

ESTUDIO DE LA DROGA ANTIANGINOSA RA8 (PERSANTIN) SOBRE EL METABOLISMO DE LA FIBRA CARDIACA *

por los doctores

BERNARDO B. LOZADA, RUBEN LAGUENS ** Y JORGE A. MERCURI ***

Desde hace algunos años se han introducido drogas que, como el grupo de los pirimidínicos en el tratamiento de las afecciones coronarias, han demostrado un claro efecto vasodilatador sobre el sistema de las coronarias. En efecto, desde los trabajos de Bretschneider se demostró, que una de estas drogas (el RA8) tenía solamente un efecto escaso o nulo sobre el resto de la circulación y una gran acción coronaria dilatadora, por lo que podía pensarse, que estos hechos solamente bastarían para calificarla en posición ideal en el tratamiento de la insuficiencia coronaria.

En efecto (ver *Terapéutica* 1962 N° 1), para que una droga deba ser considerada ideal como dilatador coronario, debe ser realmente inerte frente a otros sectores arteriolares, ya que de otra manera la vasodilatación distal generalizada traería un descenso de las resistencias periféricas y caída tensional consecutiva. Siendo la presión arterial una función homeostática, este descenso significa, que para combatirla se debe

poner en juego distintos mecanismos de adaptación tendientes a mantenerla. De todos estos mecanismos, el más inmediato viene a ser el aumento del volumen minuto cardíaco, lo cuál necesariamente significa a su vez un aumento del trabajo cardíaco ($\text{Tr. cardíaco} = \text{V.M.} \times \text{R.p.}$).

Ya que el derivado pirimidínico RA8 se presentaba como un vasodilatador de acción exclusivamente coronaria, es evidente, que se adaptaba exactamente a la premisa de no provocar aumento del trabajo cardíaco en tanto que mejoraba el aporte a miocardio.

Empero, a medida que su uso fue extendiéndose por todo el mundo, fueron apareciendo indicios sobre la existencia de otros efectos además del vasodilatador, principalmente una posible acción directa sobre el metabolismo de la fibra muscular cardíaca. Posteriormente, hasta la misma dilatación coronaria ha resultado ser una de las consecuencias de esta actuación en el plano metabólico, antes que un efecto directo de la droga sobre los vasos del sistema.

A muchos investigadores había llamado la atención el hecho clínico de que, administrada la droga, se obtenía un mayor rendimiento durante el ejercicio muscular o el sometimiento experimental a la hipoxia, hecho que se registraba aun en

* Trabajo leído en el VII Congreso Interamericano de Cardiología. Junio 1964, Montreal, Canadá.

** Comisión de Investigación Científica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina.

*** Jefe de Prácticas de Fisiología.

sujetos normales, donde no era dado esperar un beneficio resultante del aumento de la circulación coronaria creado por el RA8.

Corroborando este aserto, Lozada (Terapéutica Clínica 1963 - 1 página 173) encontró, que el ejercicio en normales y anginosos se efectuaba en mucho mejores condiciones bajo el efecto del RA8 que sin él. En este estudio sobre 14 anginosos y 10 normales, se comparó la capacidad para el ejercicio y la respuesta electrocardiográfica en 3 condiciones diferentes:

que la acción vasodilatadora sólo podría explicar la mejoría de los anginosos pero jamás la de los normales, cuya provisión de oxígeno ya está asegurada por sus coronarias normales y cuyo miocardio, además, es capaz de aprovechar el oxígeno a muy bajas presiones tal como ya lo demostrara Bing en 1951 (Bull, New York Acad. Med. 1951 - 27: 407). Por lo tanto, no puede admitirse como explicación única la posible influencia de un mayor aporte coronario, sino que cabe preguntarse si no habría también un mayor aprove-

