

## ROLE DES PHENOMENES DE CAPTATION (UPTAKE) DANS L'ACTION SENSIBILISANTE DES INHIBITEURS METABOLIQUES SUR LES REPONSES DE L'INTESTIN ISOLE DU RAT AUX EFFETS DES SYMPATHOMIMETIQUES

GUILLAUME VALETTE et MARIE-FRANCE LECLAIR\*

Faculté de Pharmacie et E.R.A. No. 277 (C.N.R.S.).

(Received 3 December 1971; Accepted 1 February 1972)

**Abstract**—To investigate to what extent the potentiating effects produced by calcium cyanide and sodium malonate on isolated rat intestine responses to adrenergic substances result from the inhibition of uptake mechanisms, experiments were performed upon organs in which uptake had been blocked by pretreatment of the animals with reserpine, the organs being thereafter treated by tranlycypromine. Under these conditions, the sensitizing action of both metabolic inhibitors on noradrenaline, phenylephrine and isoprenaline responses has been still observed but with this difference that the specificity of both inhibitors toward  $\alpha$  and  $\beta$  effects showed an inversion with respect to the precedents results: it means that cyanide increased the action of  $\alpha$  stimulant substances (noradrenaline and phenylephrine) whereas malonate increased the action of  $\beta$  stimulant one (isoprenaline). Treatment of the organs by tranlycypromine alone provided similar results with the same inversion of specific activities of both inhibitors. This result may be explained by tranlycypromine acting as an inhibitor not only on MAO but also on the uptake phenomenon. Effectively, treatment of the isolated organ with nialamide, an IMAO inactive on the uptake, gave no rise to the inversion cited above. On the contrary, treatment of the isolated organs with desipramine produced the same inversion in the specific activities of both inhibitors. In conclusion of these experiments it seems possible to connect the sensitizing action of both metabolic inhibitors on responses to  $\alpha$  and  $\beta$  stimulant compounds with uptake blockade, but in the meantime it seems difficult to explain the inversion which appeared in the specific activity of both inhibitors towards  $\alpha$  and  $\beta$  sympathomimetic responses.

L'ÉTUDE de l'action sensibilisante exercée par les inhibiteurs métaboliques (cyanure de potassium, antimycine A, azoture, malonate, et fluoroacétate de sodium et amobarbital), sur les réponses des organes isolés à divers agents contracturants ou relaxants nous a paru offrir un intérêt particulier dans le cas de l'adrénaline et d'autres sympathomimétiques.

Nous avons constaté, en effet (7-10) que certains de ces inhibiteurs (malonate et fluoroacétate de sodium) sensibilisent exclusivement les organes aux effets des sympathomimétiques à action  $\alpha$  prédominante, que d'autres (cyanure de potassium, antimycine A et azoture de sodium) exercent cette action seulement sur les réponses des sympathomimétiques à action  $\beta$  prédominante et qu'enfin l'amobarbital potentialise aussi bien les effets des stimulants  $\alpha$  que ceux des stimulants  $\beta$ .

\* Laboratoire de Pharmacodynamie, Faculté de Pharmacie, 4, Avenue de l'Observatoire, Paris (VIe).

L'une des causes possibles de la sensibilisation des organes aux effets sympathomimétiques, notamment dans le cas de la noradrénaline et de l'adrénaline est l'inhibition de la captation (uptake) de ces composés par les tissus (2-6) et nous avons, dès le début de nos recherches sur les inhibiteurs métaboliques, invoqué l'intervention de ce phénomène.

Les présentes expériences ont été réalisées comme les précédentes (7-10) sur le duodénum isolé de rat. L'existence des deux types de récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  a été démontrée sur cet organe en recourant à l'action des inhibiteurs classiquement utilisés. Après avoir constaté que l'addition de phénoxybenzamine (0,1  $\mu\text{g/ml}$  pendant 3 min) ou de propranolol (3  $\mu\text{g/ml}$  pendant 3 min) produit sur l'organe isolé en question une baisse appréciable du tonus, plus importante toutefois dans le cas du bloquant  $\beta$ , nous avons constaté que l'amplitude des réponses de l'organe à la noradrénaline est diminuée d'environ 50 pour cent, après traitement par le propranolol, tandis que les réponses à la phényléphrine sont diminuées seulement de 25 pour cent. D'autre part, il a été constaté que les réponses fournies par l'isoprénaline sont diminuées d'environ 40 pour cent par le traitement de l'organe à la phénoxybenzamine. On peut donc déduire de ces observations que, sur le duodénum de rat, la phényléphrine se montre de façon prédominante,  $\alpha$  stimulante, et l'isoprénaline, de façon également prédominante,  $\beta$  stimulante. (Ce dernier résultat se différenciant nettement de ce qui a été observé récemment sur le côlon de cobaye par Farmer et Levy—Ibis.)

