

Atenolol y bloqueo adrenérgico β : un estudio cinético y dinámico en ratas

CHRISTIAN HÖCHT, JAVIER A. W. OPEZZO, ARANZAZU HERNANDEZ ANDRES¹, GUILLERMO F. BRAMUGLIA, CARLOS A. TAIRA²

RESUMEN

Se efectuó un estudio cinético y dinámico del antihipertensivo atenolol (3 mg/kg^{-1} [por vía endovenosa [EV]] en ratas vagotomizadas y su efecto en el hipotálamo posterior de ratas vagotomizadas con coartación aórtica (CoA) utilizando la técnica de perfusión por microdialísis. Se utilizaron ratas Wistar (250-350 g) vagotomizadas y vagotomizadas con CoA anestesiadas con cloralosa-uretano. Para el estudio cinético-dinámico se insertó en la arteria carótida una sonda de microdialísis de tipo *shunt* y en los dializados se determinó atenolol mediante HPLC-fluorometría. Para los estudios en el hipotálamo posterior se insertó una sonda concéntrica. En todos los casos se midieron los cambios de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca. Los dializados arteriales mostraron que, en las ratas vagotomizadas, el atenolol sigue una cinética bicompartimental. En los dializados de hipotálamo posterior de estos animales se observó una acumulación de este fármaco. El principal efecto dinámico fue la caída de la frecuencia cardíaca del 15%. La perfusión intrahipotalámica de una solución de $2 \mu\text{g/ml}$ de atenolol produjo en las ratas vagotomizadas con coartación aórtica un descenso de la presión arterial media ($25,3 \pm 5,8 \text{ mm Hg}$, $n = 6$, $p < 0,05$), efecto que no se observó en el grupo control. Al mismo tiempo no se registraron cambios significativos de la frecuencia cardíaca en ambos grupos. Se concluye entonces que el bloqueante beta atenolol sigue un modelo bicompartimental en las ratas control y en el modelo experimental con coartación aórtica. Asimismo, se observó que este fármaco alcanza rápidamente el sistema nervioso central. Finalmente, el efecto observado por la perfusión intrahipotalámica en las ratas CoA indicaría un compromiso betaadrenérgico en este modelo experimental. REV ARGENT CARDIOL 2001; 69: 300-307.

Palabras clave Coartación aórtica - Atenolol - Hipotálamo posterior - Microdialísis - Farmacocinética - Farmacodinamia

INTRODUCCION

Para estudiar los cambios fisiopatológicos y farmacológicos inducidos experimentalmente en los modelos de hipertensión experimental, el seguimiento de los niveles de neurotransmisores, fármacos y metabolitos mediante la técnica de perfusión por microdialísis *in vivo* ofrece la posibilidad de evaluar en función del tiempo y en un mismo animal, la respuesta del organismo hipertenso a los distintos tratamientos farmacológicos. (1) Al permitir la toma de

múltiples muestras de concentraciones de fármacos o sustancias endógenas de diferentes tejidos como el sistema nervioso central y la sangre arterial, (2) es útil para el estudio de la farmacocinética de los fármacos. También, por medio de la retrodialísis, se pueden perfundir distintos núcleos del sistema nervioso central con sustancias endógenas o fármacos y evaluar el compromiso de los diferentes sistemas neuronales centrales. (3)

En nuestro laboratorio, con la aplicación de la téc-

Este trabajo fue financiado por subsidios de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires y del Fondo Nacional de Ciencia y Técnica (FONCYT) de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Argentina
Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina

¹ Becaria estudiantil del Programa de Cooperación Interuniversitaria E.A.I. 2000, Agencia Española de Cooperación Internacional

² Miembro de la Carrera de Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina
Trabajo recibido para su publicación: 17/4/01. Aceptado: 30/4/01

Dirección para separatas: Christian Höcht, Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, C1113AAD, Buenos Aires, Argentina - Tel: +(54-11)-4964-8265 - Fax: +(54-11)-4508-3645 - E-mail: chocht@ffyb.uba.ar

nica de microdiálisis, observamos cambios en los parámetros cinéticos del antihipertensivo metildopa en ratas con coartación de la aorta abdominal, sugiriendo pues alteraciones en los mecanismos de eliminación de la droga ante este estado fisiopatológico experimental. (4)

En este modelo de hipertensión experimental habría un compromiso de los mecanismos reguladores de la presión arterial, como el barorreflejo, el sistema renina-angiotensina y la vasopresina, así como cambios estructurales de los distintos vasos y el corazón. (5-10) Por lo tanto, encontramos aquí que el compromiso de los mecanismos reguladores no sería entonces el único factor que altere la respuesta a fármacos.

Dentro del arsenal farmacológico, los bloqueantes beta constituyen uno de los grupos básicos en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. El mecanismo de acción antihipertensivo de los bloqueantes beta no está claramente dilucidado, posiblemente por la variedad en los perfiles farmacodinámicos y farmacocinéticos de estas drogas.

Dentro de este grupo encontramos el atenolol, un bloqueante beta cardioselectivo, utilizado en el tratamiento de varias patologías cardiovasculares, entre ellas la hipertensión arterial. El atenolol tiene como características farmacocinéticas una baja unión a proteínas plasmáticas, (1) una escasa distribución en el sistema nervioso central (12) y una eliminación principalmente renal. (13) Además, es de naturaleza hidrofílica, por lo que en consecuencia su acción es supuestamente periférica.

