

GENTAMICINA Y TONO MUSCULAR LISO

Dr. Carlos I. Meirovich* - Dra. Hilda L. Montrull**

RESUMEN

Estómagos aislados de rata *in vitro*, con actividad espontánea, estimulados o no, por colinérgicos, péptidos (bradikina) o $\text{PGF}_{2-\alpha\beta\gamma}$ fueron sometidos a la acción de gentamicina en dosis variables.

Se determinó que ese aminoglucósido relaja en forma dosis-dependiente la musculatura gástrica, disminuyendo la amplitud contráctil. La concentración inhibitoria mínima fluctúa entre 0,01 y 0,06 mg/ml.

Concentraciones de 0,6 mg deprimen casi totalmente la actividad contráctil y el tono gástricos.

El efecto antagonista de $\text{PGF}_{2-\alpha\beta\gamma}$ parece ser competitivo y es dosis-dependiente, mientras que su acción anticolinérgica y antibradikina es no competitiva e inconstante.

INTRODUCCION

La regulación del tono, así como el control fisiológico de otras propiedades de los músculos lisos, obedece a varios sistemas hormonales, autacoides y neurógenos, cuya respectiva influencia varía en función de características propias de cada músculo.^(1-4, 5, 6, 8, 9, 15, 20)

Entre las sustancias que intervienen en esa actividad reguladora, deben señalarse casi siempre prostaglandinas (particularmente PGE_1 , PGE_2 y $\text{PGF}_{2-\alpha\beta\gamma}$), Kininas (en especial bradikina y kalidina), dialinas (sobre todo DGT y dialometrina), adenosina, colinérgicos, adrenérgicos y aminas biógenas (serotonina, etcétera).^(2, 3, 4, 6, 8, 9, 12, 13, 17, 21)

Diversos factores patológicos pueden modificar el tono muscular liso, sea incidiendo directamente sobre la fibra muscular lisa, sea alterando la actividad de los autacoides, hormonas o mediadores químicos, o también liberando sustancias miotrópicas, como la anefrotensina.^(2, 3, 6, 8, 15)

La gentamicina es un antibiótico del grupo de los oligoaminosacáridos o aminoglucósidos, al que pertenecen fármacos como estreptomina, neomicina, kanamicina, paromicina, nómina a la que se incorporó recientemente, entre otros la sisomicina.^(5, 7, 13, 14, 21)

El efecto de bloqueo neuromuscular posináptico y pre-sináptico es ya conocido,^(4, 27) y se evidencia como respuesta sinérgica con otros curarizantes.⁽¹⁸⁾

Observaciones clínicas previas de nuestro grupo de trabajo permitieron detectar acción espasmolítica en cólicos ureterales.^(11, 16)

Esto nos llevó a realizar un estudio farmacodinámico de la acción de los oligoaminosacáridos sobre la musculatura gástrica y uterina *in vitro*.

MATERIAL Y METODOS

1. Ratas "suquia" de ambos sexos provenientes del biotario de Farmacología, pesando 130 ± 10 g, con 24 horas de ayuno y agua *ad-libitum*, fueron sacrificadas por dislocación cervical. Acto seguido se extrajo el estómago, que se lavó con Ringer-Krebs modificado tibio y, tras eliminar los mesos se procedió indistintamente a ensayarlo de inmediato o con-

servarlo en refrigerador a 5° C, para probarlo 24 a 48 horas después.^(9, 11, 16, 17)

