

# ***Los ácidos poligalacturónicos (Graplasmoid) como substitutos del plasma sanguíneo:***

***I. PESO MOLECULAR Y EFECTOS HEMODINAMICOS***

***Dr. Plutarco Naranjo***

***Dra. Enriqueta Banda de Naranjo***

**Laboratorios LIFE  
Universidad Central  
Quito - Ecuador**

**Reimpreso de "HOMENAJE A ALDO MUGGIA"**

**Volumen Jubilar**

**TALLERES GRAFICOS**



**QUITO - ECUADOR**



# LOS ACIDOS POLIGALACTURONICOS (*Graplasmoid*) COMO SUBSTITUTOS DEL PLASMA SANGUINEO:

## I. PESO MOLECULAR Y EFECTOS HEMODINAMICOS

*Dr. Plutarco Naranjo y Dra. Enriqueta Banda de Naranjo*

Facultad de Medicina, Universidad Central  
y Laboratorios "LIFE". Quito

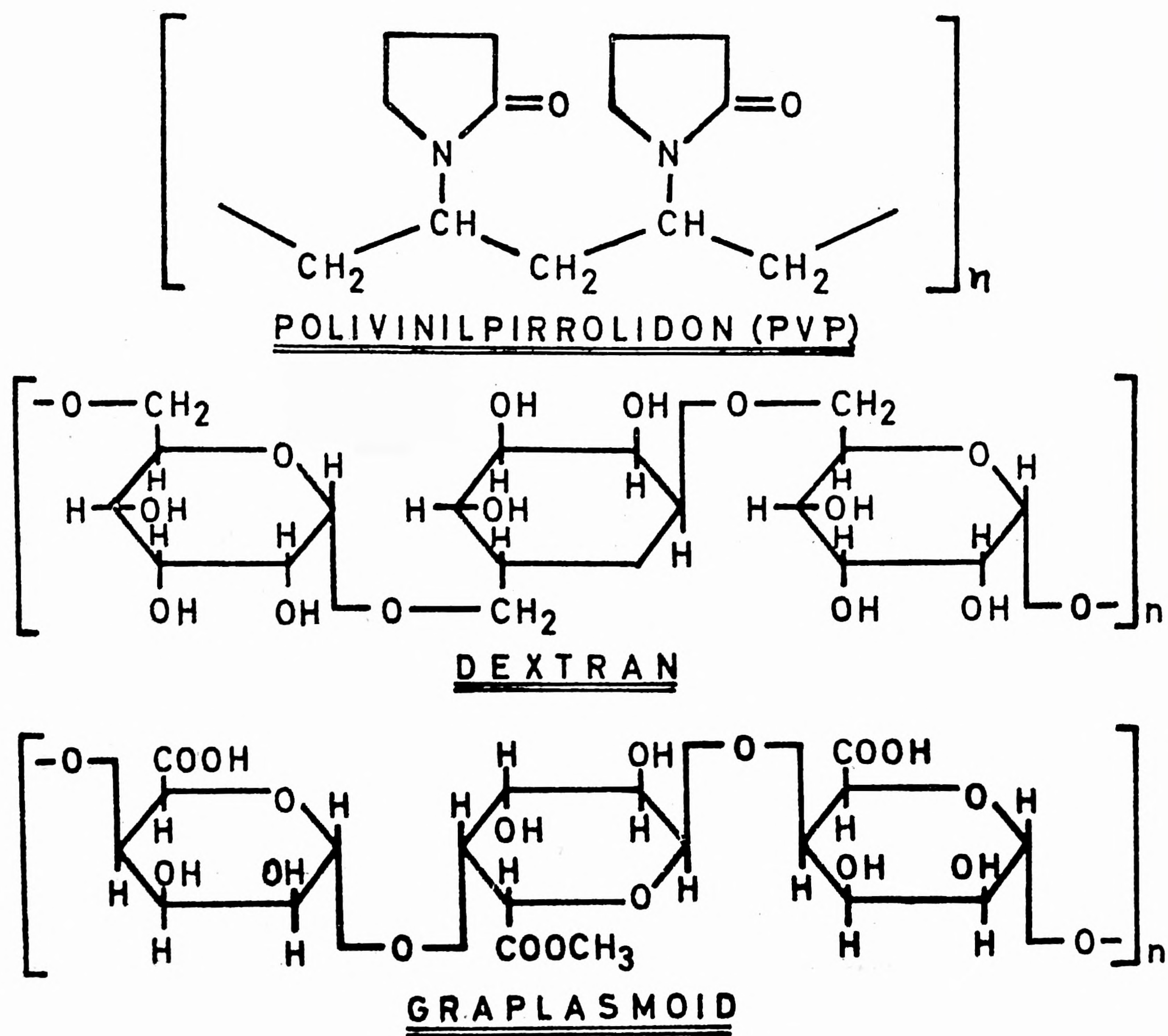
Aunque los primeros ensayos de substitución del plasma sanguíneo con soluciones coloidales no proteicas se hicieron utilizando macromoléculas de más de 100.000 de peso molecular, bajo la hipótesis de que los mejores resultados terapéuticos podrían obtenerse con moléculas de un peso semejante al de las proteínas plasmáticas<sup>1</sup>, en razón de los efectos indeseables que produjeron, se prepararon luego soluciones de dextrán<sup>1-2</sup>, polivinilpirrolidón (PVP)<sup>2-6</sup> y gelatina<sup>3-6</sup>, con moléculas de aproximadamente 65.000 de peso<sup>7</sup>.

