

**COMPARACION DE LA SENSIBILIDAD A LOS EFECTOS TOXICOS
DE LA PROCAINA EN MACHOS Y HEMBRAS DE DIVERSAS
ESPECIES (*)**

Comparison of the sensitivity to the toxic effects of procaine in males and females of different species

CARLOS PAEILE, LUTSKE TAMPIER y CARLOS MUÑOZ

Instituto de Farmacología, Escuela de Medicina de la Universidad de Chile, Casilla 12967, Santiago, Chile.

Recibido para su publicación el 20 de Febrero de 1965.

RESUMEN

Se ha demostrado anteriormente que en ratas la dosis letal media (DLM) de procaína y la actividad procainesterásica del hígado son significativamente mayores en los machos que en las hembras. En el presente trabajo se comparó la DLM de procaína, administrada en inyección continua intraperitoneal, y la actividad procainesterásica del hígado en machos y hembras de tres especies, conejos, cobayos y ratones, estos últimos de dos linajes, el 21 M y el AS/W.

Los resultados mostraron que en conejos la DLM y la actividad procainesterásica del hígado fueron semejantes en machos y hembras; en cobayos no hubo diferencias significativas en la DLM pero sí en la hidrólisis hepática de la procaína que fue mayor en las hembras. En esta especie tanto la DLM como la actividad procainesterásica del hígado fueron más elevadas que en las otras especies estudiadas.

En ratones hubo discrepancias en los resultados obtenidos en los linajes utilizados. La DLM no fue diferente en machos y hembras 21 M, pero en cambio, la hidrólisis de la procaína en el hígado de las hembras fue significativamente mayor. En los ratones machos AS/W, la DLM de procaína fue mayor que en las hembras, mientras que la actividad procainesterásica del hígado fue significativamente más elevada en las hembras. La castración en ratones AS/W determinó una elevación acentuada de la DLM en las hembras y un descenso notable de la actividad procainesterásica del hígado en ambos sexos, alcanzando niveles que fueron cuantitativamente semejantes en machos y hembras.

INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores realizados en este Instituto se demostró que la dosis letal media de la procaína en ratas es significativamente mayor en los machos que en las hembras, y que esta diferencia se explica en parte debido a que en el hígado de las ratas machos la inactivación hidrolítica de la procaína es mayor que en las hembras (Muñoz *et al.*, 1; Paeile *et al.*, 2). Como se ha comprobado que muchas de las diferencias en los efectos de otros fár-

macos que han sido encontradas en ratas machos y hembras, no se observan en otras especies (3, 4, 5), nos pareció interesante estudiar si las diferencias en la dosis letal media de procaína inyectada por vía intraperitoneal y en la hidrólisis hepática de la procaína que han sido demostradas en ratas machos y hembras, se manifiestan también en otras especies. Con este objeto, en el presente trabajo se estudiaron ambos aspectos en machos y hembras de conejos, cobayos y ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron conejos adultos de ambos sexos cuyo peso fluctuó entre 1,7 y 2,4 kg y cobayos adultos de ambos sexos que pesaron en-

(*) Esta investigación fue financiada por la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Grant Nº 59.3) y por la Fundación Rockefeller (Grant Nº 63015) bajo un programa conjunto.

tre 450 y 800 g. Los animales de ambas especies fueron obtenidos en el comercio. Los ratones utilizados, adultos de ambos sexos cuyos pesos fluctuaron entre 18 y 28 g, pertenecían a los linajes AS/W y 21 M. En ratones AS/W se estudió el efecto de la gonadectomía, utilizando los animales 30 días después de la intervención.

La dosis letal media (DLM) de clorhidrato de procaína se determinó, en animales no anestesiados, mediante inyección continua intraperitoneal. La concentración de las soluciones así como la velocidad de inyección fueron calculadas de manera que se administraron en todos los animales de las especies empleadas, aproximadamente 2 mg de procaína por 100 g de peso y por minuto. Con este objeto se utilizó un aparato de inyección continua Harvard. Se registró simultáneamente el electrocardiograma en un polígrafo Grass modelo 5D. Para la determinación del momento de la muerte se eligió, como en trabajos anteriores (1, 2), la aparición de una brusca e intensa bradicardia que ocurre simultáneamente o precede en algunos segundos a la detención de la respiración.

Determinación de la actividad procaínesterásica del hígado.

La hidrólisis de la procaína en el hígado se determinó en homogeneizados preparados según la técnica de Ting y Coon (6) y la procaína y el ácido para-aminobenzoico fueron dosificados por el método espectrofotométrico descrito por Ting *et al.* (7).

RESULTADOS

DLM de procaína en conejos y cobayos.

Los resultados obtenidos en la determinación de la DLM de procaína en los grupos de machos y hembras de estas dos especies animales aparecen resumidos en la Tabla I. Como se puede apreciar, estas dosis no fueron significativamente diferentes en machos y hembras. Llama la

TABLA I

DLM de procaína administrada en inyección continua intraperitoneal en conejos y cobayos de ambos sexos.

