

## Efectos del Tiazolidincarboxilato de Arginina sobre la Viscosidad Sanguínea

DANIEL KARTIN, GUSTAVO D'ALESSANDRO, ALBERTO A. GIORGI, BIRUTA SERMUSKLIS y SUSANA B. ALONSO

II Cátedra de Medicina (UBA), Hospital J.A. Fernández, Cerviño 3356, 1425 Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. El Tiazolidincarboxilato de Arginina (TCA), derivado del Acido Tiazolidincarboxílico, es una sustancia fisiológica que actúa como dador directo y simultáneo de grupos sulfhidrilos y metilos, ejerciendo por esta vía una acción protectora sobre las membranas biológicas. Posiblemente puede actuar a nivel de la membrana eritrocitaria, pudiéndose verificar dicho efecto a través de la medición de la viscosidad sanguínea, que depende entre otros factores de la deformabilidad eritrocitaria. Se estudiaron en 15 sujetos sanos los efectos *in vitro* del TCA sobre la viscosidad sanguínea. Se observó una disminución significativa de la viscosidad a todas las velocidades de corte estudiadas (120, 60, 24 y 12  $\text{seg}^{-1}$ ) a los 30, 60 y 90 minutos de su incubación a 37 °C. Fue más significativo dicho descenso a los 30 minutos en todas las velocidades de corte. No hubo modificación del hematocrito.

SUMMARY. "Effects of the Arginine Thiazolidincarboxylate on Blood Viscosity". The Arginine Thiazolidincarboxylate (ATC), a derivative of the Thiazolidine Carboxylic Acid, is a physiological substance that acts as direct and simultaneous giver of sulfhydryles and metyl groups, assuring by this way a protective action on biological membranes. It is possible that it interacts on the erythrocyte membrane and this effect could be detected through meditions of blood viscosity, depending on erythrocyte deformability. The *in vitro* effects on blood viscosity were studied in 15 healthy patients. It was observed a significant decrease in viscosity in all the rates of shear studied (120, 60, 24 and 12  $\text{sec}^{-1}$ ) at 30, 60 and 90 minutes of incubation at 37 °C. The decrease observed was much more significant at 30 minutes in all the rates of shear. No modification of the hematocrite was observed.

### INTRODUCCION

El Tiazolidincarboxilato de Arginina (TCA) es un derivado del Acido Tiazolidincarboxílico (tiazolidin-4-carboxilato del ácido 1-amino-4-guanino-valérico,  $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{S}$ , p.m. 307)<sup>1</sup>, que actúa como dador directo y simultáneo de grupos sulfhidrilos (-SH) y metilos (-CH<sub>3</sub>) y se halla presente en las mitocondrias de los

hepatocitos de los mamíferos<sup>2, 3</sup>.

Los grupos sulfhidrilos ejercen su acción por diferentes vías, siendo las más importantes de ellas la activación de numerosas enzimas y la inactivación de radicales tóxicos peroxidantes. En el caso del TCA estas actividades se manifiestan por una enérgica acción protectora sobre las membranas biológicas, cuya integri-

PALABRAS CLAVE: Tiazolidincarboxilato de Arginina; Viscosidad sanguínea

KEY WORDS: Arginine thiazolydincarboxilate; Blood viscosity

dad es indispensable para asegurar la correcta función celular<sup>1</sup>. Los grupos metílicos forman parte de un "pool" de unidades monocarboxílicas ("active C units"), que actúan por un proceso de transferencia de un compuesto a otro, asegurando, por ejemplo, una adecuada homeostasis de la colina, la metilación del ARN, favoreciendo la síntesis proteica y de la nicotinamida y equilibrando las concentraciones de las formas reducida y oxidada del NAD<sup>1, 4, 5</sup>.

Es conocido que algunos de estos procesos son fundamentales para mantener las propiedades reológicas del glóbulo rojo. Dado que el TCA es una sustancia fisiológica y un dador directo y simultáneo de grupos  $-SH$  y  $-CH_3$ , se postuló que podría actuar a nivel de la membrana eritrocitaria, modificando parámetros reológicos. Para verificar este supuesto no hallado en la literatura se estudió en un grupo de pacientes los efectos *in vitro* del TCA sobre la viscosidad sanguínea.

#### MATERIAL Y METODO

Se extrajo sangre por punción venosa periférica a 15 sujetos sanos, de sexo masculino, de 45 años de edad promedio (30 a 52 años), con valores de viscosidad sanguínea basal normal, que no ingerían ninguna droga conocida que pudiera modificar la viscosidad sanguínea.

