

ESTUDI DELS MECANISMES ADRENÈRGICS EN EL CONDUCTE DEFERENT

Comunicació presentada el dia 21 d'abril de 1966, pels doctors

JOSEP LAPORTE

Professor adjunt de Farmacologia a la Facultat de Medicina
de Barcelona

i

FRANCESC JANÉ

Professor ajudant de Farmacologia a la Facultat de Medicina
de Barcelona

Fa ja bastants anys que WADDELL publicà el primer estudi sobre la resposta del conducte deferent aïllat a diferents tipus de drogues. No fou fins quaranta anys més tard, però, que LEACH sistematitzà en certa manera els resultats obtinguts en emprar simultàniament agonistes i antagonistes en el mateix preparat. Més recentment, l'interès pel conducte deferent com a reactiu farmacològic ha estat desvetllat pels treballs de HUKOVIC amb la introducció del preparat hipogàstric/conducte deferent, on estudia els efectes de l'estimulació simpàtica. A partir d'aleshores han estat força nombrosos els treballs publicats sobre aquesta qüestió. Ara: en cap de tots aquests treballs hom no fa referència a la possible existència de diferències qualitatives en les respostes del conducte deferent aïllat en relació amb l'espècie animal. Més ben dit: en alguns d'ells fins i tot hom diu textualment que els preparats de rata i de cobai responen de manera pràcticament idèntica als diferents tipus de drogues assajades. I, de fet, tal com hem assenyalat en treballs anteriors, hi ha diferències remarcables entre aquests dos preparats: mentre el deferent de cobai respon amb contraccions regulars i proporcionals a la concentració d'agonista tant amb els adrenèrgics com amb els colinèrgics, el deferent de rata és pràcticament insensible als colinèrgics i, en canvi, respon amb una extraordinària uniformitat a les substàncies amb acció simpaticomimètica o adrenèrgica. Voldríem avui ocupar-nos d'alguns aspectes de l'ús del conducte deferent aïllat de rata per a l'estudi dels mecanismes adrenèrgics.

1. RESPOSTA DEL DEFERENT DE RATA ALS SIMPATICOMIMÈTICS

No insistirem sobre els detalls tècnics que ja hem exposat en d'altres publicacions. Diguem només que emprem rates mascles d'uns 150-200 grams de pes, que la dissecció del deferent és molt senzilla i que el conducte, en tota la seva extensió (3-4 cm), és muntat en un bany d'òrgan aïllat, amb líquid de Krebs gasificat amb carbogen (95 per 100 d'oxigen i 5 per 100 d'anhídrid carbònic). La temperatura del bany és mantinguda a 30° C, i les contraccions del preparat són registrades per mitjà d'una palanca que dóna una amplificació de 8 o 10 vegades. Les substàncies a

assajar són afegides al bany amb una xeringa i, una vegada registrada la resposta corresponent, hom procedeix al rentat del preparat que, generalment, torna a la seva posició inicial.

El conducte deferent de rata així preparat es contreu en presència de concentracions de catecolamines (adrenalina o noradrenalina) que van d' 1×10^{-7} a 2×10^{-5} g/ml, de manera proporcional a la concentració emprada en cada cas. Les contraccions són més aviat lentes i solen tardar de 2 a 3 minuts a quedar completades (fig. 1). En l'aspecte d'aquestes contraccions, el deferent de rata es distingeix del de cobai, ja que aquest respon d'una manera molt més ràpida i, per tant, a la mateixa velocitat del quimògraf, la pujada és molt més vertical.

El deferent de rata respon també, en general, als simpaticomimètics indirectes, és a dir, a aquelles substàncies adrenèrgiques que no actuen directament sobre els receptors, sinó que promouen una alliberació de les catecolamines endògenes a partir dels dipòsits situats a les terminacions nervioses. La tiramina, que és el prototipus d'aquesta mena de substàncies, produeix contraccions, potser una mica més irregulars en el seu aspecte (fig. 2), però en tot cas proporcionals a la concentració afegida. En canvi, amb els productes tipus amfetamina, considerats per alguns autors com a simpaticomimètics mixtos (és a dir, actius alhora sobre els receptors i sobre els dipòsits de catecolamines), les contraccions provocades són més irregulars, molt lentes, i no acostumen a anar seguides —quan la concentració emprada ha estat elevada— d'un retorn del preparat a la línia de base i a un repòs total com s'esdevé amb els simpaticomimètics directes (fig. 3). Sembla com si aquests productes tipus amfetamina produïssin una mena de permeabilització de la membrana de la terminació nerviosa i, com a conseqüència, hi hagués una mena d'escapada o fugida lenta dels neurotransmissors allí dipositats.