Quant à la noradrénaline, elle se montre active au même degré sur les deux catégories de récepteurs adrénergiques du duodénum de rat.

#### EXPÉRIENCES ET RÉSULTATS

Afin d'examiner dans quelle mesure l'hypothèse d'une inhibition de la captation par les inhibiteurs métaboliques est valable pour l'interprétation de nos résultats, nous avons réalisé des expériences sur le duodénum isolé de rat dans des conditions telles que la captation des composés adrénergiques fût entravée. Pour cela, les rats étaient soumis à un traitement préalable à la réserpine, suivant la technique de Westfall<sup>11</sup> consistant en une injection de 1 mg/kg par voie intrapéritonéale, chaque jour, pendant cinq jours consécutifs. Le sixième jour, les animaux ayant été sacrifiés, les duodénums sont prélevés, montés selon la technique habituelle et mis en contact pendant 30 min avec la tranlycypromine ( $1 \cdot 10^{-4}$  M) qui agit, non seulement comme inhibiteur de l'inactivation oxydative des amines (IMAO), mais comme inhibiteur de la captation. L'organe a été ensuite soumis à six lavages au liquide de Tyrode pendant les 30 min suivantes. Les expériences ont alors consisté à enregistrer, au moyen d'un myographe isotonique, les relâchements produits sur l'organe isolé par trois sympathomimétiques: la noradrénaline, la phényléphrine et l'isoprénaline. Les courbes exprimant l'amplitude de la relaxation du duodénum de rat (en pourcentage de l'effet maximal) en fonction du logarithme de la dose ont montré qu'à la suite du traitement des animaux par la réserpine et de l'action de la tranlycypromine sur l'organe, la sensibilité du duodénum isolé aux effets des trois sympathomimétiques s'est accrue de manière significative.

Dans les trois cas, en effet, on observe un décalage vers la gauche des courbes concentration-action et l'on peut exprimer ce décalage par la valeur du rapport DE 75/D'E 75 des doses ayant fourni une réponse égale à 75 p. 100 de la réponse maximale respectivement sur l'organe non traité (DE 75) et sur l'organe traité par la tranlycypromine après action de la réserpine (D'E 75). Dans ces conditions, les

valeurs trouvées pour ce rapport ont été: 2,0 pour la noradrénaline, 2,5 pour la phényléphrine et 3,3 pour l'isoprénaline.

Nous avons alors fait agir sur les organes ainsi traités, deux des inhibiteurs métaboliques étudiés dans nos précédentes expériences, c'est-à-dire le cyanure de potassium ( $4,5 \cdot 10^{-5}$  M) et le malonate de sodium ( $6,7 \cdot 10^{-8}$  M); ces inhibiteurs sont laissés en contact avec l'organe pendant 30 sec et le liquide du bain est ensuite renouvelé à trois reprises.

Les résultats ont alors été les suivants: dans le cas de la noradrénaline et de la phényléphrine, l'organe sensibilisé par le traitement préalable réserpine—tranylcypromine a fourni des réponses accrues sous l'effet du cyanure de potassium, mais non sous l'effet du malonate de sodium.

Exprimée comme précédemment par le rapport des doses DE 75, cette potentialisation au second degré se montre égale à 3,0 dans les deux cas (Figs. 1-3).

L'action du cyanure de potassium sur les réponses aux deux amines considérées, ne

