

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

EFFECTOS DE FARMACOS SIMPATICOMETICOS SOBRE
PREPARACIONES DE TRAQUEA AISLADA DE DIVERSAS
ESPECIES DE MAMIFEROS

J. Duarte, J. Gálvez, J. Jiménez y A. Zarzuelo

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto de distintos fármacos simpaticométicos sobre varias preparaciones de tráqueas aisladas de mamíferos (rata, cobaya y conejo) que han sido contraídas previamente con acetilcolina o con Cl_2Ca . De los resultados obtenidos se puede destacar que la tráquea de rata no presenta receptores beta, ya que en ella no muestra actividad la isoprenalina (agonista beta). Igualmente se ha comprobado que algunos fármacos alfa-estimulantes producen efectos relajantes, y especialmente la oximetazolina ha sido activa en las tres especies estudiadas. Este efecto relajante no está relacionado con los receptores adrenérgicos y probablemente se puede deber a un mecanismo indirecto.

SUMMARY

The different effects of various sympathomimetic drugs on acetylcholine- and CaCl_2 -produced contractions in mammalian trachea preparations (rat, guinea pig and New Zealand rabbit) were studied. The most noteworthy response was that rat tracheas failed to respond to β -receptors, in view of the absence of isoprenaline (a β -agonist) activity in these preparations. Some α -stimulating drugs showed relaxant effects, oxymetazoline being particularly active in all three species studied. This relaxant effect was not related to adrenergic receptors and can presumably be traced to some indirect mechanism.

Palabras Clave: Tráquea, Sistema Adrenérgico, Relajación.

INTRODUCCION

Es conocido que los nervios adrenérgicos simpáticos, que producen relajación, y los nervios parasimpáticos, que originan contracción, actúan sobre el músculo liso de las vías respiratorias de mamíferos. Se acepta que los estimulantes β_2 -adrenérgicos producen relajación de las vías respiratorias, no obstante, tratamientos continuados en asmáticos con algunos de estos fármacos, como la terbutalina, pueden llevar a una contracción de esta musculatura (1). Algunos autores explican este hecho como una posible estimulación de los receptores alfa por estos fármacos, que conduciría a esa contracción de la musculatura lisa bronquial (2).

Estas observaciones implican, lógicamente, que los fármacos α -estimulantes podrían causar la contracción del músculo bronquial de varias especies de mamíferos, postulado que ha sido no obstante cuestionado a la vista de trabajos previos de nuestro laboratorio (3). Nosotros hemos hallado que algunos fármacos α -estimulantes pueden producir ocasionalmente la relajación de la tráquea de diversas especies, contraída previamente con acetilcolina.

En este trabajo pretendemos estudiar la distinta respuesta de diversos fármacos α -estimulantes frente a las contracciones producidas por acetilcolina y Cl_2Ca en la tráquea de diversos mamíferos, y comparar la actividad relajante de estos fármacos con la manifestada por la isoprenalina.

MATERIAL Y METODO

Hemos utilizado tráqueas de ratas Wistar (150-200 g), cobayas (300-350 g) y conejos New Zealand (1000-1200 g). Una vez extraída la tráquea se ha realizado idéntico montaje, consistente en darle un corte longitudinal por la parte opuesta a la zona muscular, y tras diversos cortes transversales realizar una preparación en zig-zag (4). Posteriormente se introduce en un baño de órganos de 25 ml., que contiene solución Krebs de la siguiente composición (mM): NaCl 94.8; KCl 4.7; CaCl_2 1.4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 1.2; NaHCO_3 25.0; KH_2PO_4 1.2 y Glucosa 12.5. La primera parte del experimento fue realizada para obtener información de las contracciones inducidas por la acetilcolina. El estudio de las contracciones producidas por CaCl_2 se realizó en una solución Krebs libre de calcio de acuerdo a la siguiente composición: NaCl 20.8; KCl 100.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 1.2; NaHCO_3 25.0; KH_2PO_4 1.2 y Glucosa 12.5. La solución se aireaba constantemente con carbógeno (5% CO_2 y 95% de O_2) y se mantenía a temperatura constante de 37°C.

Las preparaciones de tráquea fueron suspendidas con una tensión inicial de 0.5 g y se dejaron en reposo durante 60 minutos antes de comenzar la adición de los distintos fármacos. La respuesta de la tráquea fue recogida mediante un transductor isotónico Ealing, conectado a un registro Letica CR 500.