2. RESPOSTA DEL DEFERENT DE RATA RESERPINITZADA

Per tal d'aprofundir en l'estudi de la resposta del deferent aïllat als simpaticomimètics hom pot procedir a diversos artificis. Un dels més simples és la utilització de conductes deferents procedents d'animals prèviament reserpinitzats. Hom sap que una de les principals accions de la reserpina, des del punt de vista bioquímic, és precisament de buidar els dipòsits de catecolamines existents a l'organisme. En el cas del deferent era, doncs, de preveure que, a l'igual que havia estat observat en d'altres preparats, la prèvia reserpinització de l'animal —és a dir, el buidament de dipòsits— modificaria la resposta a alguns dels productes adrenèrgics. En efecte: en el conducte deferent procedent d'una rata reserpinitzada

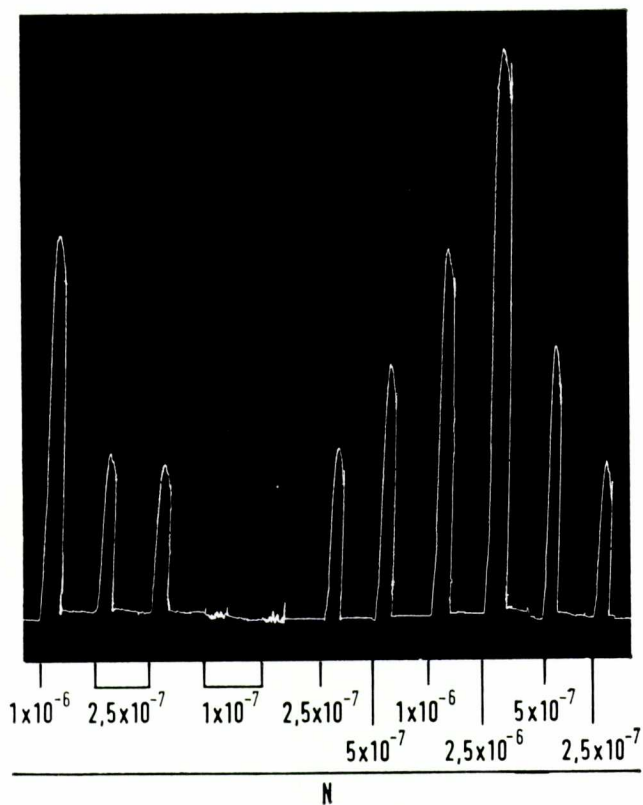


FIG. 1. — Respostes del conducte deferent aïllat de rata normal a diferents concentracions de noradrenalina (N), expressades en g/ml

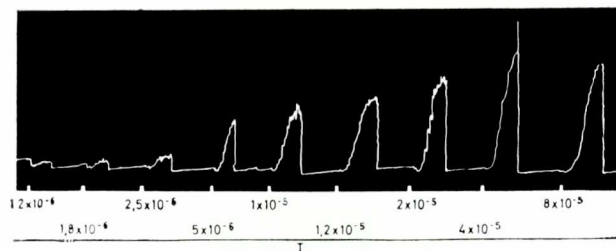


FIG. 2. — Contraccions produïdes en conducte deferent de rata normal per diverses concentracions de tiramina (T).
Mateixes condicions que en la Fig. 1

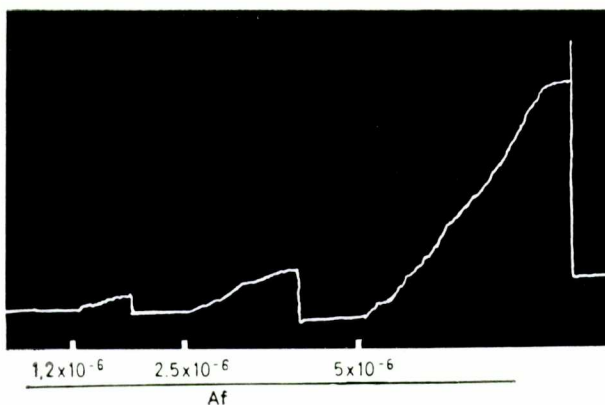


FIG. 3. — Respostes del conducte deferent de rata normal a diferents concentracions d'amfetamina. Mateixes condicions que en les figures anteriors

