

ACCION DEL EJERCICIO SOBRE LA ULTRAESTRUCTURA MIOCARDICA CON REFERENCIA ESPECIAL A LA ACCION PROTECTORA DEL RA8 (PERSANTIN) SOBRE LAS ALTERACIONES

Por los doctores

BERNARDO B. LOZADA, RUBEN P. LAGUENS* y ANTONIO R. BERAMENDI

Desde hace algunos años, uno de nosotros^{7, 8, 9} se ha ocupado de tratar de desentrañar el mecanismo de acción de la droga antianginosa RA8**, por considerar que había fuertes evidencias de que no solamente actuaría por su probada acción vasodilatadora, Bretschneider³, sino a través de una acción sobre los procesos metabólicos del miocardio.

En 1963, Lozada⁸ encontró que el ejercicio en normales y en anginosos se efectuaba en mejores condiciones bajo el efecto del RA8, que sin dicha droga. También incluyó otra condición experimental, la de efectuar el ejercicio y comprobar la recuperación respirando oxígeno puro, en la que el cuadro fue en general más favorable que respirando aire, obteniendo resultados positivos comparables con los del RA8.

En 1964, Lozada, Laguens y Mercuri⁷ estudiaron experimentalmente el efecto sobre el miocardio de la hipoxia provocada, haciendo respirar a perros anestesiados una mezcla gaseosa de oxí-

geno 6 % y nitrógeno 94 %. El material fue estudiado con el microscopio electrónico, confirmándose una serie de alteraciones sobre las mitocondrias caracterizadas principalmente por destrucción de las crestas, disminución de densidad de la matriz y aumento de tamaño de estos elementos.

En cambio, si los animales habían recibido previamente una inyección de 1,5 mg de RA8 por Kg de peso corporal, dichas modificaciones mitocondriales no aparecían, quedando la ultraestructura prácticamente intacta.

Ante estos hechos y continuando con esta serie de investigaciones, decidimos crear hipoxia por un mecanismo diferente al de disminuir el aporte de oxígeno arriba mencionado. Para ello se decidió hacer efectuar al animal un ejercicio muy intenso que creara un estado de deuda de oxígeno en los músculos esqueléticos en acción, obligando al aparato circulatorio a mantener un prolongado estado de aumento de la actividad. El total de animales fue dividido en 2 grupos, los que recibieron previamente el RA8 y los que por no recibirla, fueron los testigos.

El objeto de esta publicación es pre-

* Jefe del Departamento de Investigaciones Microscópicas de la Comisión de Investigación Científica de la Provincia de Buenos Aires — La Plata.

** PERSANTIN — C. H. Boehringer Sohn — Ingelheim.



Figura N° 1. Vista panorámica de una célula cardíaca de un perro normal. Por lo general hay una mitocondria por cada sarcómero (entre 2 bandas Z). x 25.000 aproximadamente.

sentar los resultados obtenidos en estos dos grupos, por medio de su estudio con el microscopio electrónico.

MATERIAL Y METODOS

El material estaba constituido por 15 perros mestizos, de edades y pesos

variados, tomados al azar, aunque cuidando de que tuvieran un buen estado de nutrición que los hiciera aptos para el ejercicio a desarrollar.

El ejercicio consistió en natación exhaustiva efectuada en agua a temperaturas entre 24° y 27° centígrados hasta que el animal ya sin fuerzas comenzaba

