

EFECTO DE VARIAS DROGAS SOBRE LA PREPARACION HIPOGASTRICO DEFERENTE (*)

Dr. RUPERTO ESCALERAS

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

La existencia de un mecanismo colinérgico que interviene activamente en la liberación de adrenalina y noradrenalina de los depósitos localizados a nivel de las terminaciones de los nervios simpáticos, ha sido recientemente sugerida por Buen¹ y Burn y Rand².

Esta hipótesis tiene una amplia base experimental, según se deduce de los resultados obtenidos por varios autores³⁻⁵, en diferentes preparaciones farmacológicas con inervación simpática: membrana nictitante, preparación esplénica, preparación útero-hipogástrica y otras.

En 1961, Hukovic⁶ describió la técnica para la preparación aislada del conducto deferente con su correspondiente nervio motor hipogástrico.

Investigaciones recientes han confirmado que la respuesta contráctil del conducto deferente a la estimulación del nervio hipogástrico depende, en último término, de la liberación de un

mediador químico de naturaleza simpática⁶⁻⁷.

El presente trabajo tuvo por objeto estudiar, en esta preparación, el efecto de los mediadores químicos del simpático y del parasimpático con sus correspondientes antagonistas (adrenalina-fentolamina y acetilcolina-atropina). Se juzgó de interés investigar también el efecto del calcio y del bario dadas sus especiales propiedades de aumentar la excitabilidad de la fibra muscular lisa.

MATERIALES Y METODO

Se utilizaron cobayos machos de 400 a 500 gm. de peso. Una vez sacrificado el animal se disecó y aisló el conducto deferente del lado derecho con su respectivo nervio motor hipogástrico.

Esta preparación fue colocada en una copa de perfusión de 50 ml. de capacidad y conteniendo una solución Tyrode a 37°C., areada constantemente con una mezcla de oxígeno al 95% y CO₂ al 5%. El nervio hipogástrico

(*) Trabajo presentado en el Primer Congreso Latinoamericano de Farmacología, Bogotá, (Colombia), Noviembre de 1964.

fue colocado sobre las asas del platino de un electrodo bipolar conectado a un estimulador electrónico de ondas rectangulares (American Electronic Labs, Modelo 76). El nervio fue estimulado rítmicamente cada dos minutos y durante tres segundos consecutivos; el potencial empleado en todas las series experimentales fue constante: 10 voltios; 2 ms. y 80 pulsos por segundo. Las contracciones del conducto deferente fueron registradas en un quimógrafo mediante una palanca de inscripción frontal. Las drogas fueron añadidas al líquido de perfusión en un volumen no mayor de 0,25 ml. y las dosis están expresadas según la concentración final obtenida en el baño. Cuando fue necesario lavar la preparación se efectuaron 3 cambios de líquido de perfusión con un minuto de intervalo.

Se efectuaron 3 series experimentales:

1) **Aumento de la contracción.**—Se investigaron individualmente diversas concentraciones de adrenalina, acetilcolina, calcio y bario, con el objeto de determinar la concentración efectiva media (CE_{50}) para producir un aumento del 50% en la altura de contracción del conducto deferente, con respecto a los trazados previos obtenidos como controles.

2) **Disminución de la contracción.**—Asimismo, en ensayos individuales, se utilizaron concentraciones progresivamente mayores tanto de atropina como de fentolamina hasta obtener las dosis que producen inhibición

completa de la respuesta contráctil de la preparación en un tiempo no mayor de 30 minutos.

3) **Antagonismo.**—En dos series de ensayos diferentes se investigó si las drogas que producen aumento de la altura de contracción; adrenalina, acetilcolina, calcio y bario antagonizan tanto a la atropina, como a la fentolamina empleadas en concentraciones que producen inhibición completa en un tiempo no mayor de 30 minutos.

Drogas utilizadas.—Acetilcolina clorhidrato, solución al 1%. Adrenalina bitartrato, solución al 1%. Atropina sulfato, solución al 0,1%. Calcio cloruro, solución al 10%. Bario cloruro, solución al 5%. Fentolamina, solución al 1%. Las soluciones originales fueron mantenidas en refrigeración y las concentraciones indicadas se refieren al peso de la sal correspondiente.

RESULTADOS

1) **Aumento de la contracción.**—La adrenalina, la acetilcolina, el calcio y el bario produjeron aumento de la altura de contracción del conducto deferente. Este aumento, en general, fue proporcional a la concentración que cada una de estas drogas alcanzó en el líquido de perfusión. La CE_{50} , para incrementar en un 50% la altura de contracción registrada gráficamente, fue la siguiente:

Adrenalina	4,7 x 10 ⁻⁶ por cc.
Acetilcolina	6,1 x 10 ⁻⁶ por cc.
Calcio	4 x 10 ⁻⁴ por cc.
Bario	5,2 x 10 ⁻⁵ por cc.