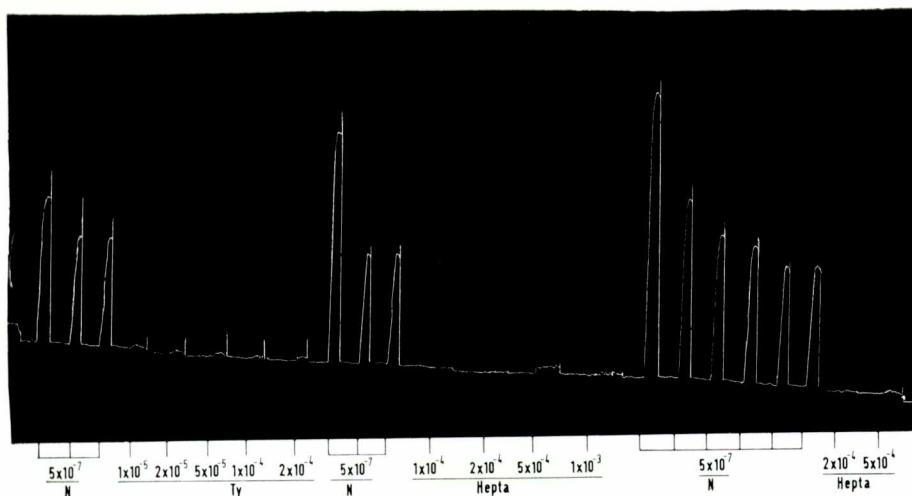


FIG. 4. — Conducte deferent de rata prèviament reserpinitzada (1 mg/kg intramuscular, vint-i-quatre hores abans del sacrifici). Bones respostes a petites concentracions de noradrenalina (N) (5×10^{-7} g/ml) i nul·les a altes concentracions de tiramina (T) i d'heptaminol (Hepta)

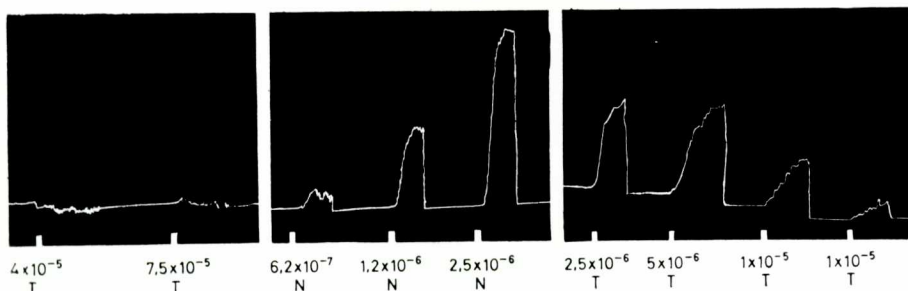


FIG. 5. — Conducte deferent de rata prèviament reserpinitzada (1 mg/kg intramusculars, 24 hores abans del sacrifici). No hi ha respostes a altes concentracions de tiramina (T); en canvi, hi ha bones respostes a diverses petites concentracions de noradrenalina (N). Després d'incubar el preparat durant 30 minuts amb noradrenalina (N) ($2,5 \times 10^{-6}$ g/ml) hi ha algunes respostes decreixents a concentracions de tiramina (T) que abans eren inactives

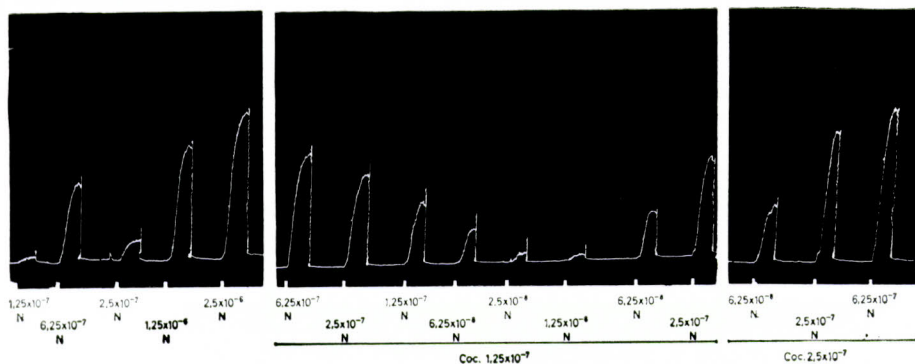


FIG. 6. — Acció potenciadora de l'efecte de la noradrenalina (N) per part de la cocaïna (Coc.), posada al bany 2 minuts abans de la primera potenciació proporcional a la dosi de cocaïna (Coc.). Conduïte deferent de rata normal

