

INFLUENCIA DE LA SIMPATECTOMIA Y DE MODIFICADORES DE CATECOLAMINAS SOBRE LA TOXICIDAD DEL K-ESTROFANTOSIDO (*)

Influence of chronic cardiac sympathectomy and drugs affecting myocardial catecholamines stores on K-strophanthoside toxicity

ALFREDO ROVERE (**) y MARIO PENNA

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

Recibido para su publicación el 9 de Octubre de 1964.

RESUMEN

Se estudió en gatos la influencia de la simpatectomía cervice-torácica crónica bilateral y del tratamiento previo con reserpina, guanetidina, α -metildopa o de nialamida más pirogalol sobre la dosis letal media de k-estrofantósido.

El tratamiento previo con reserpina o con guanetidina aumentó significativamente la dosis letal media de k-estrofantósido. En cambio, la simpatectomía o el tratamiento previo con α -metildopa o con nialamida más pirogalol no modificaron esta cifra.

Se sugiere que la disminución de catecolaminas del miocardio eleva la dosis letal de k-estrofantósido en el gato.

INTRODUCCIÓN

Roberts y Modell (1) demostraron que en el perro en que se provoca bloqueo A-V completo, las catecolaminas tienen mayor importancia para la mantención del automatismo rítmico del ventrículo que el de la aurícula. Los autores sugieren que las drogas que afectan la actividad ventricular pudieran ejercer sus efectos, al menos en parte, a través de la liberación de catecolaminas. Roberts *et al.* (2) demostraron que la uabaína produce habitualmente contracciones espontáneas en el músculo papilar del gato normal y que el tratamiento previo del animal con reserpina, en dosis suficientes para vaciar el corazón de catecolaminas, impide ese efecto. Por otra parte, en este Instituto (3) se ha demostrado que el tratamiento previo del animal de experimentación con drogas que vacían de catecolaminas las terminaciones del simpático,

retarda significativamente la aparición de la fibrilación ventricular producida por falta de sustrato en el corazón aislado de cobayo. Por el contrario, el bloqueo de los dos mecanismos enzimáticos principales de la inactivación metabólica de las catecolaminas, reduce significativamente el tiempo en que aparece esta fibrilación ventricular.

Es un hecho conocido que la toxicidad de los glucósidos cardíacos se traduce a nivel del corazón en arritmias ventriculares, bloqueo A-V y finalmente fibrilación ventricular.

Recientemente Erlj y Méndez (4) demostraron que en el perro el tratamiento previo con reserpina eleva significativamente la dosis letal media de digitoxina y de uabaína y que la simpatectomía crónica asociada a ligadura de la suprarrenal aumenta significativamente la dosis letal de digitoxina ($P < 0,05$) pero no modifica significativamente la dosis letal de uabaína ($P > 0,05$).

Por estas razones nos pareció de interés estudiar el efecto de otros agentes que modifican el contenido de catecolaminas en las terminaciones del simpático cardíaco, sobre la dosis letal de k-estrofantósido en el gato.

(*) Esta investigación fue financiada por la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Proyecto Nº 64-6) y por la Fundación Rockefeller (Grant Nº 63015) bajo un programa conjunto.

(**) Becado de la Universidad Nacional del Litoral, Rosario, Argentina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron gatos de ambos sexos cuyo peso fluctuó entre 1,8 y 3,5 kg. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/kg i. p.) y sometidos a respiración artificial con frecuencia de 24 por minuto y con un volumen tal que en el momento de colocar la respiración artificial no se observaran cambios de la presión arterial. En ellos se registró el ECG en segunda derivación y la presión arterial en la carótida derecha, mediante un transductor de presión Statham P23 AA conectado a un polígrafo Grass 5D. Antes de iniciar el experimento los animales recibieron heparina (5 mg/kg i. v.).

La inyección intravenosa lenta de k-estrofantósido se realizó mediante una bomba Harvard de inyección continua a velocidad constante (1 ml cada 20 minutos). La solución contenía 83 µg de k-estrofantósido por ml en solución salina isotónica (Estrofosid® Sandoz). Los animales murieron en un tiempo superior a 90 minutos. Esta forma de proceder, de acuerdo con lo señalado por Farah *et al.* (5) evita la influencia que el tiempo de inyección tiene sobre la dosis letal de los glucósidos cardíacos.

El animal se consideró muerto cuando la presión arterial bajó a cero y no se recuperó posteriormente, fenómeno asociado a fibrilación ventricular irreversible registrada en el ECG.