- El fundus de cada estómago se seccionó en "Z" según la técnica de Vane^(24, 25, 26) y se montó en un baño termostático a $37 \pm 1^\circ$ C, con 50 ml de solución nutritiva, Ringer-Krebs (mM): Ca Cl_2 0,90, Mg Cl_2 1,05, K PO_4H_2 1,10, K Cl 2,60, Na CO_3H 11,00, Na Cl 130,00, Glucosa 7,20, Agua destilada 1.000 ml. Para ello se empleó un aparato Braun regulable a 0,01° C.
- El medio era gaseado permanentemente con aire corriente proveniente de un aireador a diafragma, y que llega a través de una placa vítrea porosa que suministra una lluvia invertida de burbujas de diámetro homogéneo de 0,1 a 0,4 mm.
- El trozo de tejido se conectó a un transductor de tensión *strain-gage* Statham, regulándose una tensión basal de 0,5 g. Los registros se efectuaron con un polígrafo tipo Dynograph Beckmen RB, calibrado con 5 unidades de sensibilidad, 2 mV de ganancia y 4 unidades de frecuencia. La velocidad del papel fue de 25 mm por minuto. Las preparaciones se estabilizaron durante una hora.
- El número total de ensayos efectuados con preparados de músculo gástrico fue de 87.
- Se utilizaron los siguientes fármacos:
 - Acetilcolina (Roche)
 - Bradikina (Sandoz)
 - Gentamicina (Gentamina Sohering y Rovixide Gador)
 - Histamina (Fluke)
 - Neostigmina (Prostigmin Roche)
 - Prostaglandina ($\text{PGF}_{2-\alpha\beta\gamma}$ Upjohn)
- Se realizaron curvas dosis-respuesta por la adición de dosis crecientes de gentamicina al baño de órganos.

Análisis estadístico

Se determinó el porcentaje de variación para cada ensayo. En cada subclase se obtuvieron término medio, error estándar y significatividad de acuerdo con el test de Student.^(1, 19, 22)

* Profesor Titular, Cátedra de Farmacología Médica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

** Profesor Titular, Cátedra de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba

RESULTADOS

a) La inhibición de la actividad contráctil del músculo liso de estómago es dosis-dependiente (figura 1). La tensión contráctil se recupera después del lavado.

Concentraciones de 0,6 mg/ml de gentamicina deprimen casi totalmente la actividad contráctil y tono del músculo gástrico aislado (figura 2) tras un período de latencia de 30 ± 7 segundos.

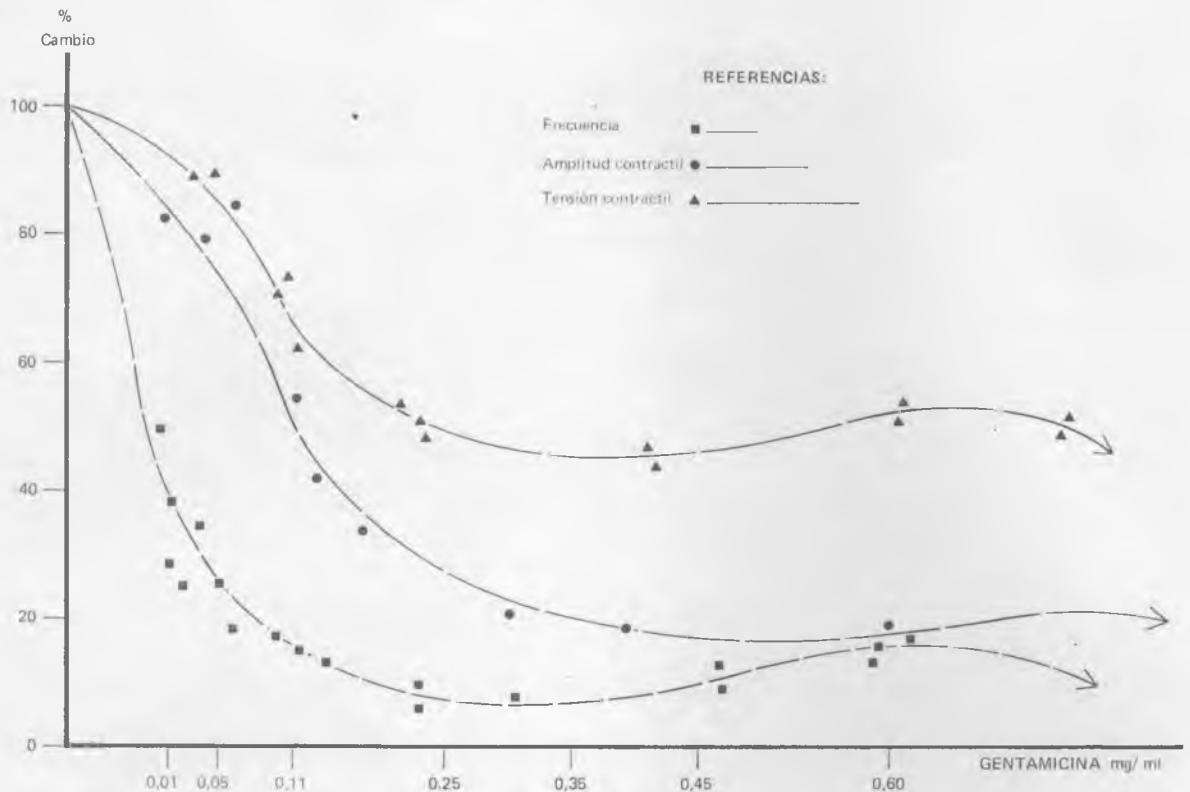


Figura 1. Curva dosis-respuesta del efecto de gentamicina sobre la actividad de la musculatura gástrica *in vitro*.