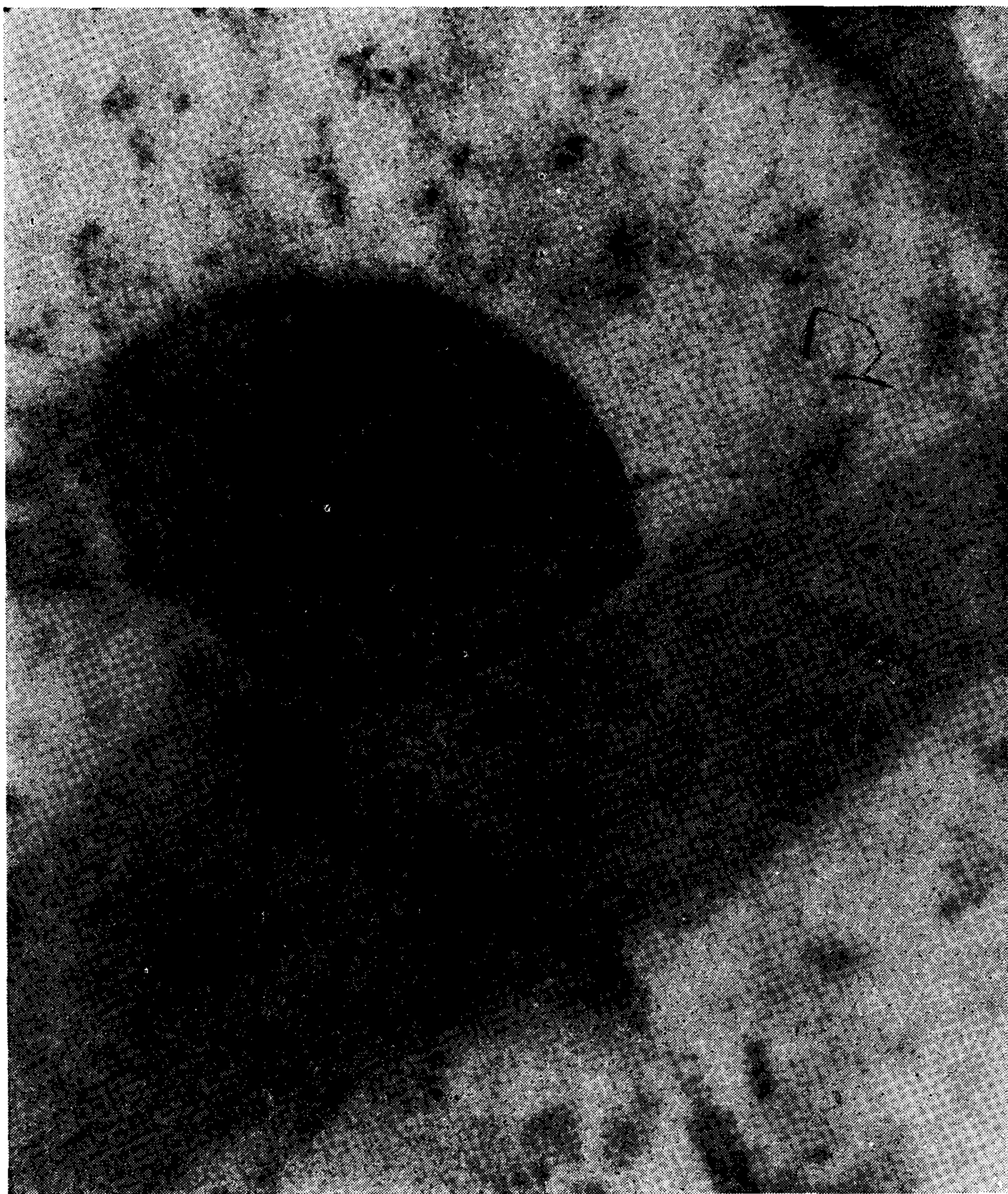


Figura N° 2. Vista en detalle de una mitocondria normal. Las crestas muestran su doble estructura; lo mismo sucede con la membrana externa. La disposición paralela de las crestas se considera importante para la integridad funcional. La matriz mitocondrial muestra su grado de opacidad normal. x 50.000 aproximadamente.

a hundirse. Esto sucedió después de haber nadado entre 50 minutos a 1 hora y 30 minutos, según la capacidad física del animal. En general los perros de tamaños mayores desarrollaron los ejercicios más prolongados, pero en todos se tuvo en cuenta el ya conocido estado de agotamiento, para saber que había llegado el momento de extraerlos del agua y tomar la biopsia cardíaca. También

se efectuaron biopsias del músculo esquelético exhausto.