En un grupo de animales se resecaron quirúrgicamente ambos ganglios cervicales inferiores (estrellados) y la parte superior de la cadena torácica, en dos tiempos. La primera se realizó 21 días, y la del lado opuesto 14 días antes del experimento.

En otro grupo de gatos antes de realizar los experimentos se administraron las sustancias que se indican:

Reserpina (Serpasol® Ciba). Se inyectó 0,5 mg/kg de peso i. p. 48 y 24 horas antes del experimento. Para evitar los fenómenos secundarios derivados de la deshidratación, se administró solución salina isotónica en dosis de 30 ml/kg/día por vía subcutánea.

Guanetidina (Ismelin® Ciba). 15 mg/kg i. p. 48 y 24 horas antes del experimento.

α-metildopa (Aldomet®, Merck Sharp & Dohme). 25 mg/kg i. p. cada 12 horas (7 inyecciones), la última 1 hora antes del experimento.

Nialamida (Niamid® Pfizer). 25 mg/kg simultáneamente con pirogalol 20 mg/kg, 48 y 24 horas antes i. m. y 1 hora antes i. p.

RESULTADOS

En un grupo de 16 gatos testigos la frecuencia cardíaca inicial fue de $192 \pm 6,6$ por minuto. La respiración artificial no modificó la dosis de k-estrofantósido que provoca la muerte por fibrilación ventricular. En efecto, la dosis letal media (DLM) en 6 gatos sin respiración artifi-

TABLA I

Influencia de la simpatectomía cervico-torácica crónica y del tratamiento previo con diversas drogas sobre la dosis letal media (DLM) de k-estrofantósido.

Tratamiento	N	DLM (*) µg/kg
Testigos	16	170,7 ± 5,6
Reserpina	10	266,2 ± 17,2 (**)
Guanetidina	10	204,0 ± 11,0 (***)
α-metildopa	7	174,3 ± 12,4
Simpatectomía	8	174,6 ± 11,6
Nialamida + Pirogalol	5	168,4 ± 10,7

(*) Media aritmética ± error típico.

(**) P < 0,001 con respecto a los testigos.

(***) P < 0,015 con respecto a los testigos.

cial fue de $171,1 \pm 7,0$ µg/kg y en los 10 gatos sometidos a respiración artificial fue de $169,8 \pm 10,5$ µg/kg. Como estos valores son sensiblemente iguales, para la comparación con los grupos tratados los 16 gatos testigos se agruparon en conjunto, como se observa en la Tabla I.

En 10 gatos tratados previamente con reserpina la frecuencia cardíaca inicial fue significativamente menor que en los testigos (144 ± 6 por minuto; P < 0,001) y la DLM de k-estrofantósido fue significativamente mayor que en el grupo testigo.

En 10 gatos tratados previamente con guanetidina la frecuencia cardíaca fue significativamente menor que en el grupo testigo ($136 \pm 5,4$ por minuto; P < 0,001) y la DLM de k-estrofantósido fue significativamente mayor.

En 7 animales tratados previamente con α-metildopa la frecuencia cardíaca no fue significativamente diferente del grupo testigo y la DLM de k-estrofantósido no fue diferente de la de los testigos.

En 8 gatos a los cuales se practicó la simpatectomía en forma señalada, ni la frecuencia cardíaca ni la DLM de k-estrofantósido ($174,6 \pm 11,6$ µg/kg de peso) fueron significativamente diferentes del grupo testigo. En todos ellos ambas membranas nictitantes aparecían relajadas.

En 5 gatos que fueron tratados previamente con la asociación de nialamida más pirogalol, tanto la frecuencia cardíaca como la DLM de k-estrofantósido fueron similares a las del grupo testigo.

DISCUSIÓN

El tratamiento previo del animal de experimentación con reserpina en dosis suficientes para producir una disminución importante de catecolaminas en las terminaciones del simpático (6, 7, 8, 9 y 10) produjo un aumento significativo de la DLM de k-estrofantósido. Este aumento concuerda con lo demostrado recientemente por Erlij y Méndez (4), pero a diferencia de los señalado por estos investigadores, la muerte de los gatos estuvo siempre asociada a la presencia de fibrilación ventricular y no a la detención del corazón, que ellos observaron en la casi totalidad de los perros y en cerca de la mitad de los gatos. Esta diferencia podría ser debida a que ellos utilizaron dosis mayores de reserpina (3 mg/kg), a que la velocidad de inyección de los glucósidos fue más rápida que en nuestros experimentos y quizá a una fluctuación de especie o de grupo.