El peso y estructura de las moléculas que pueden substituir, en algunas de sus funciones a las proteínas plasmáticas, en particular, el mantenimiento de la presión oncótica y la volemia, tiene importancia considerable.

A mayor peso molecular, el substituto del plasma tiende a retenerse mayor tiempo en el organismo y aún a depositarse en los tejidos<sup>8-12</sup>. Además, tanto en relación al mayor peso molecular como al tipo de enlace químico del polímero, puede presentar mayores propiedades antigénicas capaces de provocar efectos inde-



seables<sup>13-16</sup>. Interesa pues, encontrar un punto óptimo, entre el menor peso molecular posible y una apropiada capacidad oncótica y volémica.



Las primeras experiencias con pectina no fueron del todo favorables, ya que si bien, las soluciones eran capaces de substituir al plasma, eran poco estables y no podrían conservarse por largo tiempo<sup>17</sup>. En la figura 1 se indica la estructura molecular del dextrán, el PVP y la pectina.

Fischl, en nuestros laboratorios, desarrolló un método original para degradar las enormes moléculas de origen natural y obtener polímeros estables de ácidos poligalacturónicos de peso molecular deseado.



La presente serie de ensayos, estuvo destinada a determinar las posibles diferencias farmacodinámicas, de soluciones de pectina de diverso peso molecular. En este artículo se describen los resultados relacionados con el efecto hemodinámico, cambios respiratorios y electrocardiográficos.

## MATERIALES Y METODOS

1.—*Substancias estudiadas.*—Se estudiaron los efectos de seis soluciones de pectina, parcialmente metoxiladas (Graplasmoid), cada una con un peso molecular diferente. El peso y presión oncótica aproximada, se indica en la Tabla I. En cuanto al peso, se trata del promedio molecular, pues cada solución constituyó una mezcla de polímeros. Por ejemplo, en la solución G-YA655, el 90% de las moléculas correspondieron a pesos comprendidos entre 5.500 y 7.500 y el 10% restante a pesos por fuera de estos límites.

T A B L A I

### Algunas características de las pectinas estudiadas

<i>Graplasmoid N°</i>	<i>Promedio peso molecular</i>	<i>Presión oncótica (solución 1%) mm Hg</i>
G-7147	65.000	2,62
G-7146	30.000	5,68
G-7126	14.000	12,30
G-7127	9.600	17,70
G-YA655	6.500	26,10
G-7177	4.500	37,8

En todos los casos la concentración de pectina fue del 1% en solución salina (NaCl) al 0,8%, tamponada.

Para comparación, en una serie de animales se reinyectó la propia sangre heparinizada y en otro se utilizó una solución de glucosa al 5%.