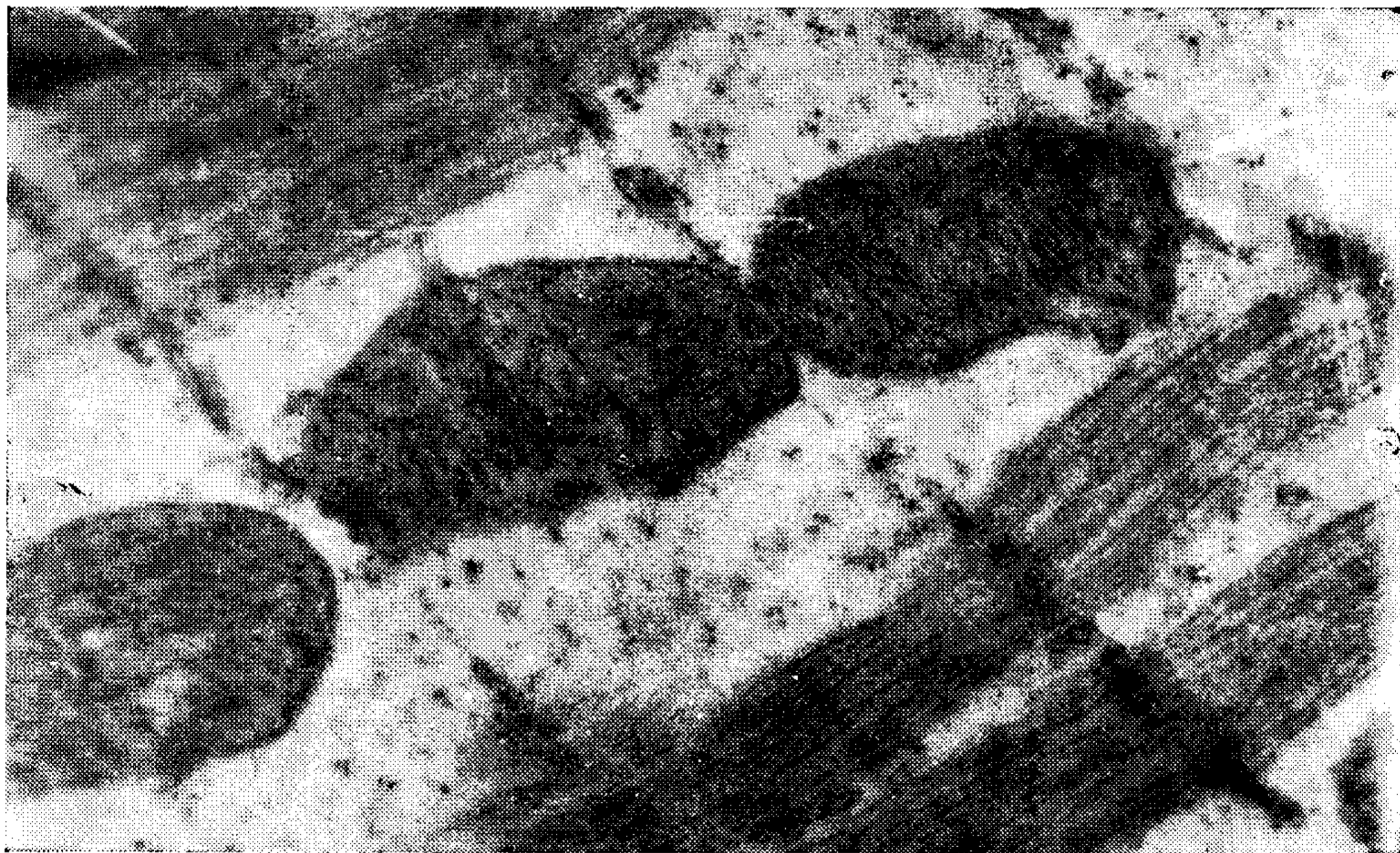


FIG. 1. — Miocardio de perro normal. Miofibrilla con banda Z visible a través del protoplasma. Mitocandrias normales con las crestas y membranas dobles.

- a) respirando aire;
- b) respirando oxígeno puro;
- c) respirando aire y bajo el efecto de 10 mg de RA8 endovenosos administrados 20 minutos antes.

