

## Influencia de antagonistas de calcio en las respuestas del conducto deferente de rata a la noradrenalina y estimulación de campo

A. Hidalgo \*, J. Beneit y P. Lorenzo

Departamento de Farmacología  
de la Facultad de Medicina  
de la Universidad Complutense  
de Madrid

(Recibido el 15 de septiembre de 1982)

A. HIDALGO, J. BENEIT and P. LORENZO. *Influence of Calcium Antagonist on the Responses of the Rat Vas Deferens to Norepinephrine and Field Stimulation*. Rev. esp. Fisiol., 39, 211-216. 1983.

The effects of two calcium antagonists, Verapamil (VRP) and Methoxyverapamil (D-600) on the contractile responses of the isolated rat vas deferens to norepinephrine (NE) and to field stimulation (FS) were studied.

VRP ( $1 \times 10^{-6}$  -  $2 \times 10^{-6}$  M) decreased the responses to NE. It also decreased the amplitude of the FS elicited responses but only when 100 time higher doses were used. Similarly, D-600 only reduced FS responses with equally high doses. In addition, when trains of pulses were used for FS, VRP ( $1 \times 10^{-5}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) caused an initial increase in the responses followed by a decrease.

The fact that much higher doses of VRP are necessary to reduce the FS elicited responses than the contraction due to NE, suggests that the neurotransmitter released by FS might not be NE but a different one which seems to be much less dependent on external calcium than NE for producing its action.

El neurotransmisor excitador responsable de las respuestas del conducto deferente, de diferentes especies, inducidas por estimulación eléctrica de campo, permanece desconocido. Las respuestas contráctiles son resistentes a los fármacos bloqueantes adrenérgicos y colinérgicos

(1) y al tratamiento con 6-OH-dopamina y reserpina (4), habiéndose descartado, también, como transmisores, las prostaglandinas y sustancia P (2). Se conoce la existencia de diferencias funcionales entre las porciones epididimal y prostática del conducto deferente. En la porción epididimal, la transmisión comporta mecanismos adrenérgicos (3) mientras que el neurotransmisor de la porción prostática es no-adrenérgico (3, 8) y la noradrenalina liberada en esta preparación tiene carácter inhibitor de las respuestas (7). Se

\* A quien debe dirigirse toda la correspondencia: Departamento de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Medicina. Oviedo (España).

ha propuesto recientemente que el neurotransmisor no-adrenérgico puede ser el ATP (13) y que la nifedipina bloquea las respuestas de la porción prostática, sin afectar las de la porción epididimal (5), inducidas por estimulación de campo, así como las contracciones inducidas por ATP y la respuesta tónica, sin modificar la respuesta fásica, de las respuestas inducidas por noradrenalina (14).

En el presente trabajo se estudian los efectos del Verapamil (VRP) y del metoxiverapamil (D-600), antagonistas de la entrada de calcio inducida por diferentes agentes farmacológicos en fibra muscular lisa de diversos órganos (14), sobre la reactividad del conducto deferente de rata inducida por noradrenalina (NE) y estimulación eléctrica de campo.

### Material y métodos

Se han utilizado ratas macho Wistar de 350-400 g de peso. Se mataron de un golpe en la región cérvico-occipital y posterior sangrado por sección del paquete vascular del cuello. Se extrajeron ambos conductos deferentes y, una vez libres de adherencias, se montaron en sendos baños de órgano aislado de 2 ml de capacidad, que contenían dos electrodos verticales. La estimulación eléctrica se realizó mediante un estimulador Grass FTO3 con arreglo a los siguientes parámetros: voltaje supramáximo, frecuencia 10 Hz, 0,1 ms de duración a intervalos de 1 minuto, variando el número de pulsos desde 1 a 25 (1) o manteniendo la estimulación con los mismos parámetros anteriores y trenes de 5 pulsos. Como medio de incubación se utilizó solución Krebs de composición mM: ClNa, 118; ClK, 4,75; Cl<sub>2</sub>Ca, 2,5; PO<sub>4</sub>KH<sub>2</sub>, 1,19; CO<sub>3</sub>HNa, 25; SO<sub>4</sub>Mg, 1,2, y glucosa, 11. Durante todo el experimento se mantuvieron constantes la temperatura a 37° C, el gaseado con mezcla carbógena (95 % O<sub>2</sub> y 5 % CO<sub>2</sub>) y la perfusión del órgano a razón de 2 ml/