2.—*Procedimiento experimental.*—Las experiencias se realizaron en conejos de 1.300 a 1.600 Gm. de peso. Los animales fueron anestesiados mediante una inyección intraperitoneal de una mezcla de uretano (700 mg/kg. de peso) y pentobarbital sódico (30 mg/kg de peso). Se canularon las dos carótidas, la una para el registro de la presión arterial y la otra para producir el desangre. La presión arterial se registró mediante manómetro Bellow. La respiración se registró mediante un tambor de Marey modificado y el cual estuvo en conexión con un manguito de caucho adosado al tórax del animal. En las extremidades del animal se colocaron, convenientemente, los electrodos para los registros electrocardiográficos.

Las experiencias se realizaron en la siguiente forma. Se permitió un rápido desangre por una de las carótidas hasta una cantidad equivalente al 50% de sangre circulante, es decir de 15 cc/kg., conforme lo hemos determinado en trabajos previos<sup>18</sup>. Este desangre se realizó en un lapso de 50 a 60 segundos. Inmediatamente después y con igual velocidad se inyectó por la misma carótida una de las soluciones en estudio en igual volumen al de la sangre perdida. Tanto la presión arterial como la respiración se controlaron durante las dos horas siguientes. Los registros electrocardiográficos se hicieron antes y después del desangre, inmediatamente después de la venoclisis y de nuevo a los 5, 10, 60 y 120 minutos.

La letalidad se controló igualmente durante las dos horas de duración del experimento agudo.

## R E S U L T A D O S

1.—*Modificaciones de la presión arterial.*— La rápida pérdida de sangre a la que se les sometió a los animales produjo una violenta caída de la presión sanguínea. Cuando el desangre fue equivalente al 50% del total de la sangre circulante, la tensión bajó a niveles equivalentes al 40–45% de lo normal, como puede verse en la Tabla II y Fig. 1. La inmediata substitución de aquel