Dado que no habría información disponible en cuanto a la farmacocinética de drogas en animales hipertensos, el propósito de este trabajo fue el de estudiar posibles alteraciones en la farmacocinética y en la farmacodinamia del atenolol en ratas con coartación aórtica. Por otro lado, se pretende establecer un posible compromiso betaadrenérgico central en la hipertensión arterial por coartación de la arteria abdominal en ratas.

MATERIAL Y METODO

Procedimiento experimental

Se utilizaron ratas Wistar macho (250-350 g). La coartación aórtica se realizó según el método descrito por Rojo-Ortega y Genest (14) en ratas anestesiadas con hidrato de cloral (250 mg/kg⁻¹; i.p.). La técnica consiste en la ligadura de la arteria aorta entre las dos arterias renales. A las ratas controles se les practicó una operación simulada (OS). A los siete días de la operación correspondiente se realizaron los experimentos bajo anestesia con una mezcla de cloralosa (50 mg/kg⁻¹; i.p.) y uretano (500 mg/kg⁻¹; i.p.).

Estudio de los efectos cardiovasculares y de la farmacocinética del atenolol luego de su administración endovenosa

En el día del experimento se practicó una vagotomía bilateral para el estudio de la acción betabloqueante sobre la frecuencia cardíaca. Además se canuló una vena femoral para la administración endovenosa de una solución isotónica de atenolol en una dosis de 3 mg/kg⁻¹. Para estudiar el curso temporal de las concentraciones plasmáticas de atenolol se utilizó una sonda de microdiálisis tipo *shunt* con una entrada y dos salidas vasculares. (15) La entrada y una salida vascular de la sonda heparinizada (50 U/ml⁻¹) se insertaron en la arteria carótida izquierda mientras que la salida remanente se conectó a un transductor de presión Statham Gould P23ID acoplado a un polígrafo Grass 79D. La presión arterial media (PAM) se calculó según la fórmula: presión diastólica + (presión sistólica - presión diastólica)/3. La frecuencia cardíaca (FC) se calculó mediante tacógrafo por conteo de las ondas pulsátiles de presión arterial.

Luego se insertó una sonda de microdiálisis concéntrica en el hipotálamo posterior (A/P -3,8 mm, L/M -0,4 mm, V/D 9,5 mm, desde el bregma) (16) utilizando un estereotáxico.

Ambas ondas de microdiálisis se perfundieron con una solución compuesta de 147 mM NaCl, 2,4 mM CaCl₂, 4 mM KCl, pH 7,3, mediante bombas de perfusión. La sonda vascular fue perfundida a un flujo de 2 μ l/min⁻¹ y se recolectaron muestras cada 15 minutos. La sonda concéntrica fue perfundida a un flujo de 1 μ l/min y se recolectaron muestras cada 30 minutos. Se dejó equilibrar la sonda de microdiálisis concéntrica durante una hora después de la inserción. La posición de la sonda de microdiálisis concéntrica se verificó luego de los experimentos mediante estudios histológicos.

Estudio de los efectos cardiovasculares de la perfusión intrahipotalámica de atenolol

El día del experimento se practicó una vagotomía bilateral. Se canuló una arteria carótida y se conectó a un transductor de presión Statham Gould P23ID acoplado a un polígrafo Grass 79D para la medición de la presión arterial. Se insertó una cánula de microdiálisis concéntrica en el hipotálamo posterior. Antes de la perfusión se determinó la presión arterial media basal durante 30 minutos. Luego se perfundió la sonda de microdiálisis con una solución de atenolol de 2 μ g/ml⁻¹ a una velocidad de 1 μ l/min⁻¹ durante una hora y media. La concentración de atenolol en la solución de perfusión se calculó tomando como base las concentraciones obtenidas en los dializados de hipotálamo posterior luego de la administración de atenolol (3 mg/kg⁻¹, EV) y te-

niendo en cuenta los valores de recuperación de la sonda obtenidos a partir de la validación *in vivo* de la sonda de microdiálisis concéntrica.

Técnica analítica

Los niveles de atenolol se determinaron por cromatografía líquida de alta presión acoplada a detección fluorométrica utilizando una columna Phenomenex Luna 5- μ m, C18, 250 x 4,60 mm y un detector fluorométrico. La longitud de onda de excitación utilizada fue de 228 nm y la longitud de onda de emisión fue de 382 nm. La composición de la fase móvil utilizada fue: agua destilada-acetonitrilo-trietanolamina (15:83:1,2). La fase móvil se llevó a pH 3 con ácido fosfórico.

Análisis farmacocinético

El análisis farmacocinético se realizó utilizando un programa de regresión de cuadrados mínimos no lineal (TOPFIT, versión 2,0, Dr. Karl Thomae GmbH, Schering AG, Gödecke AG, Germany). Se estudiaron las concentraciones de atenolol en el dializado de sangre arterial (C_d) en función del tiempo luego de la administración endovenosa de atenolol 3 mg/kg⁻¹.

La estimación de la constante de distribución del atenolol de los dializados arteriales [$\alpha(d)$] y de la constante de eliminación de atenolol de los dializados arteriales [$\beta(d)$] se obtuvo ajustando los datos a un modelo cinético bicompartimental según la siguiente ecuación:

$$C_{dt} = A \cdot e^{-\alpha(d) \cdot t} + B \cdot e^{-\beta(d) \cdot t}$$

en donde C_{dt} es la concentración de atenolol en dializados de sangre arterial a tiempo 't', A y B son coeficientes, $\alpha(d)$ es la constante de distribución de atenolol de los dializados y $\beta(d)$ es la constante de eliminación final de atenolol de los dializados.