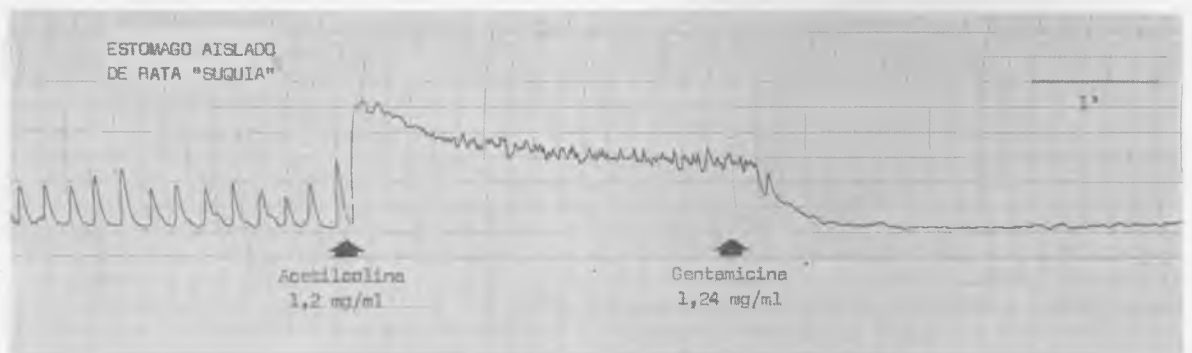


Figura 2. Efecto de gentamicina sobre músculo gástrico de rata, *in vitro*, previamente estimulado con acetilcolina.

La tabla I muestra la actividad inhibitoria de gentamicina sobre la contractilidad espontánea gástrica, así como sobre la estimulación previa inducida por bradikina, neostigmina, $PGF_{2\alpha}$ y acetilcolina.

La concentración inhibitoria mínima fluctúa entre 0,01 y 0,06 mg/ml.

La eficacia de la gentamicina como antagonista de la bradikina parece mayor respecto de la actividad contráctil que sobre el tono.

Frente a estímulos colinérgicos, en cambio, aparecen algunos resultados paradójales. Por el contrario, el antagonismo con PGs sigue una relación dosis-respuesta más ajustada.

b) Estómagos deprimidos por diferentes dosis de gentamicina, recuperaron su actividad por la adición de cantidades variables de bradikina, colinérgicos y $PGF_{2\alpha}$. Como se observa en la tabla II, la eficacia de bradikina fue más evidente, y la respuesta a prostaglandina más uniforme.

TABLA I
Actividad de la gentamicina sobre estómago aislado de rata

Efectos sobre	Concentración en el baño (mg/ml)	Frecuencia contráctil (T.M. %)	Amplitud contráctil (T.M. %)
Actividad Espontánea	0,20±0,03	74±7	46±9
Preestímulo con Bradikina(*)	0,50±0,05	91±4	75±5
Preestímulo con Acetilcolina(**)	0,45±0,10	70±15	80±12
Preestímulo con Neostigmina(***)	0,22±0,07	variable	65±8
Preestímulo con PGF _{2-alfa} (****)	0,30±0,05	35±0,5	50±5

REFERENCIAS

- (*) La dosis estimulante previa de bradikina fue 1 µg/ml.
 (**) La dosis previa de acetilcolina fue 0,8±0,4 µg/ml.
 (***) La dosis previa de neostigmina fue 2,5 µg/ml.
 (****) La dosis previa de PGF fue a 0,5 µg/ml.

