

Interacción de la acetilcolina y la amantadina sobre fibra muscular lisa y estriada

Departamento de Farmacología y Terapéutica General
Facultad de Medicina
Universidad de Granada

A. Mundo-Salvador

(Recibido el 28 de febrero de 1972)

A. MUNDO-SALVADOR. *The Interaction Between Acetylcholine and Amantadine on Smooth and Striated Muscle Fibres*. R. esp. Fisiol., 28, 161-166. 1972.

It was studied the interaction between amantadine and acetylcholine, employing different isolated organs, as uterus of rat, rabbit's intestine, and frog rectus abdominis.

Previous incubation with amantadine (6.5×10^{-4} M) in isolated uterus of normal or reserpinized rat, was obtained a acetylcholine curve dose-response, that showed a clear antagonism no-competitive. Similar results was happened with isolated rabbit's gut. Previous addition of amantadine (6.5×10^{-4} M) on rectus abdominis of frog preparation, was also manifested a acetylcholine response blockade of no-competitive type.

From these results, it was deduced the existence of a clear antagonism no-competitive between amantadine and acetylcholine, with a little preceding agonism. By other hand without modification in the animals previously reserpinized.

These fenomenons can could be explained by a possible blockade in ionic change induced by amantadine in muscle cell membrane.

En el año 1969 el clorhidrato de amantadina fue utilizado por vez primera en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson por SCHWAB *et al.* (6), los cuales obtuvieron una sensible mejoría en la mayor parte de los casos. Posteriormente otros autores como PARKES *et al.* (5) apuntan este hecho terapéutico clínico, que en la actualidad se viene registrando en multitud de comunicaciones.

El mecanismo de la acción antiparkinson de la amantadina no está, sin embargo, convenientemente aclarado y según di-

versos autores no existe evidencia alguna de que la amantadina actúe sobre los receptores colinérgicos ni tampoco sobre los dopaminérgicos. Autores como VERNIER *et al.* (8) demuestran que la amantadina es capaz de ejercer una acción liberadora de las catecolaminas, especialmente a nivel periférico, pensándose por ello que también se constituiría en el *primum movens* de una liberación semejante a nivel del sistema nervioso central, lo que daría lugar a un aumento suficiente de la dopamina capaz de ejercer la neurotransmisión

sin que se manifestara por ello un aumento detectable del ácido homovanílico, su principal metabolito.

Estos hechos, unidos a la demostración por VERNIER *et al.* (8), de un ligero efecto bloqueador ganglionar por parte de la amantadina, condujeron a interesarnos en el estudio de las posibles vías efectoras a través de la interacción con la acetilcolina, similarmente al papel de las sustancias atropínicas. Hecho que a nivel periférico se trata de investigar en diversos modelos experimentales.

Material y métodos

UTERO AISLADO DE RATA

Se llevaron a cabo preparados de útero aislado de rata, mediante el empleo de ratas jóvenes de la cepa Whistar de 120 a 150 g de peso, montando cada uno de los cuerpos en una solución aireada de Jalón a 32° C. Se obtuvieron, mediante este sistema, curvas dosis-respuesta con acetilcolina a concentraciones oscilantes de 10^{-8} a 10^{-2} M, previa incubación con clorhidrato de amantadina durante 30 minutos a las concentraciones de $1,3 \times 10^{-4}$, $3,25 \times 10^{-4}$ y $6,5 \times 10^{-4}$ M.

INTESTINO AISLADO DE CONEJO

Se utilizó la porción yeyunal del conejo recién muerto, en fragmentos de 4-5 cm, colocados en baño con solución de Tyrode a 37° C. Las dosis-respuesta se obtuvieron mediante la incubación con clorhidrato de amantadina a las mismas concentraciones que en las experiencias anteriores.

RECTO ABDOMINAL DE RANA

Se utilizó este modelo de fibra muscular estriada a partir de ranas tipo temporaria, de 40 a 50 g, en baño con solución aireada de Ringer-Howell a la temperatura ambiente. Las curvas dosis-respuesta se obtuvieron a concentraciones oscilantes de acetilcolina (10^{-8} a 10^{-2} M). La amantadina se

incubó previamente a las mismas concentraciones que en experiencias anteriores.