Especie	Sexo	N	DLM procaína mg/kg (*)
Conejo	♂	11	1.175 ± 311
Conejo	♀	11	1.097 ± 279
Cobayo	♂	12	2.018 ± 264
Cobayo	♀	12	1.794 ± 103

(*) Media aritmética ± su error típico. El análisis estadístico de las diferencias entre machos y hembras mostró para conejos $P > 0,9$ y para cobayos $P > 0,4$.

TABLA II

DLM de procaína administrada en inyección continua intraperitoneal en ratones 21 M y AS/W.

Linaje	Sexo	N	DLM de procaína mg/kg (*)
21 M	♂	10	517 ± 10,7
21 M	♀	10	510 ± 33,8
AS/W	♂	17	432 ± 26,6
AS/W	♀	17	352 ± 21,4
AS/W	♂ castr.	12	433 ± 19,8
AS/W	♀ castr.	12	559 ± 21,2

(*) Media aritmética ± su error típico. El análisis estadístico de las diferencias entre machos y hembras mostró para ratones 21 M normales, $P > 0,8$; para ratones AS/W normales, $P < 0,05$, y para ratones AS/W castrados, $P < 0,001$.

atención que en estas especies, y en particular en cobayos, la DLM de procaína fue considerablemente más elevada que en las otras especies estudiadas.

DLM de procaína en ratones AS/W y 21 M.

Los valores obtenidos en el estudio de la DLM de procaína en los grupos de machos y hembras de estos dos linajes se han resumido en la Tabla II. En ella puede observarse que mientras en los ratones 21 M no hubo diferencia en la DLM de machos y hembras, en cambio en los ratones AS/W, la DLM de procaína fue significativamente mayor en los machos que en las hembras ($P < 0,05$). Con el objeto de precisar la influencia de la actividad gonadal en esta diferencia, se determinó la DLM de procaína en ratones AS/W castrados de ambos sexos. Los resultados demostraron que la DLM en los machos castrados fue semejante a la de los machos normales, pero en las hembras castradas se obtuvo un incremento importante de la DLM a valores que superaron significativamente ($P < 0,001$) la correspondiente a los machos.

Actividad hidrolítica de la procaína en el hígado.

Los valores de la hidrólisis hepática de la procaína en homogeneizados de hígado de las especies estudiadas, expresados en porcentaje de procaína hidrolizada, aparecen resumidos en la Tabla III. En ella

TABLA III

Actividad procainesterásica del hígado de machos y hembras de las diferentes especies estudiadas.

Especie	Sexo	N	Hidrólisis procaína (*) %	P (**)
Conejo	♂	6	25,5 ± 3,47	> 0,2
Conejo	♀	6	19,9 ± 2,63	
Cobayo	♂	6	78,6 ± 1,97	< 0,001
Cobayo	♀	6	88,8 ± 0,70	
Ratón 21 M	♂	10	23,4 ± 2,60	< 0,05
Ratón 21 M	♀	10	30,2 ± 1,70	
Ratón AS/W	♂	16	20,2 ± 2,20	< 0,01
Ratón AS/W	♀	16	37,5 ± 2,60	
Ratón AS/W castr.	♂	10	13,1 ± 1,80	> 0,2
Ratón AS/W castr.	♀	10	14,2 ± 0,40	

(*) Media aritmética ± su error típico.

(**) Entre machos y hembras de la misma especie.

puede observarse que en el conejo la hidrólisis de procaína no fue significativamente diferente en machos y hembras. En cambio, en el cobayo el porcentaje de hidrólisis de la procaína fue significativamente mayor en el hígado de las hembras que en el de los machos y que la cantidad hidrolizada en los 30 minutos de incubación fue, en ambos sexos, considerablemente mayor que en las otras especies estudiadas.

En ratones 21 M, la hidrólisis hepática de procaína fue significativamente mayor en las hembras que en los machos ($P < 0,05$). Una diferencia semejante pero más acentuada ($P < 0,01$) se encontró en ratones normales AS/W. Después de la castración, en ratones AS/W, la actividad procainesterásica del hígado disminuyó considerablemente y al mismo tiempo desapareció la diferencia en el porcentaje de hidrólisis de procaína entre machos y hembras (Tabla III).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran, por una parte, que las diferencias de sexo en la sensibilidad a los efectos tóxicos de la

procaína que han sido observadas en ratas (1, 2) no se observan en conejos, cobayos ni ratones 21 M y, por otra, que en machos y hembras de estas especies no hay siempre paralelismo entre la DLM de procaína y la actividad procainesterásica del hígado. En efecto, en conejos y cobayos no hubo diferencias significativas entre machos y hembras en la DLM de procaína; pero mientras en conejos el porcentaje de hidrólisis de esta droga en el hígado fue semejante en ambos sexos, en cobayos fue significativamente mayor en las hembras. En esta última especie llama la atención que la DLM fue muy elevada, vecina de 2 g/kg, considerablemente más alta que en los restantes grupos. Nuestros experimentos no permiten explicar este resultado, pero es interesante destacar que en el cobayo el porcentaje de hidrólisis de la procaína por homogeneizados de hígado fue dos o tres veces mayor que en las otras especies.