min. Se utilizó también una copa de órgano aislado de 10 ml de capacidad para estudiar el comportamiento del VRP frente a la reactividad del conducto deferente inducida por NE exógena. La NE, en dosis crecientes, se administró directamente en la copa y permaneció en contacto con el órgano hasta la obtención de la contracción máxima. Después de cada dosis de NE la preparación se lavó por arrastre. Entre cada dos dosis de NE se dejaron transcurrir 5 minutos. El VRP y el D-600 se administraron en superfusión, permaneciendo en contacto con el órgano 15 minutos antes de inducir las respuestas con NE o estímulo eléctrico. Las contracciones obtenidas por estimulación de campo se registraron en un quimógrafo Braum mediante una palanca de Gimbal y en un polígrafo Grass las debidas a estimulación con NE exógena. Antes de comenzar la experimentación se dejó estabilizar la preparación, sometida a la tensión de 1 g, durante 30 minutos.

Se utilizaron los siguientes fármacos: Verapamil y metoxiverapamil (D-600) (cedidos por Knoll Ibérica, S. A.), noradrenalina (L-Aterenol bitartrate, Sigma) y productos necesarios para la composición del medio de incubación de calidad Merck.

### Resultados

El conducto deferente de rata responde a la estimulación de campo con contracciones muy reproducibles a lo largo de varias horas. La amplitud de la respuesta contráctil está en relación con el número de pulsos por tren de estimulación y, generalmente, pueden establecerse curvas pulso-respuesta variando el número de pulsos por tren entre 1 y 20. Con un número superior a 20 la amplitud de la respuesta se mantiene y, a menudo, disminuye.

El VRP ( $1 \times 10^{-5}$  -  $2 \times 10^{-4}$  M) produce una reducción dosis dependiente de la amplitud de las respuestas del conduc-

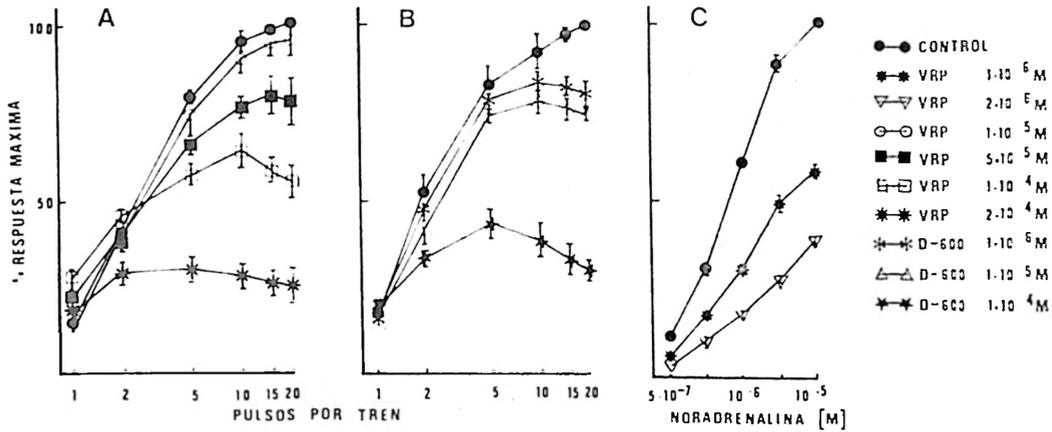


Fig. 1. Efecto inhibitor del Verapamil (A) y Metoxiverapamil (B) de la reactividad del conducto deferente de rata inducida por estimulación eléctrica de campo (voltage supra-máximo, frecuencia 10 Hz, 0.1 ms) y de Verapamil sobre las contracciones del conducto deferente inducidas por noradrenalina exógena (C).