En una segunda fase se hicieron preparados de fibra muscular lisa previa reserpinización de la rata y el conejo, respectivamente.

Resultados

La incubación previa con amantadina a las concentraciones de $1,3 \times 10^{-4}$ y $3,25 \times 10^{-4}$ M tanto en el útero de la rata normal como en la reserpinizada no supusieron modificación en la curva de dosis-respuesta acetilcolínica. Si la concentración de amantadina alcanzaba la concentración de $6,5 \times 10^{-4}$ M (100 mcg/ml), se producía un efecto sumativo en la primera fase, obteniéndose respuestas apreciables con la acetilcolina a dosis subliminales. Este agonismo primario se interrumpía

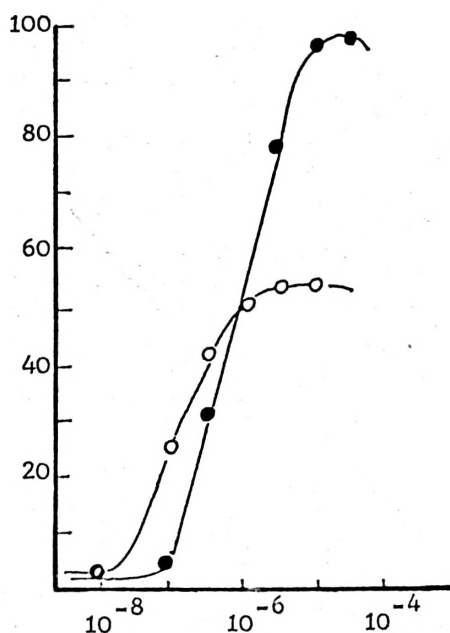


Fig. 1. Antagonización de los efectos de la acetilcolina en presencia de la amantadina. Útero de rata.

Abscisas: dosis acumulativas de acetilcolina. Ordenadas: tanto por ciento de la contracción en milímetros sobre la línea basal. Control (●). Amantadina $6,5 \times 10^{-4}$ M (○).

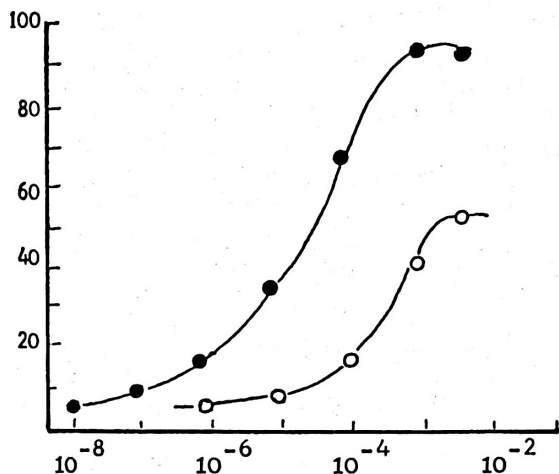


Fig. 2. Antagonización de los efectos de la acetilcolina en presencia de la amantadina. Recto abdominal de rana.

Abcisas: dosis acumulativas de acetilcolina. Ordenadas: tanto por ciento de la contracción en milímetros sobre la línea basal. Control (●). Amantadina $6,5 \times 10^{-4}$ M (○).

a la altura de la concentración de 10^{-6} M de acetilcolina para dar paso a un estado de antagonismo que suponía una disminución de la potencia acetilcolínica en un 50 % aproximadamente. Durante esta etapa de bloqueo, el estado de contracción sostenida provocada por el aumento de las concentraciones sucesivas acetilcolínicas variaba en el sentido de la puesta en marcha de una serie de contracciones rítmicas de una amplitud decreciente.

Los resultados con el intestino aislado de conejo normal y reserpinizado fueron muy similares a los obtenidos con el útero de rata.