Tanto en la condición b) (respirando oxígeno puro) como en la c) (respirando aire y con RA8), se exteriorizó una evidente mejoría en la capacidad para el ejercicio, siendo digno de destacar, que el hecho fue ostensible, tanto en los normales como en los anginosos. El autor razona frente a estos hechos y concluye,

chamiento del oxígeno en los lugares de consumo, principalmente en el músculo cardíaco y en el músculo esquelético en ejercicio. Esto surge con más claridad si se recuerda que, a pesar de ser en este último grupo muscular escasa o nula la acción vasodilatadora, la aptitud para el ejercicio muscular tendió, sin embargo, a mejorar en forma similar a la ya conocida respirando oxígeno puro.

Es interesante comprobar en este trabajo, que si se comparan los ECG obtenidos respirando oxígeno puro con los obtenidos respirando aire y bajo la acción del RA8, se observa

una marcada identidad. Sin exagerar podríamos decir, que aunque respirando aire la administración del RA8 colocó a los sujetos en condiciones similares a las de la respiración de oxígeno puro, lo que, por lo tanto, significa que la droga permite una mejor utilización del gas.

Otros hechos clínicos que apuntan en el mismo sentido de la influencia directa del RA8 sobre el metabolismo, ha podido ser observados en el curso de la insuficiencia cardíaca de variada etiología, en su mayoría seleccionados sin componente de insuficiencia coronaria. Según

