



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA I QUÍMICA TERAPÈUTICA

UNITAT DE FARMACOLOGIA I FARMACOGNÒSIA

EFECTE DE L'MK-801 I ALTRES LLIGAMS PCP I SIGMA SOBRE L'ACTIVITAT NORADRENÈRGICA.

Memòria que presenta Anna-Maria Canudas i
Teixidó, dirigida per la Dra. Elena Escubedo i
Rafa i la Dra. Mercè Pallàs i Lliberia, per
l'obtenció del Grau de Llicenciatura.

Barcelona, Juny del 1996.

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0701649001



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

UNITAT DE FARMACOLOGIA I FARMACOGNÒSIA

La Dra. Elena Escubedo i Rafa, i la Dra. Mercè Pallàs i Lliberia, ambdúes Professores Titulars de Farmacologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona.

CERTIFIQUEN: Que la present memòria, amb el títol *“Efecte de l’ MK-801 i altres lligams PCP i sigma sobre l’activitat noradrenèrgica”*, presentada per Anna-Maria Canudas i Teixidó, ha estat realitzada sota la seva direcció i reuneix els requisits necessaris per a la seva presentació i posterior defensa davant del Tribunal corresponent.

Barcelona, Juny del 1996.

Dra. Elena Escubedo

Dra. Mercè Pallàs

D'aquest treball s'han derivat les següents publicacions i comunicacions a congressos:

- "MK-801 enhances noradrenergic neurotransmission in rat vas deferens."

European Journal of Pharmacology, 1996 (en premsa).

- "MK-801 potentiates the effect of noradrenaline in isolated rat vas deferens"

First European Congress of Pharmacology;

Milà 16-19 Juny, 1995

- "Effect of sigma and PCP ligands on noradrenaline-induced contractile response in isolated rat vas deferens"

XX Congreso de la Sociedad Española de Farmacología.

IV Reunion Hispano-Française de Pharmacologie;

Granada 18-20 Setembre, 1996.

AGRAÏMENTS

Aquesta tesina ha estat realitzada gràcies a una gran col·laboració, per tant, des d'aquí vull agrair a totes aquelles persones que m'han ajudat, podent aconseguir així realitzar aquest treball, que és tant important per a mi.

Al Dr. Tomàs Adzet, Cap de la Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia de la Facultat de Farmàcia de Barcelona, per acceptar-me en l'equip de treball de la unitat i posar a la meva disposició tots els medis necessaris per a la realització d'aquesta memòria.

Al Dr. Jordi Camarasa, per donar-me l'oportunitat de formar part de la seva línia d'investigació i per l'interès mostrat envers aquest treball durant tot el temps que l'he estat realitzant.

Al Dr. Josep Iglesias, per facilitar-me la realització de la present tesina.

A la Dra. Elena Escubedo i Dra. Mercè Pallàs, per haver acceptat la direcció d'aquesta tesina i haver-la fet possible gràcies al seu coneixement i dedicació.

Vull agrair especialment a en David Pubill tot el que d'ell he après i totes les hores de treball que ha dedicat per ajudar-me en la realització d'aquesta tesina, fent que bona part de la mateixa sigui tant seva com meva.

Al Dani Gasulla, amb qui he compartit aquest estudi i tantes hores bones dins el departament.

A la resta de persones de la línia d'investigació: Al Dr. Toni Camins, al Dr. Francesc Sureda, a l'Andrés Jiménez, a la Ceci Gabriel i a la Noemí Arnau, per crear tan bon ambient de treball totes les hores que hem passat junts al laboratori.

A la Teresa Iglesias, per la seva simpatia, espontaneïtat i ajuda.


A la Nuri Roglans, per escoltar-me i animar-me quan el treball se'm feia dur.

A la Silvia Lladó per les hores passades al principi de la realització d'aquesta tesina.


A tots els companys i professors de la Unitat de Farmacologia i Farmacognòsia per l'ambient de companyarisme que sempre m'han fet respirar.

A la meva àvia per tenir sempre tanta curiositat i interès en el treball experimental que he realitzat; i a la meva germana Montse, per ajudar-me, animar-me i per què amb ella, a més d'una germana gran tinc una gran amiga amb qui sempre puc comptar.

I a totes aquelles persones que d'una forma o altra s'han vist involucrades en la realització d'aquesta tesina.



Als meus pares, per la il·lusió que han posat en aquest treball, el qual no hauria pogut realitzar sense el seu ajut; i a en Pep, per tenir-lo al meu costat i entendre el que significa per a mi aquesta tesina.



INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS _____ **2**

PART TEÒRICA _____ **5**

RECEPTOR NMDA _____ **6**

A.-RECEPTORS GLUTAMATÈRGICS _____ **6**

A.1.-RECEPTORS METABOTRÒPICS _____ **7**

A.2.-RECEPTORS IONOTRÒPICS _____ **7**

A.2.1.-RECEPTORS AMPA / KAINAT _____ **8**

A.2.2.-RECEPTOR NMDA _____ **8**

A.2.2.a.-Modulació al·lostèrica en el receptor NMDA _____ **11**

A.2.2.a.1.-Modulació per glicina _____ **11**

A.2.2.a.2.-Modulació per bloquejadors del ionòfor _____ **12**

A.2.2.b.-Paper fisiològic del receptor NMDA _____ **12**

B.-PATOLOGIES ASSOCIADES ALS AMINOÀCIDS

EXCITADORS _____ **13**

RECEPTOR PCP _____ **15**

A.-INTRODUCCIÓ _____ **15**

B.-RECEPTOR PCP _____ **15**

C.-SUBTIPUS DE RECEPTOR PCP	16
D.-PAPER FISIOLÒGIC DEL RECEPTOR PCP	17
E.-EL DEXTRORFÀ COM A LLIGAM PCP	17
<u>RECEPTOR SIGMA</u>	20
A.-PERSPECTIVA HISTÒRICA	20
B.-PROPIETATS DELS RECEPTORS SIGMA	21
C.-RECEPTORS SIGMA I PSIQUIATRIA	22
D.-SUBTIPUS DE RECEPTOR SIGMA I	
LA SEVA DISTRIBUCIÓ EN EL SNC	24
E.-PAPER FISIOLÒGIC DEL RECEPTOR SIGMA	25
E.1.-INTERACCIÓ AMB LES RESPOSTES MITJANÇADES PER NMDA	26
E.2.-INTERACCIÓ AMB EL SISTEMA DOPAMINÈRGIC	27
F.-PAPER DELS RECEPTORS SIGMA EN	
EL CONDUCTE DEFERENT	27
<u>RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA</u>	30
A.-INTRODUCCIÓ	30
B.-FACTORS MODULADORS D'AQUEST TRANSPORT	
A NIVELL DEL CONDUCTE DEFERENT	32
B.1.-Dependència del Sodi	32
B.2.-Dependència del Clorur	32
B.3.-Efecte de la colina	33
B.4.-Efecte del tractament amb fàrmacs inhibidors de la captació neuronal	34
B.5.-Efecte de l'edat	34

B.6.-Efecte del liti	35
C.-ACCIÓ DELS LLIGAMS SIGMA I PCP SOBRE	
EL TRANSPORT DE CATECOLAMINES	35
<i><u>PART EXPERIMENTAL</u></i>	41
<u>MATERIAL I MÈTODES</u>	42
<u>A.-EXPERIÈNCIES EN BANY D'ÒRGANS:</u>	42
A.1.- FONAMENT	42
A.2.- OBTENCIÓ DEL CONDUCTE DEFERENT DE RATA	44
A.3.- MUNTATGE DELS CONDUCTES DEFERENTS	
EN EL BANY D'ÒRGANS	45
A.4.-SOLUCIÓ SALINA FISIOLÒGICA	46
A.5.- RESPOSTES INDUÏDES PER ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA	47
A.6.-PROTOCOL EXPERIMENTAL DE L'ESTIMULACIÓ	
DEL CONDUCTE DEFERENT AMB NORADRENALINA EXÒGENA	49
A.6.1.-CORBES CONCENTRACIÓ RESPOSTA A NA	49
A.6.2.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA EN	
PRESENCIA DE IOHIMBINA EN EL MEDI	50
A.6.3.-EXPERIÈNCIES PER A DETERMINAR LA PARTICIPACIÓ	
O LA NO PARTICIPACIÓ DEL RECEPTOR NMDA	51
A.6.3.a.-Corbes concentració-resposta en presència d'NMDA	
més glicina en el medi	51
A.6.3.b.-Corbes concentració-resposta en presència d'AP5 en el medi	52
A.6.4.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA A NA	
EN RATES RESERPINITZADES	52

A.7.- EXPERIMENTS DUTS A TERME AMB BAIXA	
CONCENTRACIÓ DE SODI EN EL MEDI	54
A.8.-EFECTE SOBRE LA TENSIÓ BASAL	55
A.8.1.-RATA NORMAL	55
A.8.2.-INHIBICIÓ DE LA MOTILITAT ESPONTÀNIA PER PRAZOSINA	56
A.8.3.-RATES RESERPINITZADES	56
A.9.-AGENTS FARMACOLÒGICS I REACTIUS EMPRATS	57
A.10.- ANÀLISI DE LES DADES	58
B.- EXPERIÈNCIES SOBRE LA PRESSIÓ ARTERIAL	61
B.1.-FONAMENT	61
B.2.-ANIMALS EMPRATS I PROCEDIMENT QUIRÚRGIC	62
B.2.1.-RATA NORMAL	62
B.2.1.A.-Vagotomia bilateral	66
B.2.2.-RATA RESERPINITZADA	67
B.2.3.-RATA DESMEDUL·LADA	67
B.3.- PROTOCOL EXPERIMENTAL	69
B.3.1.-PROPRANOLOL	69
B.3.2.-PRAZOSINA	70
B.4.- AGENTS FARMACOLÒGICS	70
B.5.-ANÀLISI DE LES DADES	71
RESULTATS	72
A.-EXPERIÈNCIES EN ÒRGAN AÏLLAT	72
A.1.-EXPERIÈNCIES AMB MK-801	72
A.1.1.-EFECTE DE L'MK-801 EN RESPOSTES	
INDUÏDES ELÈCTRICAMENT	72

A.1.2.-EFECTE DE L'MK-801 EN RESPOSTES	
INDUÏDES PER NA _____	73
A.1.3.-PROVES SOBRE EL MECANISME D'ACCIÓ _____	78
A.1.3.a.-Efecte de l'MK-801 en rates reserpinitzades _____	78
A.1.3.b.-Experiències amb baixa concentració de sodi _____	79
A.1.3.c.-Experiències en presència de iohimbina _____	80
A.1.3.d.-Experiències en presència d'NMDA i glicina _____	81
A.1.3.e.- Experiències amb AP5 _____	82
A.1.4.-EFECTE DE L'MK-801 SOBRE LA TENSIO BASAL _____	83
A.2.-EXPERIÈNCIES AMB ALTRES LLIGAMS σ I PCP _____	87
A.2.1.-EXPERIÈNCIES AMB TCP _____	87
A.2.2.-EXPERIÈNCIES AMB PCP _____	89
A.2.3.-EXPERIÈNCIES AMB DEXTRORFÀ _____	91
A.2.4.-EXPERIÈNCIES AMB DEXTROMETORFÀ _____	93
A.2.5.-EXPERIÈNCIES AMB HALOPERIDOL _____	95
A.3.-COMPARATIVA _____	97
A.3.1.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA A NA EN	
PRESÈNCIA DELS DIFERENTS FÀRMACS EMPRATS (1 μ M) _____	97
A.3.2.-CORBES CONCENTRACIÓ-EFECTE _____	99
<u>B.-EXPERIÈNCIES SOBRE LA PRESSIÓ ARTERIAL</u> _____	101
<u>B.1.-RATA NORMAL</u> _____	101
B.1.1.-VAGOTOMIA BILATERAL _____	103
B.1.2.-PRAZOSINA _____	104
B.1.3.-PRETRACTAMENT AMB PROPRANOLOL _____	105
<u>B.2.-RATES RESERPINITZADES</u> _____	106
<u>B.3-RATA DESMEDUL-LADA</u> _____	107

DISCUSSIÓ _____ 109

CONCLUSIONS _____ 117

BIBLIOGRAFIA _____ 120

INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

Un dels objectius més importants per a la farmacologia actual és el coneixement profund dels mecanismes que mitjancen les malalties del sistema nerviós central (SNC), tant degeneratives com psiquiàtriques. Aquest coneixement portaria al desenvolupament de fàrmacs suficientment selectius per guarir aquestes malalties sense causar efectes indesitjables.

De la gran quantitat d'estudis realitzats al respecte fins a l'actualitat, sembla ser que la neurotransmissió per aminoàcids excitadors (AAE), encapçalada pel glutamat, té un paper important en l'aparició de malalties de tipus neurodegeneratiu. Concretament, entre els subtipus de receptors glutamatèrgics que es coneixen són els del subtipus NMDA (N-metil-D-aspartat) els que es consideren, per una sobreactivació dels mateixos, responsables de moltes d'aquestes patologies.

A partir d'aquesta hipòtesi, es desenvoluparen molècules antagonistes del receptor NMDA, tant de tipus competitiu com no competitiu, és a dir, bloquejants del canal iònic associat al receptor i que mitjancen el seu efecte. Aquests fàrmacs tindrien un efecte neuroprotector. Entre els antagonistes no competitius existents trobem substàncies com l'MK-801, la fenciclidina o "pols d'àngel" (PCP), d'aquí que també s'anomeni a aquests llocs d'unió llocs del PCP, o del dizocilpí (MK-801).

Aquestes molècules, però, resultaren tenir una sèrie d'efectes indesitjables (psicotomimètics, convulsivants, al·lucinògens...) que les feien inútils pel tractament d'aquestes malalties, però tot i això, encara són d'utilitat en recerca. D'altra banda, a vegades, la complexitat del sistema nerviós central i la gran quantitat de vies interconnectades pot dificultar l'estudi de les seves propietats.

Així doncs, fóra interessant un estudi dels efectes d'aquestes molècules en teixits perifèrics, on les vies nervioses implicades són més simples. Experiments realitzats pel nostre equip de recerca en conducte deferent aïllat de rata amb l'MK-801 apuntaren a l'existència d'un altre tipus d'efecte no relacionat amb el bloqueig del receptor NMDA; concretament, a una potenciació de les contraccions induïdes per noradrenalina. S'havia descrit que, en el sistema nerviós central, el PCP i l'MK-801 eren capaços d'inhibir la captació de catecolamines en els terminals nerviosos, mentre que a nivell perifèric només s'havien realitzat experiments *in vitro* en cèl·lules cromafins i en artèria caudal de rata.

D'altra banda, s'havia descrit que aquesta capacitat d'inhibició de la captació de noradrenalina era també present en els anomenats lligams σ (sigma), els receptors dels quals havien inicialment estat classificats de forma errònia com a pertanyents de la família de receptors opioides i posteriorment confosos amb els llocs d'unió de la fenciclidina. S'ha trobat que fàrmacs pertanyents a aquesta família podrien ser d'utilitat en el tractament de malalties com l'esquizofrènia i que, a més, sembla ser que modulen l'activitat dels receptors NMDA i la dopaminèrgica. Entre aquests lligams trobem el dextrometorfà i l'haloperidol entre d'altres.

Per tant, seria interessant fer un estudi comparatiu dels efectes de molècules pertanyents als dos grups sobre la neurotransmissió noradrenèrgica en un òrgan on aquesta hi predomina, com és la porció epididimal del conducte deferent de rata i intentar veure si aquest efecte és extrapolable en animal sencer.

Així doncs, els **OBJECTIUS** de la present memòria són:

- Estudiar, en la porció epididimal del conducte deferent aïllat de la rata, els efectes de l'MK-801 sobre la neurotransmissió noradrenèrgica. Determinar el seu mecanisme d'acció.

INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

- Comparar aquests efectes amb els d'altres antagonistes no competitiu del receptor NMDA (ligams PCP) i amb els d'alguns dels anomenats ligams σ . Del primer grup s'estudiarà el PCP, la tenociclidina (TCP) i el dextrorfà. Del segon, haloperidol i dextrometorfà.

- Intentar esbrinar si els efectes potenciadors sobre la noradrenalina de l'MK-801 tenen repercussió en animal sencer sobre un paràmetre de component altament adrenèrgic com és la pressió arterial. Per portar-ho a terme, es farà servir la tècnica de determinació de la pressió arterial cruenta en rata anestesiada amb o sense desmedul·lació.

PART TEÒRICA

RECEPTOR NMDA

A.-RECEPTORS GLUTAMATÈRGICS:

Els receptors GLUTAMATÈRGICS (glutamat com a neurotransmissor majoritari) es troben classificats en receptors IONOTRÒPICS (si es troben lligats a un canal iònic) o receptors METABOTRÒPICS (aquells que estan acoblats a un sistema de proteïna G). Dins de cada un d'aquests grups, es defineixen altres subtipus de receptors en base a les afinitats que demostren per diferents anàlegs del glutamat. Així doncs, s'han descrit fins al moment quatre subtipus de receptors del glutamat (Whatson y Girdlestone, 1995):

- METABOTRÒPICS

- IONOTRÒPICS:

-Receptor AMPA (Àcid α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropioníc)

-Receptor Kainat

-Receptor NMDA (N-metil-D-aspartat)

A.1.-RECEPTORS METABOTRÒPICS:

Estructuralment són similars a altres receptors acoblats a proteïnes G, tot i que hi ha diferències importants respecte als ja coneguts. El seu agonista més potent i selectiu és l'1S, 3R-aminociclopentil-1,3-dicarboxilat (1S, 3R-ACPD) (East, 1992; Manzoni, 1992). L'únic antagonista selectiu descrit és l'àcid L(+)-2-amino-3-fosfonopropiònic (L(+)-AP3), tot i que aquest compost no sembla inhibir la resposta de l'agonista sobre alguns subtipus de receptors metabotròpics.

És una família altament heterogènia de receptors, acoblada a múltiples missatgers secundaris, com la hidròlisi de fosfatidilinositols (Guiramand, 1991a; 1991b; Schoepp 1991; Suzdak, 1993) o disminució en la producció de AMPc (Schoepp, 1993). Això fa que, pels receptors metabotròpics, la denominació "receptors a aminoàcids excitadors" sigui imprecisa, donat que la seva activació pot tenir efectes excitadors o inhibidors depenent dels missatgers secundaris que siguin activats.

A.2.-RECEPTORS IONOTRÒPICS:

Són aquells receptors que contenen en la seva estructura canals iònics específics per determinats cations (Schneggenburger, 1993). Els receptors AMPA, Kainat i NMDA són similars a altres grups de receptors associats a canals iònics, com el nicotínics o els GABAèrgics. La seva activació duu a la despolarització de la neurona, degut al flux de càrregues positives des de l'espai sinàptic al citoplasma (Heinomen, 1989; Kiedrowski, 1994). Es tracta de receptors formats per combinació de diferents subunitats. Aquestes subunitats conferiran la farmacologia i fisiologia característiques per cada subtipus de receptor (Sprengel, 1993).

A.2.1.-RECEPTORS AMPA / KAINAT:

L'activació dels receptors AMPA/Kainat mitjança l'obertura d'un canal catiònic, que permet el pas de Na^+ i K^+ a l'interior de la cèl·lula (Di Porzio, 1993), mentre que la permeabilitat a ions Ca^{2+} és baixa. Aquests subtipus de receptors es diferencien farmacològicament del subtipus NMDA i, al igual que aquest, el seu perfil de selectivitat per diferents agonistes i antagonistes és específic i característic. No obstant, la diferenciació entre el subtipus AMPA i el subtipus Kainat és més difícil d'establir.

Respecte a les accions que aquests tipus de receptors provoquen en el sistema nerviós central (SNC), s'ha establert que són els responsables del component ràpid característic de l'acció del glutamat en la neurona postsinàptica, provocant la seva despolarització (Zorumski, 1992). Així doncs, la seva funció seria anàloga a la del receptor nicotínic en la sinapsi mioneural. Segons el model teòric més acceptat en la actualitat per la LTP (potenciació a llarg termini) (veure apartat A.2.2.B.), aquests tipus de receptors actuen conjuntament amb el receptor NMDA en la seva inducció i manteniment.

A.2.2.-RECEPTOR NMDA:

L'activació pel glutamat o l'NMDA d'aquest subtipus de receptor es tradueix, al igual que en el cas dels receptors AMPA/Kainat, en l'obertura d'un canal iònic que despolaritza la neurona. No obstant, el receptor NMDA és molt més complex. La interacció entre l'agonista i el receptor no és suficient. Això és degut al requeriment absolut de la presència de l'aminoàcid

glicina que, a l'interaccionar amb un lloc d'unió específic, potencia les accions de l'NMDA de manera semblant a com les benzodiazepines potencien les del GABA sobre el receptor GABA_A. Així, la glicina i l'NMDA activen un canal catiónic amb una alta permeabilitat pel Ca²⁺ i una selectivitat relativa per aquest ió.

Arrel de recents estudis farmacològics i cinètics, s'ha estipulat que el receptor NMDA posseeix, com a mínim, 2 llocs d'unió per l'NMDA i 2 per la glicina. L'obertura del canal no tindria lloc fins que els quatre llocs d'unió fossin ocupats (Fig. 2). Una altra característica fonamental del receptor NMDA és el bloqueig del canal catiónic per Mg²⁺ a concentracions fisiològiques d'aquest ió (1mM) (Varga, 1992). El bloqueig per Mg²⁺ no desapareix fins que la neurona es despolaritza, per exemple mitjançant l'acció del glutamat sobre receptors AMPA/Kainat. Es tracta doncs d'un bloqueig sensible a la despolarització de la neurona postsinàptica. És llavors quan es produeix el pas de ions Ca²⁺ i Na⁺ cap al citoplasma. Aquesta propietat ha permès elaborar la hipòtesis mitjançant la qual el receptor NMDA actuaria com un sistema d'amplificació que permetria la inducció i manteniment de processos com la potenciació (LTP) o depressió a llarg termini (LTD).

Electrofisiològicament, el receptor NMDA es diferencia per una reacció més tardana al glutamat i un temps d'obertura del canal més llarg, arribant fins a dècimes de segon. Això es deu a que l'afinitat que posseeix el glutamat pel receptor NMDA és més gran que la que mostra pel receptor AMPA, fent que durant la unió de glutamat el receptor NMDA es pugui obrir repetides vegades.

El coneixement de la funcionalitat d'un receptor depèn en gran part de les eines farmacològiques de les que es disposi. Per aquesta raó s'han desenvolupat en els últims anys un gran nombre de nous compostos amb capacitat per unir-se al receptor NMDA (Kudo, 1991; Mannaioni, 1994). Una altra de les raons per les que s'ha impulsat la recerca de noves molècules ha estat la possibilitat d'utilitzar aquests lligams en el tractament de diferents

desordres del SNC pels que no es disposa de tractament adequat i en els que el receptor NMDA té una gran rellevància (Sheriffs, 1993). A més a més, aquests compostos podrien contribuir a una millor comprensió d'alguns processos fisiològics poc estudiats fins al moment, com la LTP, la LTD o la excitotoxicitat. (Kawai, 1992).

Els antagonistes competitiu del receptor NMDA són molècules molt senzilles, quasi totes són derivats cíclics de l'àcid D-amino-5-fosfonopentanoat (D-AP5) o del D-amino-7-fosfopentanoat (D-AP7) (Vázquez, 1992). En la figura 1 es representen les estructures moleculars de diversos antagonistes competitiu així com d'alguns agonistes del receptor NMDA.

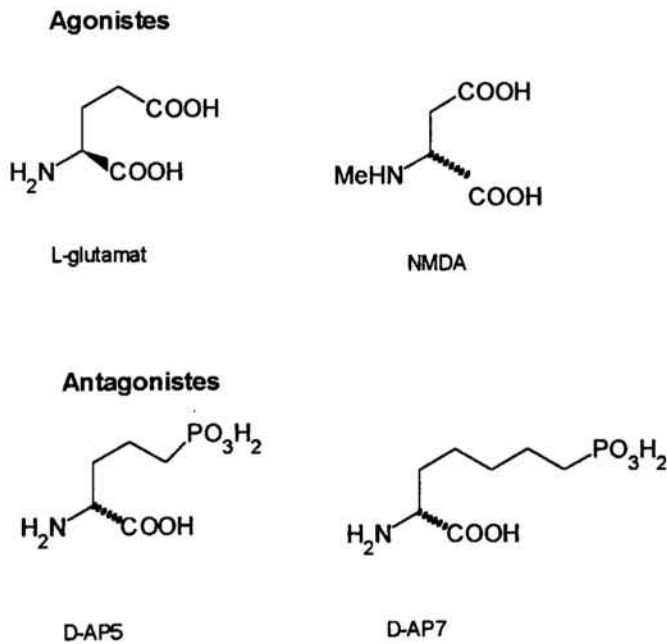


Fig. 1.- Agonistes i antagonistes competitiu del receptor NMDA.

A.2.2.a.-Modulació al·lostèrica en el receptor NMDA:

A.2.2.a.1.-Modulació per glicina:

Sense cap dubte, la característica més notable del receptor NMDA és la modulació per glicina (Bonhaus, 1987). Diferents autors van descriure que l'activitat del canal es veia incrementada per l'aminoàcid glicina (Johnson, 1987; Reynolds, 1987; Oliver, 1990). Aquesta modulació era independent de l'estricnina, substància que inhibeix els efectes de la glicina sobre el seu receptor medul·lar, descrit anys abans. Per tant, es tractava d'un nou lloc d'unió, al qual es denominà lloc d'unió de la glicina insensible a l'estricnina. Poc després es va observar que, en realitat, el receptor NMDA posseeix un requeriment absolut de la glicina per la seva cooperativitat. Així es va descriure en els treballs de Kleckner i Dingledine (Kleckner, 1988; McBain, 1989).

El mecanisme pel qual la glicina modula el receptor NMDA sembla ser múltiple. Per una part, impedeix la disminució de l'activitat del receptor que apareix quan l'agonista s'aplica per un període llarg de temps, fenomen que es coneix com desensibilització. Per altra part, possibilita l'obertura del canal (Lerma, 1990). Aquests efectes són produïts per un mecanisme d'interacció al·lostèrica, encara que no es descarta l'existència de pertorbació estèrica entre els dos aminoàcids (Grimwood, 1993). Els estudis presentats per Benveniste i col. (Benveniste, 1990) intentaven determinar quins eren els patrons cinètics pels que es regien el receptor NMDA i la seva desensibilització. El millor ajust cinètic es va trobar amb un model que suposava l'existència de quatre llocs d'unió: dos per la glicina i dos per l'NMDA. Curiosament, totes les subunitats clonades descrites que conformen el receptor NMDA posseeixen llocs d'unió per l'NMDA i la glicina. No obstant, actualment es considera a l'aminoàcid glicina un co-agonista més que un modulador del receptor NMDA.

A.2.2.a.2-Modulació per bloquejadors del ionòfor:

A part de l'activació del receptor NMDA per la glicina i del bloqueig per Mg^{2+} , existeixen altres mecanismes pels quals aquest receptor és modulad. Existeix un lloc d'unió en el complex canal-receptor que és bloquejat per alguns compostos com el dizocilpi (MK-801) o els anestèsics dissociatius com la fenciclidina (PCP) o Ketamina, de manera anàloga a l'oclusió per Mg^{2+} , donant lloc a un antagonisme no competitiu del receptor NMDA (Lodge, 1990) (Fig.2.). Per això se'ls ha denominat antagonistes no competitiu del receptor NMDA o bloquejadors del canal (MacDonald, 1990).

