

Amantadina: un bloqueador de la captación intraneuronal de catecolaminas

T. VERDECIA Y M. GARCÍA

*Dpto. de Farmacología Básica, I.C.B.P. "Victoria de Girón",
Universidad de La Habana*

Recibido: 15 de julio de 1975

Recibido: 17 de enero de 1976

ABSTRACT. We studied the action of amantadine using the isolated rat vas deferens stimulated with noradrenaline, tyramine and transmurally we have found that amantadine potentiates the contractile response to noradrenaline, decreases the contractile response to tyramine and inhibits the adrenergic neurone blocking action of guanethidine. It is concluded that amantadine blocks the intraneuronal uptake of catecholamines.

RESUMEN. Utilizando la técnica de conducto deferente aislado de rata estimulado con noradrenalina, tiramina y transmuralmente se estudia la acción de la amantadina. Se encontró que esta droga potencia la respuesta contráctil del deferente a la noradrenalina, reduce la respuesta contráctil a la tiramina e impide la acción bloqueadora de las neuronas adrenérgicas de la guanetidina. Se concluye que la amantadina es capaz de bloquear la captación intraneuronal de catecolaminas.

INTRODUCCION

La amantadina es un agente antiviral que inhibe la penetración del virus en la célula (*Davies y cols., 1964*).

Distintos investigadores han reportado que la amantadina inhibe la captación de catecolaminas (*Coyle y Snyder, 1969; Vernier y cols., 1969*), aunque otros han planteado que este bloqueo solamente se observa cuando se utilizan concentraciones no fisiológicas de la droga (*Fletcher y Redfern, 1970*).

Wesemann y Zilliken, (*1967*) demostraron que la amantadina y sus derivados incrementaban la respuesta del fundus gástrico de rata a la seroto-

nina. Como ésta puede ser captada por las terminaciones adrenérgicas (*Thoa y cols., 1969*) es posible que la potenciación observada en presencia de amantadina se deba al bloqueo de su captación por dichas terminaciones.

El objetivo del presente trabajo fue demostrar si la amantadina es una droga bloqueadora de la captación intraneuronal de catecolaminas. Para esto la droga tiene que cumplir tres requisitos fundamentales: potenciar la acción de la noradrenalina exógena, deprimir la acción de la tiramina, impedir la acción de los bloqueadores de las neuronas adrenérgicas.

Esto es debido a que la noradrenalina, la tiramina y los bloqueadores de las neuronas adrenérgicas entran en dichas terminaciones por un mecanismo común (*Lindmar y Muscholl, 1966; Nedergaard y Bevan, 1967; Commarato y cols., 1969; Mitchell y Oates, 1970*).

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas macho con un peso no mayor de 250 g. Los conductos deferentes fueron extraídos y sumergidos en solución McEwen burbujeada con carbógeno en un baño de 20 ml a 32°C.

Las contracciones fueron registradas isotónicamente sobre un papel ahumado con una palanca de inscripción frontal sometida a una tensión de 1 g y teniendo una amplificación de 8 veces. Se dejó estabilizar la preparación durante 30 minutos, lavando una vez a los 15 minutos.

En algunos ensayos los deferentes fueron suspendidos entre dos alambres de platino paralelos y separados 4 mm de acuerdo al procedimiento de Birmingham y Wilson, (*1963*) para su estímulo transmural en las mismas condiciones experimentales señaladas anteriormente, con la única variante que la capacidad del baño era de 30 ml. Los parámetros de estimulación de onda cuadrada fueron: 60 a 80 V, 0.3 mseg, 10 Hz durante 5 segundos cada dos minutos. Se escogió este ancho de pulso para asegurar la estimulación selectiva de las fibras nerviosas (*Ludeña y Grigas, 1966; Bennett y cols., 1966; Holman y McLean, 1967; Su y Bevan, 1970*).

Las drogas utilizadas fueron: bitartrato de noradrenalina, clorhidrato de tiramina, sulfato de guanetidina, clorhidrato de amantadina. Las con-

centraciones se expresan en microgramos/ml de las sales correspondientes. Los resultados son la expresión de 4 a 6 experimentos para cada droga.