Dichas biopsias fueron fijadas con glutar aldehído en solución buffer de cacodilato de sodio y posteriormente completado el proceso con solución de sacarosa.

Cada experimento se llevó a cabo simultáneamente con 3 perros, uno anes-
tesiado sin ejercicio (Grupo A), otro



Figura N° 3. Vista panorámica de músculo cardíaco después de ejercicio exhaustivo. Gran aumento de la masa mitocondrial en relación con las miofibrillas. Además hay diltatación individual y alguna tendencia a la fusión. x 15.000 aproximadamente.

con ejercicio (Grupo B) y un tercero, que había recibido una dosis de 2 miligramos de RA8 intramuscular por kilo de peso corporal 30 minutos antes del ejercicio natatorio (Grupo C). Todos fueron sometidos a biopsia miocárdica, usando luego el mismo fijador para los tres.

RESULTADOS OBTENIDOS

Pueden verse ilustrados en las figuras adjuntas. En el grupo A, de los perros testigos anestesiados, la ultraestructura miocárdica fue normal, tanto en lo referente a la unidad contráctil (sarcó-

mero), como a las mitocondrias. El músculo esquelético fue normal.

En el grupo B de los animales sometidos a ejercicio exhaustivo sin administración previa de RA8, la alteración de la ultraestructura fue muy marcada, observándose un gran aumento de la masa mitocondrial con respecto a las miofibrillas, que aparecen escasas y como disociadas entre la enorme cantidad de aquellos organoides celulares. Además, el tamaño de las mitocondrias se hallaba francamente aumentado, advirtiéndose una cierta tendencia a la dilatación y además a la fusión de dos o más. En algunos casos estas fusiones mostra-



Figura Nº 4. Fusión mitocondrial después de ejercicio exhaustivo, superando fácilmente el tamaño normal entr 2 bandas Z. Alteración de la estructura y disposición de las crestas y de la opacidad de la matriz| x 30.000 aproximadamente.

ban como resultado verdaderos gigantismos mitocondriales. Por último, su estructura interior mostraba alteraciones francas en la disposición de las crestas, que aparecían como fragmentadas y dissociadas, con muchos espacios claros entre sí y con una franca disminución de la densidad de su matriz. Esto les daba a muchas un aspecto vacuolar característico. El músculo esquelético no mostró esas alteraciones.

En el grupo C, que recibiera el RA8 antes de efectuar el ejercicio, el panorama de la ultraestructura fue totalmente diferente al anterior, demostrando una normalidad manifiesta, apenas alterada por infrecuentes apariciones de

mitocondrias, cuyo tamaño fuera mayor que el de 2 sarcómeros. Agregamos, que a pesar de esta preservación estructural, no se notó una significativa mayor aptitud para continuar el ejercicio o alargar su duración. En cambio, fue manifiesta la mayor velocidad de recuperación ulterior. No hubo alteraciones en el músculo esquelético.

DISCUSION

Los resultados obtenidos ofrecen varios puntos para el comentario.

En primer término se puede decir que ofrecen cierta similitud con los obtenidos por nosotros ⁷ en la hipoxia y corro-



Figura N° 5. Gigantismo mitocondrial después de ejercicio exhaustivo. Las crestas han perdido su clásica disposición paralela y la matriz es mucho menos opaca. Aproximadamente x 30.000.

bados por Mölbert¹⁰ y Duboistesselin⁴ en ratas, todo lo cual era dable de esperar si recordamos que el ejercicio exhaustivo también produce una hipoxia periférica creando la condición fisiológica que conocemos con el nombre de deuda de oxígeno.

Llama la atención el hecho, de que la ultraestructura del músculo esquelético exhausto no muestra mayores alteraciones a pesar de que al final del ejercicio el animal no podía casi tenerse en pie, tanto que la misma alteración apareció en el número cardíaco.

