$
Reserpina	5/5	$180 \pm 0,0$	19,6	$< 0,001$
Nialamida + Pirogalol	0/6	$45 \pm 4,1$	16,2	$< 0,001$
5-Hidroxitriptamina	3/6	$171 \pm 10,2$	7,5	$< 0,001$

(*) Media aritmética del tiempo transcurrido entre la iniciación de la perfusión y la aparición de la fibrilación \pm su error típico. Para el cálculo se ha considerado este tiempo como 180 minutos cuando no habían fibrilado en ese lapso.

(**) Comparado con grupo testigo.

rogalol, inhibidor de la O-metiltransferasa. En un total de 7 experimentos, el tiempo medio de fibrilación fue de $44,5 \pm 4,1$ minutos, tiempo que es significativamente menor que el de los testigos ($P < 0,001$). Hubo un caso, no incluido en la tabla, en el cual no se registró fibrilación ventricular sino detención ventricular con persistencia de la actividad eléctrica de la aurícula.

Influencia de fármacos sobre la recuperación de la fibrilación ventricular producida por falta de sustrato.

Efecto de DMPP. En 9 preparaciones de corazón aislado del grupo testigo que fueron perfundidas con solución de Tyrode sin glucosa y que llegaron a presentar fibrilación ventricular, se ensayó la recuperación mediante el DMPP, sustancia de carácter estimulante ganglionar y cuyo efecto estimulante en la preparación de corazón aislado ha sido señalado (15). El DMPP permitió restaurar rápidamente dentro de los 10 primeros minutos, un ritmo regular en 7 de los 9 casos estudiados. En los 2 casos restantes la recuperación fue más tardía (Tabla II). Un ejemplo de este efecto aparece en la Fig. 2.

Efecto de McN-A-343. En 4 casos se intentó la recuperación mediante McN-A-343. En 2 de los 4 casos se observó recuperación de la fibrilación que duró escasos minutos al cabo de los cuales la fibrilación volvió a instalarse.

Efecto de 5-Hidroxitriptamina. En 5 experimentos se intentó la recuperación de la fibrilación ventricular mediante

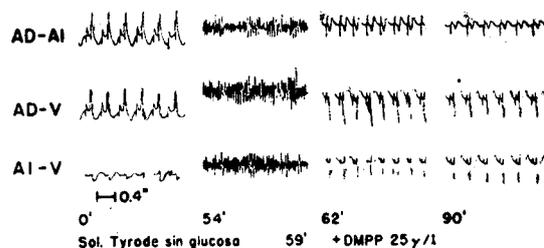


FIG. 2. Electrogramas en tres derivaciones bipolares simultáneas de una preparación de corazón aislado de cobayo. AD-AI: derivación aurícula derecha-aurícula izquierda. AD-V: derivación aurícula derecha-ventrículo izquierdo. AI-V: derivación aurícula izquierda-ventrículo izquierdo. Las cifras indican los tiempos de perfusión en minutos. Nótese que a los 59 minutos al agregar DMPP se produce recuperación inmediata de la fibrilación ventricular.

5HT en la concentración de 400 $\mu\text{g/l}$. En los 5 casos se observó la recuperación rápida de la fibrilación ventricular con una frecuencia ligeramente inferior a la inicial y similar a la que precedió a la fibrilación (Tabla II). Esta recuperación fue mantenida y acompañada de reaparición de la función contráctil. Un ejemplo de este efecto aparece en la Fig. 3.

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que el tratamiento previo del animal de experimentación con Reserpina, Guanetidina o α -metildopa, sustancias que por mecanismos diferentes ocasionan una disminución importante del almacenamiento de catecolaminas en las terminaciones del simpático, prolonga significativamente el tiempo de la aparición de la fibrilación ventricular en el corazón aislado de cobayo perfundido según Langendorff con solución de Tyrode sin glucosa.

TABLA II

Efectos del DMPP y la 5HT sobre la fibrilación ventricular en preparaciones de corazón aislado de cobayo.

Frecuencia ventricular (*) Inicial	Frecuencia ventricular (*) 10 minutos antes de fibrilar	Fármaco agregado	Recuperación	
			Número sobre el total	Frecuencia (*) ventricular
$172 \pm 10,0$	$169 \pm 11,9$	DMPP	9/9	$169 \pm 9,9$
$197 \pm 7,6$	$170 \pm 10,2$	5HT	5/5	$180 \pm 6,7$

(*) Media aritmética \pm su error típico.