El ió zinc (Zn^{2+}) també posseeix la propietat de bloquejar el canal (Eimerl, 1992, 1993), però a diferència de l'acció del Mg^{2+} , la seva interacció no és dependent de la despolarització de la neurona. A més, sembla ser que existeixen dos llocs d'interacció amb el receptor: un d'alta afinitat fora del canal, i un altre de menor afinitat en el propi ionòfor, efectuant, aquest últim, un bloqueig similar al del Mg^{2+} (Reynolds, 1992).

A.2.2.b.-Paper fisiològic del receptor NMDA:

El receptor NMDA està implicat en gran quantitat de processos tant a nivell fisiològic com patològic. Una de les funcions més importants que realitza és en la regulació de l'entrada de calci extracel·lular necessària pel manteniment de la potenciació a llarg termini (LTP) i la depressió a llarg termini (LTD) (Shindou, 1993). Aquest tipus de processos són canvis en la transmissió sinàptica que comporten modificacions en la morfologia neuronal. La LTP s'indueix després d'una repetida estimulació de les vies aferents neurals i comporta un increment en l'eficàcia de la transmissió sinàptica (Malenka, 1992). Actualment es considera a aquest fenomen el model sinàptic de l'aprenentatge i la memòria en mamífers. Per altra banda,

ha d'existir un mecanisme pel qual aquesta potenciació de la transmissió desaparegui, donat que si la LTP fos l'únic fenomen de plasticitat sinàptica s'arribaria inevitablement a la seva saturació. Aquest mecanisme és la depressió a llarg termini (LTD), és a dir, representa el model sinàptic de l'*oblit* (Tsumoto, 1993).

A part de la localització majoritàriament sinàptica, existeixen receptors NMDA fora de la sinàpsis. La seva funció seria la de mantenir un to adequat d'excitabilitat postsinàptica. Alguns treballs han conclòs l'existència en les terminals noradrenèrgiques de receptors NMDA, influint en l'alliberació de noradrenalina (Speciale, 1992). Altres indiquen que les neurones noradrenèrgiques que innerven el conducte deferent es troben sota control glutamatèrgic, fet important en el control motor de l'òrgan (Lara i col., 1988).

B.-PATOLOGIES ASSOCIADES ALS AMINOÀCIDS EXCITADORS:

La patogènesi d'algunes malalties s'ha relacionat amb una excessiva activació dels receptors glutamat, o bé a algun defecte en el control de la neurotransmissió glutamatèrgica. Entre aquestes patologies s'inclouen els diferents tipus d'atacs epilèptics, la isquèmia i trauma en el SNC i algunes malalties neurodegeneratives com les malalties de Huntington, Parkinson o Alzheimer. És per això que en els últims anys hi ha hagut gran interès en el desenvolupament d'antagonistes dels receptors glutamatèrgics amb possible utilitat en el tractament d'aquestes patologies. Tot i que per algunes d'elles ja existeixen tractaments vàlids, la recerca de nous agents terapèutics està justificada per la necessitat d'aconseguir fàrmacs amb menor incidència d'efectes secundaris o perfils farmacocinètics més favorables.

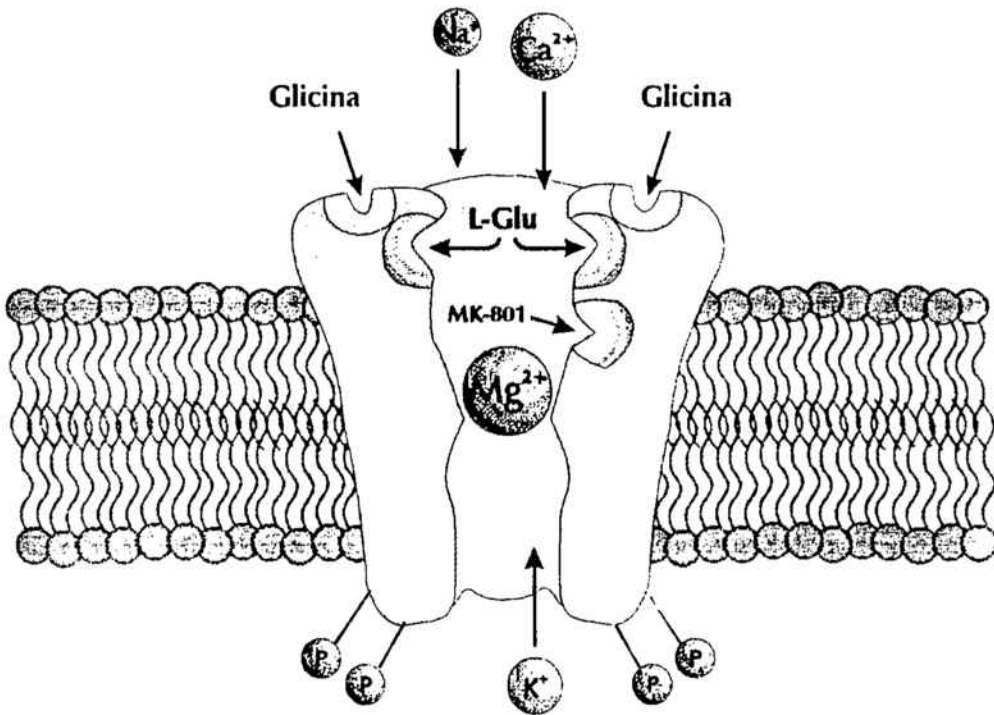


Fig.2.-Representació esquemàtica del receptor NMDA i alguns dels seus llocs de modulació. En condicions de repòs, el ió Mg²⁺ bloqueja el canal, impedit el pas de Ca²⁺ i Na⁺ a l'interior cel·lular i la sortida de K⁺. Els antagonistes no competitius del receptor (o bloquejants del canal) com l'MK-801 o la fenciclidina s'uneixen a un lloc pròxim al Mg²⁺. A l'interior cel·lular existeixen dominis susceptibles a ser fosforilats, modulant l'activació del receptor.

RECEPTOR PCP

A.-INTRODUCCIÓ:

La fenciclidina, originalment introduïda al 1958 com un anestèsic dissociatiu, ha arribat a ser utilitzada com a droga de carrer i és coneguda com a “Pols d’Àngel”. Aquesta, en voluntaris sans, indueix símptomes psicodislèptics, similars als dels pacients esquizofrènics, a qui indueix un empitjorament dels seus símptomes, que dura varies setmanes. Un lloc d’alta afinitat pel PCP es troba situat dins del canal iònic lligat al receptor NMDA (Foster i Fagg, 1987).

B.-RECEPTOR PCP:

Anis i col. (1983) van demostrar que els anestèsics dissociatius com la fenciclidina i la ketamina podien inhibir les respostes neuronals induïdes per l’NMDA. Aquestes dades, junt amb el fet que el *binding* amb un anàleg del PCP que s’utilitza per marcar els llocs d’unió del PCP lligats al complex receptor NMDA, la [³H]Tenociclidina (TCP) (1-(2-tienil)-ciclohexilpiperidina) en membranes de cervell de rata fos estimulat per la presència de 10 µM de glutamat (Loo i col., 1987), donaven evidències de l’existència d’un complex receptor NMDA/PCP en aquest teixit.

Altres estudis mostraven que l’MK-801 presentava una inhibició com la del PCP dels processos neuronals mediat per l’NMDA (Wong i col., 1987). Experiments de

binding demostraren que l'MK-801 inhibeix el *binding* del [³H]TCP amb una alta afinitat, en un model de *binding* en dos llocs d'unió que genera una corba d'inhibició amb un coeficient de Hill de $0,45 \pm 0,02$ (Loo i col., 1987). Un anàlisi informàtic posterior de les dades obtingudes de *binding* mostrà una CI_{50} de 100 ± 19 nM i de 4600 ± 9500 nM respectivament per a cada lloc d'unió. L'addició de $0,5 \mu\text{M}$ de L-glutamat, provoca un increment de l'afinitat de l'MK-801 pels seus llocs d'unió, observant-se una disminució de quatre vegades els valors de les CI_{50} , suggerint que els efectes antagonistes, com els del PCP, estan mediat via una interacció amb el receptor PCP associat amb el complex ionòfor del canal NMDA i, per tant, que l'MK-801 interacciona amb els llocs d'unió de la fenciclidina en el SNC.

Així doncs, anàlegs del PCP, com el TCP i l'MK-801, han mostrat una afinitat molt elevada vers el receptor PCP acoblat al complex receptor NMDA.

C.-SUBTIPUS DE RECEPTOR PCP:

Quirion i col. al 1987 van descriure en preparacions de cervell de rata, que els lligams del receptor PCP tenen varis llocs d'unió. El PCP, es lliga amb una afinitat alta dins del canal iònic lligat al receptor NMDA, com ja s'ha comentat, i també a un punt amb una afinitat més baixa, el qual ha estat caracteritzat utilitzant un anàleg del PCP, la N-[1-(2-benzo (b) tiofenil) ciclohexil]piperidina (BTCP).

Així doncs, el PCP té múltiples llocs d'unió que han estat dividits en 2 subtipus: el PCP₁ i el PCP₂ (Vignon i col., 1986; Rothman i col., 1989). El PCP₁ és associat al canal iònic del receptor NMDA, mentre que el PCP₂ es considera acoblat al transportador de catecolamines, concretament al lloc de recaptació de dopamina (Vignon

i col., 1988). En cèl·lules de la medul·la adrenal s'han pogut observar receptors PCP, però sembla ser que el subtipus PCP₁ no hi és present (Rogers i Lemaire, 1990).

D.-PAPER FISIOLÒGIC DEL RECEPTOR PCP:

Es coneix que la unió del PCP al receptor PCP₁ bloqueja l'activació del receptor NMDA (Thompson i col., 1985), mentre que l'estimulació del receptor PCP₂ ha mostrat un bloqueig en la recaptació de dopamina en les terminacions nervioses. Un dels efectes biològics del PCP que pot estar involucrat en algunes de les seves propietats psicòtiques és la inhibició de la recaptació de catecolamines i serotonina a les terminals nervioses (Smith i col., 1977; Vignon i Lazdunski, 1984; Bowyer i col., 1984; Johnson i Snell, 1985; Snell i col., 1988), el qual ha estat atribuït a la interacció específica del PCP amb el subtipus PCP₂. El fet comentat anteriorment de l'absència de receptor PCP₁ en la medul·la adrenal fan aquest teixit molt útil per a l'estudi del paper dels lligams PCP i sigma en la inhibició de la recaptació de la [³H]noradrenalina (NA).

E.-EL DEXTRORFÀ COM A LLIGAM PCP:

El dextrometorfà, principi actiu de molts preparats antitussius de mostrador, també presentà un ample perfil anticonvulsivant (Tortella i col., 1989b; Kuko i Wada, 1989; Takazawa i col., 1990), així com propietats neuroprotectores en models experimentals de dany neuronal (Steinberg i col., 1988; George i col., 1988; Tortella i col., 1989a). Aquests efectes, més que a la seva acció sobre receptors sigma o a la baixa

potència antagonista sobre el receptor NMDA, s'atribueixen al seu metabòlit fenòlic dextrorfà. El dextrorfà és un anticonvulsivant més potent (Tortella i col., 1989a; Wong i col., 1988; Aram i col., 1989; Chapman i Meldrum, 1989), neuroprotector (Choi, 1987; Choi i col., 1987; Monyer i Choi, 1988; Steinberg i col., 1988, 1989) i antagonista dels canals de calci (Carpenter i col., 1988) en molts dels mateixos models animals.

Aquest metabòlit podria ser el responsable de totes aquestes accions del dextrometorfà ja que, en humans, aquest fàrmac és metabolitzat a dextrorfà en més d'un 90%, havent-se descrit casos de toxicitat en nens i reaccions psicotomimètiques quan s'ha ingerit en sobredosi medicaments que contenen dextrometorfà.

Estudis posteriors demostraren que el dextrorfà presenta una elevada afinitat pels llocs PCP associats al receptor NMDA (K_D 23 nM) (Franklin i Murray, 1992), es a dir, els PCP₁, mentre que presenta una afinitat de moderada a baixa pels llocs sigma₁ (Klein i Musacchio, 1989; Walker i col., 1990). Aquestes dades, unides al fet que els efectes observats *in vivo* coincideixen amb els que presenten els antagonistes no competitiu del receptor NMDA com el PCP o l'MK-801, indiquen que el dextrorfà és un potent lligam tipus PCP.

A continuació es representen les estructures moleculars dels principals lligams PCP:

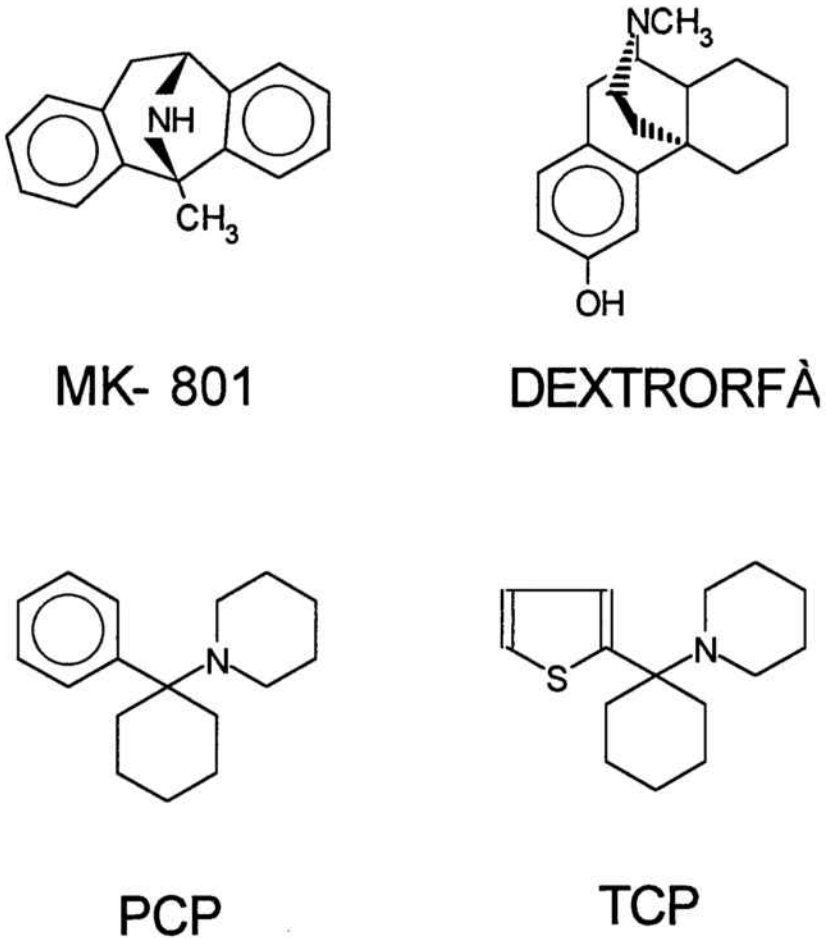


Fig.3.- Principals lligams tipus PCP.

RECEPTOR SIGMA:

A.-PERSPECTIVA HISTÒRICA:

El receptor sigma va ser proposat al 1976 per Martin i col. (1976) per donar una explicació a les accions de l'(±)-SKF 10.047 (N-alil-normetazocina) i benzomorfans racèmics relacionats.

Aquests compostos produeixen un quadre comportamental característic en el gos, com el deliri caní, i tenen efectes psicotomimètics en humans (Haertzen, 1970; Keats i Telford, 1964). Investigacions posteriors van revelar que el (±)-SKF 10.047 es lligava a tres tipus de receptors:

- 1.-En primer lloc, als receptors **opiacis mu (μ) i kappa (κ)** (Mangan i col., 1982)
- 2.-Al **receptor PCP** (Zukin et al., 1986)
- 3.- Al **receptor sigma (σ)** (Quirion i col., 1987).

Aquests últims han estat subclassificats com: receptors sigma sensibles a l'haloperidol, insensibles a l'etorfina i a la naloxona.

B.-PROPIETATS DELS RECEPTORS SIGMA:

Inicialment, quan van ser descoberts a l'any 1976, es pensà que eren un tipus de receptor pertanyent a la família dels receptors opiàcics. Descobriments posteriors van demostrar que no era així, degut a que mentre els receptors opiàcics eren enantioselectius pels isòmers(-) dels narcòtics derivats de l'opi, els antagonistes dels narcòtics i els congèneres seus, el receptor σ era enantioselectiu pels isòmers(+) i a més, la naloxona era inefectiva en front els efectes tant *in vivo* com *in vitro* dels lligams σ (Brady i col., 1982). Per tant, amb això quedà clar que el receptor σ no és un tipus de receptor opiàci.

Posteriorment, alguns investigadors van afirmar que el receptor σ era idèntic al receptor PCP, basant-se en el desplaçament de la unió del [^3H]PCP pel lligam σ prototípic (+)-SKF 10.047 (Mendelsohn i col., 1985; Zukin i col., 1984). Per aquesta raó, els receptors σ van ser algunes vegades anomenats "sigma opiàci/ receptor PCP" (Zukin i col., 1984). De tota manera, el patró de selectivitat de la unió del [^3H](+)-SKF 10.047 difereix del patró del [^3H]PCP demostrant que aquestes substàncies es lliguen a diferents receptors. Per exemple, fàrmacs antipsicòtics (com l'haloperidol) desplacen potentment la unió del [^3H](+)-SKF 10.047, però són molt dèbils o inactius en front la unió del [^3H]PCP (Tam, 1983; Tam i Cook, 1984). Inversament, el PCP desplaça molt poc la unió del [^3H]haloperidol (Tam i Cook, 1984; Downes i col., 1986; Itzhak, 1987).

Els receptors σ i PCP poden també diferenciar-se per la seva distribució anatòmica, perquè, els llocs d'unió del [^3H](+)-SKF 10.047 i del [^3H]PCP estan concentrats en diferents àrees del cervell (Gundlach i col., 1985; Largent i col., 1984; McLean i Weber, 1988; Sircar i col., 1986; Gundlach i col., 1986). Tam (1985) va apuntar altres diferències entre la unió del [^3H]PCP i la del [^3H](+)-SKF 10.047 com la sensibilitat de la unió del [^3H]PCP als ions de sodi i la baixa afinitat i poca

estereoselectivitat mostrada pels receptors PCP en front la unió del (+)-SKF 10.047 i la (+)-etilcetociclazosina. D'aquests descobriments quedà clar que el [³H](+)-SKF 10.047 es lliga a dos llocs diferents: un lloc sensible a l'haloperidol (que subseqüentment va ser anomenat receptor σ) i a un lloc sensible al PCP (anomenat receptor PCP; Quirion i col., 1987).

C.-RECEPTORS SIGMA I PSIQUIATRIA:

Els efectes psicotomimètics induïts pel primer lligam σ van suggerir que aquest receptor estava involucrat en la fisiopatologia d'alguns desordres psiquiàtrics. Si aquests efectes psicotomimètics dels lligams σ són atribuïbles, almenys en part, a la seva afinitat pels receptors σ no quedava tant clar.

Al 1990, Musacchio, va concloure que aquests efectes eren més bé relacionats amb l'activació dels receptors κ o amb l'activació del receptor PCP (Musacchio, 1990). Un any més tard, Su (1991) donà les mateixes dades i va concloure que si el efectes psicotomimètics induïts per lligams σ levorotatoris, com la (-)-pentazocina, semblaven estar relacionats amb l'activitat del receptor κ , aquells induïts pels lligams σ dextrorotatoris eren atribuïbles, en part, a la seva afinitat pel receptor σ .

La implicació dels receptors σ en l'esquizofrènia es basa en l'alta afinitat trobada per l'haloperidol per aquest receptor. L'afinitat d'aquesta butirofenona pel receptor σ és encara més alta que la seva afinitat pels receptors dopaminèrgics. Més tard, ha estat descrit que *in vivo* i *in vitro*, en cervell de rata i conill perquè el receptor σ podria representar la proporció més gran de la unió del [³H]haloperidol. Estudis de tomografia

d'emissió de positrons (TEP) en humans conclueixen el mateix, utilitzant el [¹⁸F]haloperidol (Schlyer i col., 1992). Durant bastants anys, l'haloperidol va romandre com el lligam amb l'afinitat i selectivitat més altes pel receptor σ i va ser utilitzat en molts dels estudis d'unió de radiolligams.

La implicació potencial dels receptors σ en esquizofrènia és recolzada per estudis *post-mortem* que mostren una reducció en la densitat dels llocs d'unió σ en el còrtex i en cerebels de pacients esquizofrènics (Shibuya i col., 1992). De tota manera, la significació clínica encara és dubtosa ja que la majoria d'aquests pacients havien estat tractats amb neuroleptics, i és ben sabut que aquest tractament crònic amb haloperidol indueix una "down-regulation" de receptors sigma (Reynolds i col., 1991).

Per tant, fins al moment, el valor terapèutic de lligams selectius σ en l'esquizofrènia no ha estat clarament establerta. Alguns han qüestionat els avantatges terapèutics d'aquests compostos, suggerint que el receptor σ pot ser responsable d'alguns efectes indesitjables (notablement els símptomes extrapiramidals) induïts per neuroleptics (Goldstein i col., 1989).

Degut a que varis antidepressius com la sertralina, fluoxetina, opipramol, deprenil i clorgilina tenen una alta afinitat pel receptor σ s'ha apuntat la possibilitat de que aquest receptor estigui involucrat en desordres afectius importants. Tractaments a llarg plaç amb imipramina o fluoxetina disminueixen la densitat de receptors σ en l'estriat, hipocamp i còrtex cerebral de rata (Shirayama i col., 1993)

D.-SUBTIPUS DE RECEPTOR SIGMA I LA SEVA DISTRIBUCIÓ EN EL SNC:

Arrel de varis estudis bioquímics es va suggerir la presència de dos subtipus del receptor σ (Musacchio i col., 1989). La nomenclatura actual reconeix l'existència de dos subreceptors, anomenats σ_1 i σ_2 . En aquesta classificació, lligams σ com l'(+)-SKF 10.047, la (+)pentazocina i el JO-1784 ((+)-ciclopropil-metil-N-metil 1,4-difenil-1-il-but-3-en-1-ilamina) són selectius pel receptor σ_1 , mentre que altres com el DTG (1,3-di-(2-tolil)guanidina) i l'haloperidol tenen una afinitat similar per tots dos receptors (Quirion i col., 1992). De tota manera, diferents treballs indiquen l'existència de més de dos subtipus. Per exemple, el pretractament amb toxina pertussis suprimeix la potenciació de la resposta de l'NMDA induïda per una dosi baixa de JO-1784 però no la induïda per la (+)pentazocina (Monnet i col., 1994). Això suggereix que el JO-1784 potencia la resposta de l'NMDA via un receptor sigma acoblat a una proteïna $G_{I/O}$, mentre que la (+)pentazocina indueix el mateix efecte via un receptor σ acoblat a un altre sistema de transducció diferent de les proteïnes G. De fet treballs previs mostraven que la unió de la [3 H]pentazocina no és modificada per la presència de GTP i Gpp(NH)p (anàleg estable del GTP) i que alguns efectes de la (+)pentazocina eren mediatos via un receptor diferent del σ_1 .

S'han trobat densitats significants de receptor σ en teixit perifèric (Wolfe i col., 1989) encara que són particularment abundants en el sistema nerviós central. Estudis autoradiogràfics amb el [3 H]3-PPP (3-[3-hydroxyphenyl]-N-(1-propyl)-piperidina) i el [3 H]haloperidol han mostrat que els receptors σ estan particularment concentrats en regions implicades en la regulació d'emocions i funcions motores, sistema límbic i tronc cerebral, respectivament. Per altra banda, també s'ha trobat densitats significatives de receptors σ en altres àrees del sistema nerviós central, com la substància nigra, cervellet,

etc. (Gundlach i col., 1986; Weber i col., 1986). Els estudis autoradiogràfics amb la (+)-pentazocina, el (+)-SKF 10.047 i el DTG, tritiats, han mostrat una gran heterogeneïtat en la distribució del receptors σ_1 i σ_2 en diferents zones de l'encèfal (McCann i col., 1994). Aquesta distribució heterogènia dels diferents subtipus de receptors σ és recolzada per dades electrofisiològiques que mostren respostes diferents a la (+)pentazocina, al DTG i al JO-1784.

E.-PAPER FISIOLÒGIC DEL RECEPTOR SIGMA:

Molts estudis han intentat determinar el paper fisiològic del receptor σ (Debonnel, 1993). Els primers estudis es duïen a terme amb lligams poc selectius i a altes concentracions. En conseqüència, els nombrosos efectes descrits lligats a l'activació del receptor σ són dubtosos. En particular, aquests efectes eren sovint atribuïbles a l'afinitat d'aquests lligams pel lloc del PCP (Malouf i col., 1988) i no a la interacció amb els receptors sigma.

A continuació exposarem el paper fisiològic d'aquest receptor centrant-nos en la descripció dels seus efectes fisiològics implicats en la modulació de neurotransmissions glutamatèrgiques i dopaminèrgiques, degut a que aquestes interaccions no poden ser confoses amb un efecte mitjançat pel lloc del PCP.

E.1.-INTERACCIÓ AMB LES RESPOSTES MITJANÇADES PER NMDA:

Com ja hem mencionat, en els darrers anys es disposa de lligams σ selectius i amb una gran afinitat ((+)3-PPP i DTG). Aquests lligams han sigut estudiats tant en experiments *in vivo* com *in vitro*, mostrant-se capaços de modular la resposta NMDA. Els efectes d'aquests compostos en l'activitat neuronal induïda per l'NMDA s'han comparat amb la induïda per l'activació d'altres subtipus de receptors glutamatèrgics. Dosis baixes del DTG potenciaven les respostes induïdes per l'NMDA però no les mitjançades pels altres receptors glutamatèrgics. Efectes similars varen ser obtinguts amb altres lligams σ , com per exemple la (+)-pentazocina o el JO-1784. A aquests compostos se'ls denominà *agonistes*. Només quatre dels lligams σ , haloperidol, (+)3-PPP, BMY-14802 (α -(4-fluorofenil)-4-(5-fluoro-2-pirimidinil)-1-piperazina butanol) i NE-100 (N,N-dipropil-2-[4-metoxi-3-(2-feniletoksi)fenil]-etil-amina monohidrocloridrat) no van modificar la resposta de l'NMDA, sinó que varen revertir la potenciació abans descrita, per tant es van anomenar *antagonistes* σ .

Més interessant encara, va ser que les corbes dosi-resposta, obtingudes amb tots els agonistes σ en aquest model d'enregistrament de l'activació neuronal induïda per l'NMDA, tenien forma de campana. Això indica que, el grau de potenciació de la resposta induïda per l'NMDA per aquests agonistes s'incrementa de forma dosi-depenent en el marge de dosis baixes. Una vegada s'ha obtingut el màxim grau de potenciació, aquest decreix progressivament a dosis més altes. Aquesta caiguda de la potenciació de la resposta d'NMDA a dosis altes dels lligams σ és deguda a la pèrdua de selectivitat d'aquests compostos pel receptor σ , però no a la desensibilització d'aquests.

Aquests resultats indicaven que els lligams σ modulen *in vivo* el complex receptor NMDA-canal iònic, i sembla ser que ho fan a través del receptor σ_1 .

E.2.-INTERACCIÓ AMB EL SISTEMA DOPAMINÈRGIC:

Des del seu descobriment, s'ha suggerit la possibilitat de la interacció dels receptors σ amb el sistema dopaminèrgic. Martin i col. (1976) van apuntar que "l'activitat sigma pot involucrar un mecanisme dopaminèrgic". No s'ha d'oblidar, però, que la majoria dels lligams σ utilitzats o els seus primers metabòlits tenen, deixant de banda la seva afinitat pel receptor σ , una alta afinitat pels receptors PCP i/o dopaminèrgics.