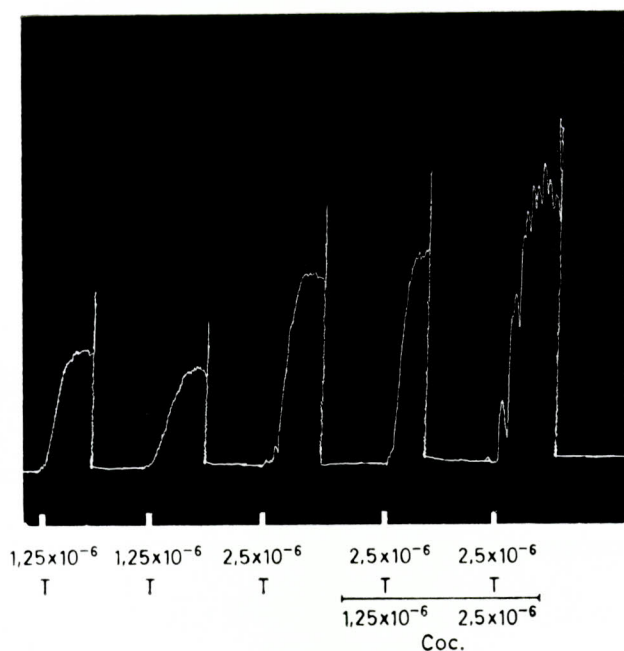


FIG. 7. — Efecte de la cocaïna (Coc.) sobre les contraccions provocades per la tiramina (T) en les mateixes condicions de la figura anterior

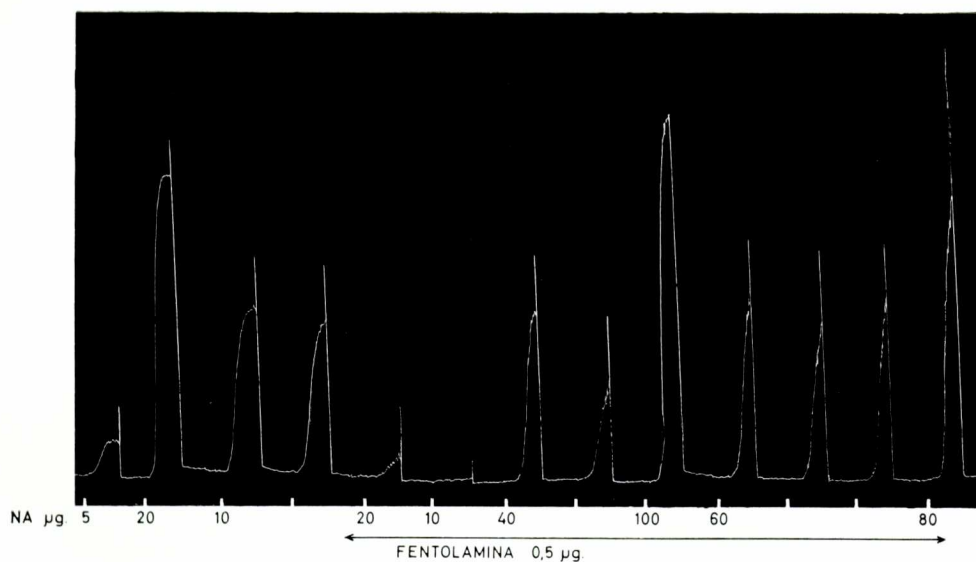


FIG. 8. — Valoració de l'efecte antagonista fentolamina-noradrenalina ((N) en el conducte deferent aïllat de rata. Quantitats expressades en micrograms