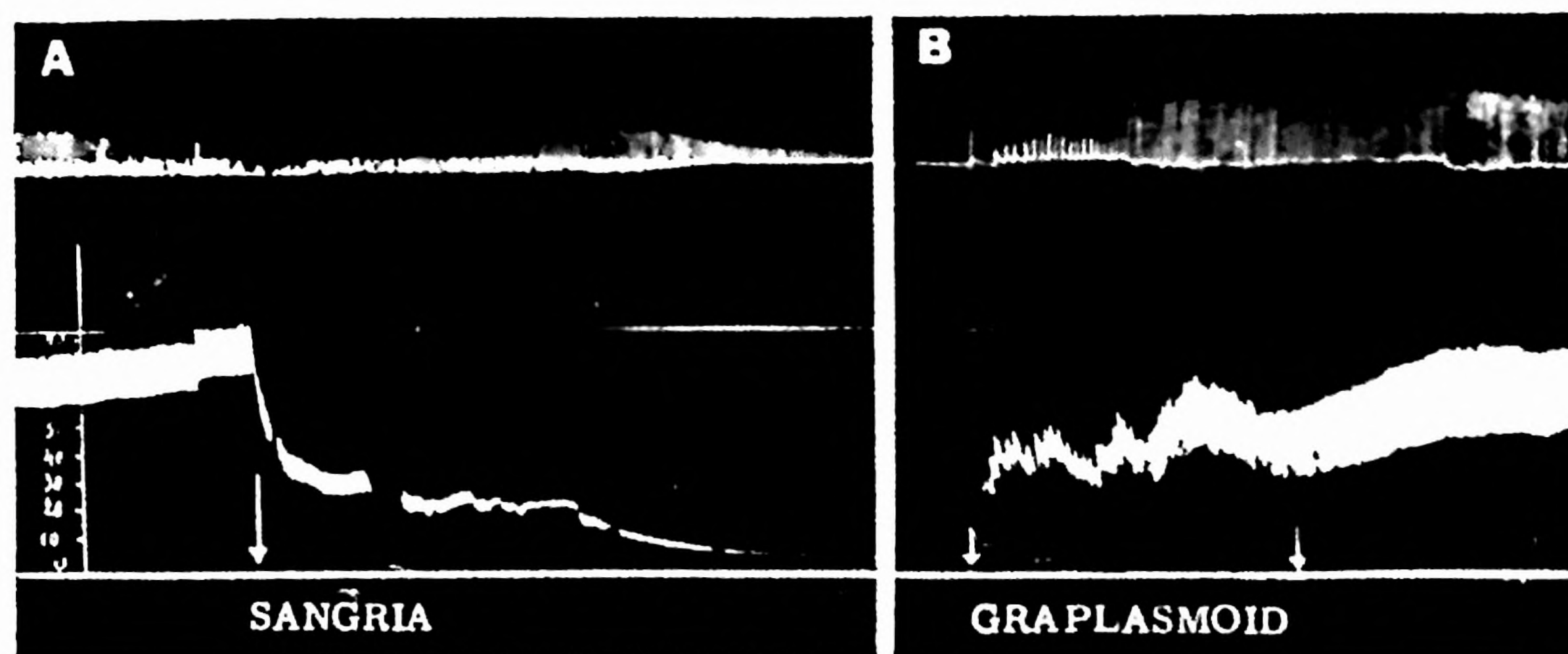


T A B L A I I

**Modificaciones de la presión arterial producidas por el  
desangre y la siguiente venoclisis**  
(presión en milímetros de Hg)

<i>Substancia</i>	<i>Nº animales</i>	<i>Presión arterial</i>		
		<i>Normal Mx - Mn</i>	<i>Después desangre</i>	<i>Enseguida venoclisis</i>
Sangre	5	116 - 107	52 - 49	108 - 100
Graplasmoid (65.000)	7	117 - 108	50 - 48	107 - 99
" (30.000)	5	127 - 117	56 - 52	110 - 98
" (14.000)	6	118 - 107	52 - 49	114 - 103
" ( 9.600)	5	120 - 108	55 - 52	110 - 98
" ( 6.500)	15	116 - 108	50 - 47	108 - 99
" ( 4.500)	5	121 - 108	48 - 45	105 - 91
Glucosa (5%)	5	118 - 108	53 - 49	98 - 90

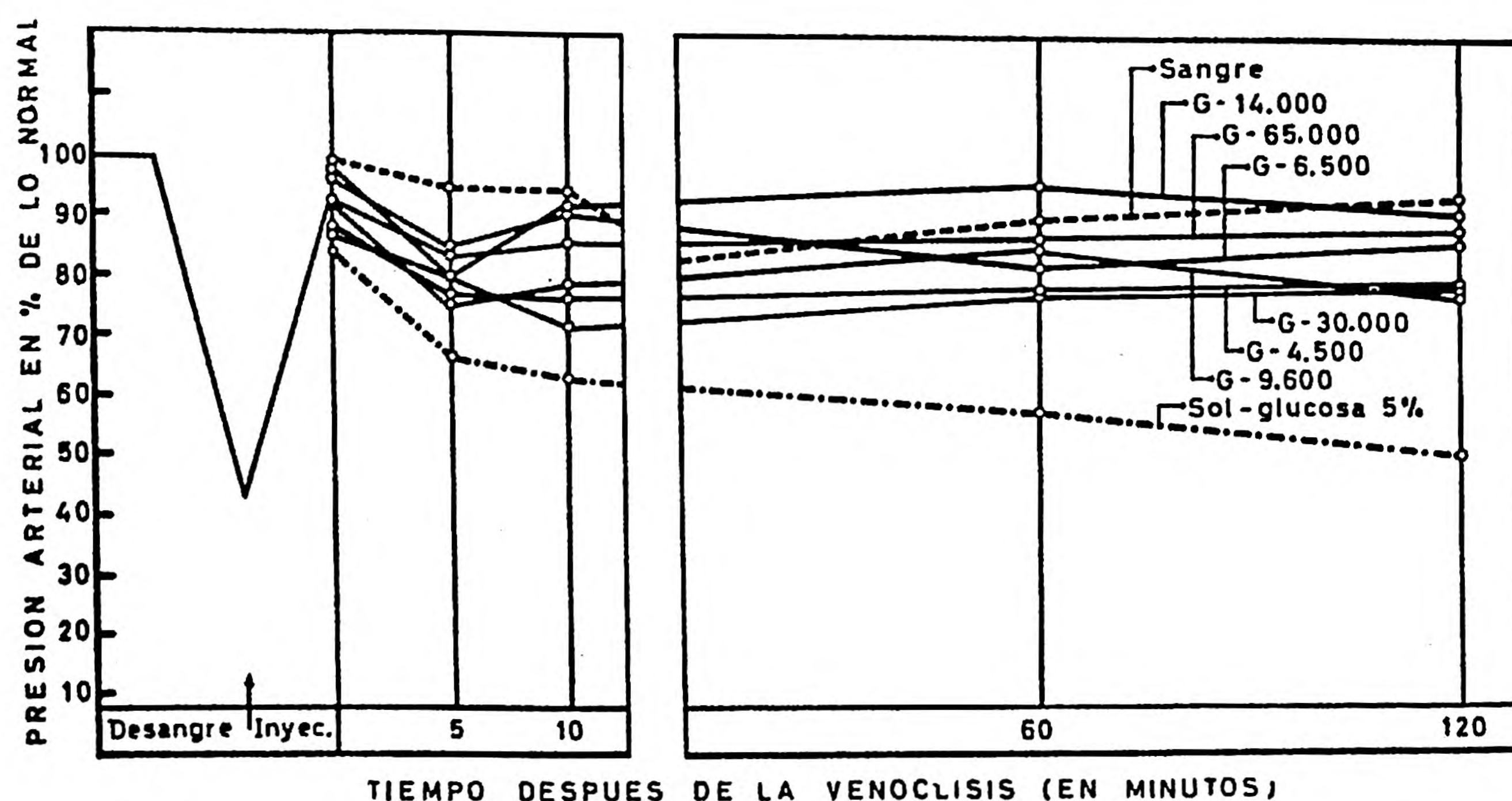
volumen de sangre por el Graplasmoid u otro de los flúidos en estudio, produjo una rápida subida de la tensión arterial a niveles que oscilaron entre 87 y 93% de la normal. Durante los 5 primeros minutos consecutivos a la venoclisis, Tabla III, la tensión arterial bajó de nuevo en pequeño porcentaje para volver a subir en los 5 minutos siguientes. De allí en adelante, hasta las dos