Inmediatamente después de administrada la adrenalina se observó un aumento progresivo de la altura de contracción. Cuando se utilizó en concentración 5×10^{-6} , la máxima intensidad del efecto se obtuvo a los 10 minutos para luego retornar gradualmente a la altura normal obtenida en el registro control, Fig. 1A.

La acetilcolina en concentración 5×10^{-6} produjo un aumento inmediato de la altura de contracción; luego de 5-7 minutos se inició, asimismo, un retorno gradual a la altura de contracción normal.

El calcio produjo también efecto inmediato; este efecto persistió hasta después de 2 horas que la preparación per-

maneció bajo control. Para obtener un retorno a la normalidad fue necesario realizar 3 lavados consecutivos, Fig. 1-13.

El bario, en concentración 1×10^{-4} presentó la máxima intensidad de su efecto a los 15 minutos; este efecto se mantuvo constante durante las 2 horas, tiempo máximo de observación. Para obtener la recuperación o sea una altura igual a la del registro control, fue necesario realizar varios lavados, a la preparación.

2) **Disminución de la contracción.**—La atropina y la fectolamina produjeron disminución de la altura de contracción del conducto deferente;

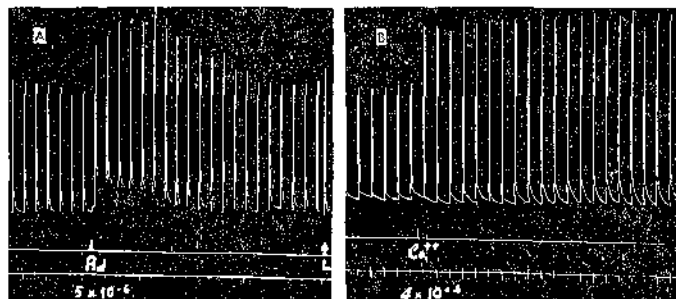


Fig. 1.—Contracciones del conducto deferente aislado de cobayo en respuesta a estimulación supramaximal del nervio hipogástrico (10 v. 2 msec. 60 pulsos por seg. a 2 minutos de intervalo).— Capacidad de la copa de perfusión: 50 cc.— Señal de tiempo: cada 2 minutos.

A: Aumento de la altura de contracción por adrenalina (Ad.) 5×10^{-6} gm/cc. En L: lavado de la preparación.

B: Otra preparación. Aumento de la altura de contracción por cloruro de calcio (Ca . .) 4×10^{-4} gm/cc.

TABLA I

CORRELACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE ATROPINA Y DE FENTOLAMINA CON EL PORCIENTO DE INHIBICION, EN LA PREPARACION HIPOGASTRICO-DEFERENTE DE COBAYO

DROGA	Concentración en el baño por ml.	% de inhibición (*)
Atropina	2×10^{-6}	26
	4×10^{-6}	50
	8×10^{-6}	72
	1.6×10^{-5}	81
	3.2×10^{-5}	100
Fentolanina	1.25×10^{-4}	10
	2.5×10^{-3}	42
	5×10^{-4}	55
	1×10^{-3}	83
	2×10^{-5}	100

(*) Porcentaje de inhibición considerado a los 30 minutos luego de la administración de la droga.

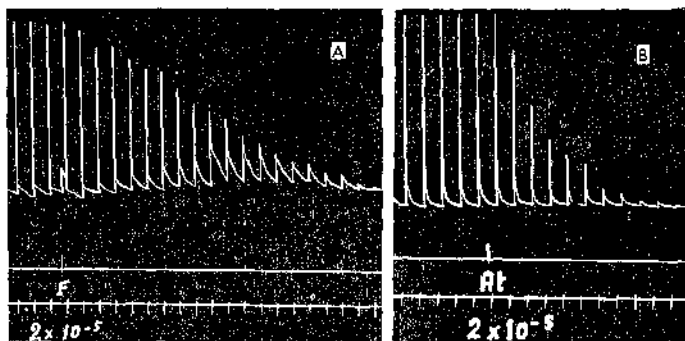


Fig. 2.—Contracciones del conducto deferente aislado de cobayo.—Detalle de la preparación como en la Fig. 1.

