

Efecto del escorbuto en aurícula de cobayo

MA. DE L. ARRUAZABALA Y M. GARCÍA

*Lab. de Farmacología, Centro Nacional de Investigaciones
Científicas, La Habana, Cuba*

Recibido: 9 de noviembre de 1976

ABSTRACT. Changes in the sensitivity to exogenous catecholamines and in tissue catecholamine content in scorbutic animals have reported by different authors. In the present work dose-response curves to isoproterenol, nicotine and tyramine were done. No significative differences in dose-response curves to against and in tissue catecholamine content were found scorbutic animals.

RESUMEN. Diferentes autores han reportado cambios en la sensibilidad a las catecolaminas exógenas y en el contenido de catecolaminas tisular en animales escorbúticos. En el presente trabajo se realizaron curvas dosis-respuestas al isoproterenol, nicotina y tiramina, no encontrándose diferencias significativas en relación con los controles, así como tampoco se encontraron diferencias en los niveles de noradrenalina tisular en animales escorbúticos.

INTRODUCCION

La Vitamina C interviene en la síntesis de las catecolaminas (CA) como cofactor de la enzima dopamina β -hidroxilasa, la cual convierte a la dopamina en noradrenalina (NE), (Kauffman y Friedman, 1965).

Se han realizado algunos trabajos relacionando los niveles de ácido ascórbico con la actividad del sistema nervioso autónomo (SNA) y del sistema nervioso central (SNC).

Grandson y cols., (1940) observaron que la deficiencia de ácido ascórbico en el hombre producía extremada fatiga, cambios mentales y emocionales; por otra parte administrando altas dosis de este ácido se ha visto irritabilidad, insomnio, ansiedad (Glatzel, 1966), y aumento en las concentraciones de NE en varias partes del cerebro de ratas (Izquierdo y cols., 1968).

Thoa y cols., (1966) reportaron que la inducción experimental del escorbuto a cobayos estaba asociada a una hipersensibilidad a los efectos presores e inotropismo positivo cardíaco de las catecolaminas exógenas, así como una reducción significativa de los niveles de NE en el corazón. Por otra parte se ha encontrado que las respuestas de las aurículas aisladas de cobayos escorbúticos a la NE exógena es normal, pero la habilidad de las aurículas para retener la NEH^a es normal al minuto pero reducida a más del 50% del control a los 15 minutos (Bhagat y cols., 1966).

Sears (1969) obtuvo resultados semejantes en iris de cobayos escorbúticos. Jonsson y cols., (1974) observaron sin embargo pocos cambios en las concentraciones de NE endógena en cerebro y corazón de animales escorbúticos, pero sí encontraron disminución en la formación de NE a partir de dopamina. En este trabajo se relacionan los niveles de NE endógena en aurícula de animales normales y escorbúticos con los niveles de Vitamina C en hígado de los mismos, con el fin de observar si los niveles de NE se modifican en relación con los de ácido ascórbico y observar si las respuestas a la tiramina y a la nicotina (drogas que liberan NE de almacenes diferentes (Smith y Winkler, 1972) están afectadas en animales escorbúticos.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron curieles machos, pintos, de peso entre 250 y 500 gramos.

Los animales fueron divididos en 2 grupos, un grupo control y un grupo escorbúticoo.

Para producir el escorbuto experimentalmente, los animales se mantuvieron durante 10 a 12 días con una dieta de pienso solamente; al resto se le administró ésta además de hierba.

Se utilizaron las siguientes técnicas:

Aurícula aislada de cobayo.

Se utilizó un transductor fuerza-desplazamiento NIHON-KHODEN, modelo SB 1T, conectado a un polígrafo de la misma marca, donde se obtuvieron las respuestas cronotropas a las diferentes drogas, en los

animales normales y escorbúticos simultáneamente. Una parte de las experiencias se hicieron administrando 1.6×10^{-4} M de Pargilina, incubada en el baño 20 minutos antes de empezar la experiencia (*Bhagat y Zeidman, 1970*) con el fin de inhibir la degradación intraneuronal de catecolaminas y potenciar los efectos de la tiramina (*Smith, 1966*).

Cuantificación de la NE endógena.

Se utilizó la técnica original de Shore y Ollin (1958), modificada por Hogans (1967) y descrita por Sadavongvivad (1970).