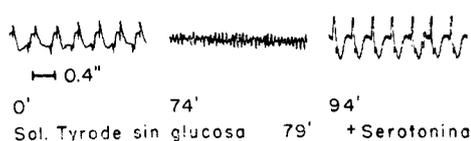


FIG. 3. Electrograma en derivación bipolar aurícula derecha ventrículo izquierdo de una preparación de corazón aislado de cobayo. Las cifras inferiores indican los tiempos de perfusión en minutos. A los 79 minutos se agregó Serotonina 400 $\mu\text{g}/\text{litro}$ a la solución de Tyrode sin glucosa.

Estos hechos aparecen concordantes con los trabajos que demuestran que la reserpina disminuye el automatismo ectópico y las arritmias provocadas por eufedrina, efedrina y acetil-estrofantidina, tanto en el animal entero como en el músculo papilar aislado (16, 17) y con los experimentos que demuestran que el tratamiento previo del animal de experimentación con reserpina y guanetidina aumenta significativamente la dosis letal de k-estrofantósido en el gato (18). Concuerdan además con la incapacidad de la Noradrenalina para recuperar la fibrilación ventricular inducida por falta de sustratos (5).

El tratamiento previo de cobayos con un inhibidor de la monoaminooxidasa, la nialamida, no modificó significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular. En cambio el bloqueo simultáneo de los dos mecanismos fundamentales de la degradación de la Noradrenalina, mediante la Nialamida y el Pirogalol, permitió reducir significativamente el tiempo de aparición de la fibrilación ventricular.

Estos hechos hacen pensar en que la Noradrenalina actuaría en forma sinérgica con la ausencia de sustrato, y concuerdan con el papel que se le ha atribuido a las catecolaminas en la producción de fibrilación ventricular y otras arritmias por aumento de automatismo (19).

La adición de 5HT a la solución de Tyrode sin glucosa produce prolongación significativa del tiempo de aparición de la fibrilación ventricular y por otra parte esta substancia determina recuperación del ritmo regular en la fibrilación ventricular ya producida. Estos hechos concuerdan con el efecto inótropro positivo que se ha descrito para esta substancia en preparaciones de corazón aislado (20) y en la prolongación de la supervivencia

y aun en "resucitación" de corazones aislados de gato referida por Sherrod (21). Es de interés señalar además el efecto preventivo de los trastornos del ritmo y la modificación, en un sentido favorable, de la ritmicidad del corazón.

No tenemos información con respecto al contenido de 5HT en el corazón de cobayo y a la influencia que sobre ella ejercen substancias como la reserpina y la α -metildopa que disminuyen el contenido de 5HT en el sistema nervioso central de los mamíferos (rev. en 12).

El DMPP, substancia estimulante ganglionar y de la médula suprarrenal, cuyos efectos estimulantes sobre la frecuencia y fuerza contráctil del corazón son bien conocidos (15), permitió la recuperación de la fibrilación ventricular. El mecanismo de acción de esta droga es discutido. Se sabe que su efecto estimulante cardiaco es debido en parte a la liberación de catecolaminas (13), pero algunos autores sostienen que esta droga produce también un efecto directo en el corazón (22), por esta razón la acción favorable sobre la fibrilación producida por falta de glucosa no parece ser debida a la liberación de catecolaminas. Por otra parte, el McN-A-343, que es también un estimulante ganglionar sin efectos sobre la función cronótropa e inótropro (14), no se manifestó capaz de recuperar en forma constante la fibrilación.

SUMMARY

In previous papers it has been reported that the perfusion of the isolated guinea pig heart with a substrate-free Tyrode solution induced a decrease in rate, ventricular premature contraction, A-V dissociation and finally ventricular fibrillation. The presence of glucose or butyrate prevented or reversed these rhythm disorders.

In this paper the influence of pretreatment of the guinea pig with drugs affecting catecholamine stores or with inhibitors of the inactivating systems of catecholamines, as well as the effect of 5-hydroxytryptamine and dimethyl-phenyl-piperazinium in the perfusion fluid were studied.

The pretreatment of the animals with drugs depleting the myocardial catecholamine stores (reserpine, guanethidine

and α -methyl-dopa) delayed significantly ($P < 0.001$) the appearance of ventricular fibrillation (Table I and Fig. 1), induced by the lack of glucose.