Se utilizó EDTA como anticoagulante (1 mg/ml de sangre) y se incubó a 37 °C hasta su utilización. Las lecturas basales se realizaron inmediatamente después de la extracción. Las muestras fueron incubadas con TCA (0,02 mg/ml de sangre), efectuándose el estudio a los 30, 60 y 90 minutos de incubación.

En todas las muestras se determinó:

- a) *hematocrito*: con microcentrífuga Rolco CH 24

- b) *viscosidad sanguínea*: con Viscosímetro Rotacional Conoplato-Wells Brookfield 2,5 LVT con cono de 3° y cubeta a temperatura constante (37 °C).

Las lecturas se realizaron a las siguientes velocidades de corte: 120, 60, 24 y 12  $\text{seg}^{-1}$ . Se efectuó el análisis estadístico de las diferencias apareadas entre los valores obtenidos a los 30, 60 y 90 minutos respecto a los basales.

Se determinó el intervalo de confianza de las diferencias  $d \pm s_d^t 0,05 (n-1)$  ( $2\alpha$ ) y su significación estadística por el método de Student.

#### RESULTADOS

Se halló una disminución significativa de la viscosidad sanguínea a todas las velocidades de corte estudiadas, a los 30, 60 y 90 minutos luego de su incubación *in vitro*. En las tablas 1 a 4 se observa la disminución de la viscosidad sanguínea a 120, 60, 24 y 12  $\text{seg}^{-1}$ . Se encontró mayor significación estadística a las velocidades de corte más altas (120 y 60  $\text{seg}^{-1}$ ), siendo a los 30 minutos la mayor significación estadística a las cuatro velocidades de corte estudiadas.

No se observó modificación significativa del hematocrito.

#### DISCUSION Y CONCLUSIONES

La viscosidad sanguínea depende de múltiples factores, entre los que cabe mencionar:

- a) la concentración de elementos formes, fundamentalmente del glóbulo rojo en situaciones normales, expresado en función de valores del hematocrito;
- b) la deformabilidad y agregación de dichos elementos;
- c) el pH y la temperatura;
- d) la viscosidad del plasma (fundamen-

TIEMPO (minutos)	DISMINUCION DE LA VISCOSIDAD APARENTE (cps)	SIGNIFICACION ESTADISTICA
30	0,83 ± 0,28 (0,13)	< 0,001
60	0,65 ± 0,38 (0,18)	< 0,005
90	0,49 ± 0,33 (0,15)	< 0,010

Tabla 1. Descenso de la viscosidad sanguínea *in vitro* en función del tiempo, a 120 seg<sup>-1</sup>.  
( ): desvío standard.

TIEMPO (minutos)	DISMINUCION DE LA VISCOSIDAD APARENTE (cps)	SIGNIFICACION ESTADISTICA
30	0,79 ± 0,45 (0,21)	< 0,005
60	0,66 ± 0,63 (0,21)	< 0,050
90	0,63 ± 0,56 (0,26)	< 0,050

Tabla 2. Descenso de la viscosidad sanguínea *in vitro* en función del tiempo, a 60 seg<sup>-1</sup>.  
( ): desvío standard.

TIEMPO (minutos)	DISMINUCION DE LA VISCOSIDAD APARENTE (cps)	SIGNIFICACION ESTADISTICA
30	0,48 ± 0,96 (0,45)	< 0,01
60	1,47 ± 1,01 (0,47)	< 0,01
90	1,12 ± 1,06 (0,49)	< 0,05

Tabla 3. Descenso de la viscosidad sanguínea *in vitro* en función del tiempo, a 24 seg<sup>-1</sup>.  
( ): desvío standard.

TIEMPO (minutos)	DISMINUCION DE LA VISCOSIDAD APARENTE (cps)	SIGNIFICACION ESTADISTICA
30	2,34 ± 1,54 (0,72)	< 0,01
60	1,99 ± 1,57 (0,73)	< 0,25
90	1,48 ± 1,41 (0,65)	< 0,05

Tabla 4. Descenso de la viscosidad sanguínea *in vitro* en función del tiempo, a  $12 \text{ seg}^{-1}$ .  
( ): desvío standard.

talmente la concentración de proteínas plasmáticas asimétricas y de alto peso molecular)<sup>6</sup>;

e) el gradiente de velocidad (velocidad de corte).