*Fig. 1* **Modificación de la presión arterial y la respiración por el desangre y la administración de Graplasmoid.**  
Quimograma efectuado con conejo de 1.500 Gm., anestesiado con una mezcla de uretano y pentobarbital.



horas, la presión arterial siguió subiendo, en el caso de la reinyección de sangre y continuó disminuyendo en el caso de la solución de glucosa. Con las soluciones de Graplasmoid, aunque el tipo de curva fue semejante, hubo variaciones individuales, como se ve en la Tabla III, variaciones que para la comparación han sido convertidas en porcentaje de lo normal. (Fig. 2).



*Fig. 2* Modificaciones de la presión arterial cuando la sangre fue sustituida por un fluido. Cada punto del diagrama representa el valor promedio de la presión sistólica, del respectivo grupo de conejos.

El Graplasmoid que correspondió al peso molecular de 14.000, fue el que produjo un mayor efecto repositivo de volemia, en tanto que el de 4.500 de peso molecular fue el que produjo el menor efecto, ocupando una posición intermedia el de 6.500.

En la Tabla IV se encuentran los valores de las diferencias de efecto y de la probabilidad de significatividad de tales diferencias de los tres tipos de preparaciones. Se ve entonces que las diferencias entre las soluciones coloidales de 4.500 y 14.000 de peso molecular, fueron significativas con excepción del control realizado a los 5 minutos de la venoclisis. En cuanto a las diferencias entre las preparaciones de 6.500 y 14.000, sólo a los 60 minutos de control hubo una diferencia significativa, las demás no lo fueron. Y, finalmente, en cuanto a las diferencias entre las soluciones de 6.500 y 4.500, en 3 momentos del control, fueron significativas y en 2 no.