La pauta de trabajo seguida ha sido la siguiente: adición al baño de una

dosis de acetilcolina o CaCl_2 que produzca una respuesta submáxima (acetilcolina $50 \mu\text{M}$ y CaCl_2 6 mM), y tras esperar dos minutos se añadían dosis crecientes, en progresión geométrica de razón 2, del fármaco problema en intervalos de dos minutos, siguiendo el método acumulativo. La adición de los fármacos se realizaba hasta conseguir la relajación total del músculo o bien hasta que tras sucesivas dosis no se produjese mayor relajación. Los fármacos ensayados fueron adicionados hasta obtener una concentración de 1 mM en el baño, a partir del cual todos los fármacos se consideraban inactivos. Los fármacos ensayados fueron: clorhidrato de fenilefrina (Landerland), clorhidrato de metoxamina (Gayoso-Wellcome), clorhidrato de oximetazolina (Uriach), clorhidrato de nafazolina (Frumtost-Zyma), clorhidrato de fenilpropanolamina (Semar) y sulfato de isoprenalina (Substance Parke-Davis); como agentes contractores se utilizaron clorhidrato de acetilcolina (Merck) y cloruro cálcico (Merck), y como antagonistas clorhidrato de propranolol (Sigma), clorhidrato de nicergolina (Substance Parke-Davis) y clorhidrato de yohimbina (Sigma).

RESULTADOS.-

Efectos de fármacos simpaticomiméticos sobre las contracciones mediadas colinérgicamente del músculo traqueal de cobaya.

De los distintos fármacos ensayados, sólo isoprenalina, oximetazolina y fenilefrina fueron capaces de inhibir las contracciones producidas por acetilcolina, aunque después de la adición de fenilefrina se obtuvo una relajación incompleta (Tabla 1). Es de destacar la muy superior potencia relajante de la isoprenalina, lógico si pensamos que es un β -estimulante. Valores similares de IC_{50} se obtuvieron con los otros dos fármacos (Tabla 1), aunque la fenilefrina no consiga inhibir más que un 46,9% la contracción producida por la acetilcolina.

Efectos de fármacos simpaticomiméticos sobre las contracciones mediadas colinérgicamente del músculo traqueal de rata.

De todos los fármacos ensayados, sólo metoxamina, nafazolina y oximetazolina han mostrado efecto relajante frente a las contracciones submáximas inducidas por acetilcolina. El hecho de que la isoprenalina no sea activa es importante, ya que este fármaco debería haber desarrollado la máxima actividad.

Los distintos estimulantes α -adrenérgicos han relajado totalmente la contracción provocada por la acetilcolina. Sus valores de IC_{50} (Tabla 1) han sido bastante similares, si bien ha resultado más potente la oximetazolina.

Efectos de fármacos simpaticomiméticos sobre las contracciones mediadas colinérgicamente del músculo traqueal de conejo.

Sólo han presentado actividad la oximetazolina e isoprenalina, si bien existen diferencias en su comportamiento. La isoprenalina ha sido mucho más po-

Tabla 1.- Potencia inhibidora y efecto máximo de fármacos simpaticomiméticos frente a las contracciones inducidas por acetilcolina exógena en preparaciones de tráquea aislada de rata, cobaya y conejo.

FARMACO	IC ₅₀ (-log M)			Emax.		
	Rata	Cobaya	Conejo	Rata	Cobaya	Conejo
Isoprenalina	—	7.16 ± 0.16	5.96 ± 0.02	—	100 ± 0.00	78.2 ± 5.90
Fenilefrina	—	3.24 ± 0.43	—	—	46.9 ± 13.2	—
Metoxamina	3.37 ± 0.03	—	—	100 ± 0.00	—	—
Nafazolina	3.32 ± 0.07	—	—	100 ± 0.00	—	—
Fenilpropranolamina	—	—	—	—	—	—
Oximetazolina	3.77 ± 0.04	3.13 ± 0.14	4.06 ± 0.09	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00

Todos los valores representan la media ± s.e.m.

Tabla 3.- Potencia inhibidora y efecto máximo de fármacos simpaticomiméticos frente a las contracciones inducidas por acetilcolina exógena en presencia de propranolol en preparaciones de tráquea aislada de rata, cobaya, y conejo.

FARMACO	IC ₅₀ (-log M)			Emax.		
	Rata ^a	Cobaya ^b	Conejo ^c	Rata ^a	Cobaya ^b	Conejo ^c
Isoprenalina	—	4.42 ± 0.11**	5.16 ± 0.04**	—	100 ± 0.00	75.3 ± 4.10
Fenilefrina	—	2.63 ± 0.23*	—	—	28.4 ± 3.10*	—
Metoxamina	3.40 ± 0.07	—	—	100 ± 0.00	—	—
Nafazolina	3.23 ± 0.05	—	—	100 ± 0.00	—	—
Oximetazolina	3.75 ± 0.04	3.14 ± 0.16	4.08 ± 0.10	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00

Todos los valores representan la media ± s.e.m.

a: dosis de propranolol 15μM

b: dosis de propranolol 1.5μM

c: dosis de propranolol 15μM

Los asteriscos indican la significancia entre las medias (con y sin propranolol) (*) P < 0.05, (**) P < 0.01.

tente como inhibidor aunque no consigue la relajación total; sin embargo, la oximetazolina fue menos activa pero consiguió la relajación total (Tabla 1).