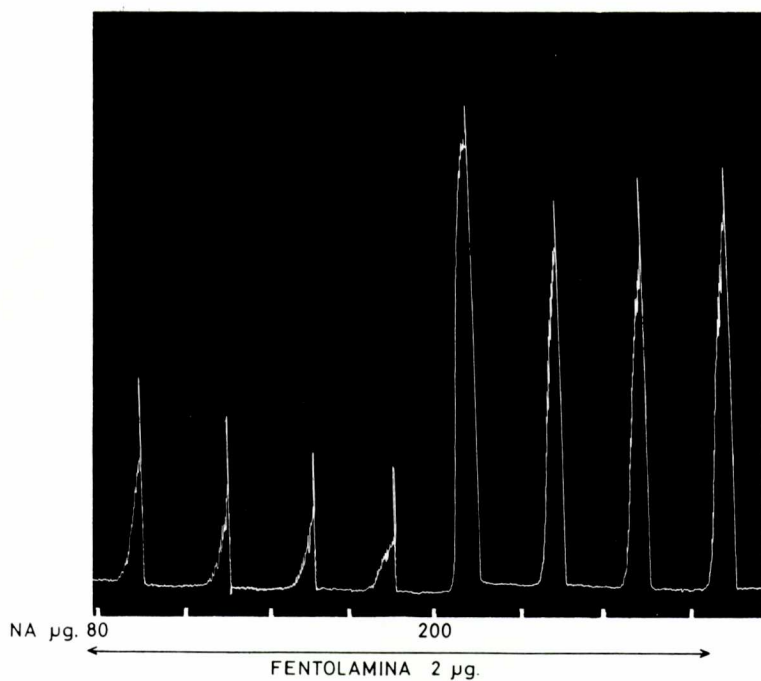


FIG. 9. — Un altre exemple de l'antagonisme fentolamina-noradrenalina (N en el conducte deferent de rata. El mateix preparat de la figura anterior sotmès a l'acció de concentracions encara més grans de fentolamina

(1 mg/kg de reserpina, per via intramuscular, 24 hores abans del sacrifici) la tiramina —simpaticomimètic indirecte típic— no hi té cap mena d'acció ni a concentracions molt superiors a les actives en el preparat procedent d'un animal normal. Tampoc l'heptaminol, un altre simpaticomimètic indirecte, no hi exerceix cap acció (fig. 4). En canvi, com ja era d'esperar, les catecolamines —que actuen directament sobre el receptor— tenen la mateixa acció en el preparat procedent d'un animal reserpinitzat que la que tenien en el deferent de rata normal. I no solament això: quan un deferent de rata reserpinitzada és incubat durant 15 o 30 minuts amb noradrenalina (concentració, 5×10^{-6} g/ml) readquireix de manera transitòria una certa sensibilitat a la tiramina. L'explicació d'aquest fenomen és ben senzilla si tenim en compte que, normalment, una part de les catecolamines exògenes són captades per la terminació nerviosa. És a dir, les terminacions adrenèrgiques buides de catecolamines de l'animal reserpinitzat són recarregades, bé que molt parcialment, amb la noradrenalina amb què incubem el preparat. Si després hi afegim tiramina, aquesta, que abans era inactiva, ja pot produir ara una alliberació de la noradrenalina que ha estat emmagatzemada durant la incubació. De tota manera, aviat són acabades aquestes reserves, i al cap de poques contraccions la tiramina deixa de fer efecte (fig. 5). Amb l'animal normal aquest fenomen d'esgotament de l'acció no es produeix perquè els dipòsits superficials sobre els quals actua la tiramina són omplerts cada vegada que es buiden, amb catecolamines procedents dels dipòsits principals situats a l'interior de la terminació que, naturalment, en l'animal reserpinitzat són també buits i no podem omplir amb una simple incubació amb noradrenalina.

Amb els simpaticomimètics tipus amfetamina les coses s'esdevenen de manera pràcticament idèntica que amb la tiramina: manca d'efecte en el deferent de rata reserpinitzada i restauració passatgera amb incubació amb noradrenalina. Al nostre entendre, això demostra que totes aquestes amines simpaticomimètiques estimulants no poden ésser considerades simpaticomimètics mixtos. En efecte: si una part del seus efectes fos deguda a una acció directa sobre el receptor, continuarien tenint una certa activitat en l'animal reserpinitzat, i, tal com hem vist, no és així. Hem de creure, doncs, que tots els seus efectes són indirectes i, de fet, conseqüència d'acions exercides sobre la membrana de la terminació nerviosa.