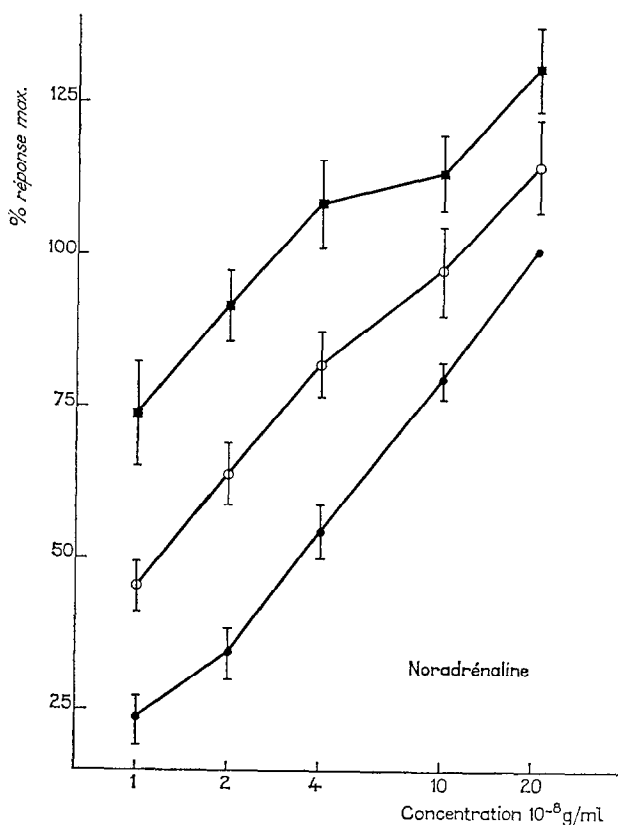


FIG. 1.

FIG. 1-3. Courbes concentration-action de la noradrénaline, de la phényléphrine et de l'isoprénaline sur le duodénum isolé de rat; ● organes témoins; ○ organes traités par la tranylcypromine, les animaux ayant été réserpinés; ■ organes précédents traités, en 1 et 2, par le cyanure de potassium ( $4,5 \cdot 10^{-5}$  M) et, en 3, par le malonate de sodium ( $6,7 \cdot 10^{-8}$  M).

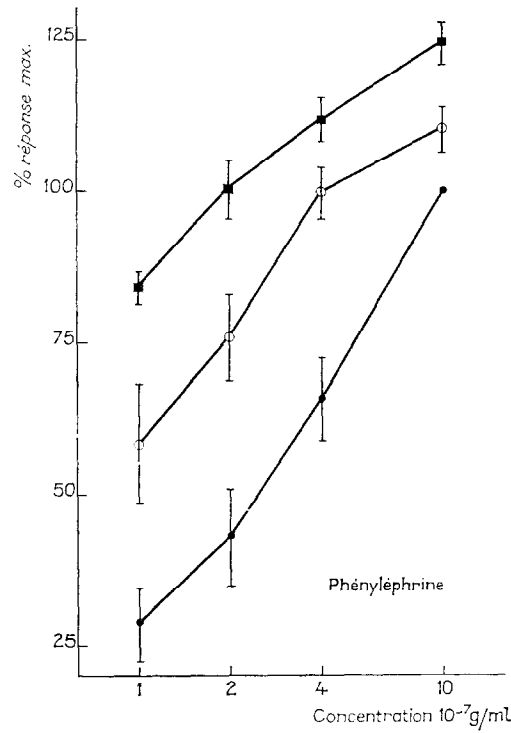


FIG. 2.

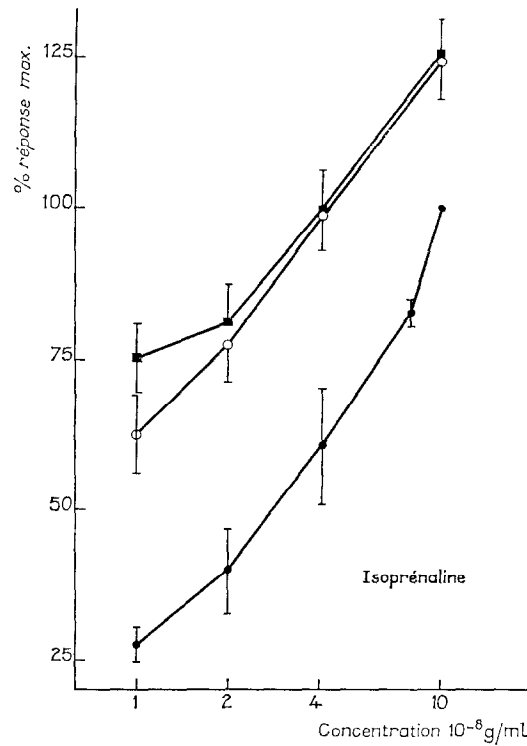


FIG. 3.

pouvait manquer de nous surprendre, compte tenu des résultats de nos précédentes expériences au cours desquelles nous avons constaté que les effets des agents adrénér-giques  $\alpha$  sur les organes isolés étaient potentialisés, non par le cyanure de potas-sium, mais, au contraire, par le malonate de sodium.

Quant à l'isoprénaline, elle n'a donné lieu à aucune potentialisation de ses effets, ni avec le cyanure, ni avec le malonate.

