

Parámetros fisiológicos de las contracciones espontáneas de aurícula aislada de rata y liberación del factor de relajación vascular

Drs. Pedro Martínez, José Martínez, Roberto Correa, Mario Penna, Alejandro Illanes

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Núcleo Bolívar, Universidad de Oriente y Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

RESUMEN

Se ensaya un agente hormonal, vasodilatador, liberado por distensión controlada de las aurículas aisladas de rata. Este principio activo es capaz de inhibir las contracciones del vaso aislado producidas por fenilefrina y norepinefrina. Los parámetros estudiados son: la fuerza contráctil desarrollada, la velocidad del desarrollo de la tensión y la actividad vasodilatadora del factor liberado. Para ello, aurículas aisladas de rata fueron montadas en solución Krebs-Henseleit, con contracción espontánea y sometidas a cargas de 0,5; 1,5; 3,0 g, mediante un transductor de fuerza conectado a un fisiógrafo Grass. Se obtuvo una muestra de la solución que baña la preparación, después de cada carga. Las cargas de 0,5 y 1,5 g producen un aumento significativo de la fuerza contráctil, aumento que no se observa con la carga de 3,0 g. Contrariamente, la muestra extraída después de esta última carga, presenta la mayor capacidad relajadora de los manguitos de aorta contraídos previamente por fenilefrina y norepinefrina. Se concluye que la liberación del factor auricular que relaja los vasos, no es consecuencia del aumento de fuerza auricular producido por su distensión. Sin embargo, no se descarta que en este proceso participen mediadores involucrados por la distensión del miocardio.

Palabras clave: Aurículas. Factor relajador vascular. Fuerza contráctil.

SUMMARY

An hormonal vasodilator agent, released by controlled distension of rat isolated atrium is assessed. This substance inhibits the contractions induced by phenylephrine and norepinephrine in isolated vessels. The parameters studied were: contractile force, velocity of development of tension and vasodilation activity of the released factor. Isolated rat atrium were placed in Krebs-Henseleit solution, with spontaneous contraction and applied charges of 0.5; 1.5; 3.0 g, using a force transducer connected to a Grass physiography. A sample of the solution of the preparation was obtained after each charge. Charges of 0.5 and 1.5 g produce a significant increase in the contractile force, not observed with the charge of 3.0 g. On the contrary, the last sample presented the high relaxin capacity of the aorta rings previously contracted by phenylephrine and norepinephrine. It is concluded that the release of the auricular factor that relax the vessels, is not a consequence of the increase of atrium force produced by its distension. However, other mediator involved in the myocardial distension could participate in this process.

Key words: Atrium. Vascular relaxin factor. Contractile force.

INTRODUCCIÓN

Ha sido descrito un factor natriurético y vasodilatador de las aurículas *in vitro*. Este factor de naturaleza peptídica (1) ha sido ya sintetizado y se le han atribuido diferentes roles (2-8) y cuya liberación se efectuaría cuando se distiende la pared auricular (2,9-12) o ventricular (13). Recientemente hemos descrito un factor auricular de relajación

vascular (FARV) liberado por incrementos en la aplicación de tensión de la aurícula aislada de rata, siendo este factor capaz de antagonizar la contracción inducida por fenilefrina o norepinefrina en aorta aislada de rata (14) .

En este trabajo, presentamos las variaciones de cuatro parámetros fisiológicos de las contracciones auriculares espontáneas, después de las tensiones aplicadas para producir el FARV.

Es ampliamente conocido el hecho de que la distensión del músculo cardíaco produce cambios en los parámetros fisiológicos de la contracción muscular y es posible pensar que la secreción del factor auricular de relajación vascular pudiera guardar relación con las modificaciones de alguno de estos factores.

En este trabajo la muestra M_1 se tomó durante la disección de las aurículas en solución de Krebs-Henseleit (K-H) y las de M_2 y M_3 , una vez que se anudaron las aurículas por sus extremos para ser colocados en el baño. M_0 corresponde a una muestra de solución K-H que no ha entrado en contacto con la preparación de aurícula.