Los parámetros farmacocinéticos se estimaron a partir de los datos experimentales obtenidos a tiempo 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165 y 180 minutos.

El área bajo la curva (AUC) de atenolol en dializados de sangre arterial se calculó usando el método de los trapecios y se extrapoló a tiempo infinito de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$AUC_{t(1) \rightarrow t(n)} = \sum_{i=1}^n C_d(i) \cdot \Delta t(i)$$

$$AUC_{t(n) \rightarrow (\infty)} = C_t(n) / \beta(d)$$

en donde $C_t(n)$ representa la concentración de atenolol en la última muestra de dializado.

El aclaramiento del fármaco (Cl) se calculó mediante métodos estandarizados, (17) donde $Cl = \text{dosis} / AUC$.

Estadística

Los datos se expresaron como media \pm error estándar de la media. Las comparaciones entre medias se realizaron mediante la prueba de la "t" de Student. (18) En el caso de comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Bonferroni, previa aplicación del análisis de la varianza de medidas repetidas. (18)

RESULTADOS

En ratas anestesiadas, los basales de PAM y de FC obtenidos mediante el uso de la sonda de microdiálisis *shunt* fueron de $57,4 \pm 1,4$ mm Hg y de 342 ± 12 lpm (n = 16) en las OS y de $81,2 \pm 3,9$ mm Hg (p < 0,05) y 365 ± 12 lpm (n = 16) en las CoA.

Estudio farmacocinético de atenolol

La Figura 1 muestra el curso temporal de las concentraciones de atenolol en los dializados de sangre arterial de los grupos de ratas OS (n = 6) y CoA (n = 6) luego de la administración endovenosa de 3 mg/kg⁻¹ del fármaco.

Los datos de las concentraciones de atenolol en dializados plasmáticos se ajustaron a un modelo cinético bicompartimental. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de los dializados de sangre arterial en ratas con operación simulada y en ratas con coartación aórtica se muestran en la Tabla 1.

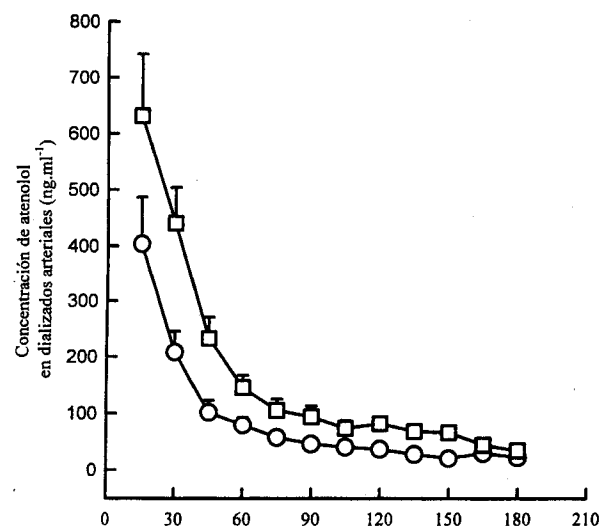


Fig. 1. Concentración de atenolol en los dializados arteriales obtenidos de ratas con operación simulada (círculos) y en animales con coartación aórtica (cuadrados) luego de la administración intravenosa de 3 mg/kg⁻¹ de atenolol. Cada punto representa la media \pm EEM de seis animales.

Tabla 1
Parámetros farmacocinéticos de atenolol obtenidos a partir de dializados de sangre arterial

	Ratas OS	Ratas CoA
α (h^{-1})	$3,74 \pm 0,62$	$3,68 \pm 0,50$
β (h^{-1})	$0,55 \pm 0,08$	$0,41 \pm 0,08$
Cl (ml/min^{-1})	379 ± 25	$722 \pm 111^*$
AUC ($\mu g/ml^{-1} \cdot h^{-1}$)	133 ± 10	$76 \pm 12^*$

* $p < 0,05$ versus ratas OS.

α (constante de distribución de atenolol en los dializados), β (constante de eliminación de atenolol en los dializados), Cl (aclaramiento), AUC (área bajo la curva) en ratas con operación simulada y animales con coartación aórtica luego de la administración de 3 mg/kg^{-1} de atenolol por vía endovenosa.

Los datos se expresan como media \pm EEM de seis animales.

El aclaramiento del atenolol de los dializados de sangre arterial fue significativamente menor en el grupo de ratas con coartación aórtica respecto de las ratas con operación simulada. También se observa que el área bajo la curva fue significativamente mayor en las ratas CoA.