Esto que aparece como lógico e incontrovertible ahora, viendo estos resultados, no podría haber sido previsto a

priori. En efecto, usualmente se pensaba que la menor aptitud funcional del músculo esquelético con respecto a la del músculo cardíaco actuaría como una especie de protección para este último, desde el momento que al fatigarse primero el músculo esquelético, el miocardio quedaría preservado de alterarse. Ello parecería estar apoyado por la mayor aptitud del miocardio para trabajar con presiones de oxígeno más bajas que las del músculo esquelético, sin entrar en estado de deuda.

Sin embargo, ya vimos como al menos desde el punto de vista estructural, las alteraciones mayores son las que se perciben en el miocardio, tal como si el

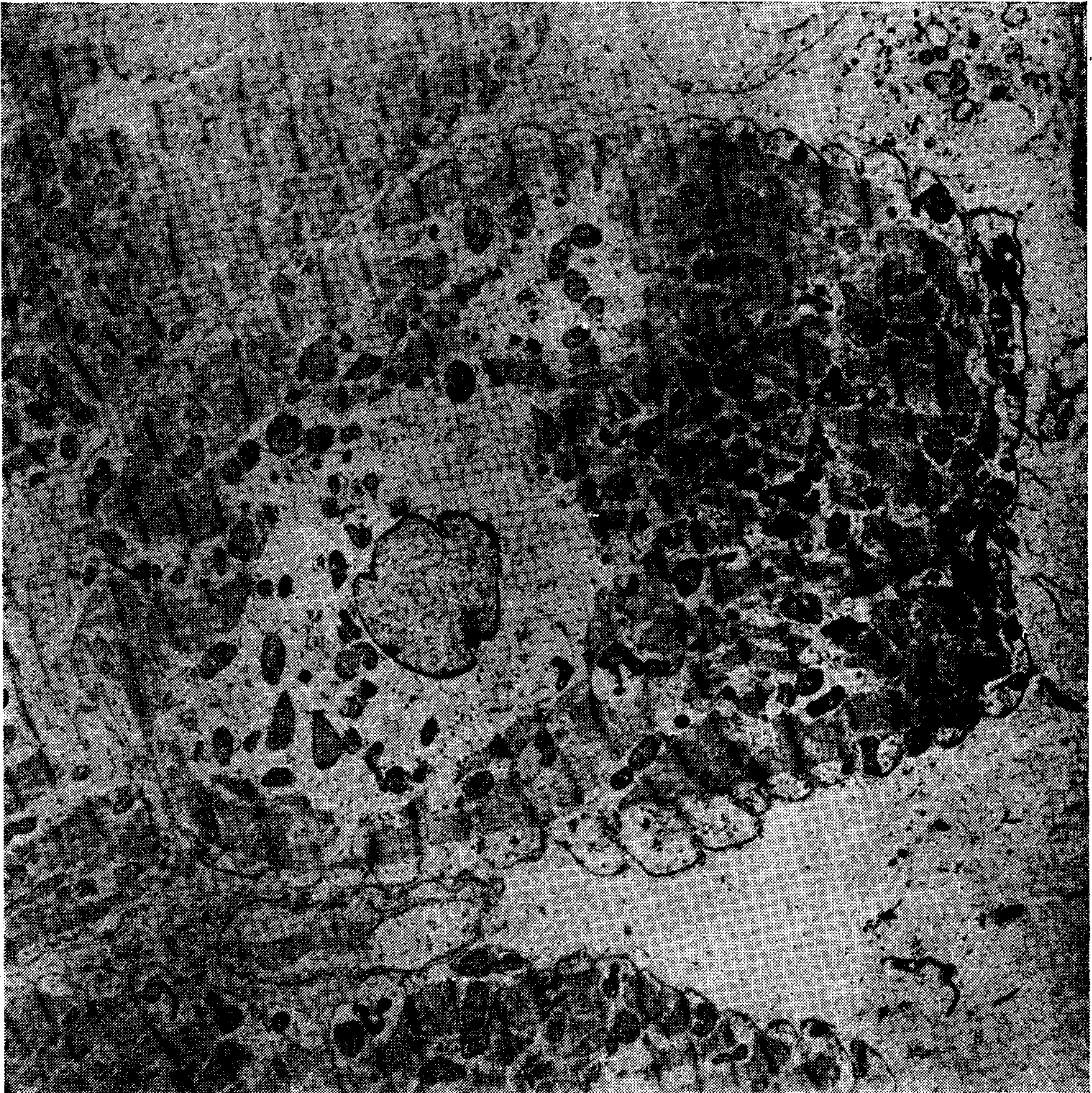


Figura Nº 6. Vista panorámica de una célula cardíaca después de ejercicio exhaustivo en un perro que recibió previamente RA8. Las estructuras se hallan conservadas. Puede apreciarse el núcleo celular. Aproximadamente x 10.000.

sobreesfuerzo del ejercicio solamente lo afectara a él. El músculo cardíaco y en un sentido más amplio toda la circulación con su compleja regulación neuro-humoral parece una sensibilidad ante la deuda de oxígeno periférico sin distinguir acerca de sus causas, ya sea por el bajo aporte respiratorio (altura o hipopresión), ya sea por el aumento del consumo (caso este del ejercicio exhaustivo que hoy nos ocupa). Esta sensibilidad del aparato circulatorio frente al estado de deuda de oxígeno, se mantiene a todo lo largo del proceso del ejercicio, llevando así al corazón, a un aumento de trabajo persistente, que sólo cesaría

por haberse pagado la deuda o por el agotamiento de última instancia.

Recientemente Wollenberg y colab.¹³, provocando experimentalmente una estenosis aórtica provocada, hacen pensar que su probable relación entre sí, se deba al común denominador allí introducido, es decir, al aumento del trabajo cardíaco. Pero mientras la hipoxia por inhalación y la estenosis aórtica son ya situaciones de tipo patológico, cabe destacar que el ejercicio intenso y exhaustivo es una condición corriente de la fisiología humana, ya sea en deportistas como en trabajadores y soldados. Por otra parte, la existencia de muerte