T A B L A I I I

Evolución de la presión arterial después de la venoclisis  
(presión en mm Hg)

Substancia	Tiempo después de la venoclisis (minutos)			
	5	10	60	120
Sangre	97 - 90	95 - 89	104 - 95	106 - 97
Graplasmoid (65.000)	96 - 87	98 - 88	103 - 93	100 - 90
" (30.000)	97 - 86	96 - 86	100 - 89	100 - 89
" (14.000)	100 - 90	107 - 96	114 - 105	105 - 96
" ( 9.600)	92 - 81	95 - 84	102 - 90	92 - 81
" ( 6.500)	98 - 90	104 - 95	99 - 90	96 - 88
" ( 4.500)	97 - 86	86 - 78	95 - 86	95 - 85
Glucosa (5%)	77 - 70	71 - 66	62 - 56	48 - 42

Como se ve, en las tablas mencionadas anteriormente, estas diferencias de efecto aunque significativas en ciertos casos, no fueron de gran magnitud. En cambio, siempre se observó la tendencia a mantenerse la presión arterial en un nivel más o menos estable y próximo al normal durante más de dos horas, resultado que fue bastante similar al obtenido con la sangre. Este efecto difiere radicalmente del producido por las soluciones cristaloides, caso en el cual, como puede verse en la Figura 1, la presión arterial a las dos horas, vuelve al nivel al que llegó después del desangre o aún baja a un nivel inferior.

T A B L A I V

Valor de la diferencia de efecto entre soluciones de varios pesos moleculares.

- I. entre 4.500 y 14.000
- II. entre 6.500 y 14.000
- III. entre 4.500 y 6.500

Tiempo después de la venoclisis	SECCION I		SECCION II		SECCION III	
	Diferencia	P <sub>1</sub>	Diferencia	P <sub>2</sub>	Diferencia	P <sub>3</sub>
Inmediatamente	9.6%	<0.5	3.6%	0.6	6.0%	<0.05
5 minutos	5.0%	0.3	1.0%	0.8	4.0%	0.3
10 "	21.5%	<0.01	1.1%	0.8	19.4%	<0.02
60 "	18.1%	<0.01	15.6%	>0.02	2.5%	0.4
120 "	11.5%	<0.05	7.0%	>0.5	7.0%	<0.05

P = Valor de la probabilidad de que la diferencia sea estadísticamente significativa.



2.—*Modificaciones de la frecuencia respiratoria.*— La frecuencia respiratoria en conejos anestesiados por la mezcla uretano pentobarbital fue de  $45 \pm 4$  por minuto. Los cambios de frecuencia se encuentran en la Tabla V, en donde se ve que el desangre no modificó substancialmente dicha frecuencia. La venoclisis produjo un moderado aumento de la frecuencia respiratoria, la misma que tendió a normalizarse en breve lapso; a los 60 minutos volvió ya a los valores iniciales. Esta aceleración de la respiración fue semejante con los 6 tipos de Graplasmoid y las diferencias no fueron significativas.

T A B L A V

Número de respiraciones por minuto antes y después del desangre y de la venoclisis con Graplasmoid

Substancia	Nº animales	Desangre		Después de la inyección				
		Antes	Después	Enseguida	5'	10'	60'	120'
Graplasmoid (65.000)	7	45	45	51	51	49	47	44
" (30.000)	5	44	43	57	56	55	43	45
" (14.000)	6	45	45	60	61	58	46	46
" ( 9.600)	5	41	40	53	53	50	42	43
" ( 6.500)	15	46	44	60	61	60	44	45
" ( 4.500)	5	48	49	58	59	58	45	44

3.—*Modificaciones electrocardiográficas.*— El estudio electrocardiográfico se realizó sobre las 3 derivaciones estándares. Se encontró lo siguiente:

a.—Inmediatamente después del desangre no hubo modificaciones mensurables; inconstantemente hubo un leve aumento de la frecuencia cardíaca.

b.—Después de la venoclisis tampoco hubo modificaciones, con excepción de un moderado aumento del voltaje de R, en las 3 derivaciones, fenómeno que no fue constante en todos los animales. También en forma inconstante se observó moderado aumen-



to de la frecuencia. No se hallaron diferencias imputables a la administración de las soluciones de pectina.

4.—*Letalidad.*—En el grupo de animales en el que se ensayó la solución de 65.000 de peso molecular, hubo 2 muertos, lo que equivale al 28% de letalidad. En el grupo correspondiente a la solución de 30.000 de peso molecular, hubo un muerto, lo que da un 20% de letalidad, en los demás grupos la letalidad, fue cero. En el grupo de animales que recibió sangre no hubo mortalidad y en los que recibieron la solución glucosada, la letalidad fue del 40%.