MÉTODO

Para la valoración biológica del factor de relajación vascular obtenido de aurículas de rata, se procedió de acuerdo con el método descrito en un trabajo precedente que utiliza, con este fin, mangitos aislados de aorta de la misma especie (14). La fuerza y frecuencia desarrollada por las aurículas de rata aisladas de acuerdo con la técnica descrita por Penna, et al. (15), fueron medidos por medio de dos transductores de fuerza (Grass FTO3) conectados a un polígrafo Grass modelo 7E (Figura 1), una vez montada la preparación, se aplicó una tensión basal de 0,5 g y se tomó la muestra M_4 de la solución que bañaba la aurícula aislada, las muestras M_5 y M_6 fueron obtenidas separadas después de aplicar cargas sucesivas y acumulativas 1,5 y 3,0 gramos de tensión, respectivamente, y en forma gradual, (Figura 2). Para prevenir la potencial inactivación del factor, todas las muestras fueron tratadas con ácido acético, llevadas a pH = 5, y congeladas a -15°C . En algunos experimentos con aurículas, al comienzo, se agregó a la solución Krebs-Henseleit, lisinopril $3,3 \times 10^{-8}$ mM. Las aurículas presentaron un peso húmedo promedio de $70,69 \pm 3,1$ mg (n= 16).

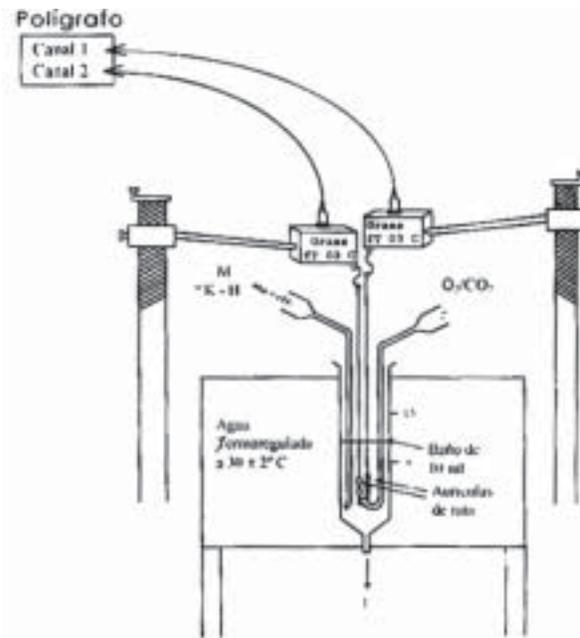


Figura 1.

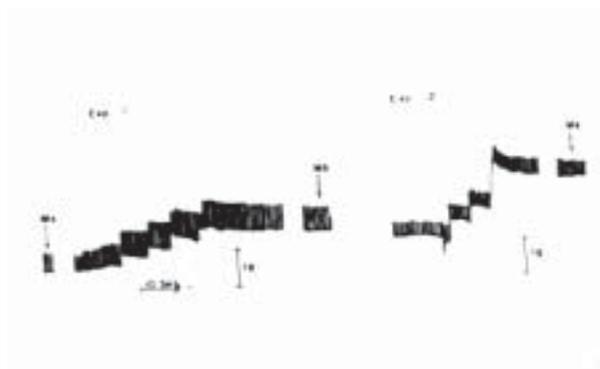


Figura 2. Se presenta un esquema del registro durante la tensión aplicada sobre 2 aurículas aisladas de rata. La tensión diastólica basal fue de 0,5 g. En el experimento 1, la tensión diastólica fue escalonadamente aumentada hasta 1,5 g y en el experimento 2 la tensión diastólica se aumentó a 3 g. M_4 , M_5 y M_6 indican los tiempos cuando las muestras fueron tomadas.

Los resultados fueron obtenidos del registro de contracciones espontáneas en la preparación de aurícula aislada *in vitro*, de acuerdo con los Cuadros 1 y 2, en los que se ilustran los parámetros

fisiológicos medidos, además de la frecuencia de los latidos.

El pH de todas las soluciones fisiológicas durante el estudio de los parámetros fue de $7,40 \pm 0,02$ unidades. Los datos fueron procesados de acuerdo con el texto de estadística de Scheffler (16).