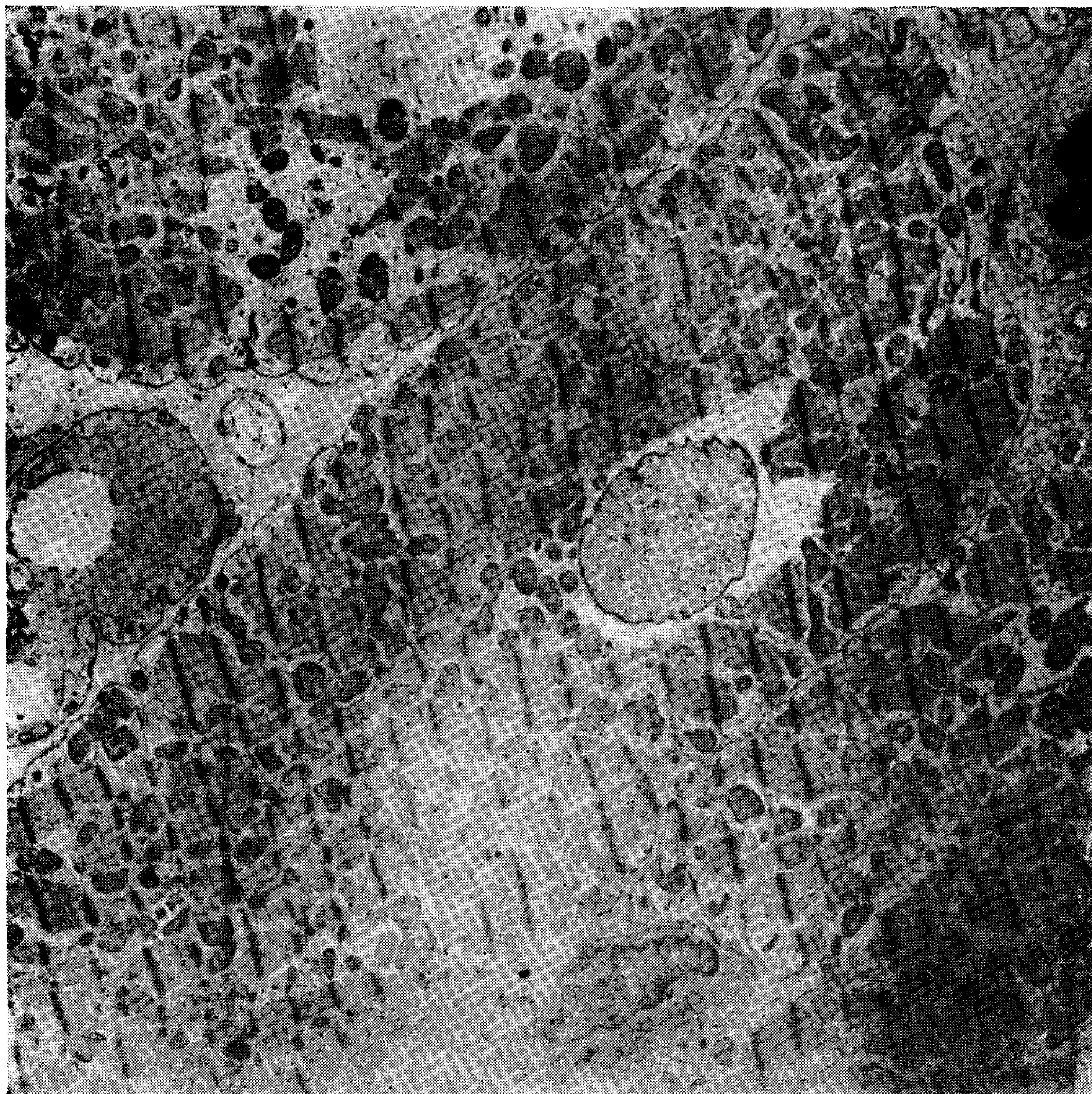


Figura N^o 7. Igual que N^o 6.

súbita acaecida a raíz de un esfuerzo intenso, no es en extremo raro, aún en ausencia de oclusión coronaria, recordándose incluso ejemplos históricos como el del soldado de la batalla de Marathon, que debió llevar el parte de la victoria a Atenas ¹¹.

Los más recientes trabajos sobre estructuras de las membranas celulares ⁵ muestran que ellas se mantienen por la unión hidrofóbica de sus moléculas fosfolipotéicas. Para que esas uniones conserven su carácter hidrófobo, es necesario una cierta cantidad de energía que la célula ha de tomar del adenosin trifosfato (ATP). Por otra parte, en el caso del ejercicio, la producción de ATP, si bien debe estar incrementada,

no parecería ser suficiente como para mantener intactas las estructuras cardíacas, explicándose tal vez por este mecanismo algunas de las profundas perturbaciones observadas. Desde luego, que dichas perturbaciones morfológicas pueden acarrear los trastornos funcionales enzimáticos correspondientes, perturbando a su vez la formación del ATP en cantidades adecuadas. Tal dijimos en nuestro anterior trabajo sobre hipoxia por inhalación ⁷ y aunque por ahora es una hipótesis de trabajo aún no llevada a cabo, nos parece lógico seguirla sosteniendo a la luz de los hechos actualmente conocidos.