Efectos de fármacos simpaticomiméticos sobre las contracciones mediadas por cloruro cálcico de músculo traqueal de rata.

Han mostrado actividad relajante, frente a la contracción producida por cloruro cálcico, la metoxamina, nafazolina y oximetazolina. Al comparar estos resultados con los obtenidos para el caso de la acetilcolina observamos que existe cierta relación, ya que los tres fármacos han sido activos y con similar orden de potencia frente a los dos agentes contractores (acetilcolina y cloruro cálcico) (Tabla 2).

Tabla 2.- Potencia inhibidora de fármacos simpaticomiméticos frente a las contracciones inducidas por CaCl_2 exógeno en tráquea aislada de rata.

FARMACO	IC_{50}
Metoxamina	3.51 ± 0.01
Nafazolina	3.32 ± 0.04
Oximetazolina	4.24 ± 0.09

Todos los valores representan la media \pm s.e.m.

DISCUSION

Relacionando globalmente todos los resultados, comprobamos como existe un comportamiento muy distinto según la especie animal que consideremos. En este sentido podemos resaltar de manera especial el hecho de que la isoprenalina (fármaco β -estimulante) ha presentado una gran actividad en cobaya, sin embargo esta actividad ha sido nula en rata. También ha sido activa en tráquea de conejo aunque en menor medida que en el cobaya, acción que tanto en un caso como en otro es antagonizada por el propranolol (bloqueante beta) (Tabla 3).

En relación a los fármacos α -estimulantes, si bien algunos han presentado acción relajante (aunque a dosis muy superiores a las que era activa la isoprenalina), ésta varía según la especie de mamífero a considerar. Así, se puede señalar que la fenilefrina es activa en la tráquea de cobaya e inactiva en los otros dos casos, y la metoxamina y nafazolina son activas en tráquea de rata e inactivas en las otras especies, siendo la oximetazolina activa en todos los casos.

Para estudiar el posible modo de acción relajante de estos fármacos hemos investigado si existen modificaciones en su IC_{50} en presencia de distintos anta-

gonistas: propranolol (β -bloqueante), nicergolina (α -bloqueante) e yohimbina (α_2 -bloqueante). Con la nicergolina (82,5 μ M) y con la yohimbina (115 μ M) no observamos ninguna modificación en el comportamiento relajante de los fármacos en estudio. Con el propranolol (Tabla 3) observamos como existen unas claras modificaciones para el caso del isoproterenol (tanto en cobaya como en conejo), no existiendo modificación alguna para los otros fármacos α -estimulantes, a excepción de la fenilefrina que modifica su efecto máximo, así como su IC_{50} , aunque de forma mucho menos significativa que el isoproterenol.

Con estos hechos podemos pensar que:

1.- El efecto relajante de la isoprenalina se deba a su unión con los receptores beta, que están presentes solamente en tráquea de cobaya y de conejo y no en la tráquea de rata, ya que este efecto es antagonizado por un β -bloqueante en ambos casos.

2.- La fenilefrina es solamente activa en tráquea de cobaya, cuyo efecto es parcialmente modificado por un β -bloqueante, por lo que se puede deducir que este fármaco presente dicha acción beta, hecho descrito por algunos autores (5).

3.- Por último, el efecto relajante de los otros fármacos no está relacionado con ninguno de los receptores adrenérgicos.

Para estudiar con un poco de más profundidad este último hecho, estudiamos si la nafazolina, metoxamina y oximetazolina (fármacos α -estimulantes con acción relajante) presentaban acción relajante frente a las contracciones producidas por el cloruro cálcico, observando (Tabla 2) que todos ellos producían relajación y que además esta mantenía el mismo orden de IC_{50} que presentaba frente a la acetilcolina. Por tanto podemos deducir que el efecto relajante de estos α -estimulantes debe estar relacionado con un mecanismo indirecto.

BIBLIOGRAFIA

- (1) SHELHAMER, J. H., A. MARON and M. KALINER, 1983, Abnormal beta-adrenergic responsiveness in allergic subjects. II. The role of selective beta₂-adrenergic hyporeactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 57.
- (2) CHANG, H. Y., R. M. KLEIN and G. KUNOS, 1982, Selective desensitization of cardiac beta adrenoceptors by prolonged in vivo infusion of catecholamines in rats, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 221, 784.
- (3) DUARTE, J. 1988, Estudios sobre fármacos con actividad adrenérgica: estimulantes alfa, Tesis Doctoral, Granada, 103.
- (4) EMMERSON, J. and D. MACKAY, 1979, The zig-zag tracheal strip, *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 789.
- (5) CHAHL, L. A. and S. R. O'DONNELL, 1969, Actions of phenylephrine on β -adrenoceptors in guinea-pig trachea, *Br. J. Pharmacol.* 37, 41.