Cuadro 1

Variaciones de los parámetros fisiológicos de las contracciones espontáneas de las aurículas de rata, antes y después de obtener muestra del factor (FARV) M_5

	Antes	P*	Después	N
1. Fuerza de contracción	372,5 ± 43,0	< 0,05	468,1 ± 47,7	15
2. Frecuencia	130,0 ± 4,2	> 0,20	128,8 ± 5,6	15
3. TpT	56,0 ± 5,8	> 0,20	13,2 ± 2,0	15
4. df/dT	12,4 ± 2,2	> 0,20	13,1 ± 2,0	15

Cuadro 2

Variaciones de los parámetros fisiológicos de las contracciones espontáneas de las aurículas de rata antes y después de obtener muestra del factor (FARV) M_6

	Antes	P*	Después	N
1. Fuerza de contracción	378,1 ± 258,2	> 0,20	401,0 ± 40,1	11
2. Frecuencia	130,0 ± 8,3	> 0,20	132,0 ± 8,5	11
3. TpT	52,1 ± 3,3	> 0,20	54,2 ± 4,2	11
4. df/dT	13,9 ± 3,0	> 0,10	10,0 ± 0,8	11

TpT= Tiempo para alcanzar la máxima tensión.

df/dT= Velocidad de desarrollo de la tensión.

* Según test T Student para datos pareados con 2 colas.

Unidades: (1) mg; (2) latidos por min; (3) mseg; (4) g/seg.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, se muestran los parámetros fisiológicos en los 2 minutos anteriores y los posteriores al incremento de tensión por la carga de 1,5 g para la obtención de M_5 , observándose lo siguiente:

Aumento significativo de la fuerza de contracción ($p < 0,05$) sin cambios en la frecuencia de las contracciones, ni incremento de la velocidad de desarrollo de la tensión, como tampoco modificaciones en el tiempo que se alcanza la tensión máxima (TpT).

En el Cuadro 2, se muestran los mismos parámetros del cuadro anterior, pero en los 2 minutos previos y los dos posteriores a la aplicación de 3,0 g de tensión. Durante este último lapso se obtiene la muestra M_6 . Con la aplicación de 3,0 g no hay aumento significativo de la fuerza de contracción (Ver Cuadro). Al igual que en el cuadro anterior los otros parámetros tampoco se modifican.

En este último caso, hay una disminución en el valor de la velocidad de tensión desarrollada por la aurícula con la carga de 3,0 g el cual no alcanza a ser significativo ($p > 0,10$).

DISCUSIÓN

El FARV, medido biológicamente, se libera en forma progresiva con los incrementos de tensión de 0,5, 1,5 y 3,0 g como ya ha sido publicado previamente (14). La carga de 1,5 g ocasiona un aumento significativo de la fuerza contráctil de la aurícula que late espontáneamente y, también produce la liberación del péptido (9-11,14,17).

En el ventrículo, se ha demostrado la capacidad de liberación del FARV lo cual se efectuaría posiblemente a través del rol de una proteína-kinasa C, activada por calcio, en la regulación basal de secreción del FARV desde células ventriculares (13).

Algunas observaciones han indicado que en la aurícula, la dilatación estimula la formación de inositol-1,4,5, trifosfato (18) y que los ésteres de forbol aumentan la secreción de péptido al ser estimulado por el estiramiento. También por el estiramiento, se puede modificar el contenido intracelular de componentes tales como Ca^{+2} , Na^+ , K^+ , cAMP (19). Por tanto, es posible pensar que la liberación del factor esté relacionada con los mecanismos del aumento de fuerza independientemente de la variación de la velocidad de contracción y de la frecuencia, así como con el tiempo necesario para alcanzar la tensión máxima.

De acuerdo con la publicación previa (14), las muestras obtenidas del líquido que baña las aurículas aisladas con la tensión basal de 0,5 g y los incrementos de 1,5 y 3,0 g, relajan los anillos aislados de

aorta previamente contraídos con fenilefrina, llamando la atención que la M_6 obtenida con la carga máxima ejerce mayor antagonismo de la contracción inducida por la amina simpática.