Cuantificación de ácido ascórbico.

Se utilizó la técnica de Freed (1966), descrita por Smith (1972).

RESULTADOS

Niveles de ácido ascórbico.

Los niveles de ácido ascórbico en hígado de los animales controles se encontraban entre 16 y 24 mg%; a los que se le indujo el escorbuto experimentalmente entre 6 y 0.8 mg%, o sea entre un moderado escorbuto, siendo la diferencia estadísticamente significativa entre los animales controles y tratados ($p < 0.001$). Estos valores concuerdan con los reportados por Kuether y cols., (1944).

Aurícula aislada de cobayo.

a) Comparando las medias de las respuestas a cada dosis de isoprotein renal entre animales normales y escorbúticos, se encontró que éstos no difieren significativamente, como tampoco la frecuencia cardíaca basal difiere estadísticamente (Fig. 1).

b) Se hicieron curvas dosis-respuesta a la tiramina; se observan que las respuestas cronotropas no difieren significativamente entre animales normales y escorbúticos (Fig. 2). También se hicieron estas curvas con nicotina observándose que aunque las respuestas a todas las dosis de nicotina están más disminuidas en los animales escorbúticos, esta diferencia no es significativa (Fig. 3).

c) En las experiencias con Pargilina (Inhibidor de MAO), se observó, que la misma incrementó significativamente las respuestas cronotropas a la tiramina, concordando con lo reportado por Smith (1966), hecho que se debe a que la Pargilina, además de inhibir la degradación intraneuronal de catecolaminas protege a la tiramina de la acción inactivante de la MAO (Fig. 4). Sin embargo en las experiencias con nicotina se observó, que la misma dosis de Pargilina que incrementa la acción de la tiramina, abolió las respuestas a la nicotina (Fig. 5).

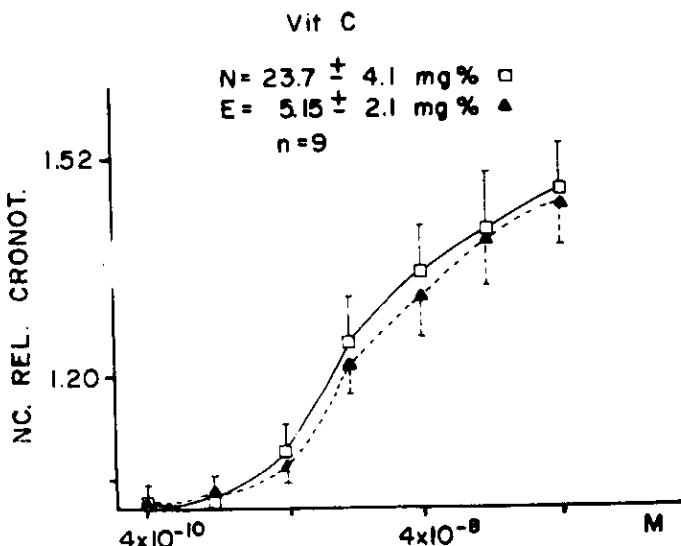


Fig. 1. Se ploteó las concentraciones molares de isoproterenol en escala logarítmica contra el incremento relativo en el cronotropismo. Se muestran las medias de las respuestas a cada dosis con los errores estándares; la frecuencia cardíaca basal de los animales normales fue de 157 ± 18 lat/min y de los escorbúticos 152 ± 26 lat/min.

Niveles de NE endógena.

Los niveles de NE varían notablemente de especie a especie y dentro de un mismo animal en sus diferentes órganos.

A nivel del corazón las concentraciones de NE son mayores en aurículas que en ventrículos y a su vez, la de la aurícula derecha es mayor que

en la izquierda, debido a que la inervación es más rica en la primera (*Holzbauer, 1972*).