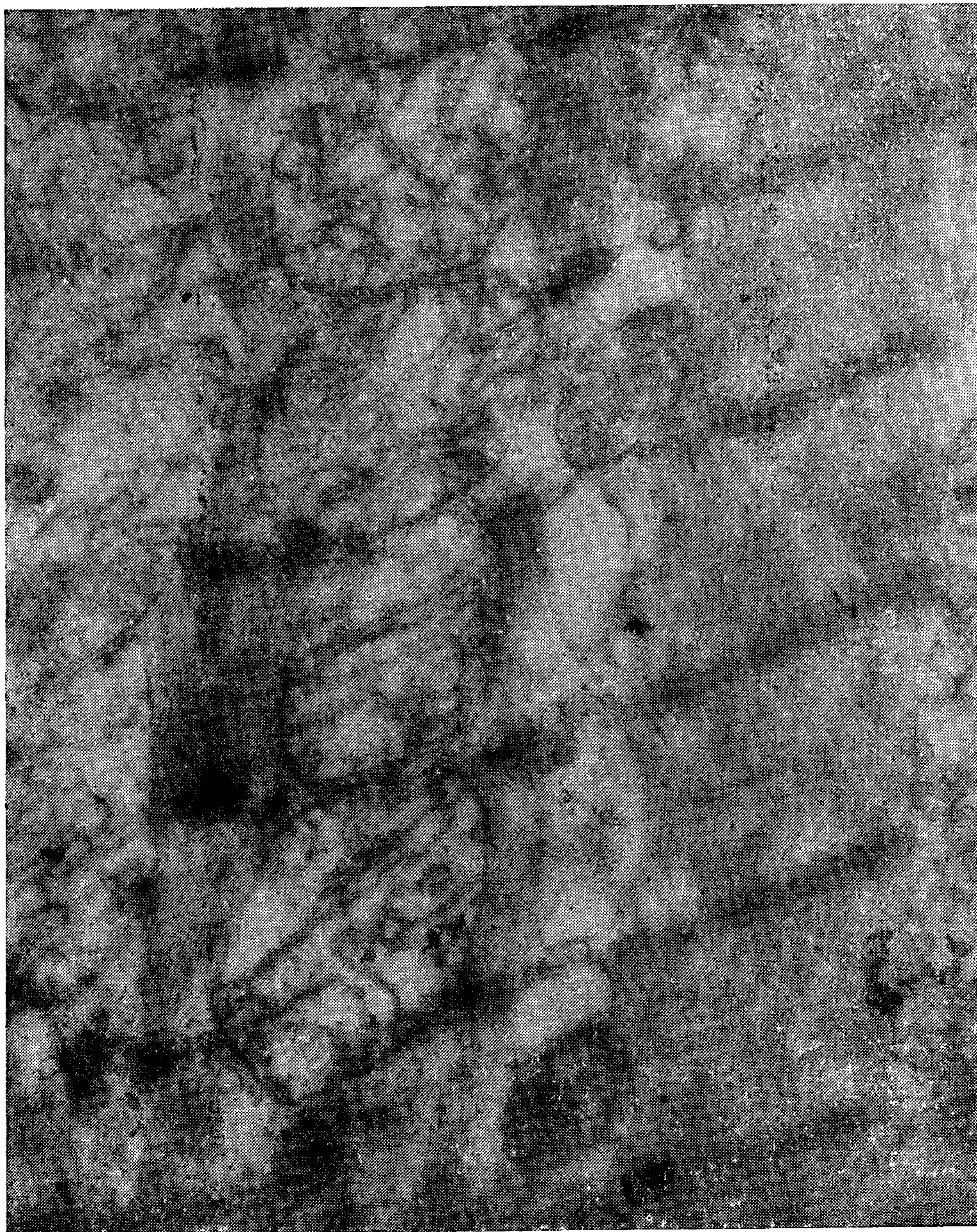


FIG. 2. — Miocardio de un perro del lote A (sin RA8) aproximadamente 35.000 aumentos. Puede apreciarse la marcada destrucción de las crestas mitocondriales, reemplazadas por espacios claros, haciendo aparecer a toda la mitocondria como una vacuola. La estructura de las miofibrillas está conservada.

Hergueta (Rev. Medicina Española 1963, 31 N° 2) éste fue un hecho saliente en el 68 % de sus pacientes estudiados a tal fin. El mencionado catedrático español sometió a 19 pacientes ya compensados por la terapéutica clásica a las siguientes condiciones experimentales, abandono de

la medicación cardiotónica apenas conseguida la compensación y uso permanente, a renglón seguido, de 25 mg de RA8 por vía oral administrados 3 veces por día hasta totalizar los 75 mg diarios. Los resultados mostraron, que el 21 % seguía en perfectas condiciones, el 47 % en