## D I S C U S I O N

Los resultados descritos revelan que soluciones coloidales de ácidos poligalacturónicos parcialmente metoxilados, de peso molecular entre 65.000 y 4.500, son capaces de mantener la volemia hasta las dos horas que duró el experimento agudo, cuando dichas soluciones se utilizaron para reemplazar el 50% de sangre circulante. Las diferencias de efecto volémico, en relación a la diferencia de peso molecular, a la concentración de la macromolécula en la solución correspondiente y a la respectiva presión oncótica, aunque estadísticamente son significativas, en algunos casos, la magnitud de la diferencia es relativamente pequeña. La diferencia entre el polímero que dió el máximo efecto volémico, que corresponde al de 14.000 de peso molecular, cuyo efecto volémico es muy semejante al de la sangre misma y el que dió el menor efecto volémico, que corresponde al de 4.500 de peso molecular, a las dos horas de control, no va más allá de un 20%. En cambio, cuando el 50% de la sangre circulante es reemplazada por una solución de glucosa al 5%, a las dos horas de substitución de la sangre, la presión arterial y la volemia se reducen a cifras próximas a los valores correspondientes al momento consecutivo a la hemorragia. Además, la mortalidad, es relativamente crecida.

En tratándose pues, de polímeros del ácido galacturónico que constituyen macromoléculas no globulares, no sería preciso un alto peso molecular para conferir a sus soluciones coloidales



las convenientes propiedades de un sustituto del plasma sanguíneo. De entre las 6 soluciones estudiadas, tanto por su presión oncótica, muy próxima a la del plasma sanguíneo, como por los efectos hemodinámicos producidos, la preparada con el polímero de 6.500 de peso molecular, sería la que mejor satisface las condiciones de un buen sustituto de plasma sanguíneo. Efectivamente, la tolerancia de los animales al polímero de este peso fue excelente, y el mantenimiento de la volemia fue bastante semejante al que se consigue con la reinyección de la sangre misma.

### C O N C L U S I O N E S

- 1) Cuando a los conejos se los somete a un violento desangre, equivalente al 50% de la sangre circulante, la presión arterial desciende a menos del 50% de lo normal.
- 2) Cuando la sangre perdida es reemplazada por sangre misma, la presión arterial vuelve rápidamente a valores próximos a lo normal y se mantiene así a lo largo de dos horas de estudio.
- 3) Cuando en vez de sangre se administró una solución coloidal de ácidos poligalacturónicos parcialmente metoxilados, el efecto hemodinámico fue semejante al producido con la sangre.
- 4) Los efectos producidos por 6 soluciones, cada una con diverso peso molecular, desde 65.000 hasta 4.500, fueron cualitativamente semejantes aunque cuantitativamente hubo una diferencia de hasta un 20% de presión arterial entre las soluciones que produjeron el mayor efecto hemodinámico y la de menor peso molecular, que produjo el menor efecto hemodinámico.
- 5) El polímero de 6.500 de peso molecular fue muy bien tolerado por los animales en experiencia y produjo un suficiente efecto hemodinámico, bastante próximo al producido con la sangre.
- 6) La pérdida del 50% de la sangre circulante no modifica significativamente la frecuencia respiratoria. La venoclisis con cualquiera de los tipos de Graplasmoid estudiados, produce una moderada aceleración que dura menos de una hora.
- 7) No se aprecian modificaciones electrocardiográficas ni por el desangre ni por la venoclisis de las sustancias mencionadas.



- 8) En los grupos de animales en los que se ensayaron las dos soluciones correspondientes a los pesos moleculares más altos hubo una letalidad del 20 al 28%, en los demás la letalidad fue cero.