TABLA II
Modificación de los efectos de gentamicina sobre estómago aislado de rata

Droga	Concentración en el baño	Frecuencia contráctil	Amplitud contráctil
Bradikina(*)	1 µg/ml	175 %	133 %
Acetilcolina(**)	a) 0,4 mg/ml b) 1 mg/ml	—	—
PGF _{2-alfa} (****)	0,2 µg/ml	25 %	25 %

REFERENCIAS

- (*) La dosis previa de gentamicina fue 1 µg/ml.
 (**) La dosis previa de gentamicina fue 0,23 mg/ml.
 (****) La dosis previa de gentamicina fue de 0,1 mg/ml.

DISCUSION

Los resultados referidos constatan la actividad músculo-trópica de la gentamicina sobre estómago aislado de rata, tanto en condiciones de actividad espontánea como bajo estimulación previa colinérgica, peptídica, prostaglandínica o aminica. El fármaco relaja la musculatura lisa e inhibe su actividad contráctil.

La respuesta es similar a la que producen los adrenérgicos, aunque éstos son aún mucho más potentes. Así, la dosis inhibitoria mínima de adrenalina que hemos constatado es 50 a 100 veces menor que la del aminoglucósido (figura 3). La búsqueda de los posibles mecanismos de acción se realizó tratando de definir la conducta de la gentamicina frente a estimulantes fisiológicos y farmacológicos.^(11, 16)

BIBLIOGRAFIA

- 1 BANCROFT, H.: Introducción a la bioestadística. Ed. Eudeba, 1957.
- 2 BEDATE, H.: Polipeptidos bioactivos. *Av. Terap.*, 5:49-62, 1974.
- 3 DOUGLAS, W. W.: Autacoides. En: Goodman y Gilman, 575-626, 7ª ed. Panamericana, 1986.
- 4 EBASHI, S.: Ca Ion in biological systems. IX Cong. Lat. Farmacol. Terap., Chile, 1982
- 5 GOODMAN Y GILMAN: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 7ª ed. Ed. Panamericana, 1986.
- 6 KITABGI, P.: Effects of Neurotensin on intestinal smooth muscle: Application to the study of structure activity relationships. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 400: 37-55, 1982.

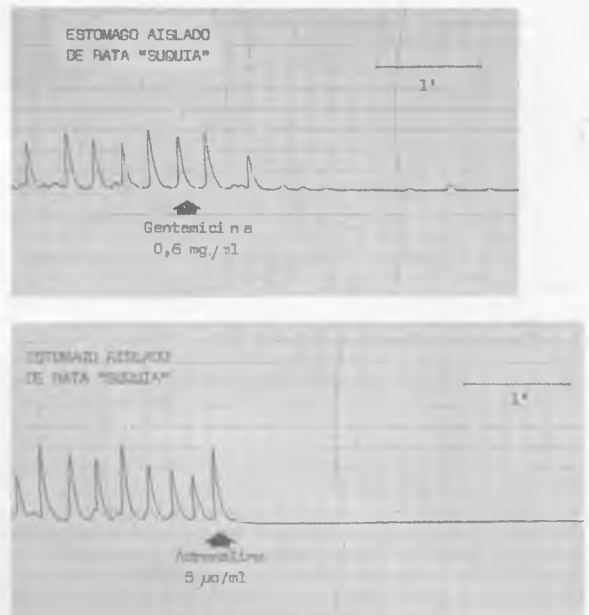


Figura 3. Comparación de efectos inhibitorios sobre la musculatura gástrica de rata producidos por gentamicina y adrenalina.

Uno de los hechos más llamativos es la disparidad de respuesta frente a acetilcolina que, sin embargo, no se reitera frente a un colinérgico indirecto como la neostigmina. La gentamicina se comporta como un antagonista colinérgico completo. Ello puede tener alguna relación con el hecho conocido de la acción curaremiética demostrada para varios oligoaminosacáridos.⁽²³⁾ Frente a la prostaglandina PGF_{2-alfa} el antagonismo observa una más estrecha relación dosis-respuesta.⁽¹⁸⁾

Si relacionamos los conocimientos actuales con los resultados de nuestro experimento, es posible inferir al menos dos hipótesis que orientan sobre el mecanismo de acción de la gentamicina sobre la musculatura lisa.

- a) Antagonismo con la liberación de Ca⁺ de los depósitos intracelulares. Ello frenaría el estímulo a calmodulina y tropomiosina y relajaría el músculo.^(11, 16)
- b) Modificación de la carga eléctrica de la membrana celular al incorporar la carga catiónica del aminoglucósido.