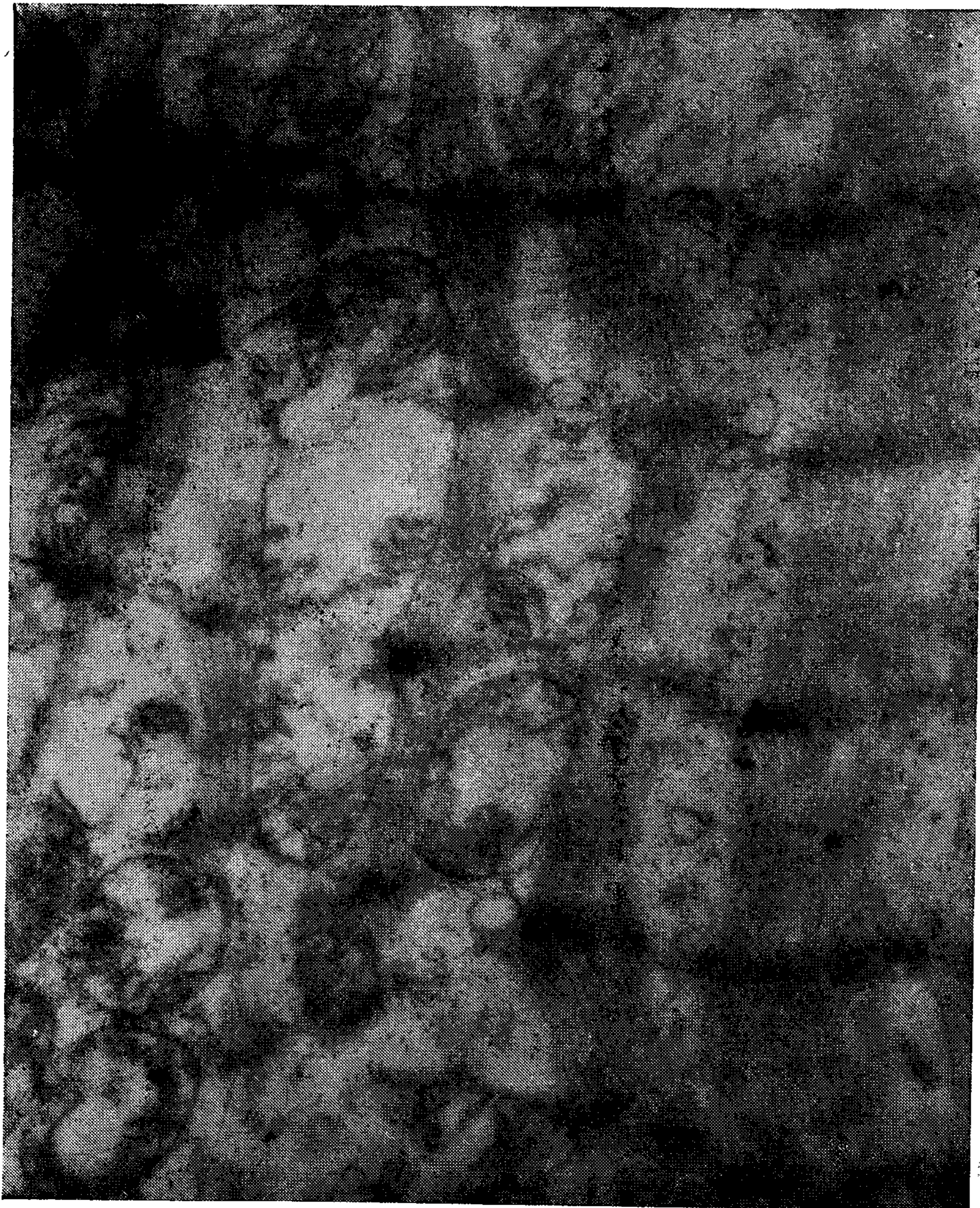


FIG. 3. — Miocardio de un perro del lote A (sin RA8) aproximadamente 35.000 aumentos. Puede apreciarse la marcada destrucción de las cretas mitocondriales, reemplazadas por espacios claros, haciendo aparecer a toda la mitocondria como una vacuola. La estructura de las miofibrillas está conservada.

aceptables condiciones y solo el 31 % retornaron a la situación anterior. Aunque el autor, prudentemente, solo menciona 2 causas posibles vinculadas a los efectos digitálicos negativos y su supresión (acción vasocons-

trictora coronaria y aumento del consumo de oxígeno consecutivo al aumento de la fuerza contráctil) es evidente, que no cuesta mucho sospechar la acción de otros mecanismos metabólicos, ya que siendo la