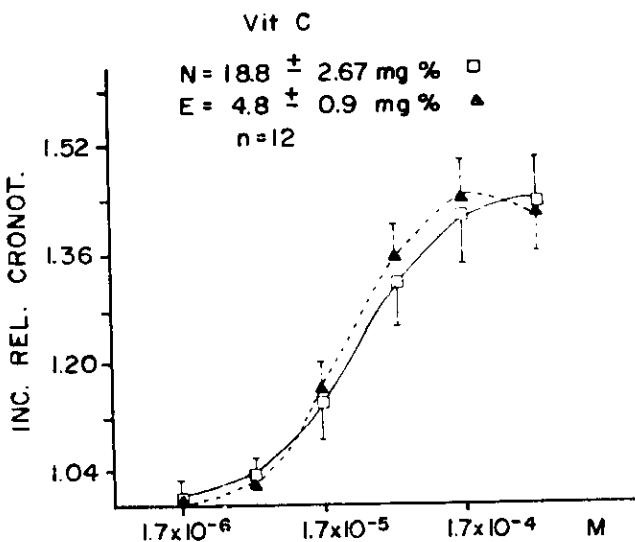


Fig. 2. Se ploteó la concentración molar de Tiramina contra el incremento relativo en el cronotropismo. Se muestran las medias y los errores estándares.

Chiang y Leaders, (1966) reportaron 2.5 mcg/g en aurícula de gato, mientras que Crout y cols., (1961, 1962) encontraron 4.6 mcg/g en aurícula de cobayo y 3.8 mcg/g en aurícula de rata.

Los niveles encontrados por nosotros fueron 4.2 mcg/g en aurícula de cobayo y 3.8 mcg/g en los escorbúticos, no siendo estadísticamente significativa esta diferencia.

DISCUSION

Como nos referimos en la introducción, Thoa y cols .en 1966 reportaron una hipersensibilidad a la NE exógena en las respuestas presoras e inotropismo positivo en cobayos escorbúticos, asociada a una disminución de los niveles de NE en el corazón.

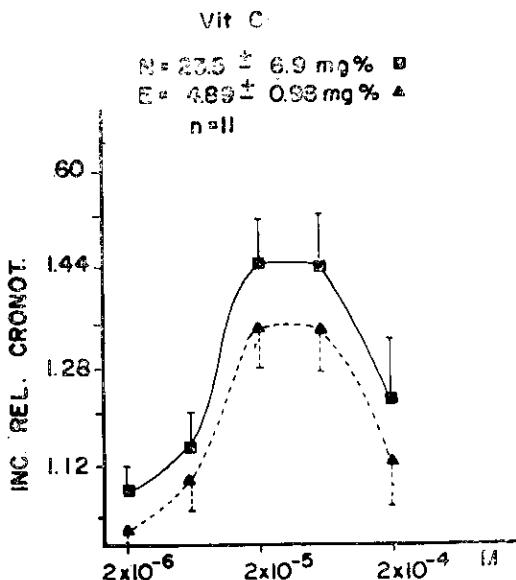


Fig. 3. Se ploteó la concentración molar de nicotina contra el incremento relativo en el cronotropismo. Se observa la curva en campana característica de la nicotina, debido a la desensibilización del receptor nicotínico.

Bhagat y cols., (1966) no observaron hipersensibilidad a la NE exógena en dichos animales.

De estos trabajos en aurícula de cobayos escorbúticos surgió la idea de utilizar un agonista beta-adrenérgico directo que no se capte por la terminación adrenérgica, en aurícula aislada de dichos animales, para observar la sensibilidad de la preparación a la droga

Se utilizó un agonista, el isoproterenol, en vez de noradrenalina, puesto que esta última se capta por la terminación adrenérgica, disminuyendo así las concentraciones a nivel del receptor β , lo que nos haría utilizar un bloqueador de la captación intraneuronal, procedimiento recomendado por Furchtgott (1972) para no modificar las pendientes de las curvas dosis-respuestas; además, porque no habíamos encontrado en la literatura el uso del isoproterenol en aurículas de cobayos escorbúticos.