Los niveles de atenolol en los dializados de hipotálamo posterior mostraron que el fármaco se distribuye rápidamente en el sistema nervioso central de ambos grupos (Figura 2). Se observa una concentración máxima de atenolol en los dializados hipotalámicos de $13 \pm 5 \text{ ng/ml}^{-1}$ en las ratas con OS y de $11 \pm 4 \text{ ng/ml}^{-1}$ en las ratas con CoA a los 30 minutos de administrado el fármaco. También se observa una caída gradual de las concentraciones de atenolol en

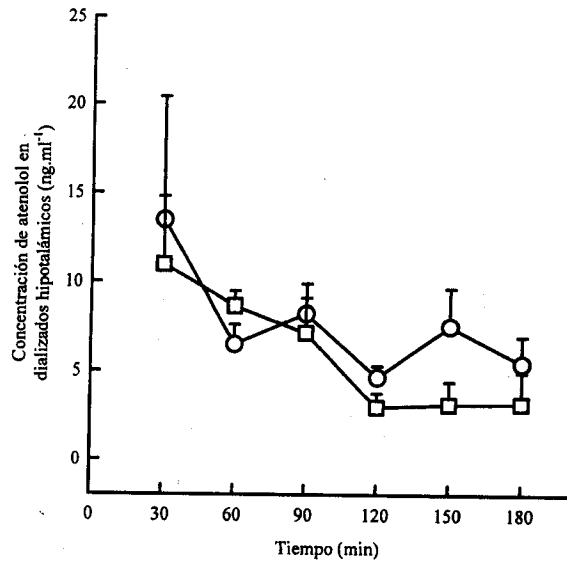


Fig. 2. Concentración de atenolol en dializados de hipotálamo posterior de ratas con operación simulada (círculos) y en ratas con coartación aórtica (cuadrados) luego de la administración EV de atenolol (3 mg/kg^{-1}). Cada punto representa la media \pm EEM de seis ratas.

los dializados sin que se observen diferencias entre ambos grupos experimentales.

Efectos cardiovasculares de la administración endovenosa de atenolol

En las ratas anestesiadas vagotomizadas utilizadas para el estudio cinético-dinámico del atenolol

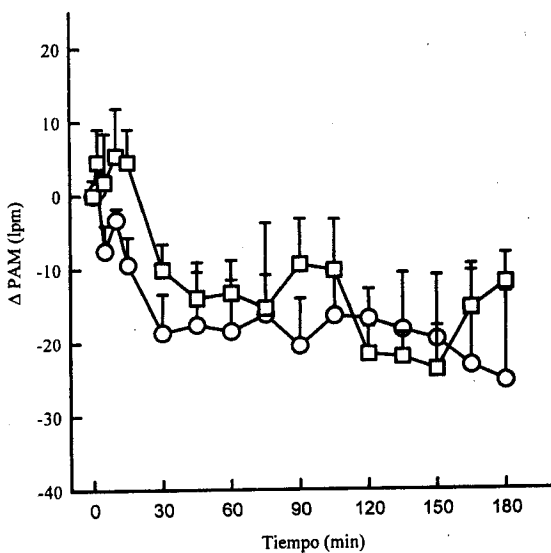


Fig. 3. Curso temporal de los cambios de presión arterial media (ΔPAM) luego de la administración endovenosa de atenolol (3 mg/kg^{-1}) en ratas con operación simulada (círculos) y en animales con coartación aórtica (cuadrados). Cada punto representa la media \pm EEM de seis animales.

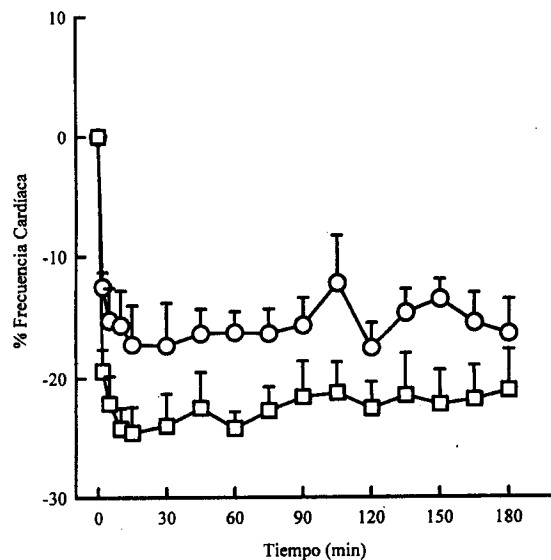


Fig. 4. Curso temporal de los cambios de frecuencia cardíaca (% de frecuencia cardíaca) luego de la administración endovenosa de atenolol (3 mg/kg^{-1}) en ratas con operación simulada (círculos) y en animales con coartación aórtica (cuadrados). Cada punto representa la media \pm EEM de seis animales.

por administración endovenosa, los basales de PAM y de FC fueron 57 ± 5 mm Hg y 404 ± 23 lpm en las ratas OS ($n = 6$) y de 76 ± 7 mm Hg ($p < 0,05$ versus ratas OS) y 415 ± 9 lpm en el grupo CoA ($n = 6$). La Figura 3 muestra el curso temporal de los cambios de PAM luego de la administración de una dosis única de atenolol (3 mg/kg^{-1} , EV) en ratas OS y en animales CoA. El atenolol redujo la PAM de ambos grupos experimentales de animales sin que se observaran diferencias significativas entre ambos grupos experimentales. En las ratas OS anestesiadas ($n = 6$) la caída máxima de la PAM fue de 25 ± 8 mm Hg y en las ratas con CoA ($n = 6$) fue de 24 ± 6 mm Hg.