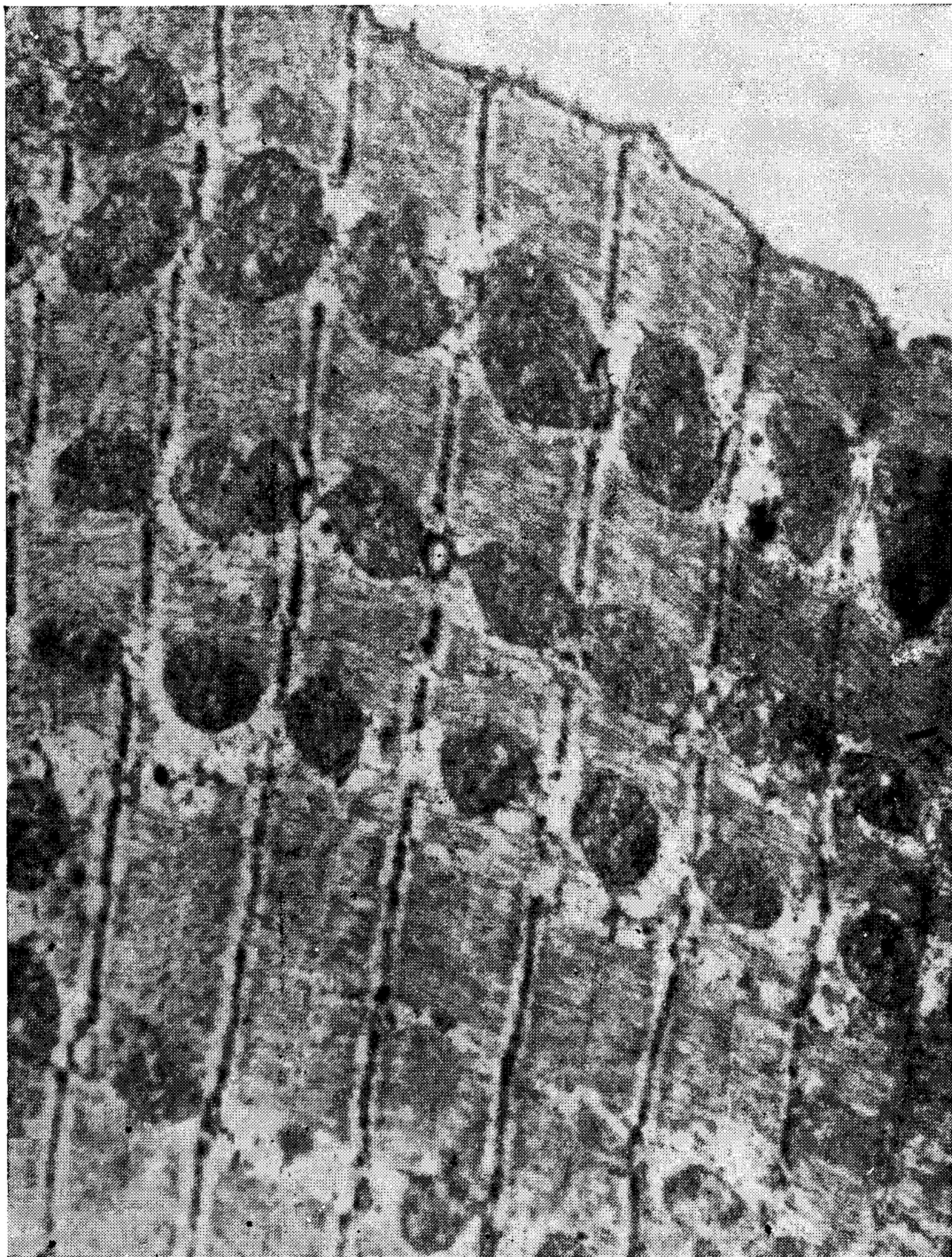


FIG. 4. — Miocardio de un perro del lote B (con RA8) aproximadamente 21.000 aumentos. Estructura mitocondrial conservada con caracteres normales; en un ángulo la membrana celular con su doble estructura conservada.

insuficiencia cardíaca una situación patológica de deuda de oxígeno en reposo o en pequeños ejercicios, puede ser comparada por ello con la fisiológica del ejercicio en los normales. Claro es, que no debe olvidarse que

se trata de distintos niveles de eficiencia e ineficiencia circulatoria. Así y todo, cabe hacerse aquí las mismas consideraciones ya mencionadas por nosotros para el ejercicio con aire, oxígeno y RA8, dando por



FIG. 5. — Miocardio de un perro del lote B (con RA8) aproximadamente 35.000 aumentos. Se pueden observar las crestas mitocondriales con su doble membrana, conservando un aspecto prácticamente normal.

probables las implicaciones metabólicas que resultan.

Por todos estos motivos, nos ha parecido de interés averiguar experimentalmente el mecanismo íntimo de tal acción metabólica del RA8. El trabajo presente forma parte de una serie mayor que se irá presentando sucesivamente a medida que se vaya dando fin.

MATERIAL Y METODOS

El material lo constituyen perros mestizos de edades y pesos variados, tomados al azar.

Los animales fueron divididos en 2 lotes y sometidos a una situación experimental similar. El lote A no recibió RA8 y el lote B recibió la droga en razón de 1,5 mg por kg de peso corporal unos 30 minutos antes de comenzar la prueba de hipoxia.

La condición experimental fue la siguiente:

1º) Anestesia general con Embutal intraperitoneal a la dosis de 25 a 35 mg por kg de peso corporal.

2º) Apertura de la tráquea y colocación de una cánula tipo, en forma de T, con cierre hermético hacia el lado de la laringe. Ajuste de la cánula por medio de cintas pasadas por fuera de la tráquea a los fines de asegurarse que el animal respiraría exclusivamente por aquella.

3º) Conexión invertida con un aspirómetro de circuito abierto tipo Tissot de 150 lts, donde se colocaba la mezcla gaseosa conteniendo 94 % de nitrógeno y 6 % de oxígeno. El perro, por medio de una válvula de espirometría, inspiraba del contenido del Tissot, y expulsaba su aire al exterior.