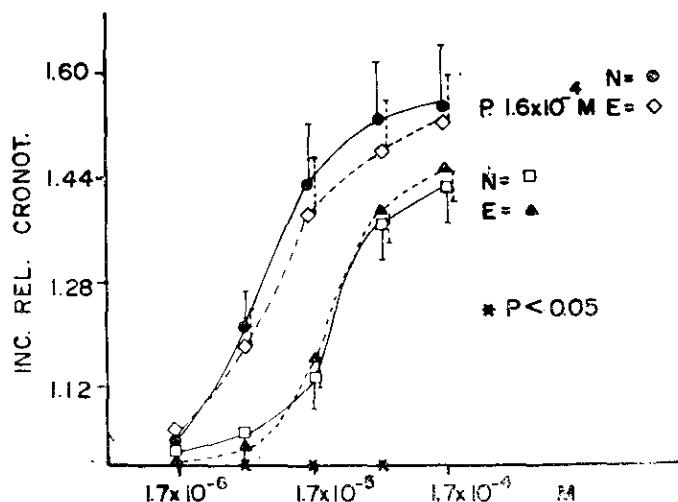


Fig. 4. Se ploteó la concentración molar de tiramina contra el incremento relativo en el cronotropismo, en presencia y ausencia de pargilina, la cual incrementó significativamente las respuestas, tanto en los normales como en los escorbúticos.

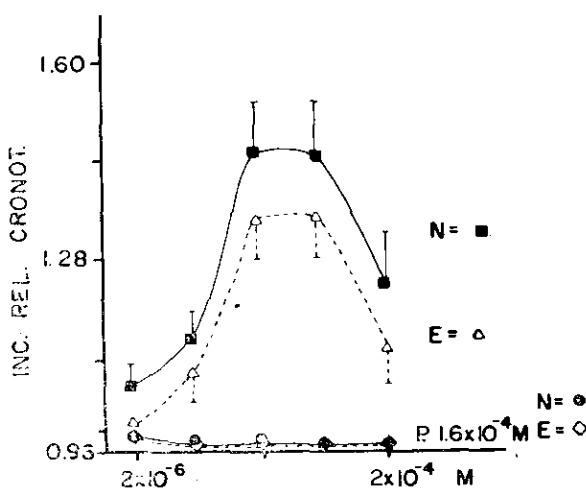


Fig. 5. Se ploteó el incremento relativo en el cronotropismo contra la concentración molar de nicotina en presencia y ausencia de pargilina, la que abolió las respuestas a la nicotina en los animales normales y escorbúticos.

Dado los resultados obtenidos descartamos una modificación en dicho receptor, así como una hipersensibilidad a las drogas simpaticomiméticas directas, concordando así con los resultados de Bhagat y cols., (1966).

Este mismo autor encontró una alteración en el almacenaje de catecolaminas en estos animales con escorbuto experimental, lo que nos hizo pensar en la utilización de aminas simpaticomiméticas indirectas; se seleccionaron la tiramina y la nicotina, porque liberan NE de almacenes distintos, con el fin de observar si las respuestas a las drogas estaban afectadas en el escorbuto, o si lo estaban una más que la otra o si no estaban afectadas ambas.

En nuestros resultados no encontramos diferencias significativas con ninguna de las dos drogas, sin embargo las respuestas a la nicotina están algo más disminuidas que a la tiramina, por lo que podríamos plantear que el almacén de catecolaminas liberable por nicotina está más afectado que el almacén liberable por tiramina.

Por otra parte, podemos plantear, siguiendo a Jonsson que la conversión de NE a partir de DA está disminuida en animales escorbúticos y que los niveles de DA en dichos animales podrían encontrarse aumentados en relación con los normales, liberándose de esta forma como un falso neurotransmisor, con actividad intrínseca sobre el receptor β adrenérgico menor que la noradrenalina (*Tsai y cols., 1967*), y a este hecho podrían deberse las respuestas menores que se observan a la nicotina sin llegar a ser significativas.

Thoa y cols., (1966) reportaron que los niveles de NE en corazón de cobayo escorbútico estaban disminuidos significativamente en relación a los normales, mientras que *Jonsson y cols., (1974)* reportaron que estos niveles estaban disminuidos, pero la diferencia no era significativa. Nuestros resultados coinciden con los de Jonsson.

Los niveles de NE en aurícula de los distintos animales no difieren significativamente, pero en base a estos resultados podemos relacionar esta disminución de los niveles de NE encontrada en los animales escorbúticos con la afectación del almacén de CA liberable por nicotina.

Se observó además en los resultados con Pargilina que la misma incrementó las respuestas cronotropas a la tiramina concordando con

lo reportado por Smith (1966). Sin embargo se observó que la misma dosis de este inhibidor de MAO, bloqueó las respuestas a la nicotina, hecho que nosotros no hemos encontrado reportado en la literatura, dejándose su estudio para posteriores trabajos.