En abscisas, número de pulsos por tren y concentración molar de noradrenalina. En ordenadas, porcentaje de respuesta máxima. Las barras verticales representan el E.S.M. para un mínimo de 8 datos.

to deferente inducidas por trenes de 3-20 pulsos y aumento de las respuestas inducidas por trenes de 1 pulso en el rango de dosis comprendido entre  $1 \times 10^{-5}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M (figs. 1 A, 2 y 3). Cuando las contracciones del conducto deferente son inducidas por NE exógena el VRP ( $1 \times 10^{-6}$  -  $2 \times 10^{-6}$  M) reduce la amplitud máxima de la contracción sin que aparezca, con éstas ni con dosis superiores, efecto estimulante ni aumento de las respuestas a NE en el conducto deferente (fig. 1 C). La amplitud de las respuestas a NE se reduce con dosis 100 veces inferiores a las necesarias para reducir las respuestas a estimulación de campo. El D-600 ( $1 \times 10^{-6}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M) produce una inhibición dosis dependiente de la amplitud de la contracción inducida por estimulación de campo (fig. 1 B) sin que aumente la amplitud de la respuesta en ningún rango de estímulo. El D-600 resultó ser más potente bloqueante de las respuestas que VRP.

Cuando las contracciones del conducto

deferente se inducen con trenes fijos de 5 pulsos, el VRP produce un efecto dual sobre la amplitud de respuesta contráctil, con un aumento transitorio inicial seguido de una depresión más prolongada (fig. 2).

Ejemplos representativos de los efectos de VRP y D-600 sobre las respuestas del conducto deferente inducidas por estimulación eléctrica de campo se presentan en la figura 3.

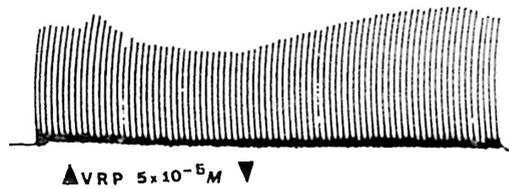


Fig. 2. Efecto del Verapamil (VRP) sobre la contracción del conducto deferente de rata inducida por estimulación de campo. Voltage supramáximo, frecuencia 10 Hz, 0.1 ms, 5 pulsos por tren

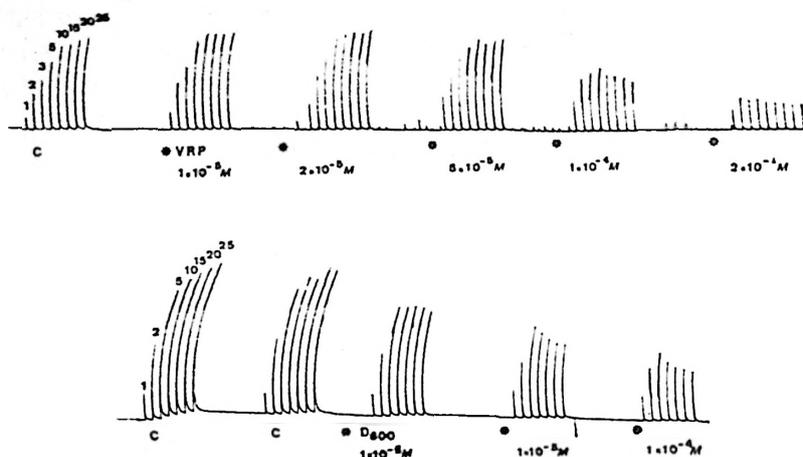


Fig. 3. Efecto depresor de Verapamil (VRP) y Metoxiverapamil (D-600) sobre la reactividad del conducto deferente de rata inducida por estimulación eléctrica de campo. Voltaje supramáximo, frecuencia 10 Hz, 0,1 ms, variando el número de pulsos por tren desde 1-25.

### Discusión

Las respuestas del conducto deferente inducidas por estimulación de campo son resistentes a bloqueantes de receptores adrenérgicos (1) y al tratamiento con reserpina y 6-OH-dopamina (4), principalmente en la porción prostática (3, 8), considerándose que la transmisión es no-adrenérgica y que la noradrenalina liberada por estimulación de campo tiene carácter inhibitor de la contracción (7, 9).

Los antagonistas de calcio VRP y D-600 reducen la amplitud de las contracciones del conducto deferente inducidas por estimulación de campo, pero las dosis necesarias para producir el efecto son cien veces superiores a las necesarias para antagonizar las respuestas inducidas por NE exógena, lo que confirma que la NE no es el neurotransmisor responsable de las contracciones del conducto deferente inducidas por estimulación eléctrica de campo (2, 7) y sugiere que el efecto estimulante del neurotransmisor no-adrenérgico se produce por mecanismos total o parcialmente independientes del calcio

extracelular ya que las dosis de VRP y D-600 necesarias para reducir la amplitud de la contracción son muy elevadas ( $1 \times 10^{-6}$  -  $2 \times 10^{-4}$  M) y se considera que dosis superiores a  $1 \times 10^{-6}$  M inhiben competitivamente la unión de ligandos a receptores muscarínicos,  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2 y receptores opiáceos y bloquean los movimientos iónicos en canales de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  (6).