4º) Control electrocardiográfico y de frecuencia respiratoria.

5º) Conexión durante 1 hora con el espirómetro, el cual se llenaba por otra entrada, todas las veces que fuera necesario.

6º) Transcurrida la hora, apertura muy rápida del tórax y corte biopsia de la punta del ventrículo izquierdo, la cual, aún latiendo, se fijaba en

ácido ósmico, a la vez que se cortaba en trocitos de 1 mm³.

7º) El estudio de las biopsias en el microscopio electrónico.

8º) Estudio de la saturación de oxígeno arterial por la técnica de Van Slyke y O'Neil.

RESULTADOS OBTENIDOS

Pueden verse ilustrados en las figuras adjuntas.

En el lote A (hipoxia exclusivamente), lo más llamativo fue la conservación de la estructura de las miofibrillas, en tanto que se hallaba grandemente alterada la de las mitocondrias.

Pudo verse constantemente en los 5 animales usados para este fin, que que las crestas mitocondriales disminuían en cantidad, quedando zonas sin ellas. Algunas mitocondrias parecían vacuolas limitadas por la membrana exterior y con restos parcelarios de la estructura de las crestas (Figuras 1 y 2).

En el lote B (hipoxia + RA8), el cuadro de la ultraestructura celular miocárdica fue sorprendentemente distinto.

No sólo se encontró el sarcómero intacto, sino también que ello ocurrió con las mitocondrias. En general sus crestas se hallaban conservadas, constituidas por la doble membrana normal. Lo mismo sucedió con la membrana mitocondrial que mostró claramente su doble capa. Solamente, de tanto en tanto aparecían muestras donde alguna mitocondria aislada mostraba alteraciones estructurales, pero sin llegar nunca a la magnitud de las del lote A.

La saturación de oxígeno arterial fue de 65 a 68 %, lo que significa una presión de O₂ arterial de unos 30 mm, equivalente a la habitual de la sangre venosa normal. Dicha presión de O₂ arterial es similar a la que se obtendría a 7.500 m de altura (Pr. barométrica 280 mm Hg).

DISCUSION

Los resultados obtenidos son en líneas generales, similares a los de Mölbert y Du Boistesselin en ratas que respiraron oxígeno al 6 %.

Algunas diferencias queremos recalcar sin embargo.

En nuestro trabajo hemos usado un animal diferente, el perro, que por sus características, presenta una mayor resistencia a la hipoxia. Con todo, este grado de hipoxia fue tan importante como para impedir la compensación hemodinámica y hemática (esplenocontracción, contracción de los sinusoides, etc.) El músculo cardíaco como un tejido de la periferia, sufrió la hipoxia. Ello ocurrió en grado tanto mayor cuanto que debió aumentar su actividad, en procura de un mayor volumen minuto que fuera compensatorio para la irrigación tisular. Así la fibra muscular sufrió por partida doble, con un mayor trabajo y una oxigenación coronaria deficitaria.

En estas condiciones, es probable que haya aparecido deuda de oxígeno en el miocardio, disminuyendo consecutivamente la generación de energía química almacenable bajo la forma de adenosín trifosfato (ATP).

De acuerdo con las más recientes investigaciones (D. F. Green, *Sci-Amer*, 1964, 219, 63), la estructura de las membranas celulares se mantiene por el carácter hidrófobo de las lipoproteínas, lo cual impide que se solubilicen y se eliminen. Este carácter hidrófobo estructural se mantiene gracias a la energía obtenida del ATP, de donde se desprende que una disminución en el ritmo de producción de éste, necesariamente afectará el carácter hidrófobo de las lipoproteínas y por lo tanto la cohesión de las membranas mitocondriales.

Si recordamos que a su vez, es en dichas membranas mitocondriales donde asientan las cadenas enzimáticas que participan en el metabolismo y producen energía almacenable en forma de ATP, vemos que se cae en una especie de círculo vicioso. En él,

la hipoxia (baja P. O₂) miocárdica disminuye el ritmo de formación aerobia del ATP; esta reducción a la vez impide una entrega de energía como para mantener la cohesión de las moléculas fosfolípidas, destruyéndose las membranas mitocondriales, asiento de las cadenas enzimáticas.