A: Disminución de la altura de contracción por fentolanina (F) 2×10^{-6} gm/cc.
 B: Otra preparación; disminución de la altura de contracción por atropina (At) 2×10^{-5} gm/cc.

este efecto inhibitorio fue asimismo proporcional a la concentración empleada. Tabla I.

La fentolamina en concentración de 2×10^{-5} (Fig. 2A) y la atropina en concentración de 2×10^{-5} (Fig. 2B), produjeron inhibición completa de la respuesta motora del conducto deferente. La recuperación en ambos casos se obtuvo luego de repetidos lavados y después de un tiempo promedio de 120 minutos.

Antagonismo:

Frente a la fentolamina.—Máxima concentración inhibitoria: 2×10^{-6} /ml. La acefilolina y la adrenalina empleadas aún en concentraciones superiores a la CE_{50} no antagonizaron el efecto inhibitorio total de la fentolamina. En los casos en que se administró adrenalina, antes de obtener la inhibición máxima

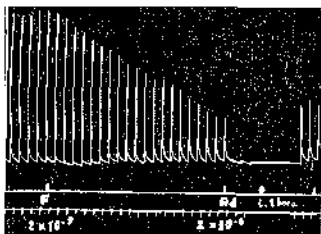


Fig. 3.—Contracciones del conducto deferente aislado de cobayo.—Detalle de la preparación como en la Fig. 1.—Disminución de la altura de contracción por fentolamina (F) 2×10^{-6} gm/cc. y potenciación del efecto inhibitorio por adrenalina (Ad.) 2×10^{-6} gm/cc. En L: lavado de la preparación durante una hora.

de la fentolamina se observó, por el contrario, una potenciación del efecto inhibitorio (Fig. 3).

El calcio y el bario demostraron un efecto antagónico muy evidente aunque

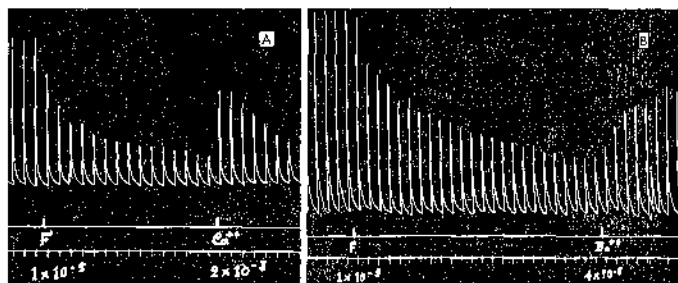


Fig. 4.—Contracciones del conducto deferente aislado de cobayo.—Detalle de la preparación como en la Fig. 1.

A: El Calcio (Ca^{++}) 2×10^{-4} gm/cc. antagoniza en forma parcial y transitoria al efecto inhibitorio de la fentolamina (F) 1×10^{-6} gm/cc.

B: Otra preparación: Antagonismo del bario (Ba^{++}) 4×10^{-5} gm/cc. al efecto inhibitorio de la fentolamina (F) 1×10^{-6} .

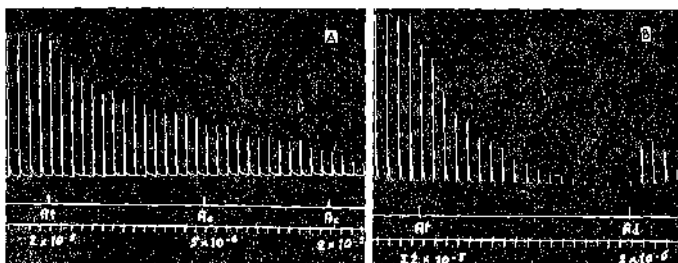


Fig. 5. —Contracciones del conducto biliar de cobayo.—Detalle de la preparación como en la Fig. 1.

A: La acetilcolina (Ac) en concentraciones superiores a la CE_{50} , 5×10^{-6} y 2×10^{-6} g/ml, no antagoniza el efecto inhibitorio de la atropina (At) 2×10^{-6} g/ml.

B: Otra preparación: La adrenalina (Ad) 2×10^{-6} g/ml, antagoniza en forma parcial y transitoria el efecto inhibitorio de la atropina (At) $3,2 \times 10^{-6}$ g/ml.

de características diferentes. En efecto, el calcio produjo una recuperación transitoria de aproximadamente 10 minutos de duración, después de lo cual las contracciones disminuyeron progresivamente en amplitud. (Fig. 4A). El bario, en cambio, produjo una recuperación completa y no se observó posteriormente disminución en la altura de contracción (Fig. 4B).