Por otra parte, el VRP y el D-600 no son eficaces bloqueantes de todos los canales de calcio capaces de generar un efecto (10, 11). Por tanto, parece posible que los canales de calcio activados por NE exógena y el neurotransmisor liberado por estimulación de campo sean diferentes y sensibles al bloqueo por verapamil y nifedipina (5) respectivamente.

La potenciación por VRP de las respuestas del conducto deferente inducidas por trenes de 1 y 5 pulsos, resultados coincidentes con los obtenidos por FRENCH y SCOTT (5) en la porción prostática del conducto deferente, son difíciles de interpretar, aunque se ha descrito que VRP, y otros bloqueantes de calcio, pueden fa-

cilitar la transmisión en algunas preparaciones neuromusculares (12). No puede descartarse que VRP bloquee la liberación presináptica de NE que se produce por mecanismos calcio-dependientes.

### Resumen

Se estudia el efecto de dos antagonistas de calcio, verapamil (VRP) y metoxiverapamil (D-600), sobre la reactividad del conducto deferente de rata inducida por noradrenalina (NE) exógena o por estimulación eléctrica de campo (EEC). VRP ( $1 \times 10^{-6}$  -  $2 \times 10^{-6}$  M) deprime las respuestas a NE. Son necesarias dosis 100 veces superiores de VRP y D-600 para obtener una inhibición similar cuando las respuestas se inducen por EEC. El VRP ( $1 \times 10^{-5}$  -  $1 \times 10^{-4}$ ) aumenta las respuestas inducidas por EEC cuando se estimula con trenes de 1 pulso y produce un efecto dual cuando se estimula con trenes continuos de 5 pulsos. Las dosis de VRP y D-600 necesarias para reducir las respuestas de EEC sugieren que NE no es el neurotransmisor liberado por EEC y que este neurotransmisor contrae el conducto deferente por mecanismos independientes de calcio.

### Bibliografía

1. AMBACHE, N. ZAR, M. A.: *J. Physiol.*, **216**, 359-389, 1971.
2. AMBACHE, N., DUNK, L. P., VERNEY, J. y ZAR, M. A.: *J. Physiol.*, **227**, 433-456, 1972.
3. ANTON, P. G., DUNCAN, M. E. y McGRATH, J. C.: *J. Physiol.*, **273**, 23-43, 1977.
4. BOOTH, F. J., CONNELL, G. J., DOCHERTY, J. R. y McGRATH, J. C.: *J. Physiol.*, **280**, 19 P, 1978.
5. FRENCH, A. M. y SCOTT, N. C.: *Br. J. Pharmac.*, **73**, 321-323, 1981.
6. JIM, K. HARRIS, A., ROSENBERGER, L. B. y TRIGGLE, D. J.: *Eur. J. Pharmacol.*, **76**, 67-72, 1981.
7. LORENZO, P., HIDALGO, A. y BENEIT, J. V.: *Abs. VII Congreso Latino Americano de Farmacología*. São Paulo (Brasil), 1978, p. 123.
8. McGRATH, J. C.: *J. Physiol.*, **283**, 23-39, 1978.
9. NIETO, M. J., PELÁEZ, M. T., BENEIT, J. V. y LORENZO, P.: *Reunión Nal. A.E.F.* Salamanca, 1982, p. 219.
10. PINTO, J. E. B. y TRIFARO, J. M.: *Br. J. Pharmac.*, **57**, 127-132, 1976.
11. ROSENBER, L. B. y TRIGGLE, D. J.: En «Calcium in drug action». (G. B. Weiss, ed.). Plenum, Nueva York, 1978, p. 3.
12. SATO, T. y ONO, H.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **249**, 235-242, 1981.
13. STONE, T. W.: *Eur. J. Pharmacol.*, **74**, 373-376, 1981.
14. TRIGGLE, D. J.: En «New Perspectives on calcium antagonist». (G. B. Weiss, ed.). American Physiol. Soc. Waverly Press, Inc. Baltimore, 1981. Cap. 1, pp. 1-18.