La guanetidina, sustancia que a través de un mecanismo diferente (Fawaz, 11) provoca una disminución del contenido de catecolaminas de las terminaciones del simpático, aumentó también significativamente la DLM de k-estrofantósido. Estos resultados concuerdan con la hipótesis de que el efecto antagonista que esta sustancia y la reserpina ejercen sobre la toxicidad de los glucósidos cardíacos puede ser atribuido a la disminución de catecolaminas y no a efectos directos de las drogas sobre el corazón, pues para conseguir tal efecto se necesitan dosis mayores que las utilizadas en estos experimentos (12, 13, 14).

Por otra parte, estos resultados concuerdan con los referidos por Vaughan Williams, quien utilizando Nethalide, sustancia que bloquea los receptores β del simpático, observó que esta droga provoca una disminución importante de la frecuencia cardíaca y disminuye considerablemente los efectos tóxicos de la uabaína (15, 16). En efecto, el Nethalide aumentó significativamente la dosis de uabaína que provoca extrasístoles ventriculares y la dosis letal y no se registró muerte por fibrilación ventricular, sino por detención. Estos resultados son aparentemente contradictorios con los obtenidos por nosotros con el tratamiento previo del animal de experimentación con otra sustancia simpaticopléjica, la α -metildopa, que inter-

fiere en la síntesis de noradrenalina, la cual no modificó significativamente la DLM de k-estrofantósido. Sin embargo, cabe hacer notar que Day y Rand (17) señalan que a partir de α -metildopa puede formarse α -metil-noradrenalina, que tiene aproximadamente 1/10 de la actividad de la noradrenalina. Por otra parte, Maitre y Staehelin (18) mostraron que en el cobayo la noradrenalina es reemplazada en el corazón por el derivado metilado correspondiente, cuando estos animales se someten al tratamiento con α -metildopa. Estos hechos hacen pensar que la presencia de α -metil-noradrenalina en el corazón sería suficiente para que se expresen los efectos tóxicos de los glucósidos cardíacos.

La simpatectomía cérvico-torácica crónica previa, procedimiento que también vacía de catecolaminas las terminaciones del simpático cardíaco (19, 20), no modificó significativamente la DLM de k-estrofantósido. Esto estaría de acuerdo con lo demostrado por Erlij y Méndez (4) para glucósidos de acción rápida como la uabaína, puesto que en perros la simpatectomía crónica asociada a la ligadura suprarrenal no aumentó significativamente la DLM de este glucósido ($P > 0,05$) pero sí la de digitoxina ($P < 0,05$). Por otra parte, la simpatectomía cardíaca crónica parece no tener efecto sobre el nivel de catecolaminas circulantes ni tampoco bloquea el efecto de éstas sobre el corazón, todo lo cual sugiere que la presencia de las catecolaminas circulantes sería suficiente para que las dosis tóxicas de glucósidos cardíacos pusieran en juego los mecanismos que conducen a la fibrilación ventricular. Por otra parte, no es imposible que algunas terminaciones simpáticas del corazón hayan escapado a la desnervación quirúrgica.

El tratamiento previo de los animales de experimentación con la asociación de nialamida más pirogalol, sustancias que bloquean los dos mecanismos más importantes de inactivación metabólica de las catecolaminas, la monoaminooxidasa y la catecol-O-metiltransferasa (21), no modificó en forma significativa la DLM de k-estrofantósido. Sin embargo, cabe hacer notar que paradójicamente la nialamida disminuye la cantidad de noradrenalina en el corazón del gato a diferencia de lo que hace en otras especies (22). Por otra parte, es muy posible que el tratamiento

previo con estos inhibidores no aumente la concentración de catecolaminas, pues existen otros mecanismos de inactivación, los que unidos a la fijación podrían evitar este aumento (23). Por lo demás, estos hechos concuerdan con lo observado por Penna, Linares y Cáceres (24) en el efecto cardio-estimulante transitorio que la hipoxia produce en el músculo papilar aislado del gato. En efecto, aún cuando esta acción cardio-estimulante depende con toda probabilidad de la liberación de catecolaminas, no aparece aumentada en las preparaciones provenientes de gatos tratados previamente con nialamida más pirogalol y, en cambio, aparece bloqueada por el tratamiento previo del animal con reserpina o con guanetidina.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los siguientes laboratorios el haberles proporcionado las drogas que se señalan: Sandoz, el k-estrofantósido (Estrofosid®); Ciba Limited, la Reserpina (Serpasol®) y la Guanetidina (Ismelin®); y Pfizer, la Nialamida (Niamid®).