REFERENCIAS

- BHAGAT B., WEST W. AND ROBINSON J. Sensitivity to norepinephrine of isolated atria from scorbutic guinea pigs. *Biochem. Pharmacol.* 15, 1637, 1966.
- BHAGAT B. AND ZEIDMAN H. Increased retention of norepinephrine ^{3H} in vas deferens during nerve stimulation. *Amer. J. Physiol.* 219, 691, 1970.
- CROUT J. R., MUSKUS A. J. AND TRENDELLENBURG N. Effects of tyramine on isolated guinea pig atria in relation to their noradrenaline stores. *Brit. J. Pharmacol.* 18, 600, 611, 1972.
- CROUT J. R., CREVELLING C. AND UDERFRIEND S. Norepinephrine metabolism in rat brain and heart. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 132, 269, 1961.
- CHIANG T. S. AND LEADERS F. E. Cardiostimulatory responses to vagal stimulation, nicotine and tyramine. *J. Physiol.* 211, 1443, 1966.
- FREED M. Method of vitamin assay. 3er. ed. New York. Interscience Publishers. XII. 312, 1966.
- FURCHGOTT R. F. The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors). An Evaluation from the Standpoint of Reception Theory. Cap. 9, 302. Catecholamines Editors: H. Blashko and E. Muscholl. Springer Verlag-Berlín, 1972.
- GLATZEL H. Gibt es eine C-Hypervitaminose. *Med. Lin.* 61, 665, 1966.
- GRANDSON J. H., LUND C. C. AND DELL D. B. Experimental human scurvy. *N. Engl. J. Med.* 223, 353, 1940.
- HOGANS A. Citado en: JACOBOWITZ D., COOPER T., BERNER H. B. Histachemical and chemical studies of the localization of adrenergic and cholinergic nerves in normal and denervated cat hearts. *Circ. Res.* 20, 289, 1967.
- HOLZBAUER M. AND SHERMAN D. F. The distribution of catecholamines in vertebrates. Cap. 5, 110. Editors H. Blaschko and E. Muscholl Springer-Verlag. Berlín, 1972.
- IZQUIERDO J. A., JAFRÉ J. AND ACEBEDO C. The effect of ascorbic acid on the cerebral and adrenal catecholamines content in the male rat, 1968.
- JONSSON G., LAHMANDER S. AND SACHS C. 6 Hydroxydopamine induced degeneration of noradrenaline neurons in the scorbutic guinea pig. *Biochem. Pharmacology*, 23, 2585, 1974.
- KAUFMAN S. AND FRIEDMAN S. Dopamine β hydroxilase. *Pharmacol. Rev.* 17, 71, 1965.

- KUETHER C. A., TELEFORD I. R. AND ROL J. R. *J. Nutrition*, 28, p. 347, 1944.
- SADAVONGVIVAD C. Pharmacological significance of biogenic amines in the lungs: 5 hydroxytryptamine. *Br. J. Pharmac.* 38, 353, 1970.
- SEARS M. I. Vitamin C as a requirement for the storage of norepinephrine by the iris. *Biochem. Pharmac.* 18, 253, 1969.
- SHORE P. AND OLLIN J. Identification and chemical assay of norepinephrine in brain and other tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 122, 295, 1958.
- SMITH C. B. The role of monoamine oxidase in the intraneuronal metabolism of norepinephrine released by indirectly activity sympathomimetic amines or by adrenergic nerve stimulation. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 151, 207, 1966.
- SMITH A. D. AND WINKLER H. Fundamental mechanism in the release of catecholamines. Cap. 13, 544, Catecholamines. Editors H. Blascko and E. Muscholl. Springer-Verlag. Berlin, 1972.
- SMITH J. A. An improved method of ascorbic acid measurement in the ovarian ascorbic acid depletion assay. *J. Endocrinol.* 55, 461, 1972.
- THOA N. B., WURMAN R. J. AND AXELROD J. A. Deficient binding mechanism for norepinephrine in hearts of scorbutic guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121, 267, 1966.
- TSAI T. H., LANGER S. Z. AND TREDELENBURG, N. Effects of dopamine and methyl-dopamine on smooth muscle and on cardiac pacemaker. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 156, 310, 1967.