Las descripciones más detalladas de las alteraciones estructurales del miocar-

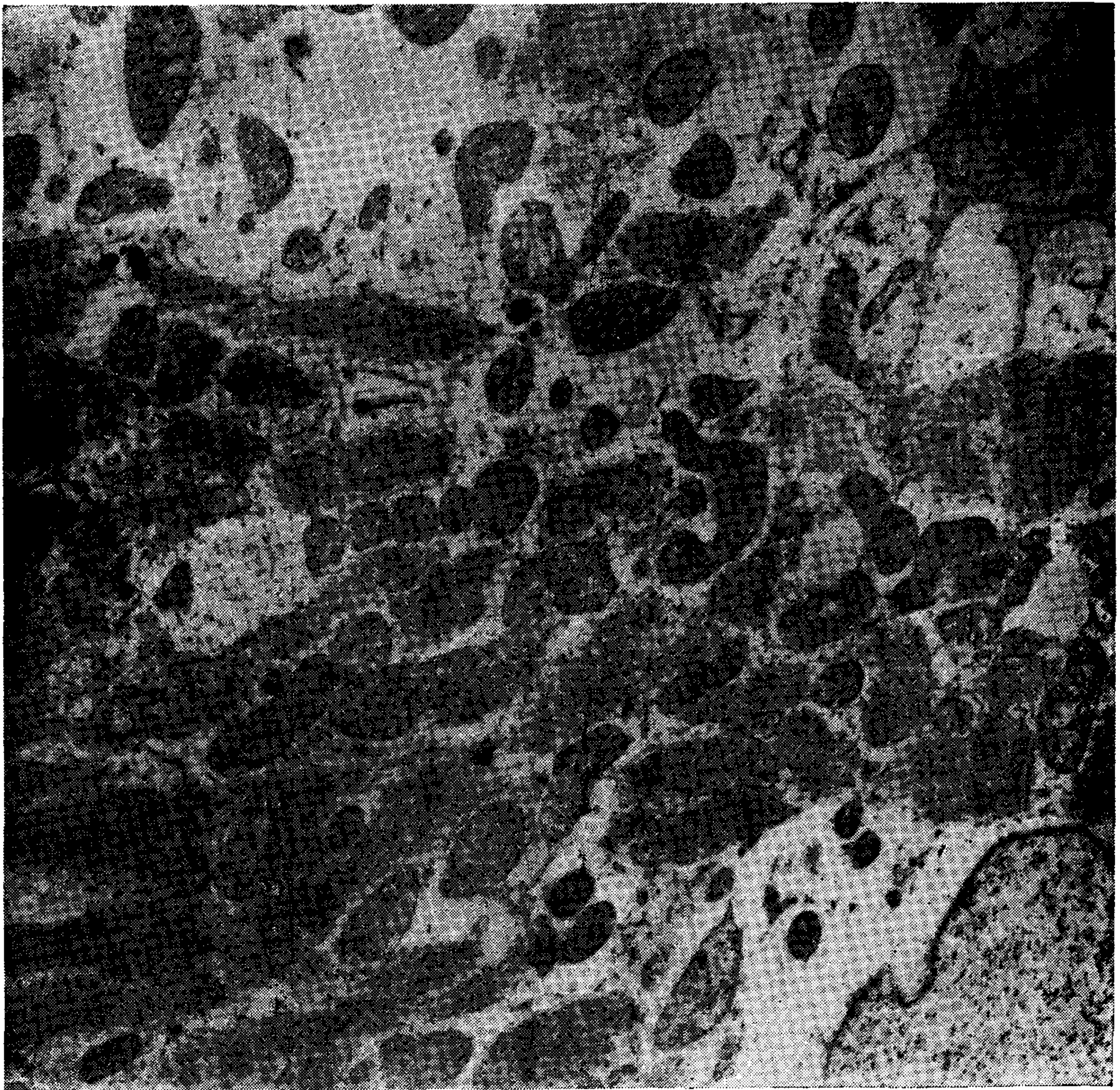


Figura N^o 8. Igual que N^o 6 y 7. Aproximadamente x 20.000.

dio durante el ejercicio serán motivo de otra publicación a la cual nos remitimos⁶.

En cuanto al Grupo C, los que recibieron RA8 previamente, mostraron un grado muy manifiesto de protección frente a las alteraciones ya mencionadas.