En el preparado de *rectus abdominis* de rana la incubación previa con amantadina a las concentraciones de $1,3 \times 10^{-4}$ y $3,5 \times 10^{-4}$ M no supuso una alteración real de la respuesta acetilcolínica. La adición previa de amantadina a la concentración de $6,5 \times 10^{-4}$ M (100 mcg/ml) puso de manifiesto un claro bloqueo con desplazamiento y aplanamiento de la curva dosis-respuesta hacia la derecha. La contracción fue sostenida alcanzando su má-

ximo a altas dosis acetilcolínicas del orden de 10^{-2} M.

Discusión y conclusiones

La presencia de la amantadina a dosis relativamente altas (100 mcg/ml) induce, indudablemente, un bloqueo de la actividad acetilcolina, tanto a nivel de la fibra muscular lisa, como sobre la fibra muscular estriada.

Del estudio de las curvas dosis-efecto en los modelos de útero aislado de rata e intestino aislado de conejo, previa incubación con amantadina ($6,5 \times 10^{-4}$ M) se deduce la existencia primaria de una sinergia de tipo aditivo, fugaz, a la que sigue el sucesivo aplanamiento y desplazamiento de la curva dosis-efecto hacia la derecha, lo cual podemos interpretar de acuerdo con los postulados de ARIENS (1, 2), como demostrativo de la existencia de un antagonismo no competitivo, con la consideración, sin embargo, del caso especial de la amantadina, que a pequeñas concentraciones ejerce un efecto agonista. El hecho se explicaría por la combinación con los receptores de tipo muscarínico del agonista y con otros receptores responsables del antagonismo no competitivo (2).

En el modelo de fibra muscular estriada, campo de los receptores nicotínicos, la curva dosis-respuesta normal acetilcolínica, se encuentra desplazada hacia la derecha con respecto a lo que sucede en los modelos de fibra muscular lisa, explicable por la dosis nicotínica necesaria para el estímulo de la fibra muscular estriada. Previa la incubación con amantadina ($6,5 \times 10^{-4}$ M), la curva dosis-respuesta muestra un claro desplazamiento hacia la derecha con progresivo aplanamiento, hecho que apunta como también a nivel de los receptores nicotínicos que no existe un antagonismo competitivo o curárico-similar, demostrándose un bloqueo no competitivo, exento de la primera fase agonista presente a nivel de los receptores muscarínicos.

Teniendo en cuenta por otro lado el hecho demostrado por autores como GRELAK *et al.* (3) acerca de la acción liberadora de los depósitos catecolamínicos a nivel de los nervios periféricos, así como del miocardio, por parte de la amantadina (3). Pensamos que este hecho pudiera repetirse a nivel de los modelos ensayados; sin embargo, la constatación del fenómeno de antagonismo tanto a nivel de la fibra muscular estriada como en los modelos de fibra lisa de animales previamente reserpinizados nos distanció en principio de esta posibilidad.

En suma, de la observación de estos hechos sobre el antagonismo de la amantadina con la acetilcolina, se puede pensar que no sucede de una manera competitiva frente a los receptores muscarínicos y nicotínicos, atropina o curare similares, deduciéndose la obligada consideración de nuevas vías de acción. Por un lado el conocido tropismo, membrana-celular, de la amantadina, bloqueadora de la penetración celular del virus A₂ de la influenza, base de su capacidad antiviral, que podría trasladarse a nivel de las membranas sinápticas responsabilizando un cierto grado de bloqueo o impermeabilización a la actividad colinérgica. Por otro y con una mayor base experimental su posible papel en el intercambio iónico de membrana hecho apuntado por PARKES *et al.* (5) al indicar el aumento del porcentaje de potasio intracelular por parte de la amantadina, así como el impedimento a la entrada del calcio. Se sabe que la huida del potasio intracelular es un factor fundamental en el efecto acetilcolínico (4) y, por otro lado, el calcio se erige como responsabilizador de la efectividad sobre el sistema miocontráctil (7).

Estos aspectos explicarían en parte el efecto antagónico de la amantadina con respecto al efecto acetilcolínico.