Se estudió el cambio de la frecuencia cardíaca ocasionado por la administración endovenosa de atenolol (3 mg/kg^{-1}) en función del tiempo en ratas OS y en las ratas CoA (Figura 4). El cambio de frecuencia cardíaca se expresó como porcentaje de la frecuencia cardíaca basal determinada durante los 30 minutos anteriores a la administración del fármaco. Se observó una rápida caída de la FC basal para ambos grupos experimentales, observándose el efecto máximo a los 15 minutos en ambos grupos. Mientras que la caída máxima de la FC en las ratas coartadas fue de $24,6 \pm 2,1\%$, en las ratas control fue de $17,2 \pm 3,2\%$, sin que se observara diferencia significativa entre ambos grupos experimentales. Además, el efecto bradicardizante del atenolol se mantuvo durante todo el experimento tanto en las ratas control como en las ratas coartadas.

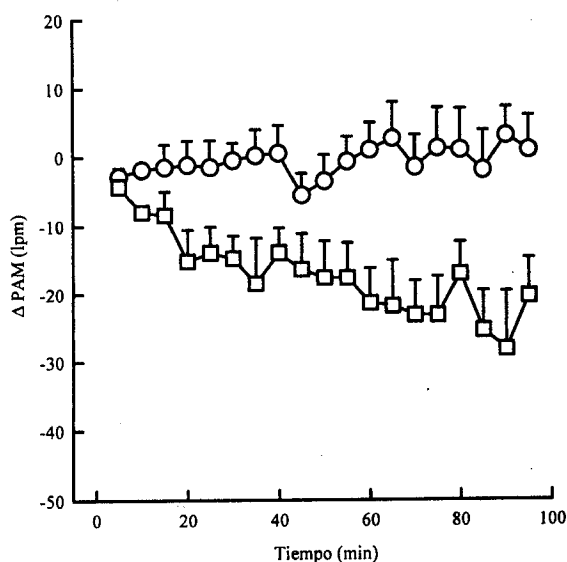


Fig. 5. Curso temporal de los cambios de presión arterial media (Δ PAM) durante la perfusión intrahipotalámica de atenolol ($2 \mu\text{g/ml}^{-1}$) en ratas con operación simulada (círculos) y en animales con coartación aórtica (cuadrados). Cada punto representa la media \pm EEM de seis animales.

Efectos cardiovasculares de perfusión intrahipotalámica de atenolol

En las ratas anestesiadas vagotomizadas utilizadas para el estudio de los efectos cardiovasculares de atenolol por perfusión intrahipotalámica, los basales de PAM y de FC fueron de 82 ± 3 mm Hg y 410 ± 15 lpm en el grupo control ($n = 6$) y de 104 ± 8 mm Hg ($p < 0,05$ versus ratas OS) y 417 ± 8 lpm en las ratas CoA.

La Figura 5 muestra el curso temporal de los cambios de PAM durante la perfusión intrahipotalámica de atenolol ($2 \mu\text{g/ml}^{-1}$) en ratas con operación simulada y en animales con coartación aórtica. El atenolol redujo la PAM en el grupo de ratas coartadas, observándose un descenso máximo de 28 ± 8 mm Hg ($p < 0,05$ versus basal) a los 90 minutos de perfusión. En las ratas OS no se observó un cambio significativo de la PAM durante todo el experimento. Por otra parte, no hubo cambios significativos de la FC en ambos grupos de animales (datos no mostrados).

DISCUSION

El modelo experimental de hipertensión arterial por coartación de la aorta abdominal ofrece variadas características, entre las cuales puede destacarse que el estado hipertensivo se origina luego de haber ocluido la luz de la arteria aorta. Podría afirmarse entonces que una alteración en el árbol vascular ocasiona dicho estado hipertensivo y que éste se origina entonces fuera del sistema nervioso central. Sin embargo, la participación del sistema nervioso central no sería del todo clara en el desarrollo y el mantenimiento de dicho estado. Por otra parte, el estado hipertensivo se atribuye principalmente a la activación del sistema renina-angiotensina, a la vasopresina y a la homeostasis del sodio. (8, 20-22) Se encontró que en este cuadro hipertensivo también habría un compromiso del mecanismo barorreflejo cardiovascular de regulación central. (20-22)

En nuestro laboratorio se estudiaron los efectos de la metildopa en el modelo experimental de hipertensión arterial por coartación de la aorta abdominal. La metildopa es una droga antihipertensiva de acción central y si bien, como ya se mencionó, la participación del sistema nervioso central en el desarrollo y el mantenimiento de dicho estado hipertensivo en el modelo de coartación aórtica no está suficientemente esclarecida, nuestros trabajos demostraron que en este modelo se producían alteraciones dinámicas y también cinéticas.

Surgió entonces el interés por estudiar si también se producían modificaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas en una droga antihipertensiva como el atenolol, cuyas acciones como agente antihipertensivo serían principalmente periféricas, a diferencia de la metildopa, y su acceso al sistema nervioso

central se suponía escaso. El atenolol tiene como características farmacocinéticas una baja unión a proteínas plasmáticas, (11) una pobre distribución en el sistema nervioso central, (12) una eliminación principalmente renal (13) y además es de naturaleza hidrofílica. Por otra parte, el mecanismo de acción antihipertensivo de los betabloqueantes no está dilucidado claramente, tal vez por la variedad en los perfiles farmacodinámicos y farmacocinéticos de estas drogas.