Este mecanismo impediría la despolarización de la membrana y el intercambio iónico, bloqueando el fenómeno contráctil y provocando un período prolongado de relajación.^(11, 16, 21, 27)

RECONOCIMIENTO

Los autores expresan su reconocimiento a la Srta. Gabriela Fernández, por su colaboración en la composición de este manuscrito.

- 7 MARTIN, M. I.; ALFARO, M. I.; y GARCIA DE JALON P. D.: Efecto de Kanamicina y tobramicina sobre el bloqueo neuromuscular inducido por dantrolene. *Arch. Farmacol. y Toxicol.*, vol XII, 129-133, 1986.
- 8 MEIROVICH, C. I.: Farmacología del Sistema Nervioso Autónomo, 2ª ed. Arpón, 1979.
- 9 MEIROVICH, C. I.: Postulación de un sistema regulador de tono y contractilidad de músculo liso. *Rev. Fac. Cienc. Méd. U.N.C.*, 30: 295-301, 1972.
- 10 MEIROVICH, C. I.: Synthèse et liberation de leucine-amino-peptidase per les glandes parathyroidiennes de rat in vitro. *Ann. Biol. Clin.*, 24:831-838, 1966.
- 11 MEIROVICH, C. I. y MEIROVICH, S.: Gentamicin spasmolytic activity. 7th Internat. Cong. of Pharmacol., 371, Paris, 1978.

- 12 MEIROVICH, C. I. y MONTRULL, H. L.: Aislamiento de dialinas de líquido amniótico humano. *Rev. Fac. Med., U.C.C.*, vol III, nº 1, 1986.
- 13 MEISTER, S.: Gentamicina: Análisis y comentarios de publicaciones. Ed. Council Interdisciplin. *Communic. In Medicine*, Mexico, 1974.
- 14 MOLGO, J.; LEMEIGNAN, M.; UCHIYAMA, T. y LECHAT, P.: Inhibitory effect of kanamycin on evoked transmitter release. Reversal by 3,4-diaminopyridine. *Eur. J. Pharmacol.*, 57:93, 1979.
- 15 MONCADA, S.; FLOWER, R. J.; VANE, J. R.: Prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano A₂ y leucotrienos. En: Goodman y Gilman, 627-639, 7ª ed. Panamericana, 1986.
- 16 MONTRULL, H. L.: Actividad espasmolítica de oligoaminosacáridos. Trabajo de Adscripción, 1977.
- 17 MONTRULL, H. L.: Dialinas en líquido amniótico. Tesis Doctoral, 1978.
- 18 PARADELIS, A. G.; TRIANTAPHYLIDIS, C.; MARKOMICHELAKIS, J.; SALPIGIDES, G. y LOGARAS, G.: Neuromuscular blocking activity of aminoglycoside antibiotics, interaction with calcium, muscle relaxants and β -adrenergic blocking agents. 7ª Internat. Cong. of Pharmacol., París, 1978.
- 19 PINTO CORRADO, A.: Efecto difásico inducido por antagonistas del ion calcio. IX Cong. Lat. Farmacol. y Terap., Chile, 1982.
- 20 PROSSER, C. L.: Smooth muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 36:503-537, 1974.
- 21 SANDE, M., y MANDELL, G. L.: Agentes antimicrobianos. Los aminoglucósidos. En: Goodman y Gilman, 1097-1159, 7ª ed. Panamericana, 1986.
- 22 SCHWARTZ, D.: *Methodes statistiques*. Ed. Medicales Flammarion, 1963.
- 23 TAYLOR, P.: Agentes bloqueadores neuromusculares. En: Goodman y Gilman, 225-237, 7ª ed. Panamericana, 1986.
- 24 VANE, J. R.: A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine. *Brit. J. Pharmacol.*, 12:344-349, 1957.
- 25 VANE, J. R.: The relative activities of some tryptamine analogues on the isolated rat stomach strip preparation. *Brit. J. Pharmacol.*, 14:87-98, 1959.
- 26 VANE, J. R.: The use of isolated organs for detecting active substances in the circulating blood. *Brit. J. Pharmacol.*, 23:360-372, 1964.
- 27 VITAL BRAZIL, O., y PRADO-FRANCESCHI: The neuromuscular blocking action of gentamicin. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 179 (1):65, 1969.