Per tant, les interaccions entre receptors σ i neurotransmissions dopaminèrgiques no són completament clares degut, principalment, a l'absència de selectivitat d'alguns dels lligams σ . El (+)3-PPP posseeix una afinitat relativament alta per l'autoreceptor dopaminèrgic. No obstant, sembla ser que varis *agonistes* σ incrementen l'alliberació basal de neurotransmissor de les neurones dopaminèrgiques i l'alliberació de dopamina en algunes àrees innervades pel sistema dopaminèrgic.

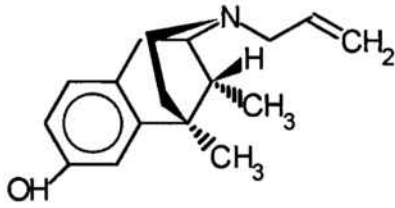
F.-PAPER DELS RECEPTORS SIGMA EN EL CONDUCTE DEFERENT:

El (+)-3-PPP i el (+)-SKF 10.047 potencien les contraccions neurogèniques (induïdes per estimulació elèctrica) en conducte deferent aïllat de ratolí on, com és sabut, predomina la neurotransmissió per ATP (Matsuno i col., 1993). A diferència dels resultats obtinguts en artèria caudal de rata (Massamiri i Duckles, 1990; 1991) amb lligams σ i PCP, aquesta potenciació és estereoselectiva (l'isòmer (+) és molt més potent que el (-)). Aquest fet es correlaciona amb la seva capacitat d'inhibir la unió del [3 H](+)-SKF 10.047, lligam dels receptors σ en aquests òrgans. Això permetia deduir que la

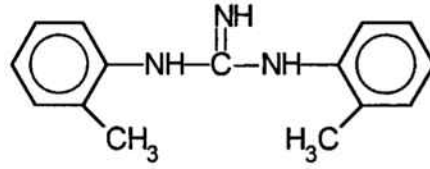
potenciació de les contraccions neurogèniques induïda per lligams σ és mitjançada per receptors σ . L'estimulació d'aquests receptors a benzomorfans causaria una potenciació de la neurotransmissió per ATP.

Posteriorment, els mateixos autors demostraren que aquestes substàncies també potenciaven la contracció induïda per l'aplicació d'ATP exogen (Matsuno i col., 1996) mitjançant l'acció sobre un tipus de receptor σ diferent als σ_1 i σ_2 .

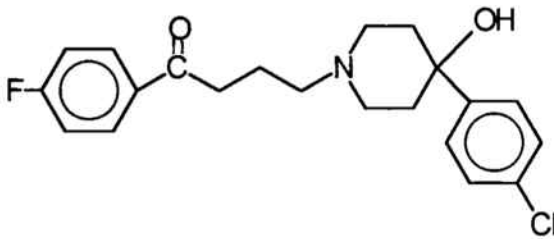
Les estructures moleculars dels principals lligams del receptor σ , el (+)-SKF 10.047, l'haloperidol, el DTG, el (+)-3-PPP i el dextrometorfà, es mostren a la pàgina següent (Fig. 4).



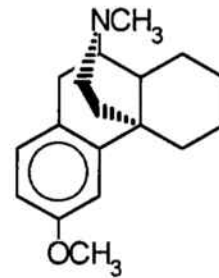
(+)-SKF 10047



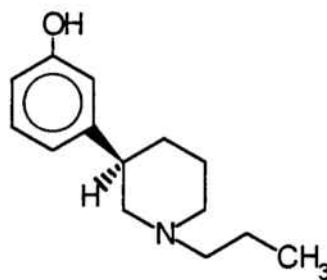
DTG



HALOPERIDOL



DEXTROMETORFÀ



(R)-(+)-3-PPP

Fig.4.- Principals lligams tipus sigma.

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

A.-INTRODUCCIÓ:

En diferents teixits es produeix una acumulació de catecolamines (noradrenalina i adrenalina) (Axelrod i col., 1959). Entre aquests teixits es troben el cor i la melsa, els quals acumulen catecolamines principalment gràcies a un sistema de transport d'alta afinitat a les terminals nervioses simpàtiques (*uptake*). En el sistema nerviós central també existeix un sistema de transport, constituint aquest el principal mecanisme per a la neurotransmissió. Així mateix, en les cèl·lules cromafins de la medul·la adrenal també es troba present un sistema de transport d'alta afinitat que ha estat caracteritzat i pot ser comparable amb el ja anteriorment descrit en el cervell (Kenigsberg i Trifaro, 1980; Jaques i col., 1984; Banerjee i col., 1987; Rogers i Lemaire, 1991).

Aquest sistema de transport es pot diferenciar en dos tipus, segons si és neuronal (tipus I) o extraneuronal (tipus II):

-TRANSPORT NEURONAL:

Aquest transport té lloc principalment en terminals nervioses i redueix la quantitat de molècules de neurotransmissor capaces d'actuar sobre els receptors. De la NA acabada d'alliberar per aquestes terminacions, un 80% és recaptada, entra al citoplasma de la neurona i és transportada activament altre cop cap als grànuls, on quedarà emmagatzemada i podrà ser alliberada de nou per un estímul nerviós.

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

És un sistema caracteritzat per ser un transport actiu, saturable i competitiu, el qual presenta una estereoselectivitat per les formes(-). Diverses substàncies com la cocaïna, amfetamina i altres amines simpàticomimètiques, alguns antidepressius tricíclics (imipramina, amitriptilina..) i certs neurolèptics produeixen una inhibició d'aquest tipus de transport.

-TRANSPORT EXTRANEURONAL:

Existeix també, una captació de NA i altres amines en altres cèl·lules no neuronals. Aquesta captació té lloc per mitjà d'un sistema amb menor afinitat per les catecolamines. En aquest tipus de transport l'amina captada no serà emmagatzemada, sinó que serà metabolitzada per la MAO (monoamino oxidasa) o per la COMT (catecol-o-metil transferasa).

Tot i també funcionar mitjançant un transport actiu, aquest difícilment serà saturable. Presenta més activitat davant de l'adrenalina que front la NA i, a diferència del neuronal no presenta estereoespecificitat. Els esteroides, la fenoxibenzamina i metabòlits metilats l'inhibeixen.

B.-FACTORS MODULADORS D'AQUEST TRANSPORT A NIVELL DEL CONDUCTE DEFERENT:

B.1.-Dependència del Sodi:

El sodi és un catió imprescindible pel transport de NA, ja que és necessari pel funcionament del transportador d'amines associat a la membrana axònica de neurones noradrenèrgiques (Iversen i Kravitz, 1966; Bogdanski i Brodie, 1966). Les propietats cinètiques d'aquest transport són les d'una reacció enzimàtica seqüencial per a dos substractes, el Na^+ i la NA, els quals actuen com a co-substractes de forma cooperativa (Sammet i Graeffe, 1979; Friedrich i Bönisch, 1986).

Una inhibició d'aquest transport, ja sigui per part de substractes alternatius (amines com el (-)-metaraminol i la (+)-amfetamina) o inhibidors d'aquest "no transportats" (desimipramina, nisoxetina, nomifensina i cocaïna), presenta també una dependència a Na^+ per a la seva actuació.

B.2.-Dependència del Clorur:

Friedrich i Bönisch (1986) van observar la dependència del Cl^- en el transport de captació neuronal. Estudis realitzats en absència d'aquest ió en el medi determinaren que es produeix una anul·lació o disminució de la captació de NA, obtenint un índex de captació del 12% front estudis realitzats en presència de Cl^- . Aquests autors van demostrar que la presència extracel·lular d'aquest ió provocava una estimulació de la captació neuronal

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

disminuint la K_m (constant de Michaelis-Menten) i augmentant la V_{max} (velocitat màxima) del sistema de transport de NA.

S'observa una sensibilitat a la concentració externa de Cl⁻ en l'efecte dels inhibidors d'aquest transport com la desimipramina i la cocaïna, patint una disminució de la seva potència en absència d'aquest anió. La desimipramina presenta una sensibilitat més elevada i, per tant, una dependència més gran a aquest ió, podent-se suggerir que existeix una diferència en l'estat del transportador sobre el qual actuen cada una d'aquestes substàncies (Ungell i col., 1989).

B.3.-Efecte de la colina :

El transportador de NA localitzat en la membrana axònica de les neurones noradrenèrgiques té afinitat per la colina. Existeix una interacció competitiva entre la [³H]NA i la colina pel transportador, produint-se així una inhibició de la captació neuronal de NA tritiada per part de la colina (Keller i Graefe, 1979).

En estudis realitzats en presència de colina en el medi (en altes concentracions, mM) com a substitut del Na⁺ en experiències que requereixen una concentració baixa o absència d'aquest ió en el medi, s'ha pogut observar que la colina provoca una acceleració de la difusió quan es mesura la sortida de [³H]NA. Aquest increment de la sortida és una característica diferenciadora dels substractes inhibidors del transportador i que els diferencia dels inhibidors "no transportats".

La inhibició d'aquest transport per la colina és depenent de la concentració de Na⁺ en el medi, essent més potent en presència d'aquest.

B.4.-Efecte del tractament amb fàrmacs inhibidors de la captació neuronal:

Sallés i Badia (1993) van descriure l'existència d'una desensibilització dels receptors adrenèrgics α_1 en tractaments llargs amb fàrmacs inhibidors de la captació neuronal (en el conducte deferent de rata), segurament provocada per l'increment dels nivells de NA a l'entorn dels receptors. De tota manera aquesta pèrdua depèn d'altres factors com la densitat i simetria de les innervacions i de l'amplada de la vesícula sinàptica.

B.5.-Efecte de l'edat:

Entre la part epididimal i la prostàtica del conducte deferent existeixen diferències en els valors de captació neuronal, essent aquests valors més elevats en la part epididimal.

En relació amb l'edat es pot observar una disminució d'aquesta funció en la part prostàtica (reducció del valor V_{max}), mentre que no s'observa aquesta disminució en la part epididimal (Avellar i col., 1990).

Confirmant aquestes dades, Peckelmann i Werneck de Avellar (1992) van descriure que l'edat provocava una reducció del número de llocs d'unió per a la [3 H]desimipramina en la part prostàtica i no en la part epididimal.

B.6.-Efecte del liti:

En experiències en un medi on s'ha afegit liti per tal de suplir la deficiència de Na^+ , s'ha pogut observar, només en la part prostàtica, una potenciació en la captació neuronal de la [^3H]NA. Aquest efecte era bloquejat amb una preincubació dels teixits amb mioinositol, suggerint un paper dels metabòlits del fosfatidilinositol en el procés de recaptació neuronal. (Pekelman i Werneck de Avellar, 1992). Altres treballs, però, realitzats en conductes deferents provinents de rates tractades crònicament amb liti no han trobat alteracions en l'alliberament ni en la recaptació de la [^3H]NA, així com, en la funcionalitat dels receptors α_1 ni α_2 (Finberg i col., 1992).

C.-ACCIÓ DELS LLIGAMS SIGMA I PCP SOBRE EL TRANSPORT DE CATECOLAMINES:

Derivat dels efectes comportamentals observats *in vivo*, Pecnich i col. (1989a, 1989b, 1991) van establir la hipòtesi de que part de les propietats psicotomimètiques de la fenciclidina podrien ser degudes a un bloqueig en la recaptació de catecolamines i serotonina a les terminals nervioses. S'ha observat que el mateix marge de dosis del PCP considerades anticonvulsivants i neuroprotectores, degut a un bloqueig no competitiu del receptor NMDA, també produeix uns efectes com hipotèrmia, disminució dels nivells de prolactina i elevació dels nivells extracel·lulars de dopamina que s'han atribuït a un bloqueig de la recaptació de catecolamines.

En diverses preparacions de sinaptosomes de cervell de rata es va trobar que el PCP inhibia aquesta recaptació (Smith i col., 1977; Bowyer i col., 1984; Vignon i Lazdunski,

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

TAULA 1: INHIBICIÓ DE LA [³H]NA EN CULTIUS DE CÈL·LULES CROMAFINS.	
SUBSTÀNCIA	CI₅₀ (μM) (Cèl·lules cromafins)
<i>Inhibidors de l'uptake</i>	
DESMETILIMIPRAMINA	0,010 ± 0,002
<i>Lligams sigma</i>	
HALOPERIDOL	0,47 ± 0,09
(+)-3-PPP	0,5 ± 0,08
DEXTROMETORFA	0,51 ± 0,02
RIMCAZOLE	4,03 ± 0,28
(-)-BUTACLAMOL	5,11 ± 0,12
(+)-SKF 10.047	14,0 ± 2,87
DTG	20,0 ± 4,24
(-)-SKF 10.047	38,3 ± 6,04
<i>Lligams PCP</i>	
MK-801	1,92 ± 0,18
FENCICLIDINA	0,24 ± 0,07
TENOCICLIDINA	0,42 ± 0,08

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

Així doncs, els lligams σ i PCP podrien tenir una acció inhibidora de l'*uptake* de NA per mitjà d'un lloc que guarda semblança amb el receptor σ_1 , però, diferent del lloc responsable de la captació de dopamina (PCP₂) (Rogers i Lemaire, 1991).

En experiències realitzades en teixits perifèrics, es trobà que el PCP actuava augmentant la resposta induïda elèctricament en conducte deferent de conill porquí, mentre que l'haloperidol, un antagonista del receptor σ , antagonitzava aquest efecte (Vaupel i col., 1987). Per altra banda, al mateix any, Campbell i col. van demostrar el mateix pel TCP i pel (+)PPP (antagonista també del receptor σ).

El PCP fou estudiat en conducte deferent de rata, podent-se observar un desplaçament cap a l'esquerra en la corba concentració resposta a NA (indicant una potenciació), mentre que la corba a oximetazolina, la qual no presenta recaptació, no es veia afectada en presència d'aquest fàrmac. Tampoc s'observava una variació en la resposta a tiramina per aquest compost. Per tant, es podia descartar una acció presinàptica σ que provoqués un augment de l'alliberació de NA i es reforçava més la possibilitat d'un mecanisme d'acció inhibitori de la recaptació d'aquest neurotransmissor (Fox i col., 1989).

Kennedy i Henderson (1989) van excloure la implicació dels receptors σ com a responsables d'aquesta potenciació de la NA. Aquests autors van trobar que el (+)-3-PPP inhibia les contraccions neurogèniques en conducte deferent aïllat de ratolí (contradient la potenciació descrita per Campbell i col., 1987), però si es bloquejaven els receptors dopaminèrgics D₂ amb sulpiride, llavors el (+)-3-PPP les potenciava. L'haloperidol (un suposat antagonista σ) potenciava les contraccions a concentracions entre 10⁻⁶ i 10⁻⁵ M però a concentracions més altes les inhibia, i el DTG, un potent lligam σ , tampoc hi tenia efecte. Així doncs, quedà demostrat que les potenciacions tenien lloc per l'acció a un punt diferent als σ descrits fins al moment.

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

Fox i col. (1991) van demostrar, en conducte deferent aïllat de rata, que la potenciació de les contraccions neurogèniques pel PCP, la (\pm)-pentazocina i l'(+)-SKF 10.047 tampoc no eren degudes a una acció sobre el receptor σ , ja que les seves potències no es correlacionaven amb les seves afinitats pels receptors σ centrals. El DTG no afectava aquestes contraccions ni inhibia la potenciació per les altres substàncies emprades. Aquest estudi indicava que el conducte deferent de rata no és útil per avaluar lligams σ i recolzava la hipòtesi de la potenciació per inhibició de la recaptació.

A nivell d'altres òrgans perifèrics com l'artèria caudal aïllada i perfundida de rata, altres autors (Massamiri i Duckles, 1990; 1991) observaren que l'MK-801, el TCP, el (+)-SKF 10.047 i el (+)-3-PPP potenciaven les contraccions induïdes per NA amb un ordre de potències de: TCP>(+)3-PPP>MK-801>(+)SKF 10.047. La hipòtesi de la inhibició de la captació de tipus 1 o neuronal era recolzada pel fet de que si s'inhibia el transport neuronal de NA amb cocaïna les potenciacions s'anulaven, mentre que si s'inhibia el transport no neuronal amb deoxicorticosterona les potenciacions no es veien afectades. Una manca de correlació de potències mesurades amb les afinitats d'aquestes substàncies pel receptor σ permetia descartar una vegada més la participació d'aquests receptors en aquest efecte.

En l'artèria caudal de rata, aquestes molècules també inhibien la incorporació neuronal de [3 H]NA, així com en seccions de cervell de rata on inhibien el *binding* de la [3 H]desimipramina. La captació de [3 H]NA fou també sorprenentment inhibida per l'haloperidol, el BMY-14802, el rimcazol i el DTG, els quals també sorprenentment inhibien les contraccions per NA en l'artèria aïllada. La seva potència inhibidora de les contraccions era, però, major que la inhibidora de la recaptació, suggerint que l'efecte d'inhibició de les contraccions era degut a un altre efecte, segurament directe, sobre el múscul llis. De fet, hi ha treballs que demostren un antagonisme musculotròpic per l'haloperidol de les respostes a NA i dopamina en conducte deferent de rata (Miranda i col., 1988) que emmascara el possible efecte sobre la captació de les catecolamines. La bona correlació existent entre la inhibició de

RECAPTACIÓ DE LA NORADRENALINA

la captació de [³H]NA i la inhibició del *binding* de [³H]desimipramina per aquestes substàncies va permetre suggerir que aquests lligams interaccionen d'una forma complexa amb el transportador de NA.

PART EXPERIMENTAL

MATERIAL I MÈTODES

A.-EXPERIÈNCIES EN BANY D'ÒRGANS:

A.1.- FONAMENT:

Pels estudis en òrgan aïllat s'ha utilitzat el bany d'òrgans; aquest muntatge consisteix en una copa de vidre que contindrà el teixit, i que es troba connectada a un serpentí el qual es comunica amb un reservori extern de solució salina fisiològica. Tant la copa com el serpentí estan rodejats per un bany d'aigua termostatada, que permet regular la temperatura a la qual s'ha de fer l'assaig.

El teixit, en la majoria dels casos, es fixa al bany mitjançant un suport adequat.

La preparació es pot airejar per mitjà d'una placa porosa que presenta la copa en la seva base, a través de la qual es fa passar aire a pressió o bé O₂ o carbògen (95% O₂/5%CO₂).

Els estudis en òrgans aïllats ofereixen una sèrie d'avantatges comparats amb els estudis en animal sencer o en estudis realitzats en fraccions subcel·lulars d'aquests.

Els avantatges en front als experiments en animal sencer són:

- Les funcions elementals intrínseques d'un òrgan poden ser estudiades en condicions controlades, per exemple, modificant la composició de l'espai extracel·lular (ions,

eicosanoids, hormones, etc.) , o les condicions bioquímiques i físiques de la resposta (registre isomètric o isotònic, tensió de precàrrega definida), etc.

- Es pot sotmetre a l'òrgan a condicions extremes que no poden aconseguir-se en l'organisme intacte o es poden aconseguir amb moltes dificultats. Per exemple, disminució de la temperatura, inducció de contraccions i relaxacions en múscul llis, provocar isquèmia, etc.

- S'exclou qualsevol tipus d'interacció entre òrgans dins de l'organisme. Per exemple la dependència en una determinada resposta de la pressió arterial o de la respiració.

- Els resultats obtinguts en aquest tipus de tècniques són, freqüentment, fàcils d'interpretar, ja que un gran nombre de factors bioquímics i mecànics poden ser despreciats.

Per altra banda els avantatges en front als estudis realitzats en homogenats de teixit són:

- L'òrgan aïllat, però íntegre, pot realitzar un treball fisiològic, per exemple producció d'orina i bilis en el ronyó aïllat, contracció en un teixit muscular, en cor aïllat es pot mesurar el treball cardíac, etc.

- Per tant es poden realitzar comparacions directes entre la resposta de l'òrgan aïllat i el seu comportament en l'organisme.

Tot i això, la metodologia en òrgan aïllat presenta alguns desavantatges front a altres tècniques. Podem anomenar-ne alguns respecte a l'experimentació realitzada *in vivo*.

- Els resultats es fan més difícils d'extrapolar ja que la farmacocinètica és diferent a la que existeix en viu.

- La interacció entre òrgans pot ser important en alguns processos i aquí s'ha eliminat. Per exemple, la regulació hormonal del metabolisme.
- Es pot danyar l'òrgan o teixit durant la dissecció.
- Alguns òrgans poden veure's afectats per problemes de difusió d'oxigen, substrate o de fàrmac.

A.2.- OBTENCIÓ DEL CONDUCTE DEFERENT DE RATA:

Els animals de laboratori utilitzats en les següents experiències han estat rates Sprague-Dawley mascles, adults, de 250-275 grams (C.E.R.J., Le Génest, França). Els animals eren establats sota condicions estàndards de temperatura ($22 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) i mantinguts en un cicle de llum-fosc de 12 hores (de 8 am a 8 pm) amb lliure accés a pinso (Letica IPM-R20) i a l'aigua de beguda. Les rates es deixaren 24 hores en dejú abans de ser sacrificades.

El sacrifici de les rates es realitzà mitjançant decapitació. A continuació, es col·locaren els animals sobre una taula quirúrgica, on se'ls va practicar una laparatomia mitjana que deixava al descobert tot el paquet intestinal.

Els conductes deferents són unes fines estructures blanques, que parteixen de l'epidídim, prop dels testicles, fins a la vesícula seminal (Fig. 5), aquests conductes han de ser extrets en la seva totalitat evitant qualsevol lesió que es pugui produir en l'òrgan. Un cop disseccionats es dipositaren en una placa de Petri que contenia una solució de Krebs-Henseleit (adequada a cada experiència) airejada convenientment i de forma regular amb carbògen

(95% O₂/5% CO₂). Seguidament, es separà cuidadosament el teixit connectiu, greix i vasos sanguinis adherits a l'òrgan.

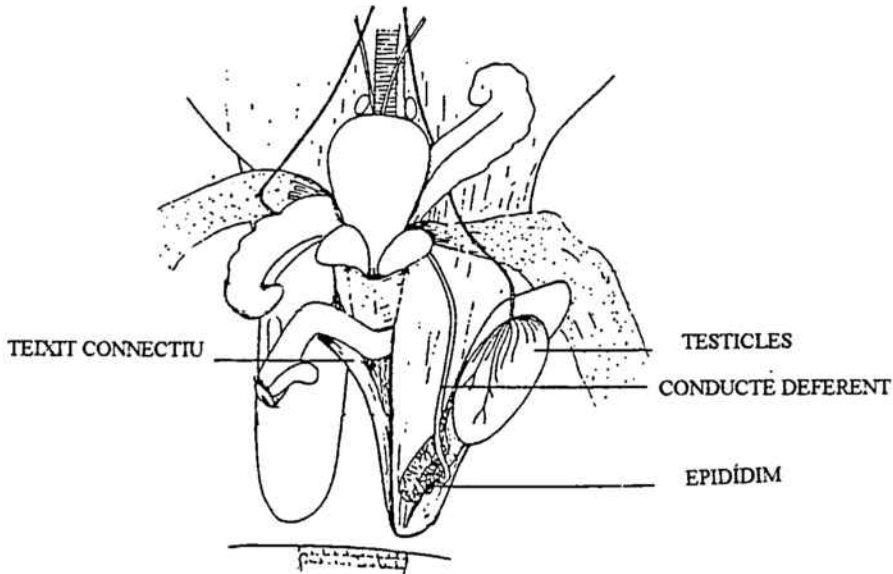


Fig. 5.- Localització anàtica dels conductes deferents.

A.3.- MUNTATGE DELS CONDUCTES DEFERENTS EN EL BANY D'ÒRGANS:

Pels experiments en bany d'òrgans, la porció epididimal era lligada a la barra de suport del bany; s'agafava una longitud constant de 1.5 cm. i finalment es transferia a la copa del bany. El volum de solució en la copa es mantingué en 20 ml. L'extrem lliure era lligat a un transductor de tensió isomètric (TRI 110, Letica) acoblat a un amplificador (ISO 506, Letica) i aquest a un registrador multicanal (PolyGraph 4006, Letica).

La tensió obtinguda també era enviada a través d'un interface (Letica LE 60-100) a un ordinador PC-compatible que executava el programa PROTO5 (Letica software Dept., BCN, Spain).

Els conductes deferents, un cop muntats en la copa del bany, es sotmetien a un període d'estabilització de 60 min, a una tensió de 400 mg i a una temperatura constant de 37°C. Durant tota l'experiència s'aplicà una aireació amb carbogen (95%O₂/5%CO₂) de forma contínua i homogènia, a través d'una placa porosa de vidre situada a la base de les copes del bany.

A.4.-SOLUCIÓ SALINA FISIOLÒGICA:

Pels assaigs en òrgan aïllat es va utilitzar una solució Krebs-Henseleit de composició, en mM:

TAULA 2: COMPOSICIÓ DE LA SOLUCIÓ DE KREBS-HENSELEIT

REACTIUS	CONCENTRACIÓ(mM)
NaCl	119,0
KCl	4,6
CaCl ₂	2,5
KH ₂ PO ₄	1,2
MgSO ₄ ·7·H ₂ O	1,2
NaHCO ₃	25,0
Glucosa	11,1.
Aigua bidestil·lada	q.s.

A.5.- RESPOSTES INDUÏDES PER ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA:

Ambache i Zar (1971) van ser els primers a suggerir que la NA no és l'únic neurotransmissor en el conducte deferent de rata, idea que van confirmar Euler i Hedquist (1975) ja que la resposta contràtil a l'estimulació elèctrica es pot desdoblar en dues components, una de les quals no era adrenèrgica. Al 1980, Hirst i Neil van suggerir que la resposta no adrenèrgica podia ser deguda a l'acció de la NA sobre una classe de adrenergic receptors, que anomenaven gamma-adrenergic receptors, i que no són bloquejats pels antagonistes α -adrenèrgics clàssics. Més recentment, Gillespie i Macrae (1983) van suggerir que la NA era la responsable del primer component de la resposta, mentre que el segon component era degut a un segon neurotransmissor (Mottram, 1988). Els treballs de Meldrum i Bunstock (1983), Sneddon i Westfall (1984) en conducte deferent aïllat de conill porquí,

semblen confirmar que l'ATP és el neurotransmissor responsable del primer component tetànic, mentre que la NA ho seria del segon.

De tota manera, les experiències realitzades en conducte deferent aïllat de rata (Amobi i Smith 1987), han demostrat que no es pot realitzar una diferenciació tan clara sobre la naturalesa d'ambdós components de la resposta contràctil, ja que la importància relativa de l'ATP i de la NA com a mitjancers de les diferents parts de la resposta tetànica varia en les diferents espècies animals.

En aquesta experiència els conductes deferents eren muntats en el suport entre electròdes de platí de camp, la solució de Krebs utilitzada fou la descrita anteriorment. Després del període d'estabilització, les contraccions s'indueïren durant 10 minuts, amb polsos únics (0.1 Hz, 0.5 ms, Estimulador Grass S88) a voltatge supramaximal. Seguidament, s'afegí el fàrmac (MK-801, 3,7 μ M) i s'enregistrà durant 10 min. més. Es parà l'estimulació, es realitzaren tres rentats, es deixà 10 min. d'estabilització i es va repetir l'estimulació 10 min. més per veure si s'havia recuperat la resposta basal.

En alguns experiments, es va eliminar el Mg^{2+} de la solució de Krebs-Henseleit, per estudiar l'efecte d'aquest ió en l'activitat de l'MK-801 en les respostes induïdes per estimulació elèctrica.