Al comparar los resultados obtenidos en dos diferentes linajes de ratones se observan diferencias apreciables, lo cual concuerda con las variaciones comunicadas por Cheymol *et al.* (8) en la DL₅₀ de procaína en ratones de diversos linajes. En nuestros experimentos la DLM de procaína fue semejante en machos y hembras 21 M, mientras en los machos AS/W fue significativamente mayor que en las hembras respectivas. La actividad procainesterásica del hígado de ambas especies mostró diferencias entre los sexos que no concuerdan con las dosis letales medias respectivas. En efecto, el porcentaje de hidrólisis de procaína en el hígado fue significativamente mayor en las hembras que en los machos de este linaje, y una diferencia semejante, pero más acentuada, se observó en los ratones AS/W. Esta falta de correlación entre DLM y actividad procainesterásica del hígado en ratones inclina a pensar que o bien en esta especie animal el mecanismo de inactivación de la procaína es diferente al de la rata, o que la principal inactivación de la procaína en los ratones no ocurra en el hígado sino en otros órganos o tejidos. En apoyo de esta última interpretación está la observación hecha por Hazard *et al.* (9) que la actividad procainesterásica del plasma es muy elevada en el ratón. En todo caso, parece evidente la participación de las gónadas, y en especial del ovario, en estas diferencias, puesto que si bien los

ratones AS/W castrados de ambos sexos mostraron una disminución considerable de la actividad procainesterásica del hígado, en cambio la DLM sólo experimentó una elevación significativa en las hembras castradas y no en los machos, en relación con los testigos normales respectivos. La explicación de estos hechos discordantes necesita ser objeto de investigaciones posteriores.

Nuestros resultados confirman que las diferencias en la reactividad a los efectos de algunos fármacos de un sexo a otro presentan características y posiblemente mecanismos propios en cada especie.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto de Biología "Juan Noé" el habernos proporcionado los ratones 21 M utilizados en estos experimentos.

SUMMARY

Male rats have been shown to exhibit a significantly higher lethal dose (MLD) of procaine as well as higher liver procainesterase activity as compared with females (1, 2). In the present paper a comparison of the MLD of procaine and of the liver enzymatic hydrolysis of procaine between males and females of three different species was performed. Rabbits, guinea pigs and two strains of mice (21 M and AS/W) were used. The MLD of procaine hydrochloride was determined by continuous i.p. administration to unanesthetized animals at an approximate rate of 2 mg of the drug per 100 g body weight per minute.

No significant sex differences both in the MLD and in procainesterase activity of the liver was found in rabbits (Tables I and III). The MLD of procaine was similar in male and female guinea pigs, but females exhibited a significantly higher procainesterase activity of the liver

(Tables I and III). The values for the MLD and procainesterase activity of the liver of guinea pigs appeared considerably larger than those of the other species studied.

Mice of the 21 M strain did not exhibit sex difference in the MLD of procaine but the hydrolysis of the drug was significantly higher in the liver of females (Tables II and III). The MLD of procaine was higher in males than in females of the AS/W strain, however the procainesterase activity of the liver was significantly higher in females of this strain (Tables II and III).

Gonadectomy in mice of the AS/W strain induced a marked increase in the MLD of procaine in females as well as a considerable decrease in liver procainesterase activity in both sexes, so that the difference observed in males and females mice of this strain in liver procaine hydrolysis disappeared (Tables II and III).

REFERENCIAS

- 1.—MUÑOZ, C., GUERRERO, S., PAEILE, C. y CAMPOS, I. — *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 3:445, 1961.
- 2.—PAEILE, C., GUERRERO, S., CAMPOS, I., MUÑOZ, E., NOVOA, L. y MUÑOZ, C. — *Arch. Biol. Med. Exper.* 1:152, 1964.
- 3.—AXELROD, J. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 117:322, 1956.
- 4.—KATO, R., CHIESARA, E. y VASSANELLI, P. — *Med. exp.* 4:387, 1961.
- 5.—BRODIE, B. B. — En "Absorption and Distribution of Drugs". Binns, T. B., Ed., Edimburgh, E. & S. Livingston Ltd., 1964, p. 222.
- 6.—TING, K. S. y COON, J. M. — *Curr. Res. Anesth.* 29:263, 1950.
- 7.—TING, K. S., COON, J. M. y CONWAY, A. C. — *J. Lab. Clin. Med.* 34:822, 1949.
- 8.—CHEYMOL, J., SABOURDY, M., BEAUVALLET, M., PORTET, R. y TUFFRAU, H. — *Thérapie* 19:323, 1964.
- 9.—HAZARD, L., LARNO-VACHERON, S. y RODALLEC, A. — *Compt. rend. soc. biol.* 158: 1012, 1964.