RESULTADOS

Estudio de la interacción guanetidina-amantadina. La adición al baño (Smith y cols., 1952, 1957; Knoll y cols., 1968), que se define como el logaritmo negativo de la concentración molar de una droga potenciadora que eleva el efecto de una dosis x del agonista al de una dosis $2x$.

Las concentraciones utilizadas de noradrenalina fueron desde 0.25 hasta 5 mcg/ml, de acuerdo con la respuesta del deferente en particular.

El pS_2 encontrado fue de 4.5 ± 0.02 (Figs. 1 y 2) (6 experimentos).



Fig. 1

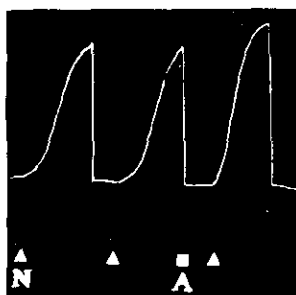


Fig. 2

Fig. 1. Conducto deferente aislado de rata. En N (▲) se añade noradrenalina 0.62 mcg/ml, 1 minuto. En A (■) se añade amantadina 5 mcg/ml, 5 minutos y se adiciona, en su presencia, la noradrenalina 0.31 mcg/ml, 1 minuto. La respuesta es algo inferior a las contracciones iniciales.

Fig. 2. Conducto deferente aislado de rata. En N (▲) se añade noradrenalina 0.5 mcg/ml, 1 minuto. En A (■) se añade amantadina 6 mcg/ml, 5 minutos y se agrega, en su presencia, la noradrenalina 0.25 mcg/ml, 1 minuto. La respuesta es algo mayor que las iniciales.

Estudio de la interacción tiramina-guanetidina. Se utilizó la tiramina en una concentración de 8 mcg/ml, que es la ED_{50} en la curva dosis-respuesta (Laporte y cols., 1966).

La amantadina, en una concentración de 50 mcg/ml durante 15 minutos, redujo en $51.4 \pm 3.95\%$ (promedio \pm error standard) la respuesta de la tiramina. (Fig. 3) (6 experimentos).

Estudio de la interacción guanetidina-amantadina. La adición al baño de guanetidina (10 mcg/ml) durante 10 minutos en deferente control, reduce notablemente las contracciones provocadas por la estimulación transmural.

La presencia de amantadina 50 mcg/ml durante 15 minutos, previa a la adición al baño de guanetidina en el otro deferente, reduce notablemente la acción de esta última. (Fig. 4) (4 experimentos).



Fig. 3

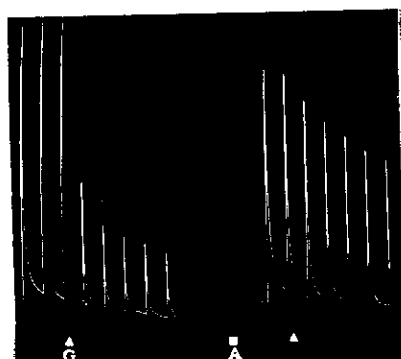


Fig. 4

Fig. 3. Conducto deferente aislado de rata. En T (▲) se añade tiramina 8 mcg/ml, 2 minutos. E A (■) se añade amantadina 50 mcg/ml 15 minutos y se agrega, en presencia, la tiramina 8 mcg/ml, 2 minutos.

Fig. 4. Conducto deferente aislado de rata estimulado transmuralmente. En la gráfica de la izquierda se observa la reducción en la amplitud de las contracciones del deferente control al añadir guanetidina 10 mcg/ml durante 10 minutos (G▲). En la gráfica de la derecha se observa que la presencia previa en el baño de amantadina (A■) 50 mcg/ml (15 minutos), reduce la acción de la guanetidina (▲) en el deferente contralateral.

DISCUSION

Nuestros resultados demuestran que la amantadina cumple los requisitos exigidos a una droga bloqueadora de la captación intraneuronal de catecolaminas. A diferencia de lo reportado por Fletcher y Redfern, (1970), la potenciación de la respuesta a la noradrenalina se obtuvo con concentraciones relativamente bajas de amantadina. Sin embargo, tanto para bloquear la respuesta a la tiramina como a la guanetidina, tuvimos necesidad de utilizar concentraciones superiores, encontrando cierta variabilidad en su capacidad de bloquear a estas dos drogas.