A.6.-PROTOCOL EXPERIMENTAL DE L'ESTIMULACIÓ DEL CONDUCTE DEFERENT AMB NORADRENALINA EXÒGENA:

El protocol seguit en les experiències descrites a continuació ha estat el següent:

- 1.-Despolarització amb KCl (80 mM.) a fi de poder observar la contracció màxima de l'òrgan. 15 min. d'estabilització.
- 2.-Tres dosis de sensibilització amb NA 1,6 μ M, separades entre elles per un temps de 10 min. Es descartaren els òrgans que no respongueren de forma repetitiva a aquestes concentracions.
- 3.-Dues corbes concentració-resposta control amb NA separades per intervals de 15 min.
- 4.-Corbes concentració-resposta a NA en presència de fàrmac, segons es descriu en els següents apartats.

Les diferents concentracions de noradrenalina s'obtingueren a partir d'una solució mare (de concentració 3,2 mM) preparada en una solució aquosa d'àcid ascòrbic al 0,1% per tal d'evitar la seva oxidació.

A.6.1.-CORBES CONCENTRACIÓ RESPOSTA A NA:

Les corbes concentració-resposta acumulatives per NA exògena es van realitzar en absència (Corbes control) i en presència de diferents concentracions d'MK-801, PCP (fenciclidina), TCP (tenociclidina), dextrorfà, dextrometrofà i haloperidol, les quals es van

afegir 10 min. abans de començar les corbes. Després de cada corba, es deixaven 15 min. com a període de recuperació abans de realitzar la següent.

A.6.2.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA EN PRESENCIA DE IOHIMBINA EN EL MEDI:

- Finalitat:

La iohimbina, un antagonista competitiu del receptor adrenèrgic α_2 , va ser utilitzada en l'experiència per poder observar la possibilitat d'una implicació d'aquest receptor en l'acció de potenciació observada sobre l'efecte de la NA en el conducte deferent de rata per part de l'MK-801. També, a fi d'assegurar-nos de que no es produïa potenciació de l'efecte de la NA, en la contracció de la musculatura llisa del conducte deferent, per part de la iohimbina, es van realitzar diferents corbes concentració-resposta a NA en presència d'aquesta en el medi (concentració a la copa, 0,13 μ M). La iohimbina era afegida al bany 10 minuts abans de realitzar la corba acumulativa concentració resposta a NA.

-Experiència:

Per tal d'observar l'efecte de l'MK-801 en presència de la iohimbina es realitzaren corbes concentració-resposta a NA. La iohimbina era afegida a la copa (concentració a la copa: 0,13 μ M) 5 minuts abans d'afegir l'MK-801 (5.3 μ M), i després, al cap de 10 minuts es realitzava la corba concentració-resposta a NA.

A.6.3.-EXPERIÈNCIES PER A DETERMINAR LA PARTICIPACIÓ O LA NO PARTICIPACIÓ DEL RECEPTOR NMDA:

A.6.3.a.-Corbes concentració-resposta en presència d'NMDA més glicina en el medi:

-Finalitat:

Per determinar si l'efecte de potenciació de l'MK-801 observat era degut a una acció d'antagonisme sobre els receptors de tipus NMDA, es va provar si aquest efecte era impedit per la prèvia addició d'NMDA més glicina en el medi (l'NMDA, agonista del receptor NMDA, i la glicina, substància que modula positiva i al·lostèricament aquest receptor (veure receptor NMDA, apartat A.2.2.A.1.)).

-Experiència:

Per realitzar-ho, es va afegir una barreja d'NMDA i glicina (concentració final a la copa 300 μ M i 10 μ M, respectivament) 5 minuts abans d'afegir l'MK-801 (5.3 μ M). Als 10 minuts es realitzà la corba concentració-resposta a NA i es compararen els resultats amb els obtinguts sense la prèvia addició dels agonistes.

A.6.3.b.-Corbes concentració-resposta en presència d'AP5 en el medi:

-Finalitat:

A fi de descartar que la potenciació de la resposta a NA per una antagonista no competitiu del receptor NMDA com és l'MK-801, fos deguda a un antagonisme sobre aquests receptors, es va estudiar l'efecte de l'AP5, un antagonista competitiu del receptor NMDA sobre les corbes concentració-resposta a NA.

-Experiència:

La concentració utilitzada d'aquest fàrmac ha estat 10 μ M. Aquesta era afegida 10 min. abans de realitzar la corba concentració-resposta a NA. segons el protocol explicat.

A.6.4.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA A NA EN RATES

RESERPINITZADES:

- Finalitat:

La reserpina és un alcaloide extret de les arrels de la planta *Rauwolfia serpentina* Benth. Provoca una deplecció intensa i perllongada dels dipòsits de dopamina, noradrenalina i serotonina en les terminacions corresponents del sistema nerviós perifèric, central, en la medul·la suprarenal i en les plaquetes. Aquesta deplecció es deu a la interferència amb la membrana granular, a la que incapacita per incorporar i emmagatzemar el contingut propi del

grànul. Les monoamines queden alliberades intracel·lularment i són inactivades per la monoamino oxidasa, quedant depleccionades les reserves de neurotransmissors.

La reserpinització de les rates es duia a terme a fi de poder observar si l'acció de l'MK-801 era deguda a una estimulació de l'alliberació de la NA.

-Preparació de la reserpina per a ser administrada:

Degut als problemes de solubilitat d'aquest fàrmac s'optà per administrar-lo en forma de suspensió via subcutànea. Es preparà de manera que el vehicle emprat fou:

Carboximetilcel·lulosa.....0.5%
Tween 80.....0.1%
Aigua bidestil·lada.....q.s.p.100ml.

Es pesaren 5 mg de reserpina i es passaren a un morter de vidre, s'homogeneïtzaren en un parell de gotes de vehicle. Seguidament, s'anà afegint vehicle a poc a poc agitant continuadament fins a un volum final de 10 ml.

Aquesta suspensió era administrada 16 hores abans del sacrifici de les rates i segons la pauta següent:

- Volum administració: 10 ml/kg
- Dosi administrada: 5 mg/kg

-Experiència:

En aquest cas, les corbes concentració resposta a NA en presència d'MK-801 es van dur a terme abans que les corbes control, per tal d'evitar que es recarreguessin els reservoris de neurotransmissors al realitzar aquestes corbes, ja que el que es pretenia veure era si la potenciació era deguda a un estímul de l'alliberació de NA endògena.

El protocol seguit fou:

- 1.-Despolarització amb KCl a fi de poder observar l'efecte màxim. Recuperació durant 15 min.
- 2.-Corba concentració-resposta a NA en presència d'MK-801 (5,3 μ M). 15 minuts d'estabilització.
- 3.-Realització de dues corbes concentració-resposta control a NA.

A.7.- EXPERIMENTS DUTS A TERME AMB BAIXA CONCENTRACIÓ DE SODI EN EL MEDI:

El sodi és un catió imprescindible pel funcionament dels transportadors. Per tal d'avaluar la influència de la concentració del sodi en l'efecte de l'MK-801, es realitzaren experiments en baixa concentració i en concentració normal d'aquest catió.

Pels experiments en baixa concentració de sodi es va substituir el clorur de sodi per una quantitat equimolar de clorur de colina. Aquesta sal substitueix isoosmolarment el clorur sòdic. La baixa quantitat present en el medi provenia solament del NaHCO_3 (25 mM).

Per realitzar aquests experiments, un conducte deferent de cada animal va ser introduït en solució de Krebs-Henseleit normal (utilitzat com a control) mentre que l'altre es posà en el medi amb baixa concentració de sodi. Les respostes eren induïdes per l'addició d'una única dosi de NA (1.6 μM) en absència i en presència d'MK-801 (5.3 μM).

A.8.-EFECTE SOBRE LA TENSIÓ BASAL:

Al observar un cert efecte sobre la tensió basal (motilitat espontània) per part de l'MK-801 es van realitzar diferents experiències amb l'MK-801 i altres lligams σ i PCP.

A.8.1.-RATA NORMAL:

Aquests experiments es portaren a terme un cop realitzades les corbes concentració-resposta en presència del fàrmac, i de realitzar una corba control de NA per tal de veure si havia desaparegut l'efecte del fàrmac amb els rentats.

Després de 30 min. des de l'última corba es procedí com s'explica a continuació:

1.- Incubació amb NA 16 μM (concentració final a la copa) durant 3 min.. Aquesta incubació es portava a terme a fi de recarregar les reserves de NA per evitar les diferències entre els

diferents òrgans. Passat aquest temps es realitzaven 3 rentats per tal d'eliminar la NA del medi.

2.- S'engegava el registre per observar la tensió basal durant 5 min.

3.- Addició del fàrmac a la concentració més alta provada en les corbes concentració resposta, i es registrà durant 15 min.

A.8.2.-INHIBICIÓ DE LA MOTILITAT ESPONTÀNIA PER PRAZOSINA:

L'efecte de la prazosina (antagonista α_1 postsinàptic) sobre la motilitat espontània produïda per l'MK-801 s'observà afegint $1\mu\text{M}$ de prazosina després de 5 min d'enregistrar la resposta un cop afegit el fàrmac (punt 3 de l'apartat anterior).

De manera anàloga, s'assajà l'efecte de la iohimbina i de la combinació NMDA + Glicina sobre la motilitat a les mateixes concentracions descrites en els apartats A.6.2 i A.6.3.a., respectivament.

A.8.3.-RATES RESERPINITZADES:

1.- Despolarització amb KCl.

2.- S'afegia al bany l'MK-801 (Concentració final: $5,3\mu\text{M}$) i s'engegava el registre durant 10 min.. Rentat dels òrgans.

3.- Incubació durant 3 min. amb NA 16 μ M. Rentats.

4.- S'enregistrà durant 2 min. I s'incorporà l'MK-801 (a igual concentració que punt 2) 9 min..

A.9.-AGENTS FARMACOLÒGICS I REACTIUS EMPRATS:

-Bitartrat de Noradrenalina.

-Colina·HCl.

-Desipramina·HCl.

-Dextrometorfà·HBr·H₂O.

-Fenciclidina·HCl (PCP).

-Glicina.

-Haloperidol.

-Iohimbina·HCl.

-N-metil-D-aspartat (NMDA).

-Prazosina·HCl.

-Reserpina (metil reserpat ester de l'àcid 3,4,5-trimetoxibenzoic).

-Tenociclidina·HCl (TCP).

Obtinguts de Sigma, Chem. Co. (St. Louis, MO, USA).

-(+)-MK-801.

Obtingut de Research Biochem. Int. (Natick, MA, USA).

-Dextrorfa.

Obtingut de ICN Biochemicals (Cleveland, Ohio, USA).

-Les sals i reactius de laboratori d'ús general s'adquiren a Panreac (Montplet & Esteban, S.A. Espanya).

Les dissolucions stock, excepte la reserpina i l'haloperidol, es prepararen en aigua bidestil·lada, i les dilucions de les mateixes en solució de Krebs. L'haloperidol es va dissoldre en etanol i les dilucions es prepararen en solució de Krebs de manera que la concentració final d'etanol a la copa del bany fóra inferior al 0,1%. La reserpina, degut a la seva poca solubilitat va ser preparada en forma de suspensió (veure apartat A.6.4.).

A.10.- ANÀLISI DE LES DADES:

-Corbes concentració-resposta a NA:

Els valors de les concentracions eficaces 50 (CE_{50}) van ser calculades pel programa d'ordinador PROTO5 que utilitza rutines de regressió lineal. Tots els resultats s'expressen com a les mitges +/- EEM (Error estandar de la mitja) de "n" experiments diferents.

Un valor de P inferior a 0,05 va ser considerat com a significant. Les diferències entre els valors va ser estimada utilitzant l'anàlisi de la variança (ANOVA) utilitzant el programa informàtic GraphPAD Instat (GraphPAD Software, San Diego, LA, USA), seguida per el test de Scheffé.

-Obtenció de la CE_{100} pels fàrmacs emprats:

A fi i efecte d'obtenir un valor numèric que permetés comparar les potències dels fàrmacs emprats en el que respecte a potenciació de les respostes induïdes per NA exògena, es procedí a calcular, per a cadascuna de les corbes concentració-resposta en presència de diferents concentracions de fàrmac, el percentage de potenciació a una determinada concentració de NA respecte a les corbes control. La concentració de NA triada fou 0,2 μM degut a que era a concentracions baixes on es veia major potenciació, ja que conforme ens acostem a l'efecte màxim aquesta és menys potent.

A partir de les dades així calculades, s'el·laboren les corbes concentració de fàrmac(log)-resposta(%de potenciació) i, per regressió lineal, s'obtingué la CE_{100} , que és la concentració de fàrmac necessària per induir un 100% de potenciació

La inhibició de la recaptació de NA en els experiments de bany d'òrgans va ser quantificada seguint els càlculs proposats per Kenakin (1987). Breument, assumint que el procés de recaptació segueix una cinètica de Michaelis-Menten, i que la relació $[A]/[A']$ es refereix a les concentracions efectives de NA en el bany d'òrgans en absència ($[A]$) i en presència ($[A']$) d'inhibidor de la recaptació.

-Càlcul de la K_I :

La K_I , definida com la constant de dissociació en l'equilibri del complex inhibidor-transportador, pot ser calculada per la següent equació.

Equació.1:

$$\log \left[\frac{y(x-1)}{y-x} \right] = \log[I] - \log K_I$$

On [I] és la concentració d'inhibidors; "x" quantifica la sensibilització del teixit a l'agonista (per exemple la potenciació de la resposta a l'agonista ([A/A']) produïda per [I]) i "y" denota la màxima sensibilització obtinguda (per exemple la relació [A] / [A'] a la màxima [I]).

B.- EXPERIÈNCIES SOBRE LA PRESSIÓ ARTERIAL:

B.1.-FONAMENT:

Després d'haver realitzat les valoracions de fàrmacs mitjançant una tècnica *in vitro* vam passar a estudiar preparacions intactes d'animals vius. Aquest tipus d'estudi presenta característiques peculiars que els fan ser complementaris dels anteriors: indiquen amb més probabilitat l'efecte que tindran els fàrmacs en l'organisme, sotmesos als mecanismes de regulació (reflexes) del mateix; tot i que a vegades és més difícil precisar amb exactitud, llocs i mecanismes d'acció.

En l'aspecte tècnic s'ha de senyalar que donada la gran variabilitat biològica dels animals *in vivo*, cal parar atenció a les condicions de la preparació: anestèsia, respiració, temperatura corporal, etc...

Donat que l'MK-801 provocava una potenciació de les respostes a NA, seria d'esperar que en animal sencer aquesta potenciació a nivell sistèmic es tradueix en un augment de la pressió arterial.

Per observar aquest possible efecte per part de l'MK-801 es va procedir a realitzar una preparació d'avaluació de pressió cruenta en rata per poder mesurar les variacions de la pressió arterial que tenien lloc després de l'administració d'aquest fàrmac.

S'ha de tenir en compte, però, que la modificació farmacològica de la pressió arterial d'un animal viu, en aquest cas la rata, no és un fenomen simple, sinó, la integració d'accions diferents, que es poden resumir en:

-sobre el contingut vascular:

-Accions cardíaques.

-Acció sobre la volèmia real.

-Acció sobre la volèmia efectiva (retorn venós).

-sobre la resistència vascular.

-sobre el SNC.

B.2.-ANIMALS EMPRATS I PROCEDIMENT QUIRÚRGIC:

Els animals utilitzats en aquestes experiències han estat rates Wistar, mascles, adults de pes 250-325 g. Els animals van ser establats sota les mateixes condicions descrites en materials i mètodes d' experiències en bany d'òrgans (apartat A.2.). Les rates es deixaren 24 h. en dejú abans de començar l'experiència.

Aquests estudis van ser realitzats en rata normal, rata reserpinitzada i rata desmedul·lada.

B.2.1.-RATA NORMAL:

Les rates eren anestesiades amb pentobarbital sòdic (80 mg/kg, 10 ml/kg).

La tècnica general de canulació de qualsevol estructura orgànica tubular (tràquea, vasos) es prepara fent passar dos fils al voltant de la mateixa: el fil que queda en sentit contrari de la canulació serveix, un cop lligat, per aturar la circulació, mentre que l'altra

l·ligadura s'inicia en la direcció de la cànula i es lliga una vegada en posició, utilitzant-se per fixar la cànula.

Per introduir la cànula es realitza una incisió entre els dos fils, la incisió es realitza amb una agulla de xeringa i en la mateixa direcció de la canulació.

En el cas dels vasos, s'ha d'anar en compte en la dissecció de les seves cobertes seroses, a fi d'evitar canulacions "extravasculares" inadvertides.

Per a les experiències de mesura de la variació de la pressió arterial, es realitzaren les següents canulacions:

-La vena femoral dreta (canulada en direcció a la vena cava) fou la via d'administració dels fàrmacs (Fig.6).

-La vena jugular esquerra (canulada en direcció al cor), permet mantenir la perfusió d'anestèsic.

-L'artèria caròtida esquerra (canulada en direcció al cor) fou connectada al registre de pressió, ja que registre la sortida de sang d'aquest òrgan (Fig.7).

Per a la canulació dels vasos es va emprar tub de polietilè de diàmetre extern 1 mm per l'artèria caròtida (diàmetre intern 0,5 mm) i de 0,61 mm per les venes femoral i jugular (diàmetre intern 0,28 mm). Les cànules contenien sèrum fisiològic heparinitzat (0,5%) i estaven connectades a l'agulla d'una xeringa d'1 ml plena de sèrum fisiològic.

A continuació es practicava una traqueotomia per tal d'evitar l'obturació de la tràquea per l'augment de secrecions provocat pel pentobarbital.

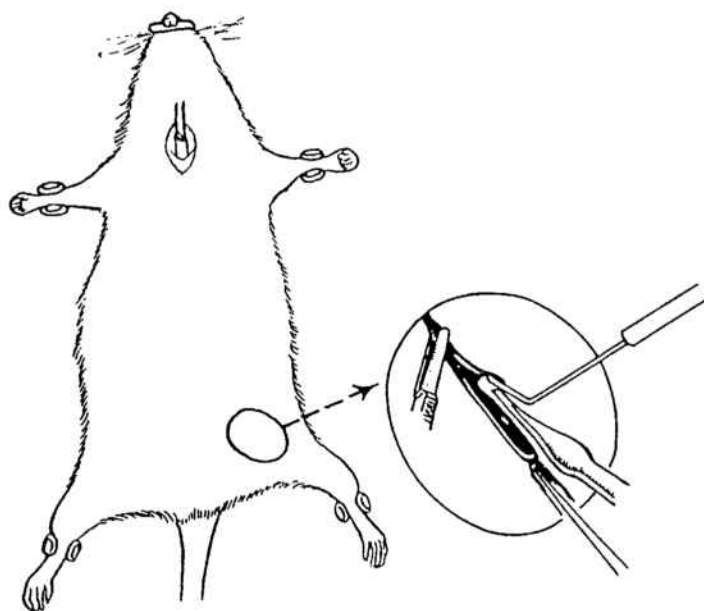


Fig. 6.-Canulació de la vena femoral.

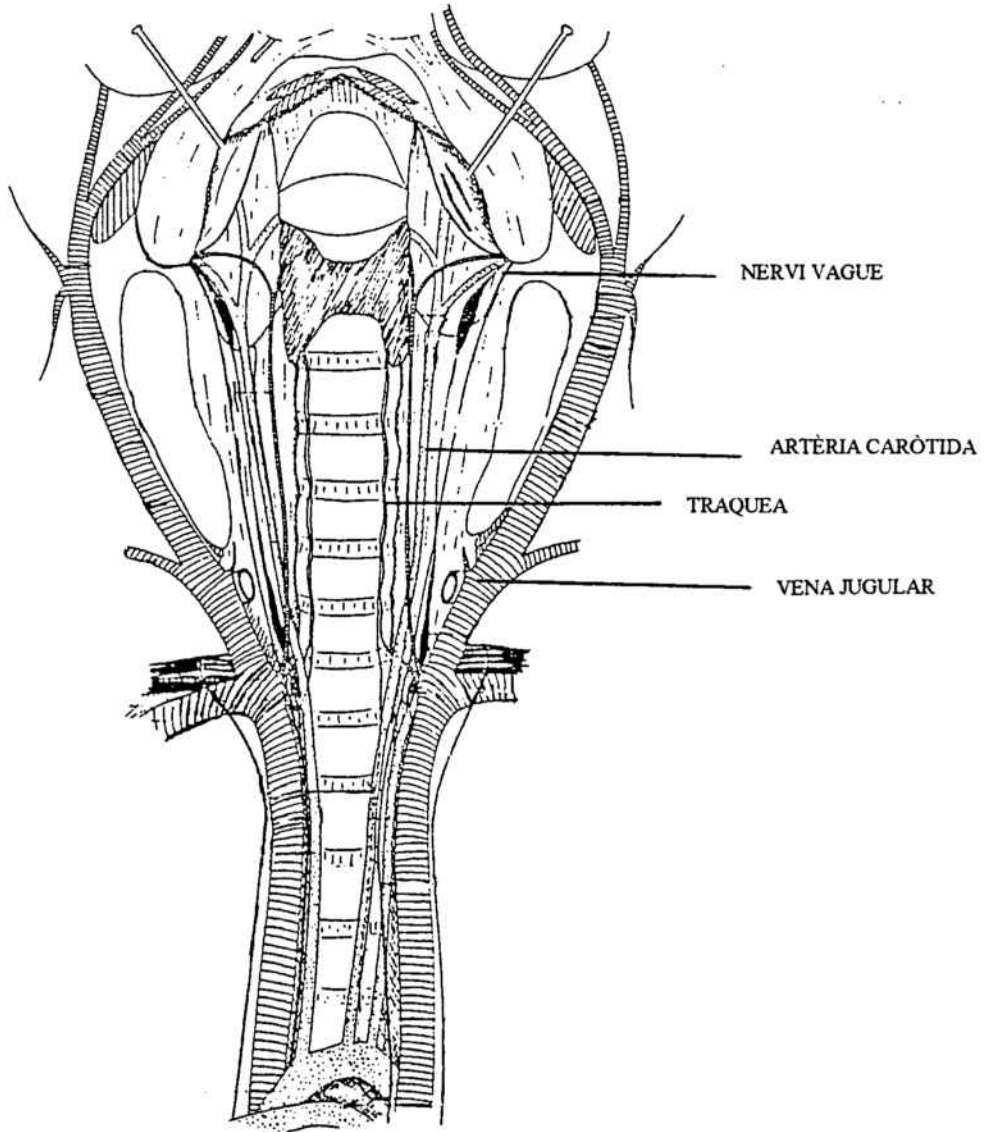


Fig. 7.- Localització anatòmica de l'artèria caròtida, la vena jugular, la tràquea i el nervi vague.

Degut a que el centre de regulació de la temperatura a nivell del SNC està deprimat durant l'anestèsia, els animals petits, com la rata, poden patir pèrdues importants de calor a través de la pell i en l'intercanvi gasós de la respiració, produint una hipotèrmia. Per tant, es controlava la temperatura durant tot el període d'anestèsia mitjançant una manta elèctrica termostatada a 37° en funció de la temperatura rectal.

Acabat el procediment quirúrgic, la cànula de la caròtida es connectà a un transductor de pressió Letica TRI-O21 acoblat a un amplificador PRS-205 i aquest a un registrador UNI-GRAPH 1000 (ambdós de Letica).

Seguidament, la cànula de la jugular es connectava a una xeringa impulsada per un perfusor (Harvard Apparatus, Pump 22) que proporcionava una dosi de pentobarbital de manteniment de 12 mg/kg/h en un volum de 1 ml/h.

L'animal, així muntat, es deixava 30 min. d'estabilització abans de començar l'administració.

B.2.1.a.-Vagotomia bilateral:

Es van realitzar algunes experiències en les quals a la rata se li practicava una vagotomia bilateral per tal de poder observar si l'increment de pressió podia ser produït per un efecte central. En aquesta preparació s'interromp la transmissió parasimpàtica mitjançada pel nervi vague (situat al costat de l'artèria caròtida i els nervis cranials)(Fig. 7).

B.2.2.-RATA RESERPINITZADA:

L'administració de la reserpina s'efectuava, d'igual manera a com s'ha descrit en l'apartat A.6.4. (materials i mètodes de bany d'òrgans), 16 h abans de començar l'experiència.

La preparació quirúrgica i mesura de la pressió arterial de la rata es va dur a terme de la mateixa manera que en rata normal.(apartat B.2.1.).

B.2.3.-RATA DESMEDUL·LADA:

-Finalitat:

La preparació farmacològica de la rata desmedul·lada va ser descrita l'any 1947 per Shipley i Tilden i des de aleshores ha estat molt utilitzada en els estudis dels efectes pressors dels fàrmacs. Tant el cervell com la medul·la espinal queden destruïts, el to simpàtic vasoconstrictor s'anul·la i es perden tant els controls centrals com els reflexos del sistema cardiovascular. L'animal desmedul·lat presenta una pressió arterial mitjana baixa (45-50 mm Hg), però és més estable i més sensible als agents pressors perifèrics que l'animal no desmedul·lat. Donat que el control neurogènic de la pressió s'elimina, la pressió arterial es manté per acció del sistema renina-angiotensina, pel sistema vasopresina i principalment per les propietats intrínseques del sistema cardiovascular (Carbonell i col., 1986).

-Experiència:

En primer lloc s'anestesiava la rata amb pentobarbital (80 mg/Kg). Es col·locava l'animal sobre una taula quirúrgica per tal de preparar-la per a la desmedul·lació. Prèviament a

la desmedul·lació es practicava una traqueotomia, a fi i efecte de subministrar respiració artificial a l'animal durant tot l'experiment. S'introduïa una cànula entre els anells traqueals que es connectava a una bomba d'aire (Harvard apparatus). Es calcula, segons els pes de l'animal, el volum d'aire que ha d'entrar en cada embolada i el nombre d'embolades per minut que se li ha de donar. En general, per animals petits (70-800 g) el volum d'aire per embolada és petit i el nombre d'embolades és gran, mentre que en animals més grans (1-40 Kg) es dona la situació contrària. En el cas d'una rata s'ha calculat unes 60 embolades per minut amb un volum d'embolada de 1 ml per 100 g de pes (Flavahan i McGrath, 1981).

Tot seguit es procedia a la desmedul·lació: Mantenint la rata vertical, sostenint-la amb una mà pel crani per tal d'aconseguir que la columna vertebral quedi en línia recta, s'introduïa obliquament una vareta metàl·lica d'uns 25 cm de longitud i de 2 mm de diàmetre (amb un dels extrems punxegut), formant un angle de 45° amb la columna vertebral, a través de l'òrbita ocular i del foràmen magnum cap a l'interior de la medul·la espinal fins al final de la columna vertebral. Un cop desmedul·lada, la vareta no s'extreïa a fi i efecte d'impedir la pèrdua de sang.

A continuació es canulava la vena femoral dreta per a la injecció posterior de fàrmacs, i l'artèria caròtida esquerra per a la mesura de la pressió arterial.

Es va interrompre la transmissió parasimpàtica mitjançada pel nervi vague (vagotomia bilateral), així com també, per evitar el reg sanguini en cervell i inhibir totalment qualsevol efecte central, que pogués interferir en la mesura de la pressió arterial, es va realitzar una lligadura carotídea bilateral.

La temperatura corporal de la rata es mantingué a 37° en funció de la temperatura rectal mitjançant una manta elèctrica.

Una vegada finalitzada la preparació es deixaren uns 30 min. abans de començar les administracions, amb la finalitat de que l'animal s'estabilitzés.