En el presente trabajo se mantuvo constante la temperatura, el hematocrito y la cantidad de proteínas plasmáticas, por lo que en este caso adquieren valor la deformabilidad y la agregación del glóbulo rojo como parámetro hemorreológico condicionado a variantes, luego de la administración *in vitro* del TCA.

Se debe mencionar que la deformabilidad eritrocitaria adquiere gran importancia a nivel de la microcirculación en metabopatías (diabetes, hiperlipoproteinemias), en las arteriopatías obstructivas, en cardiopatía coronaria, infarto de miocardio, transplantes valvulares, etc.<sup>6</sup>

La deformabilidad del glóbulo rojo depende de:

- la fluidez de la membrana eritrocitaria;
- la viscosidad interna;
- la relación superficie-volumen;

La membrana eritrocitaria está compuesta fundamentalmente por una bicapa

lipídica (fosfolípidos y colesterol) y proteínas (integrales y periféricas). Existen aproximadamente 0,53-0,75 micromoles de fosfolípidos por miligramo de proteínas en la membrana del glóbulo rojo. Se encuentran cuatro clases de fosfolípidos y su concentración relativa es: esfingomielina (SM) 26%, fosfatidilcolina (PC) 28%, fosfatidilserina (PS) 13% y fosfatidiletanolamina (PE) 27%. Los fosfolípidos restantes incluyen liso-PC y fosfoinositol-4-fosfato (formalmente DPI), fosfatidilinositol-4,5-difosfato (formalmente TPI) y sus principales metabolitos relacionados: ácido fosfatídico y diacilglicerol. Existe normalmente una asimetría en la bicapa lipídica con PC catiónica y SM, las cuales se encuentran predominantemente en la parte externa de la bicapa (68% y 70% respectivamente), mientras que la PE aniónica y especialmente la PS están en la cara interna<sup>7</sup>.

En el modelo de Dintenfass, la capa interna de lípidos formaría cristales líquidos cuya estructura podría ser afectada no sólo por el gradiente de velocidad sino también por el "entorno químico" (fuerza iónica, pH, presencia de componentes activos, etc.)<sup>8</sup>.

La fluidez de la membrana depende

de la relación fosfolípidos/colesterol, del grado de insaturación de los fosfolípidos<sup>9</sup>, de la concentración intracelular de ATP y de calcio, etc.<sup>6</sup>.

Metilaciones sucesivas sobre la PE producen un aumento de la PC (trimetilada) con redistribución transmembrana de los mismos a través de movimientos de "flip-flop". Anteriormente, Axelrod *et al*<sup>10</sup> demostraron que un aumento de

la PC de la membrana a partir de PE propicia un incremento en la fluidez de la misma, proporcional al grado de metilación de los fosfolípidos.

Dado que la viscosidad sanguínea en el rango de velocidad de corte estudiada en gran parte del número y deformabilidad del glóbulo rojo, podría explicarse el efecto del TCA a través del aumento de esta última.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alivisi, V., A. D'Ambrosi, A. Loponte, M.L. Tampieri y M. Tralli (1980) *Archiv. per le Scienze Mediche* 137: 731-46
2. Mocchi, N. (1979) *Gaz. Med. It.* 138: 585-606
3. Gasbarrini, G. y M. Bernardi (1982) *Minerva Dietologica e Gastroenterologica* 28: 343-60
4. Calonghi, G., G. Pietrocadeo y C.H. Barni (1980) *Giorn. It. Ric. Clin. e Terap.* 1: 153-66
5. Piro, E., F. Senatore y F. Russo (1981) *Gaz. Med. It.* 140: 537-60
6. Pfaferot, C. y E. Volger (1986) *Medicina Alemana* 27: 482-95
7. Stanley, L. y M.D. Shier (1985) "The Red Blood Cell Membrane", *Clinics in Hæmatology* Vol. 14, Nº 1
8. Dintenfass, L. (1981) "Blood Microrheology Viscosity Factors in Blood Flow, Ischæmia and Thrombosis", London Butterwords, pág. 94
9. Cartwright, I.J., A.G. Pockey, J.H. Galloway, M. Greaves y F.E. Preston (1985) *Atherosclerosis* 55: 267-81
10. Axelrod, J., F. Hirata y W. Strittmatter "Conferencia sobre Transmetilación", Maryland, 16-19 octubre 1978