Seguimos sin conocer aún los mecanismos por los cuales esta droga actúa en este sentido protector de la estructura. Ello no debe significar desconocer el hecho positivo que implica tal cosa, ya que la alteración estructural debe traer aparejada una alteración funcional concomitante, en tanto que su preservación ha de significar una mejor condición fisiológica. Que el RA8 es una sustancia que mantiene e incrementa aún la co-

hesión de las membranas celulares, ya es algo de lo cual poseemos algunas evidencias² razón por la que su presencia hará el mismo efecto que un incremento del ATP. No olvidemos, que algunos¹² como Siess, lo consideran como una sustancia oxidante, es decir un aceptor de hidrógeno.

Ello, sin embargo, no satisface todas las críticas desde el momento que la condición experimental de ejercicio y consumo de oxígeno es la misma en los dos grupos y no hay un mayor aporte así como tampoco un aumento significativo del tiempo de ejercitación. En cambio, la ultraestructura intacta invita a pensar en una mejor recuperación general del estado de deuda de oxígeno,

desde el momento que debe admitirse una mejor posibilidad funcional de los sistemas enzimáticos.

Todos los interrogantes que hemos presentado y que el caso evidentemente plantea, más otros que sin duda aparecerán más adelante, a medida que se profundice en la investigación, hacen que esta presentación, a pesar de todos los datos positivos que aporta, sólo tenga el carácter de una comunicación previa ante la magnitud del tema que vemos aflorar. Ello es tanto más cierto, cuanto que no hemos encontrado descripciones de este tipo dentro de los estudios del miocardio después del ejercicio.

BIBLIOGRAFIA

1. BING R.: Bull. New York Acad. Med. 1951, 27, 407.
2. BRETSCHNEIDER H. J.: "Zur pharmakologischen Behandlung koronarer Durchblutungsstörungen". Dtsch. Med. 1962, 457.
3. BRETSCHNEIDER H. J.; FRANK A.; BERNARD U.; KOCHSIEK K.; SCHELER F.: "Die Wirkung einr Pyrimodopyrimidin Derivates auf die Sauerstoffversorgung des Herzmuskels". Arzneimittel - Forschung, 1959, 9, 49.
4. DU BOISTESSELIN R.: "Electronen-microscopische Untersuchungen der Schutz-wirkung von Persantin auf das Myokard der Ratte bi Hypoxie". (Comunicación personal).
5. GREEN D. F.: "The mitochondrion". Sci. Amer. 1964, 210, 63.
6. LAGUENS R. P.; LOZADA B. B.; RUIZ BERAMENDI A.: "Exhaustive exercise and myocardial ultrastructure". Expt. Cell Research (en consideración).
7. LOZADA B. B.; LAGUENS R. P.; MERCURI J. A.: "Estudio de la droga antianginosa RA8 (Persantin) sobre el metabolismo de la fibra cardíaca". REV. ARGENT. CARDIOL. 1964, 31, 129.
8. LOZADA B. B.: "Estudio comparativo sobre el electrocardiograma de ejercicio con RA8 (Persantin) y con oxígeno Terapéutica Clínica 1963, 1; 173.
9. LOZADA B. B.; FRANCO R. J.: "El RA8 (Persantin) en la terapéutica de la angina de pecho". La Semana Médica 1960, 117, 1227.
10. MOELBERT E. R. G.: "Submicroscopic nzyme localization in cardiac muscle". Rev. Can. Biol. 1963, 22, 173.
11. Rev. Arg. Cardiología Nº 3, 1965 - EDITORIAL.
12. SIESS M.: "Funktion und Energiestoffwechsel des erschöpften Herzmuskels unter der Wirkung von 2,6 bis (diethanolamino) 4,8 - dipiperidino - pyrimido (4,5) pyrimidin". Arzneimittel - Forschung 1962, 12, 683.
13. WOLLENBERG A.; SCHULZE W.: "Mitochondrial alterations in the myocardium of dogs with aortic stenosis". J. Biophysic Biochem. Cytol. 1961, 10, 285.