B.3.- PROTOCOL EXPERIMENTAL:

Un cop passat el temps d'estabilització i quan es podia observar un registre de pressió constant s'iniciaven les administracions. Abans d'administrar el fàrmac, es realitzava una administració del mateix volum utilitzat pel fàrmac de sèrum fisiològic (1 ml/Kg), a fi de determinar l'increment de pressió provocat pel vehicle. A continuació es deixaven 15 min. d'estabilització. La següent administració era la d'MK-801, les dosis utilitzades van ser: 0,05, 0,1, 0,15, 0,2 i 0,3 mg/kg.

B.3.1.-PROPRANOLOL:

En rata normal es van realitzar una sèrie d'experiències utilitzant l'antagonista β -adrenèrgic propranolol. La finalitat d'aquestes era poder anular un possible efecte β -adrenèrgic que fos el responsable de la caiguda de pressió subsegüent a la pujada provocada per l'MK-801. El protocol seguit fou el següent:

Un cop estabilitzada la rata s'administrava una dosi de propranolol (es provà 1, 3, 5 mg/Kg), s'esperava a l'estabilització de l'animal, 5 min. aproximadament, i es procedia a administrar l'MK-801.

B.3.2.-PRAZOSINA:

Aquest bloquejant α_1 -adrenèrgic s'utilitzà per tal de poder observar si l'efecte observat d'increment de pressió per part de l'MK-801 era mediat via aquest receptor.

La dosi emprada es va posar a punt de manera que inhibís la pujada de pressió provocada per 3,3 mg/kg d'adrenalina. La dosi de prazosina utilitzada fou: 0,08 mg/kg.

El procediment utilitzat fou:

Després d'estabilitzar l'animal, es procedia a administrar la prazosina i s'esperava a la recuperació de la pressió, seguidament s'administrava l'MK-801.

B.4.- AGENTS FARMACOLÒGICS:

-Bitartrat d'adrenalina.

-Prazosina-HCl.

-Propanolol.

-Reserpina (metil reserpat ester de l'àcid 3, 4, 5 - trimetoxibenzoic).

Obtinguts de Sigma, Chem. Co. (St. Louis, MO, USA).

-MK-801

Obtingut de Research Biochem. Int. (Natick, MA, USA).

Les dissolucions stock van ser preparades en aigua bidestil·lada i les dilucions de les mateixes en sèrum fisiològic.

La reserpina a l'igual que en les experiències de bany d'òrgans, fou preparada en forma de suspensió. (apartat A.6.4.)

El clorur sòdic utilitzat pel sèrum fisiològic s'adquirí a Panreac (Montplet & Esteban, S.A. Espanya).

B.5.-ANÀLISI DE LES DADES:

Els valors de la pressió arterial, s'obtingueren comptant manualment el desplaçament (en mm) de la ploma del registrador i passant-los a mm Hg segons el fons de l'escala seleccionat (normalment 1 mm de paper equivalia a 2 mm Hg).

El valor d'increment de pressió net es calculà restant el valor d'increment obtingut pel vehicle al valor d'increment provocat pel fàrmac.

Tots els resultats són expressats com a les mitges \pm EEM (Error estàndard de la mitja) de "n" experiències diferents.

RESULTATS

A.-EXPERIÈNCIES EN ÒRGAN AÏLLAT:

A.1.-EXPERIÈNCIES AMB MK-801:

A.1.1.-EFECTE DE L'MK-801 EN RESPOSTES INDUÏDES ELÈCTRICAMENT:

L'MK-801 (3,7 μ M) sol, incrementà significativament les respostes induïdes elèctricament ($46,60\% \pm 5,09$, $n=6$, $P<0.05$)(Fig. 8) i també el tonus basal en una solució de Krebs-Henseleit lliure de Mg^{2+} . Aquest efecte era potenciat significantment per la presència de magnesi en el medi ($251,75\% \pm 13,35$, $n=6$, $P<0.002$).

Per tant, a fi d'obtenir una màxima potenciació tots els experiments següents es van realitzar en una solució de Krebs-Henseleit amb Mg^{2+} .

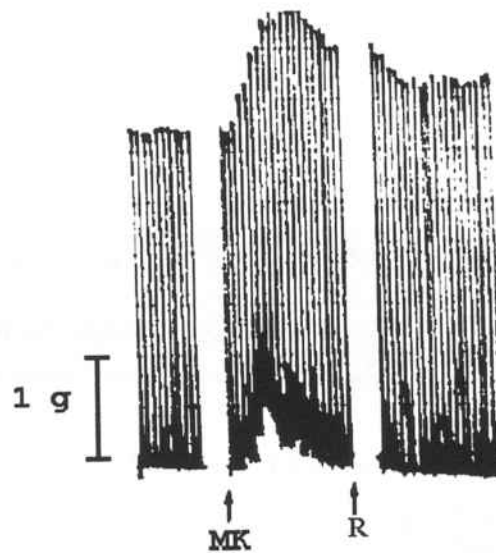


Fig.8.- Efecte de l'MK-801 (3,7 μ M) en contraccions induïdes elèctricament en la porció epididimal del conducte deferent de rata en un medi sense Mg^{2+} , R indica rentats.

A.1.2.-EFECTE DE L'MK-801 EN RESPOSTES INDUÏDES PER NA:

L'MK-801, a les concentracions assajades: 0,3, 0,5, 1, 2,7 i 5,3 μ M, potencia l'efecte de la NA en les corbes acumulatives concentració-resposta en la porció epididimal del conducte deferent de rata.

Es va observar una reducció de concentració depenent del valor CE_{50} per NA (Taula 3), així com un desplaçament de les corbes sigmoïdes cap a l'esquerra, indicant l'efecte potenciador de l'MK-801 en aquesta preparació (Fig.9). Es va obtenir un valor de K_I de $1,53 \times 10^{-9} M$ per la potenciació d'MK-801 en respostes de NA (Fig.10).

TAULA 3: EFECTE DE L'MK-801 EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CONCENTRACIÓ MK-801 (μM)	CE_{50} de NA (μM)	n
---	$0,99 \pm 0,11$	14
0,3	$0,57 \pm 0,29^{**}$	14
0,5	$0,38 \pm 0,02^{***}$	19
1	$0,23 \pm 0,06^{***}$	18
2,7	$0,09 \pm 0,009^{***}$	12
5,3	$0,06 \pm 0,01^{***}$	12

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. grup control (en absència d'MK-801).

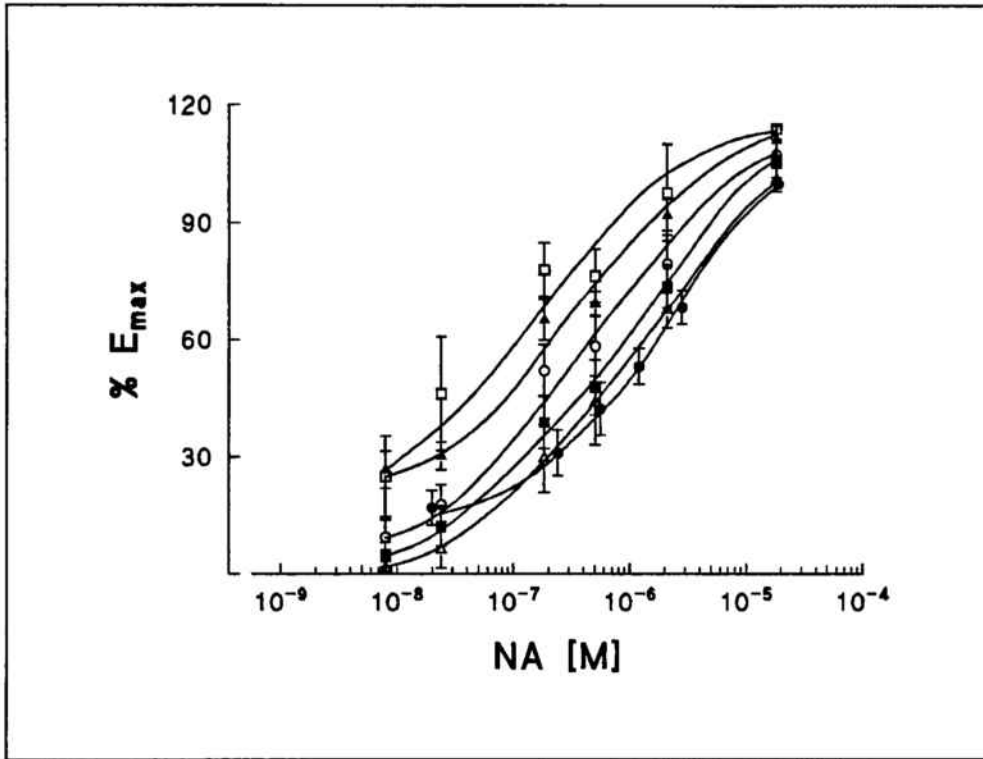


Fig. 9.- Corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions d'MK-801.

- Control.
- △ MK-801 0,3 μM.
- MK-801 0,5 μM.
- MK-801 1 μM.
- ▲ MK-801 2,7 μM.
- MK-801 5,3 μM.

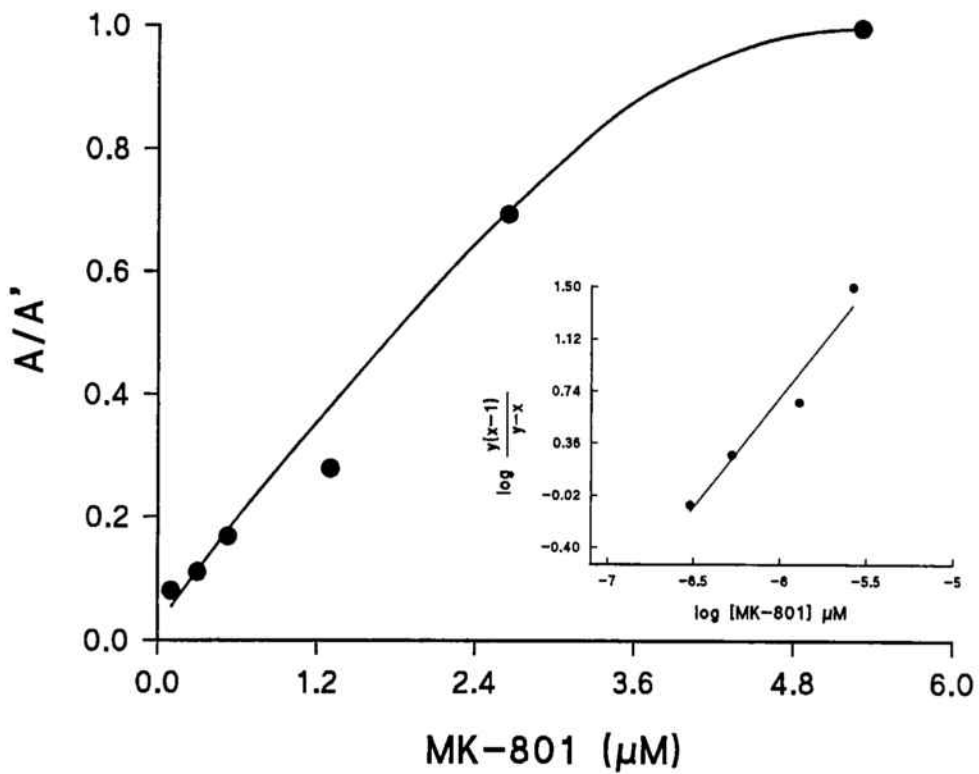


Fig.10.- Representació gràfica i regressió de l'equació 1 (Apartat A.10. de materials i mètodes) pel càlcul de la K_i per l'MK-801 com a inhibidor de la captació de la NA.

Un exemple dels registres obtinguts en les corbes concentració-resposta a NA en absència i en presència d'MK-801 seria el següent:

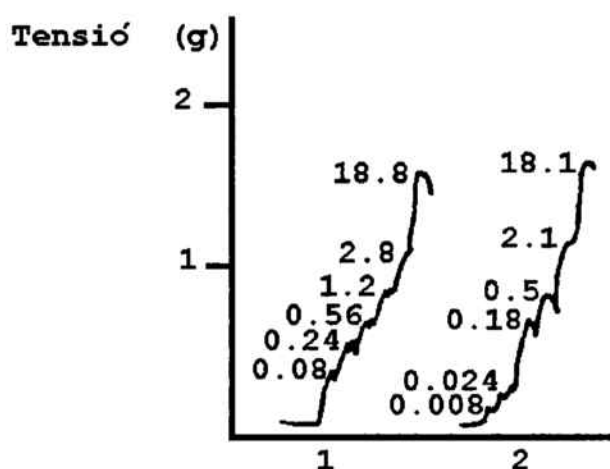


Fig.11.- Corbes acumulatives de NA en absència (1) i en presència (2) d'MK-801 (0,53 µM). Les concentracions de NA estan indicades (µM) al costat de cada corba.

A.1.3.b.-Experiències amb baixa concentració de sodi:

Al substituir el clorur de sodi de la solució de Krebs-Henseleit per una concentració equimolar de clorur de colina, es va anular l'efecte de potenciació de l'MK-801 (Fig. 12), suggerint l'implicació d'un sistema de transport.

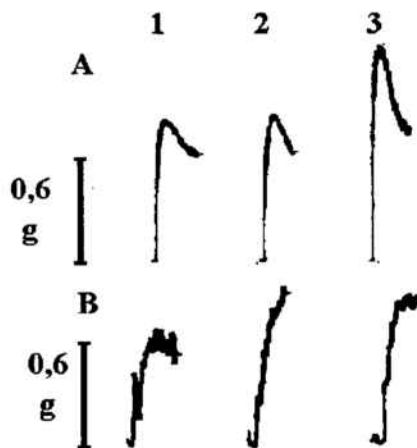


Fig. 12.- Comparació de les respostes a NA ($1,6 \mu\text{M}$) en presència (A) i a concentració baixa (B) de sodi en el medi, en absència (1 i 2) i en presència (3) d'MK-801 ($2,7 \mu\text{M}$) en dos òrgans provinents del mateix animal.

A.1.3.c.-Experiències en presència de iohimbina:

Al realitzar corbes acumulatives concentració-resposta a NA havent introduït, 10 minuts abans, en el medi una concentració de iohimbina 0,13 μM no s'observà variació respecte a les corbes controls (Taula 5).

D'altra banda, la presència d'aquest antagonista α_2 en el medi no afectà la potenciació de l'efecte de la NA per part de l'MK-801 a la concentració provada més alta (5,3 μM).

TAULA 5: EFECTE DE LA IOHIMBINA EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA EN PRESENCIA I EN ABSÈNCIA D'MK-801 (5,3 μM)

CORBA	CE ₅₀ de NA (μM)	n
CONTROL	1 \pm 0,08	4
IOHIMBINA (0,13 μM)	1,13 \pm 0,1 ^{ns}	4
MK-801(5,3 μM) + IOHIMBINA (0,13 μM)	0,08 \pm 0,04 ^{***}	4

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

Comparació respecte al control (en absència d'MK-801): ANOVA i Test de Scheffé: ^{ns} no significatiu, ^{***} p<0,001.

La comparació entre la potenciació per MK-801 (5,3 μ M) en absència (apartat A.1.2-Taula 3) i en presència de iohimbina: $p > 0,8$ obtenint per tant una diferència no significativa (ANOVA i Test de Scheffé).

A.1.3.d.-Experiències en presència d'NMDA i glicina:

La potenciació de les corbes concentració resposta per MK-801 (5.3 μ M) no va ser significativament modificada per la prèvia addició d'NMDA (300 μ M) i glicina (10 μ M) (Taula 6):

TAULA 6: EFECTE DE L'NMDA+GLICINA SOBRE LA POTENCIACIÓ PER L'MK-801 (5,3 μM).		
CORBA	CE₅₀ de NA(μM)	n
CONTROL	1 \pm 0,13	7
MK-801 (5,3 μ M)	0,09 \pm 0,01 ^{***}	7
MK-801 (5,3 μ M) + (NMDA + GLICINA)	(+) 0,14 \pm 0,03 ^{***}	7

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

Efecte de l'addició d'NMDA + glicina sobre la potenciació per l'MK-801 (5,3 μ M):

Comparació respecte al control (en absència d'MK-801): ANOVA i Test de Scheffé, *** $p < 0,001$.

Comparació entre els dos grups amb presència d'MK-801: ANOVA i Test de Scheffé,

(+) $p = 0,75$, $p > 0,05$, per tant diferència no significativa.

A.1.3.e.- Experiències amb AP5:

A una concentració de 10 μ M, aquest antagonista competitiu del receptor NMDA, a diferència de l'MK-801, inhibí més que potencià les contraccions induïdes per NA exògena (Taula 7).

TAULA 7: EFECTE DE L'AP5 EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CORBA	CE ₅₀ de NA (μ M)	n
CONTROL	0,99 \pm 0,05	8
AP5 (10 μ M)	1,58 \pm 0,06 ***	4

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: *** $p < 0,001$ vs. grup control (en absència d'AP5).

A.1.4.-EFECTE DE L'MK-801 SOBRE LA TENSIÓ BASAL:

L'MK-801, a una concentració de 5.3 μM , induïa respostes contràctils espontànies que oscil·laven des de 0.15 a 0.95 g de tensió, en la porció epididimal del conducte deferent de rata (Fig. 13). Aquestes contraccions espontànies perduraven com a mínim durant 30 min. en presència d'aquesta substància. Aquest efecte era completament anulat per la prazosina (1 μM) (Fig. 14) mentre que l'NMDA (300 μM) i la glicina (10 μM) no revertien aquestes respostes contràctils espontànies (Fig. 15) (aquesta resposta contràctil tampoc es va poder inhibir per l'addició de la iohimbina a una concentració 0,13 μM .)

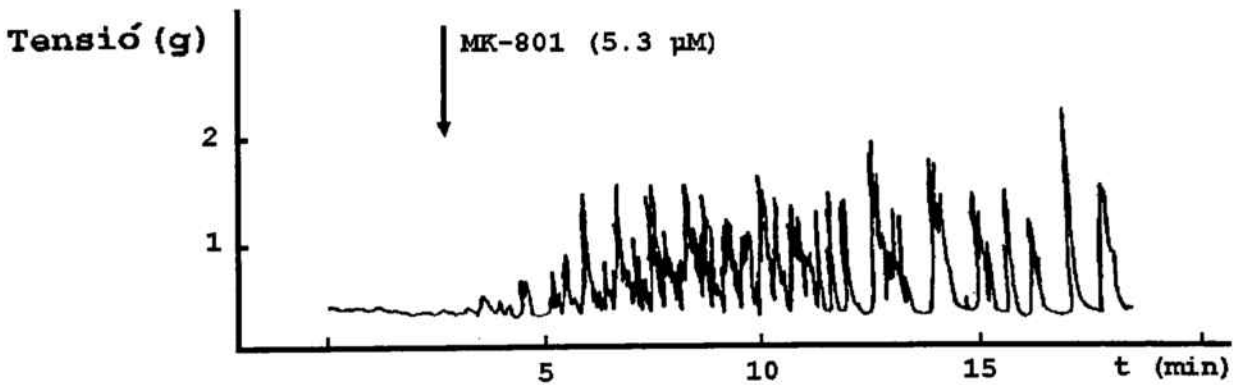


Fig. 13.- Exemple de registre de la motilitat espontània induïda per l'MK-801 en la part epididimal del conducte deferent de rata. Les sagetes indiquen el moment de l'addició del compost.

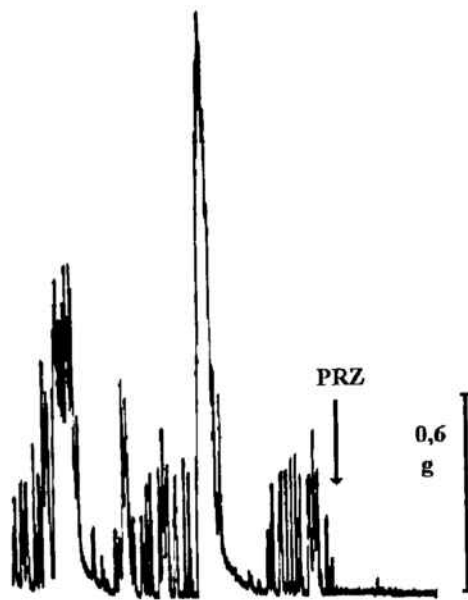


Fig. 14.-Anul·lació de les respostes contràctils induïdes per l'MK-801 a l'afegir la prazosina 1 μ M (PRZ) a la part epididimal del conducte deferent de rata.



Fig. 15.- Intent d'anul·lació de la motilitat espontània induïda per l'MK-801 per l'addició d'NMDA més glicina en el medi.

L'efecte de l'MK-801 sobre la tensió basal en conducte deferent aïllat de rates reserpinitzades era nul (Fig. 16), ja que no es produïen els polsos espontanis que es podien observar en els conductes deferents obtinguts de rates normals. Però, malgrat això, aquesta resposta espontània reapareixia si els teixits reserpinitzats es recarregaven amb NA (incubació de 3 min. dels teixits reserpinitzats amb NA 16 μ M).

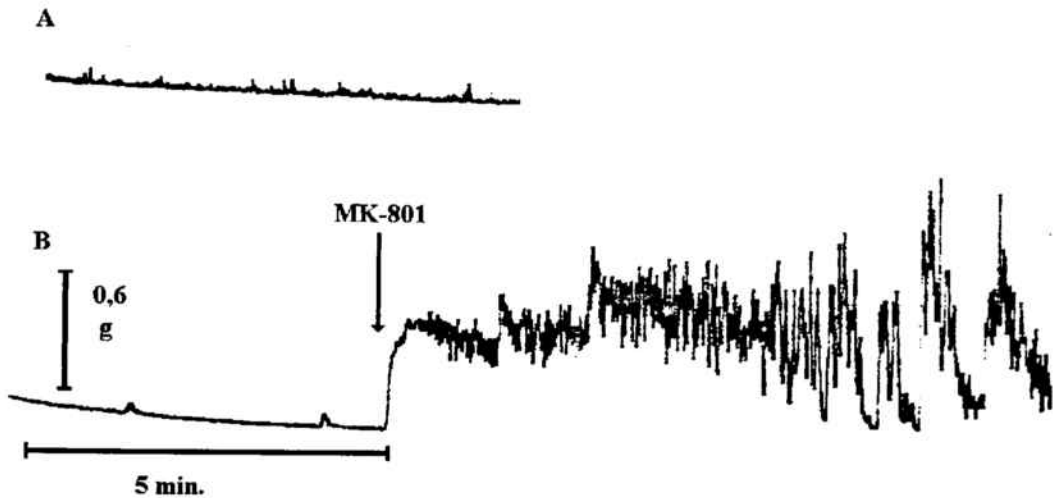


Fig. 16.- Exemple de registre de motilitat espontània induïda per l'MK-801 en un òrgan provinent d'una rata reserpinitzada, abans (A) i després (B) d'incubar amb NA. Les sagetes indiquen el moment d'addició de la substància.

A.2.-EXPERIÈNCIES AMB ALTRES LLIGAMS σ I PCP:

A.2.1.-EXPERIÈNCIES AMB TCP:

Seguidament, es passà a realitzar corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions de TCP.

Totes les concentracions provades (0,3, 1, 5 i 10 μ M) (Taula 8) han mostrat tenir una acció potenciadora creixent en les corbes concentració-resposta (Fig. 17).

TAULA 8: EFECTE DEL TCP EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CONCENTRACIÓ de TCP (μ M)	CE ₅₀ de NA (μ M)	n
---	0,78 \pm 0,05	63
0,3	0,81 \pm 0,12 ^{ns}	3
0,5	1,10 \pm 0,40 ^{ns}	6
1	0,20 \pm 0,02 ^{***}	14
3	0,20 \pm 0,02 ^{***}	10
5	0,064 \pm 0,01 ^{***}	10
10	0,069 \pm 0,01 ^{***}	12

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

.ANOVA i Test de Scheffé: ^{ns}no significatiu, ^{***}p<0,001 vs. grup control (en absència de TCP).

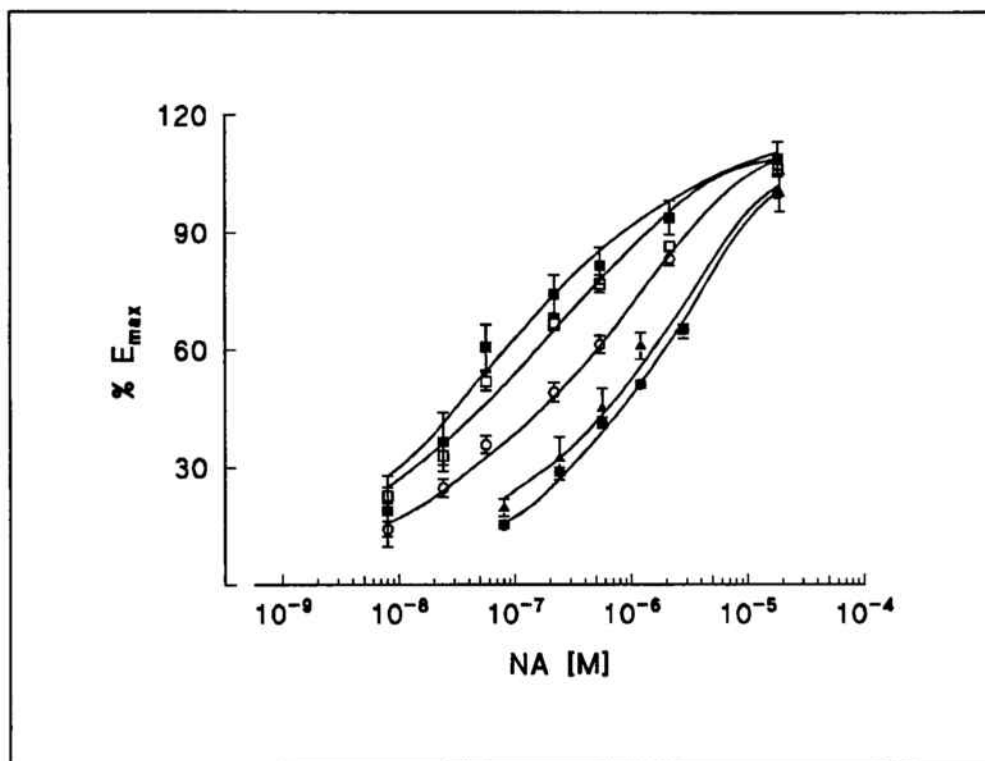


Fig. 17.- Corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions de TCP.

- Control.
- ▲ TCP 0,3 μM.
- TCP 1 μM.
- TCP 5 μM.
- TCP 10 μM

Així mateix, el TCP, a la concentració més alta provada en les corbes acumulatives (10 μM), produïa contraccions espontànies en la porció epididimal del conducte deferent de rata, de forma anàloga a l'MK-801.

A.2.2.-EXPERIÈNCIES AMB PCP:

Tal i com queda reflectit en la taula 9, l'efecte inductor de la NA sobre les contraccions va ser potenciat, de forma concentració-depenent, quan s'afegia al medi diferents concentracions de PCP compreses entre 0,1 i 0,5 μM (Fig. 18).

TAULA 9: EFECTE DEL PCP EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CONCENTRACIÓ PCP (μM)	CE ₅₀ de NA (μM)	n
---	1,15 \pm 0,06	31
0,1	0,51 \pm 0,04 ***	7
0,5	0,27 \pm 0,03 ***	7
1	0,17 \pm 0,02 ***	10
5	0,04 \pm 0,01 ***	8

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: *** $p < 0,001$ vs. grup control (en absència de TCP).