Aplicando la técnica de microdiálisis, en nuestro laboratorio observamos cambios en los parámetros cinéticos del antihipertensivo metildopa en las ratas con coartación de la aorta abdominal, sugiriendo pues alteraciones en los mecanismos de eliminación de la droga ante el estado fisiopatológico experimental. (4) Algunos autores encontraron que la coartación aórtica provoca alteraciones en la farmacocinética de algunos fármacos. Griffeth y colaboradores, (23) utilizando hexobarbital y zoxazolamina como modelos de drogas oxidadas por el citocromo P-450, hallaron una disminución de los niveles de citocromo P-450 y una inducción relativa de la actividad del citocromo P-448. Otros autores a su vez observaron diferencias en el mecanismo de conjugación luego de la coartación aórtica infrarrenal. (24) Por otro lado, no se encontraron datos bibliográficos que demuestren una alteración en la eliminación renal de fármacos provocada por la coartación de la aorta abdominal.

Mediante el uso de programas de regresión no lineal se pudo determinar que los datos de las concentraciones de atenolol en dializados plasmáticos se ajustaban mejor a un modelo cinético bicompartimental, observándose una eliminación más lenta en las ratas con coartación aórtica. Si bien la diferencia entre las constantes de eliminación de ambos grupos de animales no llegó a ser significativa, el aclaramiento o *clearance* de las ratas coartadas fue significativamente menor respecto de los controles. Además se observó un incremento significativo del "área bajo la curva" en las ratas coartadas. Estos resultados sugerirían alguna alteración en los mecanismos de eliminación del fármaco que en este caso puede ser ocasionada por el daño renal generado por la operación. Precisamente, el atenolol tiene un mecanismo renal de eliminación. (13)

En estudios hechos en animales, van Zwieten y colaboradores (12) mostraron que el atenolol exhibe un retraso importante en alcanzar un equilibrio entre las concentraciones en el líquido cefalorraquídeo y en la sangre. Sin embargo, en el presente trabajo se pudieron determinar niveles de atenolol inmediatamente después de su administración y a lo largo de todo el experimento, en los dializados de hipotálamo posterior tanto de ratas coartadas como de ratas con operación simulada. Esto indicaría que, a pesar

de que el atenolol tiene una liposolubilidad baja y por lo tanto se esperaría encontrar un escaso pasaje de la barrera hematoencefálica, este fármaco puede llegar al sistema nervioso central y posiblemente ejercer alguna acción sobre él. Además, teniendo en cuenta que no se observaron diferencias respecto del grupo control, se podría concluir que el rápido acceso del atenolol al sistema nervioso central en las ratas con coartación aórtica no se debería a que éstas poseen una alteración de la barrera hematoencefálica.

Como se mencionó, el mecanismo de acción de los bloqueantes betaadrenérgicos todavía no se encuentra dilucidado con claridad. Este grupo de drogas muestra una variedad significativa en sus perfiles farmacodinámicos.

Nuestros experimentos muestran que el atenolol redujo la PAM de ambos grupos experimentales sin que se observaran diferencias significativas entre ambos grupos. Por otra parte, los valores basales de PAM obtenidos para ambos grupos experimentales fueron sensiblemente bajos en comparación con los valores que se obtienen en animales no anestesiados. Sin embargo, los valores basales de PAM del grupo de animales con coartación aórtica fueron significativamente mayores que los obtenidos en el grupo control.

Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio no permitieron determinar una correlación entre la variación de la concentración plasmática del betabloqueante y la reducción de la presión arterial.

Para estudiar los efectos cardiovasculares es importante señalar que en nuestro caso los registros de presión arterial se realizaron mediante el uso de una sonda de microdiálisis tipo *shunt* de una entrada y dos salidas. (15) La entrada de la sonda permite el ingreso de la sangre en el cuerpo de la sonda mientras que una salida permite el reingreso de la sangre hacia la arteria y la segunda salida se conecta al transductor de presión arterial.

Generalmente, en los experimentos en los cuales se obtienen registros intraarteriales de presión sanguínea (métodos invasivos), una arteria se encuentra canulada y conectada a un transductor de presión. De esta manera el flujo de sangre a través de esa arteria se encuentra impedido y la medición de la presión arterial resulta sustancialmente diferente de la de nuestro caso. En este punto debemos recordar que la sangre es un líquido cuya viscosidad varía en relación con la velocidad a la cual se mueve a través de un conducto. En la sonda tipo *shunt*, a diferencia del método tradicional, la sangre continúa circulando libremente a través de ella. Mientras que en un caso la medición de la presión se realiza sobre la sangre en movimiento, en el otro no, por lo que necesariamente entonces los valores obtenidos resultan distintos, aunque el sistema en estudio sea el mismo.

Por otra parte, se sabe que la anestesia tiene influencia sobre los valores basales de presión arterial y también que puede modificar los efectos de las drogas. (19) En el presente trabajo es probable, entonces, que la combinación de anestésicos empleada haya tenido un efecto depresor sobre los valores basales de presión sanguínea.

Por lo tanto, podemos concluir que, pese a que se sabe que la coartación aórtica produce cambios, tanto en el territorio vascular como en el tejido cardíaco, (5-10) dichos cambios no potenciarían ni disminuirían la sensibilidad del aparato cardiovascular a los efectos de los betabloqueantes sobre la PAM. Además, el efecto hipotensor es independiente de los cambios en las concentraciones plasmáticas obtenidas con la dosis utilizada de atenolol.