De acuerdo con nuestros resultados, el incremento de tensión observado al aplicar la carga de 3,0 g, no fue seguido de una elevación significativa de la fuerza contráctil desarrollada por la preparación auricular (14). Sin embargo, la muestra obtenida bajo estas condiciones - M_6 - ejerce la mayor capacidad relajadora de los anillos aórticos, mostrando que la liberación del FARV no es consecuencia del aumento de fuerza. Este hecho no descarta que para la liberación del FARV se comparta algún mecanismo responsable del acoplamiento excitación de la membrana y la contracción. En este sentido y de acuerdo con la literatura, la distensión del tejido miocárdico produce alteraciones en el potencial de reposo de la membrana (20,21).

REFERENCIAS

- Standert G, Saper CB, Needleman P. Atriopeptine: potent hormone and potential neuromediator. *Tips* 1985;8:509-511.
- Lang RE, Ganten D, Luft FC, Ruskoaho H, Unger Th. Atrial natriuretic factor, a circulant hormone stimulated by volumen loading. *Nature* 1985;314:264-266.
- Voulteenaho O, Arjamaa O, Ling N. Atrial natriuretic peptide (ANP): rat atria store molecular weight precursor but secrete processed peptides of 25-35 aminoacids. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:82-88.
- Lachance D, García R, Gurkowska J, Cantín M, Thibault G. Mechanism of release of atrial natriuretic factor. I Effect of several agonists and esteroids on its release by atrial minces. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;135:1090-1098.
- Reines EG, Eine P, Burgiser E, Muller FB, Bolli P, Burkart F, Buhler FR. Atrial natriuretic peptide and atrial pressure in patients with congestive heart failure. *N Engl J Med* 1986;315:533-537.
- Mancini J, McGillen NJ, Bates ER, Weder AB, De Boe SF, Grekion RJ. Hormonal response to cardiac tamponade: inhibition of release of atrial natriuretic factor despite elevation of atrial pressure. *Circulation* 1987;76:884-890.
- Fukuda Y, Hirata Y, Yeshini H, Takatsugu K, Kobayashi Y, Yanagisawa M, Maski T. Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;155:167-172.
- Inoue M, Kinura T, Ota K, Shoji K, Ota M, Yoshinaga K. Effect of vasopresion on atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1988;255:449-455.
- De Bold AJ, Berestein HB, Veres AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981;28:89-94.
- Currie MG, Gelier DM, Cole BR, Boyland IG, Yusheng W, Holmberg SW, Needleman P. Bioactive cardiac substances: potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science* 1983;221:71-73.
- Sonnenberg H, Varess AT. Cellular mechanism of release of atrial natriuretic factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;124:443-449.
- Schiebinger RJ, Linden I. Effect of atrial contraction frequency on atrial natriuretic peptide secretion. *Am J Physiol* 1986;251:1095-1099.
- Kinnunen P, Voulteenaho O, Uusinaa P, Ruskaho H. Passive mechanical stretch releases atrial natriuretic peptide from rat ventricular myocardium. *Cir Res* 1992;70:1244-1253.
- Illanes AG, Penna M, Martinez JL. The vascular relaxing effect of a factor released by rat atria distension. *Gen Pharmac* 1993;24:315-319.
- Penna M, Illanes A, Ubila M, Mujica S. Effects of histamine and anaphylactic reaction on isolated guinea pig atria. *Circ Res* 1959;7:521-526.
- Scheffler W. *Bioestadística*. 1ª edición. México: Fondo Educativo Interamericano; 1981;267.
- Schiebinger RJ, Linden I. The influence of resting tension in immunoreactive atrial natriuretic peptide secretion by rat superfused in vitro. *Circ Res* 1986a;59:105-109.
- Von Harsdorf R, Lang RE, Fullerton M, Woodcock EA. Myocardial stretch stimulates phosphatidylinositol turnover. *Circ Res* 1989;65:494-501.
- Morgan HE, Baker KM. Cardiac hypertrophy mechanical, neural, and endocrine dependence. *Circulation* 1991;83:13-15.
- Marban E, Rink TJ, Tsien RW, Tsien RY. Free calcium in heart muscle at rest and during contraction measured with Ca^{+2} sensitive microelectrodes. *Nature* 1980;286:845-850.
- Hilgemann DW, Noble D. Excitation-contraction coupling and extracellular calcium transients in rabbit atrium: reconstruction of basic cellular mechanism. *Proc R Soc Lond (Biol)* 1987;230:163-205.