Se explica pues claramente la destrucción mitocondrial del lote A de nuestros perros.

No es tan clara la explicación del resultado protector de dichas estructuras, observado en el lote B, si bien dicha protección no pudo ser más evidente a lo largo de 1 hora de hipoxia.

En realidad el RA8 se ha comportado como si aumentara la cohesión de las moléculas que constituyen las membranas mitocondriales. Ante los actuales conocimientos sobre dicha cohesión sólo caben 2 posibilidades: A) o el RA8 facilita las oxidaciones a baja presión permitiendo la formación de cantidades normales de ATP. B) o el RA8 actúa directamente como ATP, manteniendo por sí mismo la estructura de las membranas.

La primera hipótesis parece poco probable, desde el momento que el sistema enzimático del corazón normal está habituado a trabajar en baja presión de oxígeno, tal como lo documentan los contenidos de O₂ en el seno venoso coronario, sin entrar en deuda de oxígeno. No negamos la posibilidad de que el RA8 se comporte como un aceptor de hidrógeno (es decir un oxidante), tal como lo considera Siess (Verhand. Gess-F. Keens) pero ello no puede ser toda la explicación de lo que sucede en nuestros experimentos.

En cambio, nuestro modo de pensar le da predominio a la hipótesis B (el RA8 actúa como el ATP), manteniendo por sí mismo la cohesión molecular de las membranas. Esta acción ya fue encontrada experimentalmente en la membrana del glóbulo rojo por Bretschneider (*Dtsch. Med.*

J. 1962, 15, 457) estudiando la acción protectora del RA8 sobre ésta, al impedir el pasaje libre de la adenosina del plasma al glóbulo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 1º) Se sometieron 2 lotes de perros a respiración de O_2 al 6% durante 1 hora. El lote A sin RA8 y el lote B con RA8.
- 2º) Las biopsias tomadas al cabo de 1 hora fueron analizadas con microscopía electrónica.
- 3º) El lote A mostró regularmente la destrucción de las estructuras mitocondriales. Las crestas desaparecían y sólo quedaban algunos restos, incluidos en la membrana externa, semejando vacuolas.

El lote B en cambio (con RA8) mostró una ultraestructura normal.

- 4º) Se ensayan 2 explicaciones posibles.
 - A) El RA8 es aceptor de Hidrógeno (por lo tanto oxidante); este mecanismo no parecería ser el responsable exclusivo ni mucho menos, ya que el sistema enzimático del miocardio es capaz de usar el O_2 hasta presiones vecinas al cero.
 - B) El RA8 es un protector de la cohesión de las moléculas lipoproteicas que constituyen las membranas, reemplazando así, en el experimento, la misión del ATP, que es el encargado normal de esta tarea.

Esta segunda hipótesis satisface más, aunque hoy por hoy no puede ni debe ser definitiva.

- 5º) Las relaciones entre la hipoxia experimental y la de una altura de 7.500

m son por demás interesantes, aunque las condiciones no sean exactamente iguales.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

- 1º) Two groups of dogs received low oxygen breathing 6% during one hour. Group "A" without RA8 and group "B" with.
- 2º) After one hour we take off biopsies from the apex of left ventricle and studied them by electro-microscopy.
- 3º) Group "A" (without RA8) shows always mitochondria structures destroyed. Cristae disappeared or were going to be. There were only some residual structures included into the external membrane as vacuoles.

Group "B" (with) doesn't show any change. So, ultra structures were normal.

- 4º) There are two possible explanations:
 - a) RA8 is an oxidative substance. It should be, as we know since Siess paper, we think is not the main explanation. As we know, the ability of mitochondrial enzymes to use oxygen in so low pressure as zero should permit survival in that condition.
 - b) Maybe RA8 protects the hydrophobic condition of the lipoproteins which built cell membranes. So RA8 replaces, in this case at least, the normal ATP work.

We think that this second hypothesis is now the choice, as far as we know.

- 5º) Similarities between experimental hypoxia breathing 6% oxygen and an altitude of 22 thousand feet are very interesting and we think that RA8 may improve the work condition of alpinists or others.