SUMMARY

The influence of some factors acting on the myocardial catecholamines stores on the mean lethal dose (MLD) of k-strophanthoside was studied in cats.

K-strophanthoside was given by slow intravenous injection with a Harvard constant infusion pump. For the appreciation of the lethal dose the cats were considered dead when the blood pressure fell irreversibly to zero and the ECG showed persistent ventricular fibrillation.

In 16 control cats the MLD of k-strophanthoside was $170.7 \pm 56.6 \mu\text{g}/\text{kg}$. Artificial respiration did not show any influence on the MLD.

The previous treatment of cats with Reserpine (0,5 mg/kg i.p., 48 and 24 hours before the experiments) increased significantly the MLD of k-strophanthoside ($266.2 \pm 17.2 \mu\text{g}/\text{kg}$). Pretreatment with guanethidine (15 mg/kg, i.p. 48 and 24 hours before experiments) also increased the MLD of k-strophanthoside ($204 \pm 11 \mu\text{g}/\text{kg}$) Table I.

In contradistinction the previous treatment with α -methyl-dopa (50 mg/kg daily during 4 days) or the chronic cardiac sym-

pathectomy did not significantly change the MLD of k-strophanthoside.

In cats previously treated during 2 days with nialamide and pyrogallol simultaneously, the MLD of k-strophanthoside was of the same order as in the control group.

The results are consistent with the idea that the toxic activity of cardiac glycosides is enhanced by catecholamines present in the heart.

REFERENCIAS

- 1.—ROBERTS, J. y MODELL, W. — *Circulation Res.* 9:171, 1961.
- 2.—ROBERTS, J.; ITO, R.; REILLY, J. y CAIROLI, V. — *Circulation Res.* 13:149, 1963.
- 3.—LINARES, F.; AVENDAÑO, SONIA y PENNA, M. — *Arch. Biol. Med. Exper.* 1:135, 1964.
- 4.—ERLIJ, D. y MÉNDEZ, R. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 144:97, 1964.
- 5.—MARESH, G. y FARAH, A. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 90:304, 1947.
- 6.—BERTLER, A.; CARLSSON, A. y ROSENGREN, E. — *Naturwissenschaften* 43:521, 1956.
- 7.—KRAYER, O.; ALPER, M. H. y PAASONEN, M. K. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 135:164, 1962.
- 8.—BRAUNWALD, E.; ROSS, J.; KAHLER, H. L.; GAFFNEY, R. E.; GOLDBLATT, A. y MASON, D. T. — *Circulation Res.* 12:539, 1963.
- 9.—PAASONEN, M. K. y KRAYER, O. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 123:153, 1958.
- 10.—HARRISON, C. D.; CHIDSEY, CH. A.; GOLDMANN, R. y BARUNWALD, E. — *Circulation Res.* 7:256, 1963.
- 11.—FAWAZ, G. — *Ann. Rev. Pharmacol.* 3:69, 1963.
- 12.—ZAIMIS, E. — *Nature* 192:521, 1961.
- 13.—WITHRINGTON, P. y ZAIMIS, E. — *Brit. J. Pharmacol.* 17:380, 1961.
- 14.—NAYLER, W. G. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 139:222, 1962.
- 15.—VAUGHAM WILLIAMS, E. M. y SEKIYA, A. — *Lancet* 1:420, 1963.
- 16.—VAUGHAM WILLIAMS, E. M. — *Am. Heart J.* 66:569, 1963.
- 17.—DAY, J. H. y RAND, M. J. — *J. Pharm. Pharmacol.* 15:221, 1963.
- 18.—MAITRE, L. y STAEHELIN, M. — *Experientia* 19:573, 1963.
- 19.—BLOODWELL, R. D. y CROUT, J. R. — *Circulation Res.* 2:275, 1961.
- 20.—GOODALL, M. C. y KIRSCHNER, N. — *J. Clin. Invest.* 35:649, 1956.
- 21.—MUÑOZ, C. — *Acción de las catecolaminas en el S.N.C.*, Univ. de Chile, Santiago, Chile, 1963.
- 22.—GOLDBERG, M. D. y SHIDEMAN, F. E. — *J. Pharmacol. and Exptl. Therap.* 136:142, 1962.
- 23.—KOPIN, I. J. — *Pharmacol. Rev.* 16:179, 1964.
- 24.—PENNA, M.; LINARES, F. y CÁCERES, LAURA. — *Am. J. Physiol.* (En prensa).