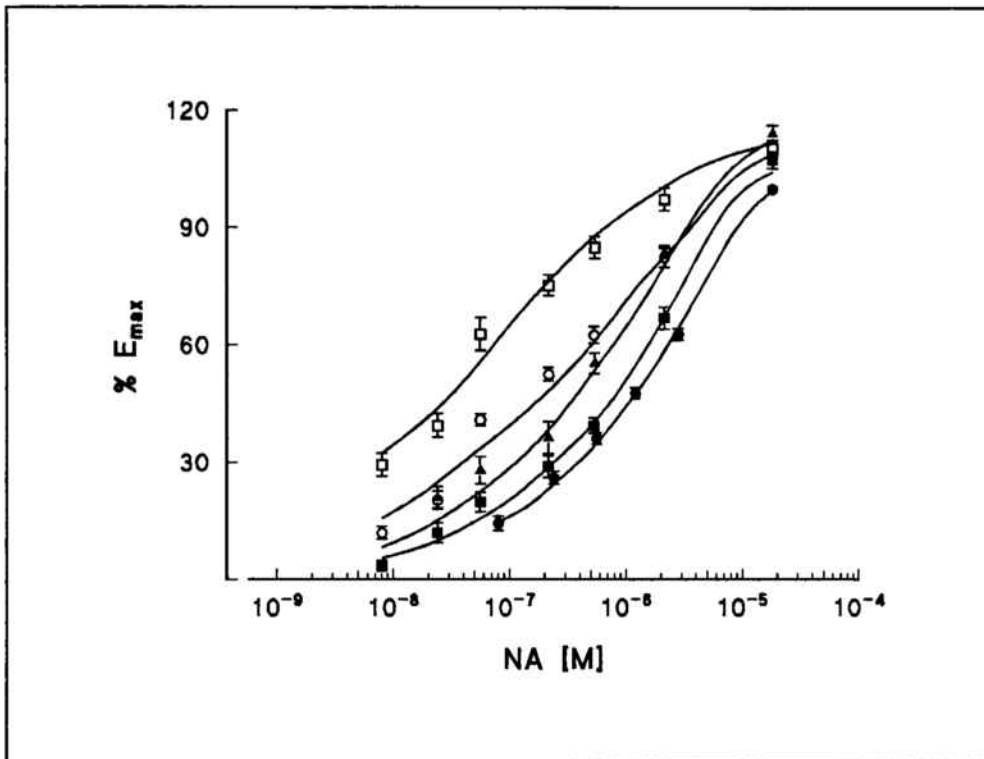


Fig. 18.- Corbes concentració-resposta en presència de diferents concentracions de PCP.

- Control.
- PCP 0,1 μM.
- ▲ PCP 0,5 μM
- PCP 1 μM.
- PCP 5 μM.

A l'igual que el fàrmac anterior, aquest produïa respostes contràctils espontànies sobre la musculatura llisa del conducte deferent de rata (part epididimal) a les concentracions més altes assajades.

A.2.3.-EXPERIÈNCIES AMB DEXTRORFÀ:

El dextrorfà també mostrà un efecte potenciador d'aquest tipus de contraccions a concentracions compreses entre 1 i 10 μM . Les corbes concentració-resposta van ser desplaçades cap a l'esquerra de manera concentració-depenent.

TAULA 10: EFECTE DEL DEXTRORFÀ EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CONCENTRACIÓ DEXTRORFÀ (μM)	CE ₅₀ de NA (μM)	n
---	1,09 \pm 0,05	33
1	0,70 \pm 0,09 **	11
3	0,55 \pm 0,09 ***	11
10	0,34 \pm 0,05 ***	11

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: ** p<0.01, *** p<0,001 vs. grup control (en absència de dextrorfà).

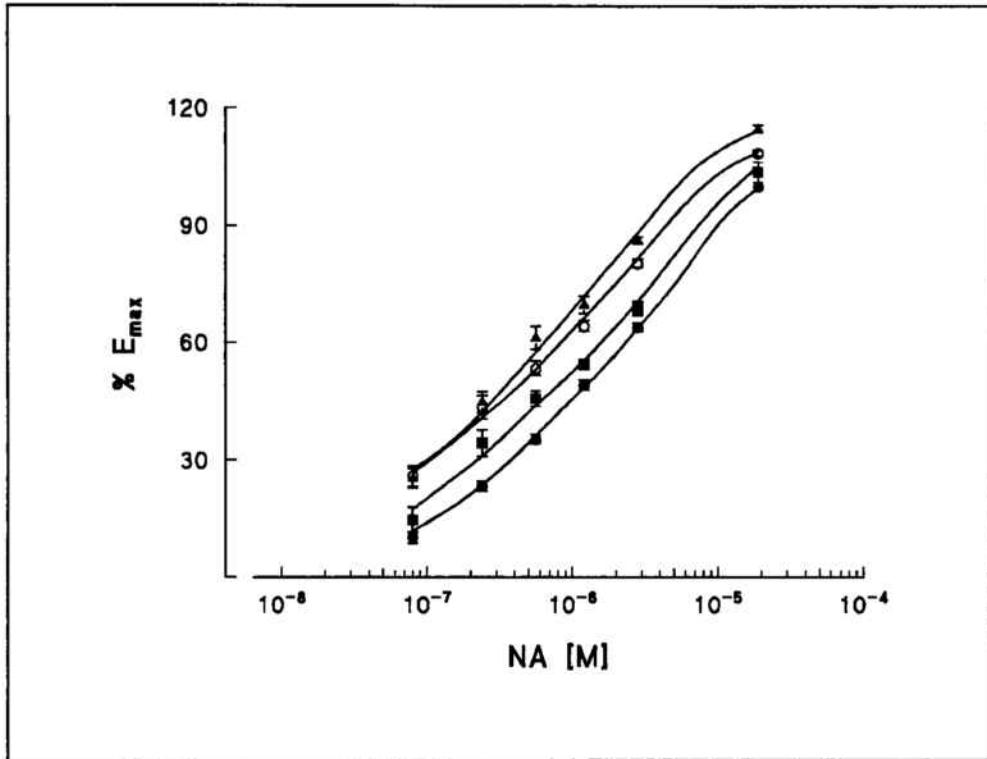


Fig. 19.- Corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions de dextrorfa..

- Control.
- Dextrorfa 1 μM.
- Dextrorfa 3 μM.
- ▲ Dextrorfa 10 μM.

A 10 μM s'observà motilitat espontània, encara que molt dèbil comparada amb la induïda per MK-801, PCP i TCP.

A.2.4.-EXPERIÈNCIES AMB DEXTROMETORFÀ:

L'addició de dextrometorfà, a les concentracions provades, no provocà una disminució significativa de les CE_{50} de les corbes concentració-resposta a NA. Els resultats obtinguts es mostren a la següent taula:

TAULA 11: EFECTE DEL DEXTROMETORFÀ EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA		
CONCENTRACIÓ DEXTROMETORFÀ (μM)	C E_{50} de NA (μM)	n
---	$0,94 \pm 0,07$	12
1	$0,69 \pm 0,09^{ns}$	7
5	$0,62 \pm 0,12^{ns}$	7

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: ^{ns}no significatiu, vs. grup control (en absència del dextrometorfà).

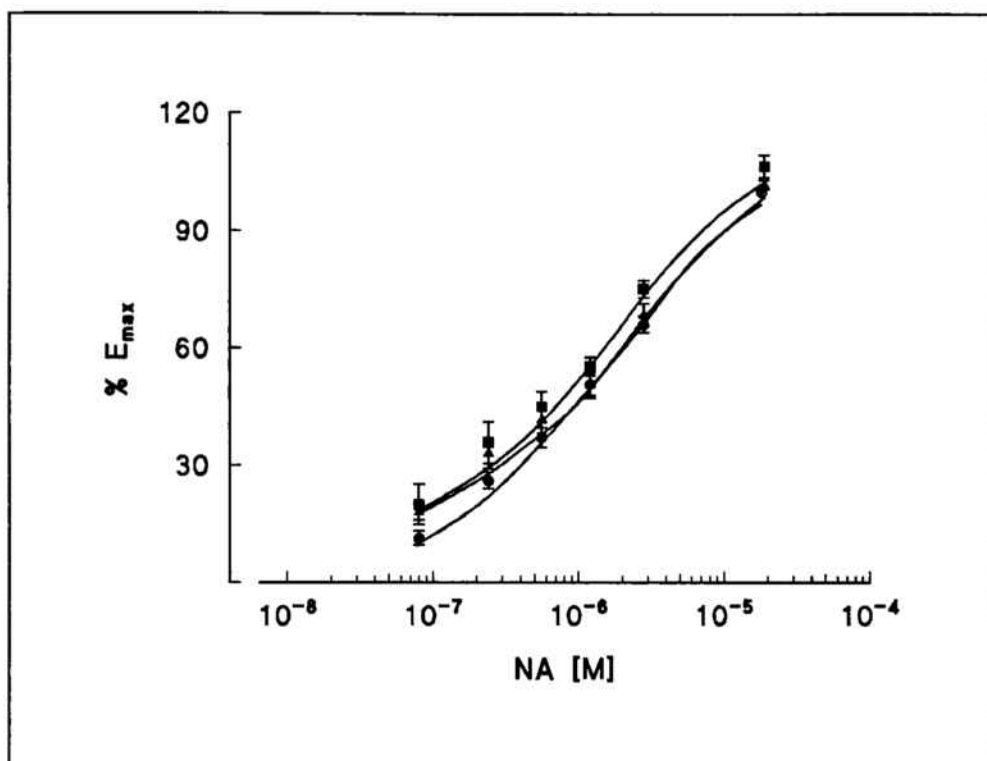


Fig. 20.-Corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions de dextrometorfã.

- Control.
- ▲ Dextrometorfã 1 µM.
- Dextrometorfã 5 µM.

A.2.5.-EXPERIÈNCIES AMB HALOPERIDOL:

Al realitzar les corbes concentració-resposta a NA en presència d'haloperidol s'obtingué una inhibició de l'efecte de la NA (Taula 12); tot i produir-se aquesta inhibició, s'arribà al mateix efecte màxim que s'obtenia en les corbes concentració-resposta en absència d'haloperidol (control) (Fig. 21). L'antagonisme que mostra l'haloperidol és de tipus no competitiu, ja que les pendents de les corbes concentració-resposta a NA en presència i en absència d'aquest compost són significativament diferents: $p < 0,01$.

TAULA 12: EFECTE DE L'HALOPERIDOL EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

CONCENTRACIÓ HALOPERIDOL(μ M)	CE ₅₀ de NA (μ M).	n
---	0,83 \pm 0,14	7
1	2,22 \pm 0,11 ****	7

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA i Test de Scheffé: **** $p < 0,0001$ vs. grup control (en absència d'haloperidol).

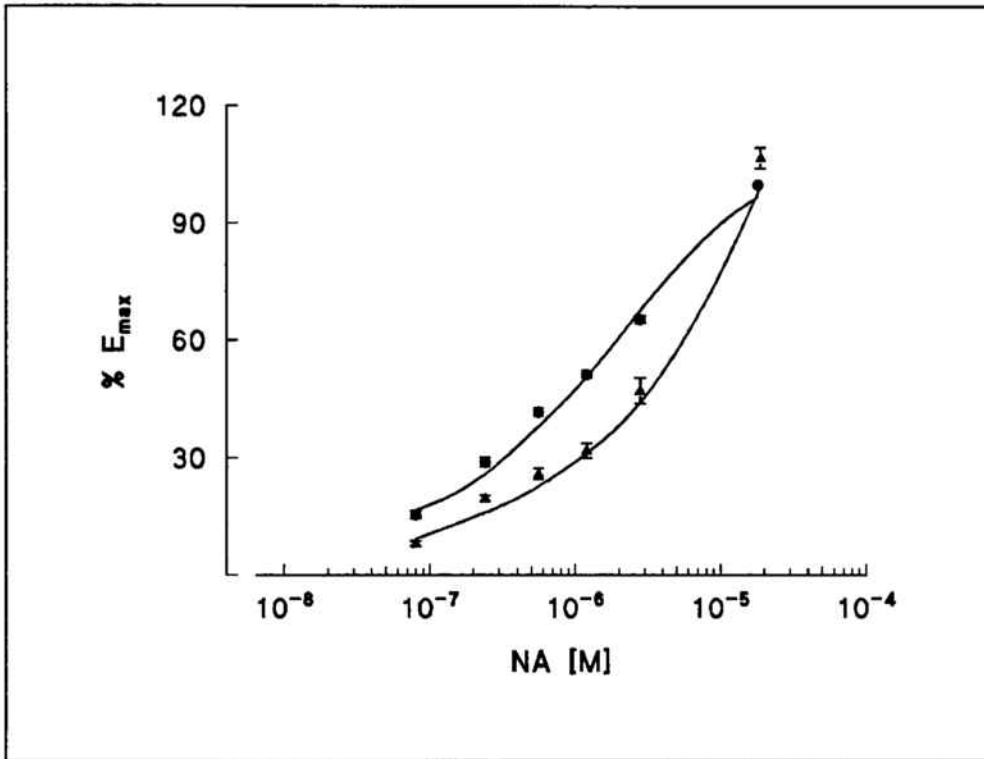


Fig. 21.- Corbes concentració-resposta a NA en presència (1 μM) i absència d'haloperidol.

- Control.
- ▲ Haloperidol 1 μM .

A.3.-COMPARATIVA:

A.3.1.-CORBES CONCENTRACIÓ-RESPOSTA A NA EN PRESENCIA DELS DIFERENTS FÀRMACS EMPRATS (1 µM):

Utilitzant pels diferents fàrmacs una mateixa concentració (1 µM) s'ha realitzat una comparació de les seves potències sobre les respostes induïdes per la NA en la part epididimal del conducte deferent de rata. Aquesta comparació ens permet establir un ordre de potències, essent aquest:

PCP>TCP>MK-801>DEXTRORFÀ>DEXTROMETORFÀ

TAULA 13: EFECTE DELS DIFERENTS FÀRMACS EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA

SUBSTÀNCIA (1µM)	CE ₅₀ de NA (µM)	n
PCP	0,17 ± 0,02 ^{***}	10
TCP	0,20 ± 0,02 ^{***}	14
MK-801	0,23 ± 0,06 ^{***}	18
DEXTRORFÀ	0,7 ± 0,09 ^{**}	11
DEXTROMETORFÀ	0,69 ± 0,09 ^{ns}	7
HALOPERIDOL	2,22 ± 0,11 ^{***}	7

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents ANOVA i Test de Scheffé: ** p<0,05, **** p<0,001 vs. els respectius valors de CE₅₀ control.

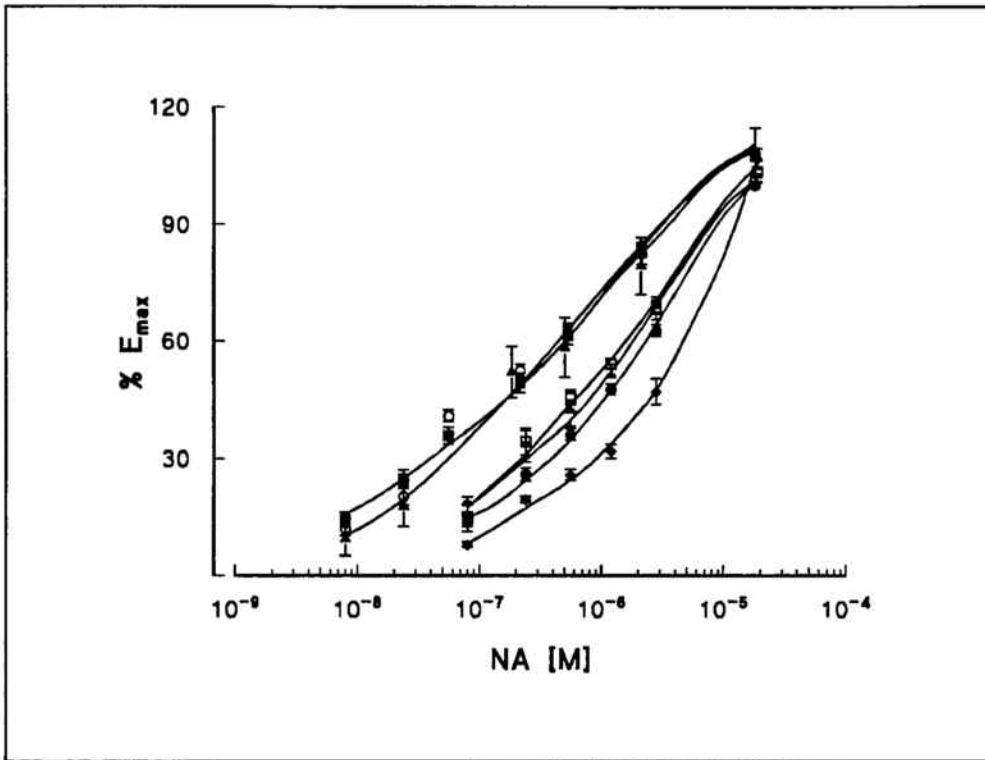


Fig. 22.-Comparació de les corbes concentració-resposta obtingudes pels diferents fàrmacs a una mateixa concentració (1 μ M).

- Control.
- PCP (1 μ M).
- TCP (1 μ M).
- ▲ MK-801 (1 μ M).
- DEXTRORFÀ (1 μ M).
- ▲ DEXTROMETORFÀ (1 μ M).
- ◆ HALOPERIDOL (1 μ M).

A.3.2.-CORBES CONCENTRACIÓ-EFECTE:

En les diferents corbes concentració-resposta s'observà una major potenciació en les dosis baixes de NA. Seguint aquesta observació i a fi de poder obtenir una comparació de la potència dels fàrmacs estudiats, es va calcular la CE₁₀₀ (Taula 14), concentració de fàrmac necessària per induir un 100% de la potenciació a una concentració de NA de 0,2 µM.

L'ordre de potència obtingut fou:

PCP>TCP>MK-801>DEXTRORFÀ

Dins d'aquesta relació s'han exclòs l'haloperidol i el dextrometorfà, degut a la seva manca de potenciació significativa (dextrometorfà) o inclús inhibició (haloperidol) front l'efecte de la NA.

TAULA 14: EFECTE DELS DIFERENTS FÀRMACS EN LES CONTRACCIONS INDUÏDES PER NA (0,2 µM)

SUBSTÀNCIA	r	CE ₁₀₀ (µM)
PCP	0,96	0,63
TCP	0,998	1,86
MK-801	0,96	2,41
DEXTRORFÀ	0,96	4,88
DEXTROMETORFÀ		No potencia
HALOPERIDOL		Inhibidora

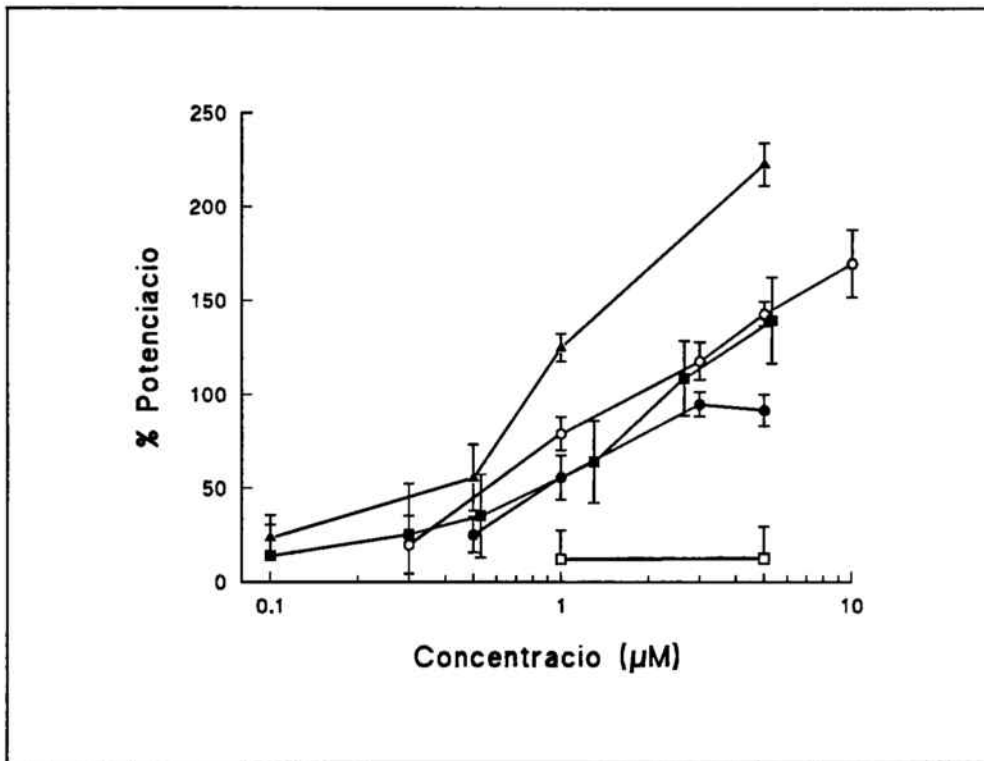


Fig. 23.- Efecte dels lligams σ i PCP sobre les contraccions per NA ($0,2 \mu\text{M}$) en conducte deferent de rata.

- ▲ PCP.
- TCP.
- MK-801.
- DEXTRORFÀ.
- DEXTROMETORFÀ.

B.-EXPERIÈNCIES SOBRE LA PRESSIÓ ARTERIAL:**B.1.-RATA NORMAL:**

L'administració de l'MK-801 a unes dosis de 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3 mg/kg produïa un increment de la pressió arterial dosi-depenent, obtenint, per tant, l'increment més elevat per a la dosi de 0,3 mg/kg (Fig.24).

TAULA 15: INCREMENTS NETS DE PRESSIÓ (mmHg).

DOSI ADMINISTRADA D'MK-801(mg/kg)	INCREMENT DE PRESSIÓ	n
0,05	2,00 ± 0,94	3
0,1	7,60 ± 2,14	5
0,15	7,89 ± 0,74	9
0,2	6,44 ± 1,03	9
0,3	9,83 ± 1,70	6

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

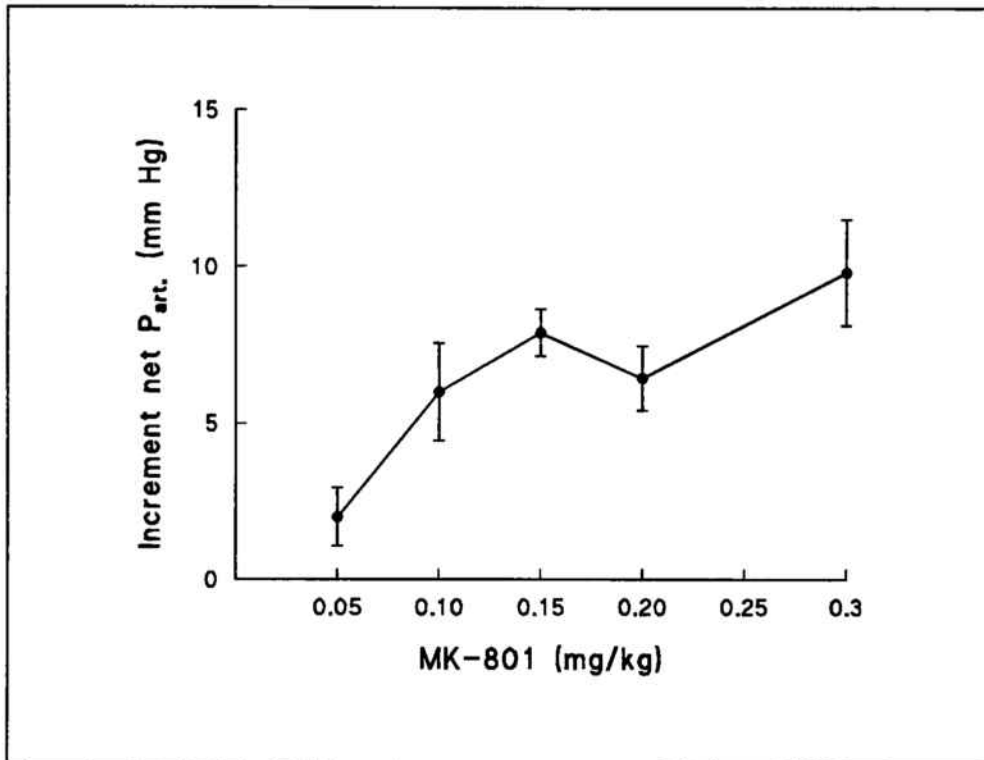


Fig.24.- Corba dosi-resposta que representa els increments nets de pressió arterial (restant el provocat pel vehicle) provocats per diferents dosis d'MK-801 en la rata anestesiada amb pentobarbital.

L'increment de pressió arterial es mantingué durant 45/60 segons, després dels quals es produí una caiguda per sota del nivell de la pressió basal acompanyada de bradicàrdia (Fig. 24). La pressió inicial no es va tornar a assolir encara que sí s'observà una recuperació parcial. La caiguda posterior és dependent de la dosi administrada, a dosis més grans la caiguda és major.

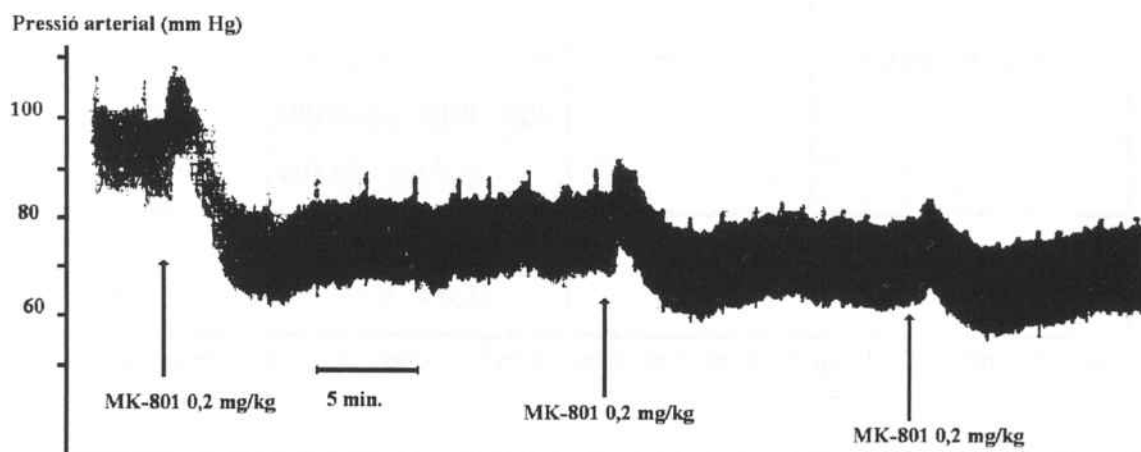


Fig. 25.-Exemple de registre de pressió arterial en rata anestesiada amb pentobarbital i dels increments de pressió provocats per l'administració repetida d'MK-801 a una determinada dosi. Les sagetes indiquen el moment de l'administració.

B.1.1.-VAGOTOMIA BILATERAL:

Quan a la rata normal se li practicava una vagotomia bilateral l'efecte provocat per l'MK-801 (Dosi: 0,1 mg/kg) no es veia modificat. L'increment de pressió observat era comparatiu a l'obtingut en rata sense vagotomitzar, així com la baixada que segueix a aquest increment de pressió.

TAULA 16: INCREMENTS NETS DE PRESSIÓ OBTINGUTS EN RATES VAGOTOMITZADES.