In contradistinction, the pretreatment of the animals with both nialamide and pirogallol, substances which block the two main pathways of Norepinephrine metabolism, shortened significantly the time for the appearance of ventricular fibrillation ($P < 0.001$) (Table I).

The addition of 5-hydroxytryptamine to the glucose-free Tyrode solution significantly delayed the appearance of ventricular fibrillation ($P < 0.001$) (Table I).

Ventricular fibrillation induced by perfusion with glucose-free Tyrode solution was reversed to ventricular rhythm (Table II) by the addition of DMPP (Fig. 2) or 5HT (Fig. 3).

These results show that the lack of glucose in the perfusing fluid and the presence of the myocardial catecholamines are synergistic conditions favoring the appearance of ventricular fibrillation. The findings point out the importance of the heart catecholamine stores on the ectopic rhythmicity and automaticity.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios Ciba Limited, la donación de reserpina (Serpasol[®]) y de guanetidina (Ismelin[®]), empleados en este trabajo, a Merck Sharp and Dohme, la donación de α -metildopa (Aldomet[®]), a Parke Davis la donación de DMPP, y al Laboratorio McNeil por la donación de McN-A-343.

REFERENCIAS

- 1.— PENNA, M., ILLANES, A. y RIVERA, J. — *Acta Physiol. Latinoamer.* 7:110, 1957.
- 2.— PENNA, M., ILLANES, A., RUIZ, J. y MARDONES, J. — *Acta Physiol. Latinoamer.* 9:66, 1959.
- 3.— ILLANES, A., PENNA, M., RUIZ, J. and QUIROGA, J. — XXI International Congress of Physiological Sciences. Abstracts of communications. Pag. 138, 1959. Buenos Aires.
- 4.— PENNA, M., ILLANES, A. and PUPKIN, M. — *Circ. Res.* 10:642, 1962.
- 5.— DEZEREGA, G. — Tesis de Químico-Farmacéutico. *Anales Fac. de Quím. y Farm.* 14:84, 1962.
- 6.— PAASONEN, M. K. and KRAYER, O. — *J. Pharmacol Exptl. Therap.* 123:153, 1958.
- 7.— KRAYER, O., ALPER, M. H. and PAASONEN, M. K. — *J. Pharm. Exptl. Therap.* 135:164, 1962.
- 8.— HARRISON, O. C., CHIDSEY, CH. A., GOLDMAN, R. and BRAUNDWALD, E. — *Circ. Res.* 12:256, 1963.
- 9.— AVIADO, D. — *Am. J. Med. Sci.* 241:650, 1961.
- 10.— STONE, C. A., ROSS, C. A., WENGER, H. C., LUDDEN, C. T., BLESSING, J. A., TOTARO, J. A. and PORTER, C. C. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 136:80, 1962.
- 11.— PORTER, C. C., TOTARO, J. A. and LEIBY, C. M. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 134:139, 1961.
- 12.— VOLLE, R. L. — *Ann. Rev. Pharm.* 3:143, 1963.
- 13.— LINDMAN, R. and MUSCHOLL, E. — *Arch. Exptl. Pathol. Pharm.* 242:214, 1963.
- 14.— ROSZKOWSKI, A. P. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 132:1956, 1961.
- 15.— CASTRO DE LA MATA, R., ARAMENDIA, P., MARTÍNEZ, L., DE LETONA, J. y AVIADO, D. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 135:156, 1962.
- 16.— CAIROLI, V., REILLY, J. and ROBERTS, J. — *Fed. Proc.* 20:122, 1961.
- 17.— ROBERTS, J., ITO, R., REILLY, J. and CAIROLI, V. — *Circ. Res.* 13:2, 149, 1963.
- 18.— ROVERE, A., PENNA, M. (por publicarse).
- 19.— DAWES, G. S. — *Pharmacol. Rev.* 4:43, 1952.
- 20.— ILIVICKY, J. — Tesis de Químico-Farmacéutico. *Ann. de la Fac. de Quím. y Farm.* 14:73, 1962, Stgo., Chile.
- 21.— SHERROD, T. — *Fed. Proc.* 14:386, 1955.
- 22.— SONCIN, E. y MAFFII, G. — *Arch. Int. Pharmacodyn.* 123:148, 1959.