3. INFLUÈNCIA DE LA COCAÏNA SOBRE LA RESPOSTA ALS ADRENÈRGICS

Ja fa temps que és coneguda la influència exercida per la cocaïna sobre els efectes dels adrenèrgics. A l'animal sencer, mentre potencia els efectes hipertensors de l'adrenalina, més aviat antagonitza els dels sim-

paticomimètics indirectes com, per exemple, la tiramina. Aquests efectes de la cocaïna han estat interpretats admetent que dificulta la captació, és a dir, el pas dels simpaticomimètics exògens a l'interior de la terminació adrenèrgica. Així hom explica que en no poder ésser captada part de la noradrenalina, n'hi hagi més de disponible per a anar als receptors, i així, amb la mateixa dosi, els efectes són més grans. En el cas dels simpaticomimètics indirectes la situació seria diferent: en no poder penetrar a l'interior de la terminació i no haver-hi, per tant, alliberació de les catecolamines emmagatzemades, és d'esperar que no hi hagi efectes.

En el conducte deferent de rata la cocaïna exerceix, per si sola, uns efectes irregulars, però, en general, en augmentar les concentracions afegides arriba un moment que provoca sèries de contraccions irregulars sense que hom pugui establir una relació entre la dosi i la intensitat de la resposta. Ara: concentracions de cocaïna de l'ordre de $1,25 \times 10^{-7}$ que no provoquen aparentment cap resposta, potencien clarament les contraccions produïdes per l'adrenalina o la noradrenalina (fig. 6) d'una manera passatgera. En canvi, la cocaïna no produeix cap modificació de la resposta del preparat a la tiramina (fig. 7). Sembla, doncs, almenys pel que fa referència al conducte deferent, com si la cocaïna impedisís l'*uptake* o captació de la noradrenalina per a la terminació sense, però, dificultar ni l'entrada de tiramina ni la sortida de catecolamines.

4. ALTRES PROCEDIMENTS PER A L'ESTUDI DELS MECANISMES ADRENÈRGICS

Hi ha d'altres substàncies que produeixen accions potenciadores encara més marcades sobre els efectes dels adrenèrgics en el deferent de rata. Especialment amb la desmetilimipramina CUENCA i col. han obtingut resultats molt demostratius i de gran interès quant a l'estudi del mecanisme d'acció d'aquesta i d'altres drogues psicoactives.

Des d'un altre punt de vista, i tal com assenyalava LEACH, el deferent és també un preparat molt escaient per tal de determinar accions adrenolítiques. En els nostres primers treballs sobre aquest tema ja hem insistit sobre aquest punt en demostrar l'exactitud que hom pot assolir en estudiar l'antagonisme noradrenalina/fentolamina seguint el mètode de PATON (figs. 8 i 9).

Finalment, hem d'assenyalar que en el mateix preparat és possible també d'estudiar l'acció dels adrenèrgics actius sobre els receptors beta, malgrat que siguin els alfa els que, en ésser ocupats, determinin la contracció del preparat. En efecte: tal com han assenyalat d'altres autors, sembla que els efectes de l'adrenalina —que es fixa a la vegada als receptors alfa i als beta— podrien ésser modificats si aquests últims fossin prè-

viament ocupats per substàncies amb una afinitat específica envers ells.

En definitiva, creiem que els resultats exposats i moltes altres recerques que tenim en marxa sobre el mateix tema demostren que el conducte deferent aïllat de rata és una preparació extremament senzilla que ens serveix tant per a fer valoracions acurades de les activitats adrenèrgica o adrenolítica de qualsevol substància, com per a portar a terme una anàlisi dels mecanismes adrenèrgics.

BIBLIOGRAFIA

- CUENCA, E.; VALDECASAS, F. G. i RODRÍGUEZ, L.: *Modificación por desmetilimipramina (DMI) de la acción estimulante de adrenalina y noradrenalina sobre el conducto deferente aislado de rata y de cobaya*. «Libro de Actas de la IX Reunión Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas», p. 159. Pamplona, junio, 1965.
- HUKOVIC, S.: *Responses of the isolated sympathetic nerve-ductus deferens preparation in the guinea-pig*. «Brit. J. Pharmacol.», 16: 188 (1960).
- LAPORTE, J.; JANÉ, F. i VALDECASAS, F. G.: *Some aspects of the rat and guinea-pig isolated vas deferens preparation*. «Med. Pharmacol. Exp.», 15: 483 (1966).
- LEACH, G. D. H.: *Estimation of the drug antagonisms on the isolated guinea-pig vas deferens*. «J. Pharm. Pharmacol.», 8: 501 (1956).
- PATON, W. D. M.: *A theory of drug action based on the rate of drug-receptor combination*. «Proc. Roy. Soc. (Biol.)», 154: 21 (1961).
- WADDELL, J. A.: *The pharmacology of the vas deferens*. «J. Pharm. exp. Therap.», 8: 551 (1916).