Por otro lado, el grado de antagonismo fue proporcional a la concentración que estos dos cationes divalentes alcanzaron en el líquido de perfusión. En la Tabla II se resumen los principales resultados numéricos obtenidos en esta subserie experimental.

Frente a la atropina.—Máxima concentración inhibitoria: 2×10^{-5} ml. La acetilcolina, aún en concentración superior a la CE_{50} no presentó efecto antagonístico (Fig. 5A).

La adrenalina, en concentración

2×10^{-6} produjo una mínima recuperación, equivalente a 18-20%, pero luego de 6 a 8 minutos la preparación vuelve a su estado de inhibición total. (Fig. 5B).

El calcio, administrado antes de que la preparación llegue a su inhibición total, produjo también una recuperación parcial equivalente al 90% y de aproximadamente 8-10 minutos de duración. (Fig. 6A).

El bario, en cambio, en concentración 1×10^{-4} produjo un efecto antagonístico total completo; la recuperación fue mayor en 11% con respecto al trazado obtenido como control; este efecto se mantuvo constante durante todo el máximo periodo de control (Fig. 6B).

El antagonismo producido por el calcio y por el bario frente a la atropina, fue también proporcional a la concentración de estos iones en el líquido de perfusión. Tabla II.

TABLA II

ANTAGONISMO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CLORURO DE BARIO Y CLORURO DE CALCIO FRENTE A CONCENTRACIONES CONSTANTES DE FENTOLAMINA Y DE ATROPINA

Droga inhibidora	Nombre	Droga antagonista	
		Concentración	% recuperación
Fentolamina (2×10^{-7}) ^b	Ba Cl ₂	4×10^{-5}	50
	Ba Cl ₂	1×10^{-4}	100
	Ca Cl ₂	1×10^{-3}	30
	Ca Cl ₂	2×10^{-3}	80
Atropina (2×10^{-5}) ^c	Ba Cl ₂	2×10^{-5}	60
	Ba Cl ₂	1×10^{-4}	100
	Ca Cl ₂	1×10^{-3}	35
	Ca Cl ₂	2×10^{-3}	82

^b Concentración que produce inhibición del 100%.

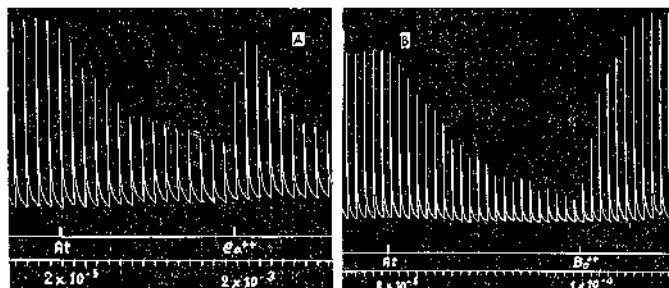


Fig. 6.- Contracciones del conducto deferente aislado de cobayo. Detalle de la preparación como en la Fig. 1.

A: El sales (Ca++) 2×10^{-3} gm/cc, antagoniza en forma parcial y transitoria el efecto inhibitorio de la atropina (At) 2×10^{-5} gm/cc.

B: Otra preparación: El Bario (Ba++) 1×10^{-4} gm/cc, antagoniza completamente al efecto inhibitorio de la atropina (At) 2×10^{-5} .

DISCUSION

Aunque esta preparación hipogástrico-deferente se comporta como una unidad morfológico-funcional dependiente del sistema simpático³⁻⁶, sin embargo, es evidente que sobre ella actúan también drogas que tienen íntima relación con el sistema parasimpático, tales como la acetilcolina y la atropina.

Según Boyd y col.⁸ las drogas anticolinérgicas, al igual que la acetilcolina, producen potenciación de la respuesta contráctil del conducto deferente a la estimulación del nervio motor hipogástrico. Todos estos datos están de acuerdo con la posibilidad sugerida por Burn¹ y Burn y Rand², de que existe interpuesto un mecanismo colinérgico entre las terminaciones de la rama postsináptica simpática y las células eferentes correspondientes. Este mecanismo, morfológicamente no identificado todavía, sería el que produce la liberación del mediador químico efector adrenalina o noradrenalina existentes en depósitos localizados alrededor del botón terminal simpático.

Por otro lado, existe amplia evidencia experimental acerca del papel fisiológico que desempeña el calcio en dos de las fases que integran el fenómeno de la contracción de la fibra muscular lisa: contribuye a regular la excitabilidad de la membrana y controla la liberación de la energía que la fibra muscular aprovecha para llevar a cabo su función⁹.