RATA	INCREMENT DE PRESSIÓ PER MK-801 (0,1 mg/kg)	n	SIGNIFICACIÓ
NORMAL.	7,6 ± 2,14	5	
VAGOTOMIA	5,67 ± 0,33	3	ns, p>0,5

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiències diferents.

Comparació realitzada per ANOVA i Test de Scheffé: ns, no significatiu.

B.1.2.-PRAZOSINA:

Per a determinar si l'augment de pressió que provoca l'MK-801 era degut a un augment del to adrenèrgic, es va administrar prazosina (0,08 mg/kg) prèviament a la injecció de l'MK-801 (0,3 mg/kg).

La presència de prazosina no va modificar de forma significativa l'efecte de l'MK-801 sobre la pressió arterial, encara que s'observa un augment més petit de la pressió induït pel fàrmac (taula 17), tot i que la dosi de prazosina administrada sí que era capaç d'anular totalment els efectes pressors de l'adrenalina (3,3 mg/kg).

TAULA 17: INCREMENTS NETS DE PRESSIÓ (mmHg) EN PRESENCIA DE PRAZOSINA.

TRACTAMENT	INCREMENT DE PRESSIÓ	n
MK-801 0,3 mg/kg	9,83 ± 1,70	6
MK-801 0,3 mg/kg + prazosina (0,08 mg/kg)	7,00 ± 0,57 ^{ns}	4

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

ANOVA I TEST DE SCHEFFÉ: ^{ns} no significatiu vs.MK-801 0,3 mg/kg.

B.1.3.-PRETRACTAMENT AMB PROPRANOLOL:

Amb bloqueig dels receptors β amb propranolol, a dosis entre 1-5 mg/kg i administració posterior d'MK-801 0,3 mg/kg, produïa un increment similar de la pressió arterial però l'animal no superava la posterior caiguda de pressió i finalment es moria.

B.2.-RATES RESERPINITZADES:

En rates pretractades amb reserpina l'efecte pressor de l'MK-801 va ser significativament menor front rates no reserpinitzades (taula 18).

S'han provat dues dosis d'MK-801 0,2 i 0,3 mg/kg essent en ambdós casos l'increment de pressió significativament més petit, indicant que els nivells de NA emmagatzemada en les vesícules sinàptiques són determinants en l'efecte pressor de l'MK-801.

TAULA 18: COMPARACIÓ DELS INCREMENTS NETS DE PRESSIÓ OBTINGUTS EN RATES NORMALS I RATES RESERPINITZADES, EN ABSÈNCIA I EN PRESENCIA D'MK-801.

ADMINISTRACIÓ (mg/kg)	INCREMENT DE PRESSIÓ	n	SIGNIFICACIÓ
-MK-801 0,2 Control Normal.	6,44 ± 1,03	9	p<0,05
-MK-801 0,2 Control Reserpinitzades.	2,60 ± 0,40	5	
-MK-801 0,3 normal.	9,83 ± 1,70	6	p<0,05
-MK-801 0,3 reserpinitzades.	6,25 ± 0,63	4	

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiències diferents

.Comparació realitzada per ANOVA i Test de Scheffé

B.3-RATA DESMEDUL·LADA:

En rata desmedul·lada la pressió basal baixava de aproximadament $148,17 \pm 5,58$ mmHg. a $54,8 \pm 3,4$, com ja està descrit degut a la manca de control central. ($p < 0,0001$)

L'administració d'MK-801 (0,3 mg/kg) induïa en aquests animals un augment de $2,45 \pm 0,34$ mmHg ($p < 0,005$) (Taula 19) que no anava acompanyat de la posterior caiguda per sota de la pressió inicial, observada en rata normal (Fig. 26).

TAULA 19: INCREMENTS DE PRESSIÓ (mmHg) EN RATA DESMEDUL·LADA.

ADMINISTRACIÓ (mg/kg)	INCREMENT DE PRESSIÓ	n	SIGNIFICACIÓ
SÉRUM FISIOLÒGIC	$1,4 \pm 0,24$	5	
MK-0,3	$3,9 \pm 0,39$	11	$p < 0,005$

Resultats expressats com a la mitja \pm l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

Comparació realitzada per ANOVA I TEST DE SCHEFFÉ.

Donat que està descrit que l'efecte hipotensor o hipertensor d'una determinada substància depèn de la pressió arterial basal de que parteix l'animal, i que la pressió arterial de la rata desmedul·lada és molt significantment inferior a la de la normal, vam exposar els resultats com a % d'increment de pressió respecte a la pressió basal.

D'aquesta manera els resultats obtinguts foren:

TAULA 20: COMPARATIVA DELS % D'INCREMENTS DE PRESSIÓ ARTERIAL OBTINGUTS EN RATA NORMAL I RATA DESMEDUL·LADA.

RATA	n	PRESSIÓ ARTERIAL BASAL	INCREMENT NET DE PRESSIÓ	INCREMENT EN RESPOSTA BASAL (%)	SIGNIFICACIÓ
NORMAL	12	148,17 ± 5,58	9,83 ± 1,7	6,60 ± 1,2	ns, p> 0,1
DESMEDUL·LADA	11	54,18 ± 3,38	2,46 ± 0,34	4,54 ± 0,63	

Resultats expressats com a la mitja ± l'error estàndard de la mitja de "n" experiments diferents.

Comparació realitzada per ANOVA I Test de Scheffé: ns, no significatiu..

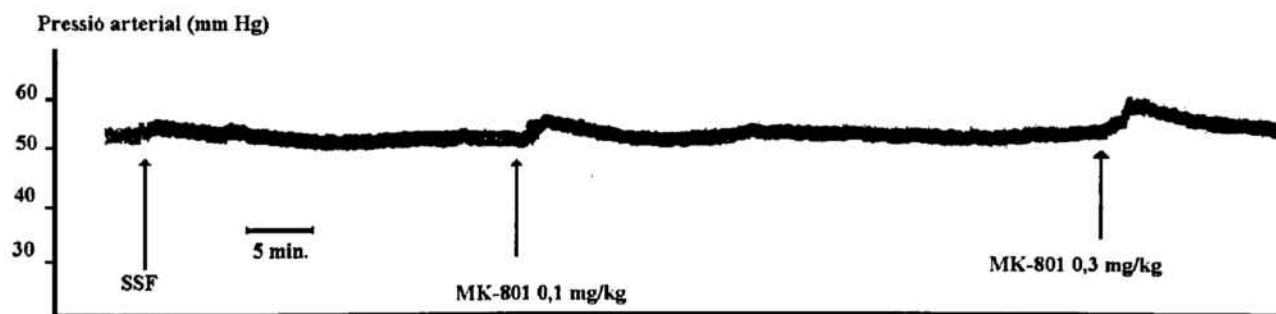


Fig.26.- Exemple de registre de pressió arterial en la rata desmedul·lada i dels increments de pressió provocats pel sèrum fisiològic (SSF) i l'MK-801 a dues dosis diferents.

DISCUSSION

DISCUSSIÓ

En el present treball s'ha estudiat primerament l'efecte de l'MK-801 sobre l'activitat contràctil de la part epididimal aïllada del conducte deferent de la rata. Aquest efecte consisteix en una potenciació concentració-depenent de les respostes a NA, tant exògena com neurogènica (per estimulació elèctrica), així com la inducció de motilitat espontània quan era addicionat sol. Les corbes concentració-resposta a NA en presència de diferents concentracions d'MK-801 es desplacen cap a l'esquerra, indicant una potenciació, i les CE₅₀ de NA disminueixen al augmentar la concentració d'aquesta substància.

Els efectes potenciadors de les respostes a NA per aquest fàrmac només havien estat descrits en artèria caudal de rata aïllada i perfundida (Massamiri i Duckles, 1991) i els experiments realitzats per aquestes autores apuntaven a una inhibició de la recaptació de NA com el més possible mecanisme d'acció en aquest òrgan. Aquesta hipòtesi era recolzada pel fet que l'MK-801 és un bon inhibidor de la captació de [³H]NA en SNC (Snell i Johnson, 1988) i en cèl·lules cromafins bovines (Rogers i Lemaire, 1991).

A fi de determinar el possible mecanisme d'acció de l'MK-801 en la nostra preparació realitzarem una sèrie d'experiments, els resultats dels quals discutim a continuació:

L'MK-801 és un antagonista no competitiu del receptor NMDA que té el seu lloc d'unió en el canal iònic acoblat al mateix (Lodge i Johnson, 1990). Malgrat això, l'efecte potenciador sobre la NA no es va veure afectat ni revertit per l'addició de l'agonista NMDA més el seu coagonista glicina (en presència d'MK-801 5,3 µM, CE₅₀ per la NA

de $0,09 \pm 0,01$ i $0,014 \pm 0,03$ amb NMDA + Glicina, $p > 0,05$; diferència no significativa). D'altra banda, un antagonista competitiu del receptor NMDA, l'AP5, inhibí més que potencià l'efecte de la noradrenalina (CE_{50} : $0,99 \pm 0,05$ el control i $1,58 \pm 0,06$ en presència d'AP5, $p < 0,001$). A més, tots els experiments es portaren a terme a una concentració de magnesi (1,2 mM) a la qual el canal iònic associat al receptor NMDA és bloquejat. És més, la potenciació de les contraccions induïdes elèctricament era molt més gran en una solució salina que contingués magnesi. Aquests resultats permeten, doncs, descartar la participació de receptors NMDA en aquest efecte de l'MK-801.

Finalment, es descartà també una possible acció sobre l'autoalliberació de NA modulada per receptors α_2 presinàptics, ja que el bloqueig d'aquests per iohimbina no va modificar les respostes a MK-801. (CE_{50} per NA amb MK-801 $5,3 \mu\text{M}$: $0,06 \pm 0,01$ en absència i $0,08 \pm 0,04$ en presència de iohimbina, $p > 0,8$).

Així doncs, per explicar aquests efectes només quedaven dos possibles mecanismes a postular:

- 1.-Que l'MK-801 provoqués l'alliberació de la NA endògena.
- 2.-Que l'MK-801 bloquegés la recaptació de NA en aquest òrgan tal i com estava descrit en altres òrgans.

El fet de que la potenciació de les contraccions induïdes per NA exògena (corbes concentració-resposta) també existís en òrgans amb les reserves de neurotransmissors depleccionades (rates reserpinitzades), permet deduir que no es tracta d'una estimulació de l'alliberació de neurotransmissor i recolza la possibilitat de que es tracti d'una inhibició de la recaptació.

La funcionalitat de la majoria de transportadors per a neurotransmissors és dependent de sodi (Zeitner i Graefe, 1986; Worrall i Williams, 1994) i, per tant, la disminució o supressió d'aquest ió en el medi redueix la seva activitat. En els nostres experiments, la substitució del NaCl per clorur de Colina en la solució de Krebs-Henseleit va impedir la potenciació de l'efecte de la NA per MK-801. Encara que el sodi no va ésser retirat del tot (encara quedava 25 mM del NaHCO₃), la important reducció efectuada i la presència de colina, que resulta ser substracte del transportador de NA en el conducte deferent de la rata (Ungell i col., 1986), va permetre assolir una inhibició del transport suficient per establir comparacions amb teixits control (banyats amb medi estàndard). Per tant, aquest fet permet concloure que l'efecte potenciador de l'MK-801 es deu a la inhibició de la recaptació de NA. És més, treballs paral·lels del nostre equip de recerca corroboren aquesta hipòtesi ja que demostren que l'MK-801 és capaç d'inhibir la incorporació de [³H]NA en fragments de conducte deferent de rata (Pubill i col., 1996), alhora que inhibeix la unió de la [³H]nisoxetina (un marcador dels llocs de captació de NA) en preparacions de membrana d'aquest teixit.

Així doncs, l'MK-801 potenciaria l'acció de la NA a l'inhibir la seva recaptació, permetent que romanguí més temps a l'espai sinàptic. De fet, la desimipramina, que és un potent inhibidor de la captació neuronal de catecolamines, va induir en la nostra preparació, a una concentració de 0,1 µM, una motilitat espontània del mateix tipus que l'MK-801 (dades no incloses).

La motilitat espontània induïda per l'MK-801 desapareix immediatament quan s'afegeix prazosina al medi (1µM), indicant que aquesta és deguda a un estímul α₁ adrenèrgic. D'altra banda, aquesta motilitat no apareix en òrgans provinents de rates reserpinitzades (amb les reserves de NA minvades) a l'afegir l'MK-801, per tant, la motilitat espontània induïda per l'MK-801 era deguda a l'alliberació basal de NA de les vesícules sinàptiques de les fibres nervioses que innerven el teixit que en condicions

normals no és capaç d'induir resposta però que, al estar inhibida la recaptació, assoleix els nivells necessaris per desencadenar-la. La NA alliberada espontàniament i que no es pot recaptar interactua a continuació amb els receptors α_1 -adrenèrgics postsinàptics. De fet, quan els òrgans de rates reserpinitzades s'incubaven amb NA exògena, recarregant així les vesícules depleccionades d'aquest neurotransmissor la motilitat espontània a l'afegir l'MK-801 es recuperava. És més, la potenciació en les corbes concentració-resposta a NA no era diferent en òrgans provinents de rates reserpinitzades respecte a rates normals, pel que aquesta potència no depèn de la NA endògena

L'MK-801 es troba encasellat dins dels anomenats lligams PCP que, junt amb certs lligams sigma, comparteixen la propietat d'inhibir la recaptació de catecolamines en SNC i medul·la adrenal bovina (Rogers i Lemaire, 1991; 1992) i potenciar les respostes a NA en alguns teixits perifèrics com el conducte deferent de ratolí (Campbell i col., 1987; Kennedy i Henderson, 1989) i de conill porquí (Vaupel i col.), així com en artèria caudal de rata (Massamiri i Duckles, 1990; 1991).

En conducte deferent de rata només hi havia fets treballs amb PCP (Fox i col., 1989), pentazocina, SKF 10.047 i DTG (Fox i col., 1991), demostrant-se que el seu efecte no era degut a una acció sobre els receptors σ .

Així doncs, trobarem interessant de fer un estudi comparatiu sobre l'activitat adrenèrgica amb altres lligams PCP (el mateix PCP, l'MK-801 ja estudiat, TCP i dextrorfà) i sigma (haloperidol i dextrometorfà), en conducte deferent de rata ja que és un òrgan prototípic per estudiar efectes adrenèrgics. Tots els compostos provats, excepte l'haloperidol, potencien en major o menor grau les contraccions induïdes per NA exògena, provocant un desplaçament de les corbes concentració-resposta cap a l'esquerra de forma concentració-depenent. A fi de comparar les potències dels compostos assajats es calcularen les CE_{100} , a partir de les quals s'obtingué l'ordre de

potències: PCP>TCP>MK-801>Dextrorfà>>Dextrometorfà. De fet, la potenciació per dextrometorfà a les concentracions assajades fou tan petita que no va permetre calcular la seva CE₁₀₀.

El dextrorfà, metabòlit del dextrometorfà, presenta una bona potenciació de l'efecte de la NA, afegint una nova possible causa als efectes secundaris d'aquest fàrmac. Aquests efectes s'havien descrit en casos de sobredosificació i es manifestaven com reaccions psicotomimètiques del mateix tipus que les que tenen lloc quan s'administra PCP o MK-801, és a dir, antagonistes NMDA no competitiu. Part dels efectes d'aquests compostos s'atribueixen a la inhibició de la recaptació de NA. El dextrorfà podria, doncs, presentar un perfil d'activitat similar.

L'ordre de potències TCP>MK-801 coincideix amb l'establert per Massamiri i Duckles (1990) en artèria caudal de rata, així com l'efecte inhibitori de l'haloperidol que, tot i que *in vitro* presenta inhibició de la recaptació de [³H]NA, té un efecte inhibitori de les contraccions del múscul llis molt més potent que emmascara la potenciació de l'efecte de la NA (Fox i col., 1991). De fet els treballs de Miranda i col. (1988) demostren un antagonisme per haloperidol de les respostes a NA i dopamina en conducte deferent de rata.

Respecte a la motilitat espontània, PCP i TCP en mostraren major o igual que l'MK-801, el dextrorfà en mostrà molt poca i el dextrometorfà no en va presentar. Aquest fenomen es correlaciona directament amb la seva capacitat per potenciar l'efecte de la NA exògena. L'haloperidol provocà també motilitat espontània en conducte deferent de rata, a l'igual que altres treballs (Miranda i col., 1988), encara que el mecanisme no està ben establert.

La potenciació de les respostes a la noradrenalina en conducte deferent de rata per part de l'MK-801 ens va portar a pensar que aquest efecte podria tenir repercussió a nivell sistèmic, en animal sencer, provocant un increment de la pressió arterial. Alguns treballs descriuen augments de pressió i freqüència cardíaca després de l'administració d'aquest fàrmac (Rockhold i col., 1992), encara que no especifiquen el mecanisme pel qual es produeix i són realitzats en rata conscient.

Altres autors (Kubo i col., 1993) han trobat que, en rates, els receptors NMDA mitjancen la hipertensió induïda per estimulació del cos quimiorceptor carotidi amb NaH_2PO_4 . La injecció d'MK-801 en una determinada zona de l'encèfal inhibia aquesta resposta pressora quimiorreflexe. Per tant, el fet que aquest compost administrat sistèmicament indueixi un augment de la pressió arterial, indica que la seva acció global és molt més complexa.

En els nostres experiments, l'administració endovenosa d'MK-801 a rates anestesiades amb pentobarbital, va provocar un augment de pressió arterial dosi-depenent que anava, però, acompanyada d'una caiguda de pressió per sota de la línia basal.

La vagotomia no va inhibir la caiguda subseqüent a l'augment i, per tant, aquest fet ens permet descartar que la caiguda sigui deguda a un mecanisme reflex a la pujada inicial. D'altra banda, l'anul·lació del control central mitjançant la desmedul·lació va provocar la desaparició d'aquesta. Aquests dos fets permeten deduir que aquesta caiguda es deu a un mecanisme central, que bé podria ser mitjançada pels receptors NMDA tal i com descriu Kubo i col. (1993).

Ja que els resultats obtinguts en les experiències en òrgan aïllat indicaven que el mecanisme d'acció de l'MK-801 estava, possiblement, lligat a la recaptació de la

noradrenalina, es va provar si l'efecte pressor d'aquest fàrmac era degut a una acció adrenèrgica indirecta, per un augment de la noradrenalina en l'espai sinàptic, administrant prazosina prèviament a l'MK-801. La prazosina no va anul·lar la resposta pressora de l'MK-801 de forma significativa, encara que s'observa que la variació de pressió induïda per l'MK-801 en presència d'aquest bloquejant α_1 és menor que en els animals no pretractats amb la prazosina.

D'altra banda, però, en rates reserpinitzades (és a dir amb les reserves de catecolamines depleccionades) es va observar una disminució significativa en l'increment de la pressió arterial. Aquest fet, unit a la tendència a inhibició per prazosina descrita abans, permet pensar que l'efecte pressor podria tenir, doncs, part de component adrenèrgic en concordància amb els resultats en bany d'òrgans.

Per a determinar si existia una acció β -adrenèrgica en l'acció pressora de l'MK-801 es bloquejaren aquests receptors amb propranolol. Sorprenentment a l'administrar a continuació l'MK-801, l'animal es moria. Això podria ser degut a que l'MK-801 *per se* o per interacció amb el pentobarbital, provoqués una bradicàrdia que en condicions normals seria remuntada per un estímul adrenèrgic reflex (de fet és el que s'observa en rata no pretractada); aquesta recuperació de la freqüència cardíaca via estimulació adrenèrgica no seria possible quan els receptors β estan bloquejats.

La diferència entre els tants per cent d'increment de pressió per MK-801 entre la rata normal i la rata desmedul·lada resultà no significativa. D'això es pot concloure que aquest efecte de l'MK-801 (0,3 mg/kg) és el mateix en rata normal que en rata desmedul·lada. Per tant l'efecte pressor d'aquesta substància es deu a un mecanisme perifèric, mentre que la caiguda subsequënt tal com ja s'ha comentat, es deu a un efecte central.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

- 1.- L'MK-801 produeix un efecte potenciador concentració-depenent de les respostes de NA exògena i neurogènica, en conducte deferent aïllat de rata.
- 2.- Es descarta la implicació del receptor NMDA en aquest efecte potenciador.
- 3.- La no anul·lació d'aquest efecte per la iohimbina va permetre descartar la participació del receptor α_2 en aquest efecte de l'MK-801 en conducte deferent.
- 4.- La potenciació de l'MK-801 sobre la NA exògena és independent de les reserves de NA endògena i per tant, aquesta potenciació no és deguda a l'alliberació d'aquesta catecolamina.
- 5.- De les anteriors conclusions i del fet que l'efecte de l'MK-801 s'anul·lava al disminuir el Na^+ del medi, es pot concloure que la potenciació per aquesta substància és deguda a la inhibició de la recaptació de NA.
- 6.- Tal com caldria esperar d'un inhibidor de la recaptació de NA l'MK-801 és capaç d'induir motilitat espontània en el conducte deferent.
- 7.- Altres lligams sigma i PCP assajats varen ser, també, capaços de potenciar la NA exògena, amb un ordre de potència:
PCP>TCP>MK-801>Dextrorfà>>Dextrometorfà.

- 8.-** En rates anestesiades l'MK-801 va provocar un augment transitori de la pressió arterial acompanyat d'una caiguda per sota de la línia basal.
- 9.-** Es descarta que aquesta caiguda sigui deguda a un mecanisme reflex envers la pujada inicial.
- 10.-** El descens posterior de la pressió arterial induït per l'MK-801 és, doncs, un efecte central directe.
- 11.-** Dels resultats amb rates reserpinitzades i en rates desmedul·lades es dedueix que l'increment inicial de la pressió arterial per MK-801 és un efecte perifèric.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Ambache, N., Zar, M.A.

Evidence against adrenergic motor transmission in the guinea-pig vas deferens.

J. Physiol., 216, 359-389

1971

Amobi, N.I.B, Smith, I.C.H.

A study of the post-tetanic twitch depression at the prostatic end of the rat vas deferens.

Eur. J. Physiol., 408, 628-633

1987

Anis, N.A., Berry, S.C., Borton, N.R., Lodge, D.

The dissociative anesthetics, Ketamine and phencyclidine selectively reduce excitation of central mammalian neurons by N-methyl-D-aspartate.

Br. J. Pharmacol., 79, 565

1983

Aram, J.A., Martin, D., Tomczyk, M., Zeman, S., Millar J., Pohler, G., Lodge, D.

Neocortical epileptogenesis in vitro: Studies with N-methyl-D-aspartate, phencyclidine, sigma and dextromethorphan receptor ligands.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 248, 320-28

1989

Avellar, M.C.W.; Kobashi, Y.L.; Markus, R.P.

Age related changes in neuronal uptake of noradrenaline

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. pharmacol., 341, 295-300

1990

Axelrod, J.; Weil-Malherbe, H.; Tomchick, R.

The physiological disposition of [³H]-epinephrine and its metabolite metanephrine.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 127, 251-256

1959

Banerjee, D.K.; Lutz, R.A.; Levine, M.A.; Rodbard, D.; Pollard, H.B.

Uptake of norepinephrine and related catecholamines by cultured chromaffin cells: characterization of cocaine-sensitive and -insensitive plasma membrane transport sites.

Prod. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84, 1749-1753

1987

Benveniste, M., Clements, J., Vyklicky, I., Mayer, M.L.

a kinetic analysis of the modulation of N-methyl-D-aspartic acid receptors by glycine in mouse cultured hippocampal neurones.

J. Physiol., 428, 333-357

1990

BIBLIOGRAFIA

Bogdanski, D.F.; Brodie, B.B.

Role of sodium and potassium ions in storage of norepinephrine by sympathetic nerve endings.

Life. Sci., 5, 1563-1569

1966

Bonhaus, D.W., Burge, B.c., McNamara, J.O.

Biochemical evidence that glycine allosterically regulates an NMDA receptor-coupled ion channel.

Eur. J. Pharmacol., 142, 489-490

1987

Bowyer, J.F.; Spuhler, K.P.; Weiner, N.

Effects of phencyclidin, amphetamine and related compounds on dopamine release from and uptake into striatal synaptosomes.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 229, 671-680

1984

Brady, K.T., Balster, R.T. May, E.L.

Stereoisomers of N-allylnormetazocine: phencyclidine-like behavioral effects in squirrel monkeys and rats.

Science (Washington DC), 215, 178-180

1982

Campbell, B. G.; Bobker, D. H.; Leslie, F. M.; Mefford, I. N.; Weber, E.

Both the sigma receptor-specific ligand (+)3-PPP and the PCP receptor-specific ligand TCP act in the mouse vas deferens via augmentation of electrically evoked norepinephrine release.

Eur. J. Pharmacol., 138, 447-449

1987

Carbonell, L.F., Garcia-estañ, J., Ubeda, M., Salom, M.G., Fendy, F., Quesada, t.

Blood pressur control in pithed rat.

Gen. Pharmacol., 17, 469-472

1986

Carpenter, C.L., Marks, S.S., Watson, D.L., Greenberg, D.A.

Dextromethorphan and dextrorphan as calcium channel antagonists.

Brain Res., 439, 372-75

1988

BIBLIOGRAFIA

Chapman, A.G., Meldrum, B.S.

Non-competitive N-methyl-D-aspartate antagonists protect against sound-induced seizures in DBA/2 mice.

Eur. J. Pharmacol., 166, 210-11
1989

Choi, D.W.

Dextrophan and dextromethorphan attenuate glutamate neurotoxicity.

Brain Res., 403, 333-36
1987

Choi, D.W., Peters, S., Visenkul, V.

Dextrophan and levorphanol selectively block N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity on cortical neurons.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 242, 713-20
1987

Debonnel, G.

Current hypotheses on sigma receptors and their physiological role: possible implications in psychiatry.

J. Psychiatry. Neurosci., 18(4), 157-72
1993

Di Porzio, U., Smith S.V. Novotny, E.A., Morelli, F., Barker, J.L.

Two functionally different glutamate receptor of the kainate subtype in embryonic rat mesencephalic cells.

Exp. Neurol., 120, 202-213
1993

Downes, C.P., Lewis, P.E., Stone, M.A.

Comparison of the binding of sigma opioids and phencyclidine, and the interaction of antipsychotic drugs in rat brain membranes.

Br. J. Pharmacol., 88, 231-237
1986

East, S.J., Garthwaite, J.

Actions of a metabotropic glutamate receptor agonist in immature and adult rat cerebellum.

Eur. J. Pharmacol., 219, 395-400
1992

BIBLIOGRAFIA

Eimerl, S.; Schramm, M.

An endogenous metal appears to regulate NMDA receptor mediated 45Ca^{2+} influx and toxicity in cultured cerebellar granule cells.

Neurosci. Lett., 137, 198-202

1992

Eimerl, S.; Schramm, M.

Potential of 45Ca^{2+} uptake and acute toxicity mediated by the NMDA receptor: the effect of metal binding agents and transition metal ions.

J. Neurochem., 61, 518-525

1993

Euler, U.S. von, Hedquist, P.

Inhibitory action of prostaglandin E_1 and E_2 on the neuromuscular transmission in the guinea pig vas deferens.

Acta Physiol. Scand., 93, 572-573

Finberg, J. P. M.; Kremer, I.; Spanir, R.; Lenox, R. H.; Klein, E.

Peripheral noradrenergic function during chronic lithium treatment in the rat.

J. Neural Transm [Gen Sect], 87, 77-83

1992

Foster, A.C.; Fagg, G.E.

Taking apart the NMDA receptor

Nature., 329, 395-396

1987

Fox, P.K., Connick, J.H., Hanlon, G.M., France, L., Nicholson, C.D.