Para realizar el estudio sobre los efectos del atenolol sobre la frecuencia cardíaca en el presente trabajo, se procedió a vagotomizar los animales para que el tono cardíaco sea solamente simpático y facilitar así la detección del efecto bradicardizante del bloqueo beta.

Sin que llegara a ser estadísticamente significativa, se observó una sensibilidad mayor de las ratas coartadas al efecto bradicardizante del atenolol. Esta sensibilidad mayor no estaría dada por una eliminación más lenta del fármaco. Una explicación posible podría ser un incremento de la descarga simpática sobre el corazón de las ratas coartadas.

Por otro lado, pese a la rápida caída de los niveles de atenolol en los dializados plasmáticos, el efecto bradicardizante se mantuvo a lo largo de todo el experimento tanto en las ratas coartadas como en las ratas controles. Aunque varios autores encontraron una relación entre el bloqueo beta, medido como disminución de la frecuencia cardíaca, y las concentraciones plasmáticas del betabloqueante, (25, 26) nuestros resultados no mostraron una correlación significativa en ninguno de los grupos de animales para la dosis utilizada.

Estos resultados indicarían que el atenolol ejerce un efecto bradicardizante en ambos grupos de animales y que ese efecto parecería que es mayor en el grupo de ratas coartadas. Este efecto bradicardizante no se correlacionaría con la variación de las concentraciones plasmáticas obtenidas con la dosis utilizada de atenolol.

Como ya se mencionó, además de medir las concentraciones de atenolol en dializados hipotalámicos se realizó una perfusión intrahipotalámica para evaluar los efectos del bloqueo beta en el hipotálamo posterior. Se sabe que la administración intracerebroventricular de atenolol en ratas normotensas produce un descenso de la presión arterial. (27)

En el presente trabajo se utilizó la técnica de retrodiálisis para la administración intrahipotalámi-

ca de atenolol. A través de los experimentos de administración endovenosa de atenolol se determinaron los niveles que alcanza el fármaco en el hipotálamo posterior.

Sobre la base de las concentraciones de atenolol en los dializados hipotalámicos y sabiendo que la sonda de microdiálisis implantada en el hipotálamo posterior tiene una extracción *in vivo* de alrededor del 8%, se estimó la concentración de perfusión que sería utilizada en el experimento.

El único efecto que se observó fue una caída de la presión arterial en las ratas coartadas pero no en las controles. La perfusión intrahipotalámica tampoco afectó la frecuencia cardíaca de ambos grupos de animales.

El efecto de la perfusión intrahipotalámica de atenolol sobre la presión arterial indicaría un compromiso betaadrenérgico hipotalámico en las ratas con coartación aórtica. El hipotálamo posterior es una estructura que participa en los mecanismos de regulación de la presión arterial por medio de diversos neurotransmisores. Sin embargo, la participación de los adrenoceptores beta centrales está poco estudiada.

Dado que el bloqueo central de este adrenoceptor indujo la caída de la presión arterial, se podría pensar que habría alguna vía tónica beta hipotalámica. Esta vía estaría comprometida en las ratas coartadas, sugiriendo la participación catecolaminérgica central en este modelo además del sistema renina-angiotensina. También cabría suponer que la estimulación de este adrenoceptor beta tendría que producir un incremento de la presión arterial.

CONCLUSION

Utilizando la técnica de microdiálisis en sangre arterial mediante la inserción de una sonda tipo *shunt* en la arteria carótida de ratas anestesiadas con coartación de la aorta abdominal o con una operación simulada, se realizó un estudio cinético-dinámico del bloqueante beta atenolol con el fin de establecer una correlación entre su efecto farmacológico y la concentración sanguínea.

Los resultados sugieren que la coartación de la aorta abdominal modificaría los perfiles de eliminación del antihipertensivo atenolol en las ratas. El principal efecto dinámico fue la caída de la frecuencia cardíaca. Sin embargo, en la dosis utilizada, no se pudo establecer una correlación entre este efecto y las concentraciones en dializados arteriales de este fármaco.

El atenolol, además de actuar en la periferia, es un bloqueante que puede alcanzar el sistema nervioso central. El efecto de su perfusión intrahipotalámica indicaría un compromiso adrenérgico beta central en las ratas con coartación aórtica.

SUMMARY

ATENOLOL AND BETA-ADRENERGIC BLOCKADE: A KINETIC-DYNAMIC STUDY IN RATS

The objective of our study was to analyze the pharmacokinetics, central and peripheral profile, of atenolol (3 mg/kg⁻¹, EV) in vagotomized sham operated rats (SO) and in vagotomized aortic coarctated rats (ACo). Wistar vagotomized and anesthetized rats were used (250-350 g) either SO or ACo. A microdialysis shunt probe was inserted in the carotid artery and atenolol was measured in dialysate samples by HPLC-fluorometry. A concentric microdialysis probe was inserted in the posterior hypothalamus. Changes of blood pressure and heart rate were measured in both groups. The analysis of the arterial dialysates showed that atenolol distributes following a two-compartment kinetic model. A reduction of heart rate (15%) was seen. We also found a fall of blood pressure (25.3 ± 5.8 mm Hg, n = 6, p < 0.05) due to intra-hypothalamic perfusion of atenolol (2 µg/ml) in ACo rats but not in the SO group. In conclusion, atenolol is a beta-blocker that exerts its action peripherally, but which is able to reach the central nervous system. The effect of its intrahypothalamic perfusion may reflect central adrenergic involvement in ACo rats.