Se ha demostrado así mismo, que el baño actúa del mismo modo que el

calcio, regulando la excitabilidad de la membrana, pero sin que intervenga en las otras fases del fenómeno de contracción¹⁰. Esta propiedad, común al calcio y al bario, de regular la excitabilidad de la membrana, proporcionalmente a su concentración en el líquido de perfusión, puede explicar tanto el aumento de contracción del conducto deferente en condiciones normales, así como la capacidad de antagonizar el efecto inhibitorio producido por la atropina o por la fentolamina.

RESUMEN

Se investigó el efecto de la adrenalina, la fentolamina, la acetilcolina, la atropina, el calcio y el bario sobre la respuesta afectora del conducto deferente aislado de cobayo cuando se excitó el nervio motor hipogástrico con estímulos eléctricos, cada 2 minutos.

La adrenalina y la acetilcolina en forma transitoria; y, el calcio y el bario en forma prolongada, determinaron un aumento de la altura de contracción del conducto deferente. La fentolamina y la atropina produjeron inhibición completa de la respuesta contráctil. Este efecto inhibitorio pudo ser completamente antagonizado por el calcio o el bario en contracciones adecuadas.

Estos hallazgos confirmarían la existencia de un mecanismo colinérgico intermediario en la transmisión del impulso nervioso, desde las terminaciones simpáticas hacia las células eferentes, pues esta preparación constituye una unidad morfológico-funcio-

nal dependiente del sistema simpático, y no obstante, la acetilcolina estimula y la atropina inhibe la respuesta efectiva.

pendant of the sympathetic nervous system; but nevertheless, these motor end organs are stimulated by acetylcholine, and inhibited by atropine.

SUMMARY

The existence of a cholinergic mechanism that acts as mediator for adrenalin and nor-adrenalin release at sympathetic nerve endings, has been experimentally demonstrated by several authors.

In this work, the effects of adrenalin, phentolamine, acetylcholine, atropine, calcium and barium on the contractile response of an isolated guinea pig's vas deferens conduct suspended in Tyrode solution were studied by hypogastric electrical stimulation every two minutes. Calcium, barium, adrenaline, and acetylcholine produced an increase on the health of the vas deferens-contractions; adrenaline and acetylcholine in a transitory manner, calcium and barium in a durable manner. In contrast to the above mentioned data phentolamine and atropine inhibited completely the response evoked by hypogastric stimulation. This inhibitory effect was completely antagonized by adding barium and calcium in adequate concentrations.

These findings may very well confirm the existence of an intermediate cholinergic mechanism in nerve impulse transmission, from the sympathetic nerve endings towards motor end organs, since this preparation constitutes a morphological-functional unity de-

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BURN, J. H.: A new adrenergic mechanism. A Ciba Foundation Symposium on adrenergic mechanisms. Churchill Ltd. London, 592, 1960.
- 2.—BURN, J. H., and RAND, M. J.: Sympathetic postganglionic cholinergic fibres. *Brit. J. Pharmacol.* 15: 56, 1960.
- 3.—MIRKEN, H. L., and CERVONI, P.: The adrenergic nature of neurohumoral transmission in the cat nictitating membrane following treatment with reserpine. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 138: 301, 1962.
- 4.—RAND, M. J., and CHANG, V.: New evidence for a cholinergic process in sympathetic transmission. *Nature* 188: 858, 1960.
- 5.—HUKOVIC, S.: Responses of the isolated sympathetic nerve-ductus deferens preparation of the guinea pig. *Brit. J. Pharmacol.* 16: 188, 1961.
- 6.—SJOSTRAND, N. O.: Inhibition by ganglionic blocking agents of the motor response of the isolated guinea pig vas deferens to hypogastric nerve stimulation. *Acta Physiol. Scand.* 51: 306, 1962.
- 7.—BOURA, A. L., and GREEN, A. F.: Adrenergic neurone blockade and other acute effects by N-benzyl N'-dimethyl-guanidine and its ortho-chloro derivative. *Brit. J. Pharmacol.* 20: 36, 1963.
- 8.—BOYD, H., CHANG, V., and RAND, M. J.: The anticholinesterase activity of some antidiabetic agents. *Brit. J. Pharmacol.* 15: 525, 1960.
- 9.—BOHR, D. F.: Electrolytes and smooth muscle contraction. *Pharmacol. Rev.* 16: 85, 1964.
- 10.—SPERELAKIS, N.: Citado por Bohr, D. F., on: Electrolytes and smooth muscle contraction. *Pharmacol. Rev.* 16: 98, 1964.