En vista de estos resultados, es probable que el efecto antiparkinsoniano de la amantadina (Mawdsley, 1970) pueda atribuirse en parte al bloqueo de la recaptación de dopamina en el sistema nervioso central (cuerpo estriado), como se ha señalado para otras drogas antiparkinsonianas (Coyle y Snyder, 1969).

REFERENCIAS

- BENNETT M. R., BURNSTOCK G. AND HOLMAN M. E. Transmission from intramural inhibitory nerves to the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol. Lond.* 182, 541, 1966.
- BIRMINGHAM A. T. AND WILSON A. B. Pre-ganglionic and postganglionic stimulation of the guinea-pig isolated vas deferens preparation. *Br. J. Pharmac.* 21, 569, 1963.
- COMMARATO M. A., BRODY T. M. AND MC NEILL J. H. The effect of various drugs on the uptake and metabolism of tyramine- H^3 in the rat heart. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 167, 151, 1969.
- COYLE J. AND SNYDER S. Antiparkinsonian drugs: Inhibition of dopamine re uptake in the corpus striatum as a possible mechanism of action. *Science.* 166, 899, 1969.
- DAVIES W. L., GRUNERT R. R., HAFF R. F., MACGAHEN J. W., NEUMAYER E. M., PAULSHOCK M., WATTS J. C., WOOD T. R., HERMANN E. C. AND HOFFMANN C. E. Antiviral activity of 1-Adamantanamine (Amantadine). *Science* 144, 862, 1964.
- FLETCHER E. A. AND REDFERN P. M. The effect of amantadine on the uptake of dopamine and noradrenaline by rat brain homogenates. *J. Pharmac.* 22, 957, 1970.
- HOLMAN M. E. AND MCLEAN A. Innervation of sheep mesenteric veins. *J. Physiol. Lond.* 190, 55, 1967.

- KNOLL J., VIZI E. S. AND SOMOGYI GY. Phenylisopropylmethyl-propynylamine (E-250), a monoaminoxidase inhibitor antagonising the effects of tyramine. *Arzneim-Forsch.* 18, 109, 1968.
- LAPORTE J., JANÉ F. AND VALDECASAS F.G. Some aspects of the rat and guinea-pig isolated vas deferens preparation. *Med. Pharmacol. exp.* 15, 483, 1966.
- LINDMAR R. AND MUSCHOLL E. Der Einflub von Pharmaka auf die Aufnahme von Guanethidin in das Herz. *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* 253, 67, 1966.
- LUDUEÑA F. P. AND GRIGAS E. O. Pharmacological study of autonomic innervation of dog retractor penis. *Am. J. Physiol.* 210, 435, 1966.
- MAWDSLEY C. Treatment of parkinsonism with levodopa. *Br. med. J.* 1, 331, 337, 1970.
- MITCHELL J. R. AND OATES J. A. Guanethidine and related agents. I. Mechanism of the selective blockade of adrenergic neurons and its antagonism by drugs. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 172, 100, 1970.
- NEDERGAAND O. A. AND BEVAN J. A. Common mode of action of DMPP and bretylium on the response of vascular smooth muscle to sympathetic nerver stimulation. *Fed. Proc.* 26, 293, 1967.
- SMITH C. M., COHEN N. L., PELIKAN E. W. AND UNNA K. R. Mode of action of antagonists to curare. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 105, 391, 1952.
- SMITH C. M., MEAD J. C. AND UNNA K. R. Antagonism of tubocurarine III: Time course of action of pyridostigmin, neostigmine and edrophonium in vivo and in vitro. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 120, 215, 1957.
- SU C. AND BEVAN J. A. The release of H³ - norepinephrine in arterial strips studied by the technique of superfusion. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 172, 62, 1970.
- THOA N. B., ECCLESTON D. AND AXELROD J. The accumulation of C¹⁴ - serotonin in the guinea-pig vas deferens. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 169, 68, 1969.
- VERNIER J. G., HARMAN J. B., STUMP J. M., LYNES T. E., MARVEL J. P. AND SMITH O. H. The toxicologic and pharmacologic properties of amantadine hydrochloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 15, 642, 1969.
- WESEMAN W. AND ZILLIKEN F. Adamantanamines and their derivaties as sensitizing agents for 4-hydroxytryptamine-induced contraction of smooth muscle. *J. Pharmac.* 19 203, 1967.