Key words Aortic coarctation - Atenolol - Posterior hypothalamus - Microdialysis - Pharmacokinetics - Pharmacodynamics

BIBLIOGRAFIA

1. Westerink BHC, Damsma G, Rolleman H y col. Scope and limitations of in vivo brain dialysis: A comparison of its application to various neurotransmitter system. *Life Sci* 1987; 41: 1763-1776.
2. Opezzo JAW, Höcht C, Bramuglia GF y col. Metildopa en ratas con deservación sinoaórtica: Un perfil dinámico y cinético mediante microdiálisis. *Rev Argent Cardiol* 1999; 67: 489-496.
3. Chan SHH, Chan JYH. Application of reverse microdialysis in the evaluation of neural regulation of cardiovascular function. *Ann Chem Acta* 1999; 379: 275-279.
4. Opezzo JAW, Höcht C, Taira CA y col. Pharmacokinetic study of methylidopa in aortic coarctated rats using a microdialysis technique. *Pharmacol Res* 2001; 43: 155-159.
5. Lai FM, Tanikella T, Thibault L y col. Effects of different stages of aortic coarctation hypertension on aortic contraction and relaxation in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214: 388-394.
6. Michelini LC, Oliveira M, Sacred M. Baroreceptor reflex control of heart rate during development of coarctation hypertension. *Hypertension* 1992; 2 (Suppl II): 159-163.
7. Salgado HC, Fazan RJr, Machado BH y col. Mechanical and neuro-humoral factors in acute aortic coarctation hypertension. *Agents Actions Suppl* 1992; 36: 152-163.
8. Salgado HC, Skelton MM, Salgado MC y col. Physiopathogenesis of acute aortic coarctation hypertension in conscious rats. *Hypertension* 1994; 1 (Suppl I): 78-81.
9. Wyss JM, Oparil S, Sriparojthikoon W. Neuronal control of the kidney: Contribution to hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70: 759-770.
10. Santos CM, Pontieri V, Neto ML y col. Losartan improves baroreflex control of heart rate in coarcted hypertensive rats. *Am J Physiol* 1995; 269 (Heart Circ Physiol 38): H812-H818.
11. Belpaire FM, Bogaert MG, Rosseneu M. Binding of beta-adrenoreceptor blocking drugs to human serum albumin and alpha1-acid glycoprotein and human serum. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 22: 253-256.
12. Van Zwieten PA, Timmermans PBMWM. Comparison between the acute hemodynamic effects and brain penetration of atenolol and metoprolol. *J Cardiovasc Pharmacol* 1979; 1: 85-95.
13. Kirch W, Schafer M, Braun M. Single intravenous dose kinetics and accumulation of atenolol in patients with renal failure and on hemodialysis. *Arch Toxicol* 1980; 4 (Suppl): 366-369.
14. Rojo-Ortega JM, Genest J. A method for production of experimental hypertension in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1968; 46: 883-885.
15. Höcht C, Opezzo JAW, Gorzalczyk SB y col. Una aproximación cinética y dinámica de metildopa en ratas con coarctación aórtica mediante microdiálisis. *Rev Argent Cardiol* 1999; 67: 769-773.
16. Paxinos G, Watson Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates (2nd ed). New York, Academic Press; 1986.
17. Gibaldi M, Perrier D. Pharmacokinetics (2nd ed). New York, Marcel Dekker Inc; 1982.
18. Brunning JL, Kintz BL. Computational handbook of statistics (2nd ed). Glenview, Illinois, Scott, Foresman and Company; 1977.
19. Bailie MD, Donoso VS, González NC. Role of the renin-angiotensin system in hypertension after coarctation of the aorta. *J Lab Clin Med* 1984; 4: 553-562.
20. Salgado HC, Salgado MC. Acute aortic coarctation hypertension: Role of vasopressin and angiotensin II. *Am J Physiol* 1989; 7 (Pt 2): H1480-H1484.
21. Salgado HC, Fazan RJr, Machado BH y col. Mechanical and neuro-humoral factors in acute aortic coarctation hypertension. *Agents Actions Suppl* 1992; 36: 152-163.
22. Griffeth LK, Rosen GM, Rauckman EJ. Effects of model traumatic injury on hepatic drug metabolism in the rat. II. In vivo metabolism of hexobarbital and zoxazolamine. *Drug Metab Dispos* 1984; 12: 582-587.
23. Griffeth LK, Rosen GM, Rauckman EJ. Effects of model traumatic injury on hepatic drug metabolism in the rat. IV. Glucuronidation. *Drug Metab Dispos* 1985; 13: 391-397.
24. Claassen V. Anaesthesia. *En: Neglected factors in pharmacology and neuroscience research*. Amsterdam, Elsevier 1994; chapter 16, pp 382-421.
25. Amery A, De-Plaen JF, Lijnen P y col. Relationship between blood level of atenolol and pharmacologic effect. *Clin Pharmacol Ther* 1977; 21: 691-699.
26. Conway FJ, Fitzgerald JD, Mcainsh J y col. Human pharmacokinetic and pharmacodynamic studies on atenolol, a new cardioselective beta-adrenoreceptor blocking drug. *Br J Clin Pharmacol* 1976; 3: 267-272.
27. Pearson AA, Gaffney TE, Walle T y col. A stereoselective central hypotensive action of atenolol. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 250: 759-763.