Respecto al mecanismo de acción antiparkinson de la amantadina podría aclararse parcialmente merced a la existencia de este antagonismo no competitivo a ni-

vel del sistema nervioso central, comportándose de una manera semejante en cuanto a su consecuencia final, a la actuación de los bloqueadores competitivos atropín-similar. El fenómeno se completaría con la hipótesis antes mencionada de SCHWAB *et al.* (6), en el sentido de un aumento de la liberación dopamínica a nivel del sistema nervioso central.

De nuestras experiencias se puede concluir: la amantadina, a la concentración de $6,5 \times 10^{-4}$ M (100 mcg/ml), se manifiesta como bloqueante del efecto acetilcolínico, tanto a nivel de los modelos de fibra muscular lisa (útero de rata, intestino de conejo), como de musculatura estriada (*Rectus abdominis* de rana).

Las curvas dosis-efecto demuestran que el antagonismo en ambos casos es de tipo no competitivo.

Existe, sin embargo, a pequeñas concentraciones acetilcolínicas un efecto agonista de la amantadina sobre la musculatura lisa que se transforma progresivamente en antagonismo, debido quizás a la combinación simultánea sobre receptores muscarínicos. Este hecho no sucede en la acción excito-contráctil sobre músculo estriado.

El empleo de animales previamente reserpinizados no altera los resultados experimentales, lo cual habla de la no interferencia del fenómeno liberador de catecolaminas por parte de la amantadina en los modelos ensayados.

El efecto antiparkinson podría en parte explicarse por su acción antiacetilcolínica, obrando a la postre de un modo similar a los bloqueantes competitivos atropín-similar.

Se deduce en síntesis la necesidad del estudio de la amantadina en su papel sobre los intercambios iónicos de membrana

Resumen

Se estudia la interacción de la amantadina con la acetilcolina en preparados de útero aislado de rata, intestino aislado de conejo y en recto abdominal de rana.

La incubación previa con amantadina ($6,5 \times 10^{-4}$ M), tanto en útero aislado de rata normal como en la reserpinizada, da lugar a una curva dosis-respuesta acetilcolínica demostrativa de un discreto agonismo primario, que conduce más adelante a un claro antagonismo, posiblemente de tipo no competitivo. Resultados semejantes se obtienen con intestino aislado de conejo. En preparaciones de recto abdominal de rana, la incubación previa con amantadina pone de manifiesto un claro bloqueo de la respuesta acetilcolínica de tipo de antagonismo no competitivo.

Se deduce que la amantadina, a las dosis ensayadas, presenta un claro antagonismo no competitivo frente a la acetilcolina, aunque con un discreto agonismo previo a nivel de la fibra muscular lisa. Hechos no explicables por la liberación de catecolaminas, puesto que los resultados no se alteran con animales reserpinizados, lo que hace pensar en una posible alteración del intercambio iónico por parte de la amantadina.

Bibliografía

1. ARIENS, E. J.: *Molecular Pharmacology*, Vol. 1. Academic Press, Nueva York, 1964.
2. ARIENS, E. J.: *Actualités Pharmacologiques*. Masson et Cie., París, 1969, p. 261.
3. GRELAK, R. P., CLARK, R., STUMP, J. M. y VERNIER, V. G.: *Science*, 169, 203, 1970.
4. HOLLAND, W. C. y DUNN, C. E.: *Am. J. Physiol.*, 179, 486, 1954.
5. PARKES, J. D., CURZON, G., KNOTT, P. J., TATTERSALL, R., BAXTER, R. C., KNILL-JONES, R. P. y MARSEN, C. D.: *Lancet*, 29-V, 1083, 1971.
6. SCHWAB, R. S., ENGLAND, A. G. y POSKANZER, D.: *J. Am. Med. Ass.*, 208, 1168, 1969.
7. VALETTE, G. y ROSSIGNOL, P.: *Actualités Pharmacologiques*. Masson et Cie., París, 1969, p. 100.
8. VERNIER, V. G., HARMON, J. B. y STUMP, J. M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 15, 642, 1969.