#### S U M M A R Y

- 1).—When rabbits were subjected to a fast bleeding equivalent to 50% of the circulating blood the arterial pressure falls to less than 50% of the normal.
- 2).—When the lost blood was substituted by blood, the arterial pressure returned quickly to values close to the normal and were maintained so during 2 hours of observation.
- 3).—When instead of blood, a colloidal solution of polygalacturonic acids partially methoxylated, was administered, the haemodynamic effect was similar to that produced with blood.
- 4).—The effects produced by 6 solutions of different molecular weights, varying from 65,000 to 4,500 were qualitatively similar in spite of the fact that quantitatively there was a difference of as much as 20% of arterial pressure between the solutions producing the greatest haemodynamic effect and the solution of lowest molecular weight which produced the smallest haemodynamic effect.
- 5).—The polymer with a molecular weight of 6,500 was tolerated well by the experimental animals and produced a sufficient haemodynamic effect which was close to that produced with the blood.
- 6).—The loss of 50% of the circulating blood does not modify significantly the respiratory frequency. The venoclysis with any of the studied types of Graplas-moid, produced a moderate acceleration which lasted less than one hour.
- 7).—One does not observe electrocardiographic modifications neither by the bleeding nor by the venoclysis with the mentioned substances.



8).—In the groups of animals in which there were tested the 2 solutions corresponding to the highest molecular weights there was recorded a lethality of 20 to 28%. In the other groups there was not any mortality.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.—PULANSKI, E. J., *Arch. Surg.* 63: 745, 1951.
- 2.—MORRISON, A.E.; LUNDY, J.S., y ESSEX, H.E.: An evaluation of replacement fluids in laboratory animals following control hemorrhage. *Circulation* 5: 208, 1952.
- 3.—HAMILTON, J.I.; HOAR, W.S., y HAIST, R.E.: A comparison of the efficacy of different infusion media in shock. *Canad. J. Research, Sect. E.* 24: 31, 1946.
- 4.—LOCKE, W.: An experimental method for evaluating blood substitutes; report on saline, plasma, polyvinyl alcohol and isinglass. *Science* 99: 475, 1944.
- 5.—HAMILTON, A.G.; PARKINS, W.M., y ALTZER, F.: A comparison of ten infusion fluids in the treatment of moderate and severe hemorrhage in animals. *Am. J. Physiol.* 150: 641, 1947.
- 6.—SCOTT, C.C.; WORTH, H.M., y ROBBINS, E.B.: Comparative value of some blood substitutes used for treatment of experimental shock. *Arch. Surg.* 48: 315, 1944.
- 7.—WILKINSON, A.W.: Dextran without reactions. *Lancet* 271: 604, 1956.
- 8.—VICKERY, A.L.: The fate of dextran in tissues of the acutely wounded; a study of the histologic localization of dextran in tissues of Korean battle casualties. *Am. J. Path.* 32: 161, 1956.
- 9.—WRAGE, K.H.: Untersuchungen über die Unterschiede in der Speicherung von Periston und Periston N. *Frankf. Zschr. Path.* 66: 246, 1955.
- 10.—HECKNER, F.; GEHLMANN, F.: Cytologische Beobachtungen zur Kollidon-Speicherung. *Zschr. ges. exp. med.* 127: 213, 1956.
- 11.—DOVELL, F. W.; DETRICK, L. E.; HIGHBY, B. H.; DEBLEY, V., y HALEY, T. J.: Tissue deposition of PVP in normal and irradiated rabbits. *Arch. int. pharmacodyn.* 106: 151, 1956.
- 12.—FEKETE, G.; GYERMEK, L.; LAZAR, I.: Studies on the storage of dextran. *Acta Physiol. Hung.* 8: 147, 1955.
- 13.—TARROW, A.B.; PULASKI, E.J.: Reactions in man from infusion with dextran. *Anesthesiology* 14: 359, 1953.
- 14.—MAURER, P. H.: Dextran, an antigen in man. *Proc. Soc. Exper. Biol.* 83: 879, 1953.
- 15.—KABAT, E. A.; BERG, D.: Dextran, an antigen in man. *J. Immunol.* 70: 514, 1953.
- 16.—KABAT, E. A.; BERG, D.: Production of precipitins and cutaneous sensitivity in man by injection of small amounts of dextran. *J. Immunol.* 70: 471, 1953.
- 17.—NARANJO, P.: *Manual de Farmacosología*. Edit. Universitaria, Quito, 1965.
- 18.—NARANJO, P., y BANDA DE NARANJO, E.: Molecular weight and plasma substituting effectiveness of 3 plasma expanders. *Proceed. Soc. Exper. Biol. & Med.* 101: 12, 1959.