The lack of utility of the rat vas deferens as a functional bioassay for sigma ligands.

Eur. J. Pharmacol., 193, 139-43

1991

Fox, P.K., France, L., Nicholson, C.D.

Lack of involvement of presynaptic sigma receptors in the PCP-stimulated enhancement of twitches in rat vas deferens.

Br. J. Pharmacol., 98, 866

1989

Franklin, P.H., Murray, T.F.

High affinity [^3H]dextrorphan binding in rat brain is localized to a noncompetitive antagonist site of the activated N-methyl-D-aspartate receptor-cation channel.

Mol. Pharmacol., 41, 134-46

1992

BIBLIOGRAFIA

Friedrich, U.; Bönisch, H.

The neuronal noradrenaline transport system of PC-12 cells: kinetic analysis of the interaction between noradrenaline, sodium and chloride in transport.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 333, 246-252

1986

George, C.P., Goldberg, M.P., Choi, D.W., Steinberg, G.K.

Dextrometorphan reduces neocortical ischemic neuronal damage in vivo.

Brain Res., 440, 375-79

1988

Gillespie, J.S. Macrae, I.M.

The contractil response to and the release of noradrenaline by transmural nerve stimulation in the guinea pig vas deferens and a comparison with the response to noradrenaline.

Br. J. Pharmacol., 80, 477-484

1983

Goldstein, S.R., Matsumoto, R.R., Thompson, T.L., Patrick, R.L., Bowen, W.D. Walker, J.M.

Motor effects of two sigma ligands mediated by nigrostriatal dopamine neurons.

Synapse., 4, 254-258

1989

Grimwood, s., Wilde, G.J.C., Foster, a.C.

Interactions between the glutamate and glycine recognition sites of the N-methyl-D-aspartate receptor from rat brain, as revealed from radioligand binding studies.

J. Neurophysiol., 60, 1729-1738

1993

Guiramand, J, Vignes, M., Recasens, M.

A specific transduction mechanism for the glutamate action on phosphoinositide metabolism via the quisqualate metabotropic receptor in rat brain synaptoneuroosomes: I. External Na⁺ requirement.

J. Neurochem., 57, 1488-1500

1991a

Guiramand, J, Vignes, M., Recasens, M.

A specific transduction mechanism for the glutamate action on phosphoinositide metabolism via the quisqualate metabotropic receptor in rat brain synaptoneuroosomes: II. Calcium dependency, cadmium inhibition.

J. Neurochem., 57, 1501-1509

1991b

BIBLIOGRAFIA

Gundlach, A.L., Largent, B.L., Snyder, S.H.

Autoradiographic localization of sigma receptor binding sites in guinea pig and rat central nervous system with (+).³H-3-(3-hydroxyphenyl)-N-(1-propyl)-piperidine.

J. Neurosci., 6, 1757-1770

1986

Gundlach, A.L., Largent, B.L., Snyder, S.H.

Phencyclidine and sigma opiate receptors in brain: biochemical and autoradiographic differentiation.

Eur. J. Pharmacol., 113, 465-466

1985

Haertzen, C.A.

Subjective effects of narcotic antagonists cyclazosine and nalorphine on the addiction research center inventory (ARCI).

Psychopharmacologia., 18, 366-377

1970

Heinonen, E., Akerman, K.E.O., Panula, P.

Changes of the membrane potential in striatal synaptoneurosome, synaptoneurosome, synaptosome measured with a cyanine dye DiS-C2-(%).

Brain Res., 496, 187-196

1989

Hirst, G.D.S., Neil, T.O.

Evidence for two populations of excitatory receptors for noradrenaline on arteriolar smooth muscle.

Nature., 283, 769-772

1980

Itzhak, Y.

[³H]PCP-3-OH and (+)[³H]SKF 10047 binding sites in rat brain membranes: evidence of multiplicity.

Eur. J. Pharmacol., 136, 231-234

1987

Iversen, L.I.; Kravitz, E.A.

Sodium dependence of transmitter uptake and adrenergic nerve terminals.

Mol. Pharmacol., 2, 360-362

1966

BIBLIOGRAFIA

Jacques, S. Jr.; Tobes, M.C.; Sisson, J.C.; Baker, J.A.; Wiland, D.M.
Comparision of the sodium dependency of uptake of metaiodobenzylguanidine and norepinephrine into cultured bovine adrenomedullary cells.
Mol. Pharmacol., 26, 539-546
1984

Johnson, J.W., Ascher, P.
Glycine potentiates the NMDA response in the cultured mouse brain neurons.
Nature., 325, 529-31
1987

Johnson, K.M.; Snell, L.D.
Effects of phencyclidine (PCP)-like drugs on turning behaviour, [³H]-dopamine uptake and [³H]-PCP binding.
Pharmacol. Biochem. Behav., 22, 731-735
1985

Kawai, M., Horikawa, Y., Ishihara, T., Shimamoto, K., Ohfuné, Y.
2-(carboxycyclopropyl)glycines: binding, neurotoxicity and induction of intracellular free Ca²⁺.
Eur. J. Pharmacol., 211, 195-202
1992

Keats, A.S., Telford, J.
Narcotic antagonists as analgesics.
Adv. Chem. Ser., 45, 170-176
1964

Keller, B.; Graefe, K-H.
The inhibitori effect of some monovalent cations on the stimultaion by Na⁺ of the neuronal uptake of NA
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 309, 89-97
1979

Kenakin, T.P.
Pharmacologic Analysis of Drug-Receptor Interaction.
Raven Press.
1987

BIBLIOGRAFIA

Kenigsberg, R.L.; Trifaro, J.M.

Presence of a high affinity uptake system for catecholamines in cultured bovine adrenal chromaffin cells.

J. Neurosci., 5, 1547-1556

1980

Kennedy, C.; Henderson, G.

An examination of the putative sigma-receptor in the mouse isolated vas deferens.

Br. J. Pharmacol., 98, 429-436

1989

Kiedrowski, I., Wroblewski, J.T., Costa, E.

Intracellular sodium concentration in cultured cerebellar granule cells challenged with glutamate.

Mol. Pharmacol. 45, 1050-1054

1994

Kleckner, N.W., Dingledine, R.

Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in *Xenopus* oocytes.

Science 241, 835-837

1988

Klein, M.; Musacchio, J. M.

High Affinity Dextrometorphan Binding Sites in Guinea Pig Brain. Effect of Sigma Ligands and Other Agents.

J. Pharm. Exp. Ther., 251, 1, 207-15

1989

Kubo, T.; Amano, M.; Asari, T.

NMDA receptors but not non-NMDA receptors mediate hypertension induced by carotid body chemoreceptor stimulation in the rostral ventrolateral medulla of the rat.

Neuroscience Letters, 164, 113-116

1993

Kudo, Y.; Akita, K.; Ishida, M.; Shinozaki, H.

A significant increase in intracellular Ca²⁺ concentration induced by (2S,3R,4S)-2-(carboxycyclopropyl)glycine, a new potent NMDA agonist, in cultured rat hippocampal neurons.

Brain Res., 567, 342-345

1991

BIBLIOGRAFIA

Kuko, T., Wada, J.A.

Antiepileptic effect of dextromethorphan on amygdaloid-kindled seizures in cats.
Epilepsia (Basel), 30, 669
1989

Lara, H.; Bastos-Ramos, W.

Glutamate and kainate effects on the noradrenergic neurons innervating the rat vas deferens
J. Neurosci. Res., 19, 239-44
1988

Largent, B.L., Gundlach, A.L., Snyder, S.H.

Psychotomimetic opiate receptors labeled and visualized with (+)-[³H]3-3(3-hydroxyphenyl)-N-(1-propyl)piperidine.
Neurobiology, 81, 4983-4987
1984

Lerma, J., Zukin, R.S., Benett, M.V.

Glycine decreases desensitization of N-methyl- D-aspartate(NMDA) receptors expressed in *Xenopus* oocytes and is required for NMDA responses.
*Proc. Natl.Acad.sci. U.S.A.*87, 2354-2358
1990

Lodge, D.; Johnson, K.M.

Non competitive excitatory amino acid receptor antagonists.
Trends Pharmacol. Sci., 11, 81-86
1990

Loo, P. A.; Braunwalder, A. F.; Williams, M.; Sills, M. A.

The novel anticonvulsant MK-801 interacts with central phencyclidine recognition sites in rat brain.
Eur. J. Pharmacol., 135, 261-63
1987

Malenka, R.C.

The role of postsynaptic calcium in the induction of long-term potentiation
Molec. Neurobiol., 5, 289-295
1992

BIBLIOGRAFIA

Malouf, A.T., Swearingen, E., and Chavkin, C.

Comparison of the actions of phencyclidine and sigma ligands on CA1 hippocampal pyramidal neurons in the rat.

Neuropharmacol., 17, 1161-1170

1988

Mannaioni, G., Alesiani, M., Carla, V., Natalin, B., Marinozzi, M., Pellicciari, R., Moroni, F.

Sulfate esters of hydroxy amino acids as stereospecific glutamate receptor agonist.

Eur. J. Pharmacol. 251, 201-207

1994

Mangan, J., Patterson, S.J., Tavani, A., Kosterlitz, H.W.

The binding spectrum of narcotic analgesic drugs with different agonists and antagonist properties.

Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol., 319, 197-319

1982

Manzoni, O., Prezeau, L., Sladeczek, F., Bockaert, J.

Trans ACPD inhibits cAMP formation via a pertussis toxin sensitive G-protein.

Eur. J. Pharmacol. - Mol Pharmacol. Sect. 244, 103-104

1993

Martin, W.R., Eades, C.E., Thompson, J.A., Huppler, R.E.

The effects of morphine -and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 197, 517-532

1976

Massamiri, T., Duckles, S.P.

Multiple vascular effect of sigma and PCP ligands: inhibition of amine uptake and contractile responses.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 253 (1), 124-29

1990

Massamiri, T.; Duckles, S. P.

Interactions of sigma and phenylcyclidine receptor ligands with the norepinephrine uptake carrier in the both rat brain and rat tail artery.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 256(2), 519-24

1991

BIBLIOGRAFIA

Matsuno, K., Kobayashi, T., Mita, S.

Involvement of sigma-receptors in the increase in contraction of mouse vas deferens induced by exogenous ATP

J. Pharm. Pharmacol., 48, 96-9

1996

Matsuno, K., Senda, T., Mita, S.

Correlation between potentiation of neurogenic twitch contraction and benzomorphan sigma receptor binding potency in the mouse vas deferens.

Eur. J. Pharmacol., 231, 451-57

1993

McBain, C.J., Kleckner, N.W., Wyrick, S., Dingledine, R.

Structural requirements for activation of the glycine coagonist site of N-methyl-D-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes.

Mol. Pharmacol. 36, 556-565

1989

McCann, D.J., Weissman, A.D., Su, T.P.

Sigma-1 and sigma-2 sites in rat brain: comparison of regional, ontogenetic, and subcellular patterns.

Synapse., 17(3), 182-9

1994

McDonald, J.F.; Nowak, L.M.

Mechanisms of blockade of excitatory amino acids receptor channels

Trends Pharmacol. Sci.; 11, 167-172

1990

McLean, S., Weber, E.

Autoradiographic visualization of haloperidol-sensitive sigma receptors in guinea-pig brain.

Neuroscience, 25, 259-269

1988

Meldrum, L.A. Burnstock.

Evidence that ATP acts as a cotransmitter with noradrenaline in sympathetic nerves supplying the guinea-pig vas deferens.

Eur. J. Pharmacol., 92, 161-166

1983

BIBLIOGRAFIA

Mendelson, H.F.

sigma opioid receptor: characterization and co-identity with the phencyclidine receptor.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 233, 597-602

1985

Miranda, H.F., Wolstenholme, W.W., Moreu, G.M., Santiago, P.A.

Effects of haloperidol on neurotransmitter activity in the rat vas deferens.

Gen. Pharmac., 19 (1), 123-27

1988

Monnet, F.P., Debonnel, G., Bergeron, R., Gronier, B., de Montigny, C.

The effects of sigma ligands and of neuropeptide Y on N-methyl-D-aspartate-induced neuronal activation of CA3 dorsal hippocampus neurones are differentially affected by pertussin toxin.

Br. J. Pharmacol., 112(2), 709-15

1994

Monyer, H.; Hartley, D.M.; Choi, D.W.

21-aminosteroids attenuate excitotoxic neuronal injury in cortical cells cultures.

Neuron, 5, 121-126

1990

Mottram, D.R.

Agonist at presynaptic receptors on sympathetic nerves differentially affect two phases of the contractile response in the rat vas deferens.

Pharmacol. Res. Commun., 20(11), 963-973

1988

Musacchio, J.M., Klein, M., Canoll, P.D.

Dextromethorphan site, sigma receptors and the psychotomimetic effects of sigma opiates.

Prog. Clin. Biol. Res., 328, 13-16

1990

Musacchio, J.M., Klein, M., Canoll, P.D.

Dextromethorphan and sigma ligands: common sites but diverse effects.

Life Sci, 45, 1721-1732

1989

BIBLIOGRAFIA

Oliver, M.W., Shacklock, J.A., Kessler, M., Lynch, F., Baimbridge, K.G.
The glycine site modulates NMDA-mediated changes of intracellular free calcium in cultures of hippocampal neurons.
Neurosci. Lett. 114, 197-202
1990

Pechnick, R.N.; George, R.; Poland, R.E.
Characterization of the effects of the acute and repeated administration of MK-801 on the release of adrenocorticotropin, corticosterone and prolactin in the rat.
Eur. J. Pharmacol., 164, 257-263
1989

Pechnick, R.N.; George, R.; Poland, R.E.; Hiramatsu, M.; Cho, A.K.
Characterization of the effects of acute and chronic administration of phencyclidine on the release of adrenocorticotropin, corticosterone and prolactin in the rat: Evidence for the differential development of tolerance.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 250, 534-540
1989

Pechnick, R.N.; Wong, C.A.; George, R.; Thurkauf, A.; Jacobson, A.E.; Rice, K.C.
Comparison of the effects of the acute administration of dexoxadrol, levodol, MK-801 and phencyclidine on body temperature in the rat.
Neuropharmacology, 28, 829-835
1989

Pekelmann, R.; Werneck, M. C.
Effect of ageing on the number of neuronal noradrenaline uptake sites in the rat vas deferens.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 346, 405-409
1992

Pubill, D.; Canudas, A.M.; Gasulla, D.; Pallàs, M.; Escubedo, E.; Camarasa, J.
MK-801 enhances noradrenergic neurotransmission in rat vas deferens.
Eur. J. Pharmacol., (en premsa)
1996

Quirion, R.; Bowen, W.D.; Itzhak, Y.; Junien, J.L.; Musacchio, J.M.; Rothman, R.B.; Su, T.P.; Taylor, D.P.
A proposal for the classification of sigma binding sites.
Trends Pharmacol. Sci., 13(3), 85-6
1992

BIBLIOGRAFIA

Quirion, R., Chicheportiche, R., Contreras, P.C., Johnson, K.M., Lodge, D., Tam, S.W., Woods, J.H., Zukin, S.R.

Classification and nomenclature of phencyclidine and sigma receptor sites.

Trends Neurosci., 10, 444-446

1987

Reynolds, I.J., Murphy, S.N., Miller, R.J.

³H-Labeled MK-801 binding to the excitatory amino acid receptor complex from rat brain is enhanced by glycine.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 7744-77448

1987

Reynolds, G.P., Brown, J.E., Middlemiss, D.N.

[³H]Ditolylguanidine binding to human brain sigma sites is diminished after haloperidol treatment.

Eur. J. Pharmacol., 194(2-3), 235-6

1991

Reynolds, I.J.

Interactions between Zn²⁺ and spermidine on the NMDA receptor complex: clues to the mechanism of action of 1,10-bis-(guanidino)decane and pentamidine.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 263, 632-638

1992

Rockhold, R. W.; Surrent, R. S.; Acuff, C. G.; Zhang, T.; Hoskins, B.; Ho, I. K.

Antagonism of the toxicity of cocaine by MK-801: differential effects in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats.

Neuropharmacology, 31, 12, 1269-1277

1992

Rogers, Ch., Lemaire, S.

Characterization of (+)-[³H]-3-PPP and [³H]TCP binding sites in membrane preparations of bovine adrenal medulla.

Prog. Clin. and Biol. Res., 328, 133-136

1990

Rogers, Ch., Lemaire, S.

Role of the sigma receptor in the inhibition of [³H]-noradrenaline uptake in brain synaptosomes and adrenal chromaffin cells.

Br. J. Pharmacol., 103, 1917-22.

1991

BIBLIOGRAFIA

Rogers, Ch.; Lemaire, S.

Characterization of [³H]desmethyylimipramine binding in bovine adrenal medulla: interactions with sigma and (or) phencyclidine-receptor ligands.

Can. J. Physiol. Pharmacol., 70, 1508-1514

1992

Rothman, R.B.; Reid, A.A.; Monn, J.A.; Jacobson, A.E.; Rice, K.C.

The psychotomimetic drug, phencyclidine, labels two high affinity binding sites in guinea pig brain: evidence for NMDA-coupled and dopamine reuptake carrier associated PCP binding sites.

Mol. Pharmacol., 36, 887-896

1989

Sallés, J.; Badia, A.

Modulation of alpha1-adrenoreceptors and functional consequences in the bisected rat vas deferens following chronic inhibition of neuronal noradrenaline uptake.

Br. J. Pharmacol., 108, 678-83

1993

Sammet, S.; Graefe, K.H.

Kinetic analysis of the interaction between noradrenaline and sodium in neuronal uptake: kinetic evidence for co-transport.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 309, 99-107

1979

Schneggenburger, R., Zhou, Z., Konnerth, A.C.I., Urwyler, S.

Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels.

Neuron., 11, 133-143

1993

Schoepp, D.D., Johnson, B.G., True, R.A., Monn, J. A.

Comparison of (1S,3R)-aminocyclopentane-1.3-dicarboxylic acid (1S, 3R-ACPD)- and 1R,3S-ACPD-stimulated brain phosphoinositide hydrolysis

Eur. j. Pharmacol.- Mol.Pharmacol. Sect., 207, 351-353

1991

Schoepp, D.D., Conn, P.J.

Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology.

Trends Pharmacol. Sci., 14, 13-20

1993

BIBLIOGRAFIA

- Schlyer, D.J.; Volkow, N.D.; Fowler, J.S.; Wolf, L.F.; Shiue, C.Y.; Dewey, S.L.; Bendriem, B.; Logan, R.; Raulli, R.
Regional distribution and kinetics of haloperidol binding in human brain: PET study with [18F]haloperidol.
Synapse., 11(1), 10-9
1992
- Sheriffs, JH.J., Shirakawa, K., Kelly, J.S., Olverman, H.J., Kuno, A., Okubo, M., Butcher, S.
Characterisation of the binding of [³H] fr115427, a novel non competitive NMDA receptor antagonist, to rat brain membranes.
Eur. J. Pharmacol., 247, 319-324
1993
- Shibuya, H., Mori, H., Toru, M.
Sigma receptors in schizophrenic cerebral cortices
Neurochem. Res., 17(10), 983-90
1992
- Shindou, T.; Watanabe, S.; Yamamoto, K.; Nakanishi, H.
NMDA receptor-dependent formation of long-term potentiation in the rat medial amygdala neuron in an in vitro slice preparation.
Brain Res. Bull., 31, 667-672
1993
- Shibley, R.E., Tilden, J.H.
A pithed rat preparation suitable for assaying presor substances.
Proc. Soc. Exp. Biol.(NY), 64, 453-455
1947
- Shirayama, Y., Nishikawa, T., Umino, I A., Takahashi, K.
p-Chlorophenylalanine-reversible reduction of sigma binding sites by chronic imipramine treatment in rat brain.
Eur. J. Pharmacol., 237(1), 117-26
1993
- Sircar, R., Nichtenhauser, R., Ieni, J.R., Zukin, S.R.
Characterization and autoradiographic visualization of (+)-[³H]-SKF 10,047 binding in rat and mouse brain: further evidence for phencyclidine/"sigma-opiate"receptor commonality.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 237, 681-688
1986

BIBLIOGRAFIA

- Smith, R.C.; Meltzer, H.Y.; Arora, R.C.; Davis, J.M.
Effects of phencyclidine on [³H]catecholamine and [3H]serotonin uptake in synaptosomal preparations from rat brain.
Biochem. Pharmacol., 26, 1435-39
1977
- Snell, L. D.; Yi, S. J.; Johnson, K. M.
Comparison of the effects of MK-801 and phencyclidine on catecholamine uptake and NMDA-induced norepinephrine release.
Eur. J. Pharmacol., 145, 223-226
1988
- Sneddon, P. Westfall, D.P.
Pharmacological evidence that adenosine triphosphate and noradrenaline are co-transmitters in guinea pig vas deferens
J. Physiol., 347, 569-580
1984
- Speciale, C., Facheris, L., Fariello, R.G.
Tetrodotoxin reveals action of spermine al presynaptic N-methyl- D-Aspartate receptor.
Eur. J. Pharmacol., 214, 107-109
1992
- Sprengel, R., Seeburg, P.H.
The unique properties of glutamate receptor channells.
FEBS Lett., 325, 90-94
1993
- Steinberg, G.K., Saleh, J., Kunis, D.
Delayed treatment with dextromethorphan and dextrorphan reduces cerebral damage after transient focal ischemia.
FEBS Lett., 325, 90-94
1988
- Steinberg, G.K., Saleh, J., Kunis, D., de la Paz, R., Zarnegar, R.
Protective effect of N-methyl-D-aspartate antagonists after focal cerebral ischemia in rabbits.
Stroke., 20, 1247-52
1989

BIBLIOGRAFIA

Su, T.P.

Sigma receptors, putative links between nervous, endocrine and immune systems.

Eur. J. Biochem., 200, 633-642

1991

Suzdak, P.d., Sheardown, M.J., Honore, T.

Characterization of the metabotropic glutamate receptor in mouse cerebellar granule

cells: lack of effect of 2,3-dihydro-6-nitro-7-sulphamoylbenzo(F)-quinoxaline (NBQX)

Eur. J. Pharmacol.-Mol Pharmacol. Sect., 245, 215-220

1993

Takazawa, A., Anderson, P., Abraham, W.C.

Effects of dextromethorphan, a non-opioid antitussive, on development and expression of amygdaloid kindled seizures.

Epilepsia (Basel), 31, 496-502

1990

Tam, S.W.

Naloxone-inaccessible sigma receptor in rat central nervous system.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 80, 6703-6707

1983

Tam, S.W., Cook, L.

Sigma opiates and certain antipsychotic drugs mutually inhibit (+)- [³H]haloperidol binding in guinea pig brain membranes.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 5618-5621

1984

Thompson, A.M.; West, D.C.; Lodge, D.

An NMDA receptor mediate synapse in rat cortex a site of action of ketamine.

Nature (London), 313, 479-484

1985

Tortella, F.C., Martin, D.A., Allot, C.P., Steel, J.A., Blackburn, T.P., Loveday, P., Russell, N.J.

Dextromethorphan attenuates postischemic hypoperfusion following incomplete global ischemia in the anesthetized rat.

Brain Res., 482, 179-83

1989b

BIBLIOGRAFIA

Tortella, F.C., Pellicano, M., Bowery, N.G.

Dextromethorphan and neuromodulation: Old drug coughs up new activities.

Trends. Pharmacol. Sci., 10., 501-7

1989a

Tsumoto, T.

Long-term depression in cerebral cortex: a possible substrate of "forgetting" that should not be forgotten.

Neurosci. Res., 16, 263-270

1993

Ungell, A. L.; Bönisch, H.; Graefe, K. H.

Choline⁺: A substrate of the neuronal noradrenaline carrier in the rat vas deferens.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 334, 223-227

1986

Ungell, A. L.; Oberleithner, H.; Graefe, K. H.

Chloride-dependence of the potency of the inhibitors of the neuronal noradrenaline carrier in the rat vas deferens.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 339, 65-70

1989

Varga, V., Janaky, R., Holopainen, I., Saransaari, P., Oja, S.S.

Effect of magnesium on calcium influx activated by glutamate and its agonists in cultured cerebellar granule cells.

Neurochem. Res., 17, 1195-1200

1992

Vaupel, D.B., Su, T-P.

Guinea-pig vas deferens preparation may contain both receptors and phencyclidine receptors.

Eur. J. Pharmacol., 139, 125-28

1987

Vazquez, M.L.; Garland, D.J.; Sun, E.T.; Cler, J.A.; Mick, S.J.; Hood, W.F.; Monahan, J.B.; Iyengar, S.; Rao, T.S.

Characterization of 3-carboxy-5-phosphono-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (SC-48981), a potent competitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist in vitro and in vivo.

Neurosci. Lett., 135, 149-152

1992

BIBLIOGRAFIA

Vignon, J., Lazdunski, M.

Structure-function relationships in the inhibition of synaptosomal dopamine uptake by phencyclidine and analogues: potential correlation with binding sites identified with [³H]phencyclidine.

Biochem. Pharmacol., 33, 700-02

1984

Vignon, J., Pinet, V., Cerruti, C., Kamenka, J.M., Chicheportiche, R.

[³H]N-[1-(2benzo(b)thiophenyl)cyclohexyl]piperidine ([³H]BTCP): a new phencyclidine analog selective for the dopamine uptake complex.

Eur. J. Pharmacol., 148, 427-36

1988

Vignon, J.; Privat, A.; Chadieu, T.; Thierry, A.; Kamenka, J.M.

[³H]-Thienyl-phenciclidine ([³H]-TCP) binds to two sites in rat brain. Localization by autoradiographic and biochemical techniques.

Brain Res., 378, 133-141

1986

Walker, J.M.; Bowen, W.D.; Walker, F.O.; Matsumoto, R.R.; De Costa, B.; Rice, K.C.
Sigma receptors: Biology and function.

Pharmacol. Rev., 42, 355-402

1990

Watson, S., Girdlestone, D.

Receptor and ion channel nomenclature supplement.

Trends Pharmacol. Sci. (Supl.)

1995

Weber, E., Sonders, M., Quarum, M., McLean, S., Pou, S., Keana, J. F. W.

1,3-di(2-[5-³H]tolyl)guanidine: a selective ligand that labels sigma-type receptors for psychomimetic opiates and antipsychotic drugs.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 83, 8784-8788

1986

Wolfe, S.A., JR., Culp, S.G., De Souza, E.B.

Sigma receptors in endocrine organs: identification and characterization and autoradiographic localization in rat pituitary, adrenal, testis, and ovary.

Endocrinology., 124, 1160-1172

1989

BIBLIOGRAFIA

Wong, B. Y., Coulter, D. A., Choi, D. W., Prince, D. A.
Dextrorphan and dextrometorphan, common antitussives, are antiepileptic and antagonize N-methyl- d-aspartate in brain slices.
Neurosci. Lett., 85, 261-66
1988

Worrall, D. M.; Williams, D. C.
Sodium ion-dependent transporters for neurotransmitters: a review of recent developments.
Biochem. J., 297, 425-36
1994

Zeitner, C. J.; Graefe, K. H.
Sodium-dependence of the potency of inhibitors of the neuronal noradrenaline carrier in the rat vas deferens.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 334, 397-402
1986

Zorumski, C. F., Thio, T. T.
Properties of vertebrate glutamate receptors: calcium mobilization and desensitization.
Prog. Neurobiol., 39, 295-336
1992

Zukin, S. R., Tempel, A., Gardner, E. L., Zukin, R. S.
Interaction of [³H](-)-SKF-10,047 with brain sigma receptors: characterization and autoradiographic visualization.
J. Neurosci., 46, 1032-1041
1986