Au cours d'expériences ultérieures, nous avons constaté que, en l'absence de toute action préalable de la réserpine et à la suite du seul traitement des organes par la tranlycypromine qui se comporte à la fois comme inhibiteur de la MAO et comme inhibiteur de la captation (6) la phényléphrine et également la noradrénaline, à action  $\alpha$  adrénér-gique prédominante, ont leurs effets exaltés par le cyanure de potassium et non plus par le malonate de sodium, tandis que l'isoprénaline, à action  $\beta$  adrénér-gique, a ses effets potentialisés par le malonate de sodium et non plus par le cyanure de potas-sium. Nous constatons donc, à la suite du traitement appliqué, une inversion de la spécificité d'action des deux inhibiteurs métaboliques à l'égard des deux effets adrénér-giques  $\alpha$  et  $\beta$ .

Une autre série d'expériences a été effectuée en opérant le traitement préalable de l'organe, non plus avec la tranlycypromine, mais avec le nialamide, inhibiteur de la MAO, inactif sur la captation (concentration utilisée:  $1 \cdot 10^{-4}$  M, temps de contact de une heure, suivi d'un temps égal de lavage). Dans ces conditions, nous n'avons ob-servé aucune modification qualitative de l'action sensibilisante des inhibiteurs à l'égard des sympathomimétiques envisagés, c'est-à-dire que, comme dans nos résultats antérieurs, la potentialisation des effets  $\alpha$  adrénér-giques se produit sous l'effet du malonate de sodium, celle des effets  $\beta$  adrénér-giques sous l'effet du cyanure de potas-sium. Nous sommes donc conduits à imputer les résultats obtenus avec la tranlycy-promine à ses effets inhibiteurs sur la captation plutôt qu'à ses effets inhibiteurs sur la mono-amine oxydase.

Enfin, une dernière série d'expériences a été conduite en mettant à profit l'activité de la désipramine. On sait, en effet, que cette substance, en modifiant la perméabilité de la membrane axonale, sensibilise les organes à l'action des sympathomimétiques en entravant les mécanismes de captation intraneuronale et cela à des concentrations nettement plus faibles que la tranlycypromine (100 fois environ). Nous avons donc fait agir cette substance sur le duodénum de rat *in vitro* à la concentration de  $0,27 \mu\text{g/ml}$  et pendant 15 sec; dans ces conditions, l'action de la désipramine se montre pratique-ment irréversible tout au long de l'expérience. Sur les organes ainsi traités, nous avons alors étudié l'action des trois sympathomimétiques, soit seuls, soit en présence des deux inhibiteurs métaboliques.

Nous avons alors constaté que les effets de la noradrénaline et ceux de la phényl-éphrine sont potentialisés par le cyanure de potassium et non par le malonate de sodium, alors que les effets de l'isoprénaline sont potentialisés exclusivement par le malonate de sodium. Les rapports des doses DE 75 sont de 1,6 pour la noradrénaline, 5,7 pour la phényléphrine et 1,7 pour l'isoprénaline (Figs. 4-6).

En d'autres termes, le traitement de l'organe isolé par la désipramine a produit sur la spécificité d'action des inhibiteurs métaboliques à l'égard des réponses aux sym-pathomimétiques  $\alpha$  et  $\beta$  stimulants la même interversion que le traitement par la tranlycypromine de l'organe prélevé chez un animal ayant reçu ou non une injection préalable de réserpine.

## DISCUSSION

Les résultats de nos précédentes expériences concernant les effets potentialisants exercés par divers inhibiteurs métaboliques (cyanure de potassium et malonate de sodium, notamment) sur les réponses des organes isolés aux composés adrénérgiques  $\alpha$  ou  $\beta$ , nous ont conduits à envisager parmi les causes possibles de cette potentialisation l'action de ces inhibiteurs sur la captation neuronale des agents sympathomimétiques encore que cette captation affecte beaucoup moins l'isoprénaline et la phényléphrine que la noradrénaline.<sup>2,3</sup>

Nous avons remarqué, en premier lieu que le traitement préalable des animaux ou de l'organe isolé par des composés capables de bloquer la captation, réserpine et tranlycypromine dans une première série d'expérience, désipramine dans une deuxième série, n'a pas entravé l'effet sensibilisant que les inhibiteurs métaboliques exercent sur les réponses aux composés adrénérgiques.

Toutefois, dans le cas des  $\alpha$  sympathomimétiques, noradrénaline et phényléphrine, cet effet sensibilisant a été observé seulement dans le cas du cyanure de potassium, alors que dans le cas d'un composé à action  $\beta$ , l'isoprénaline, l'effet sensibilisant n'est apparu et de manière peu accusée qu'avec le malonate de sodium.

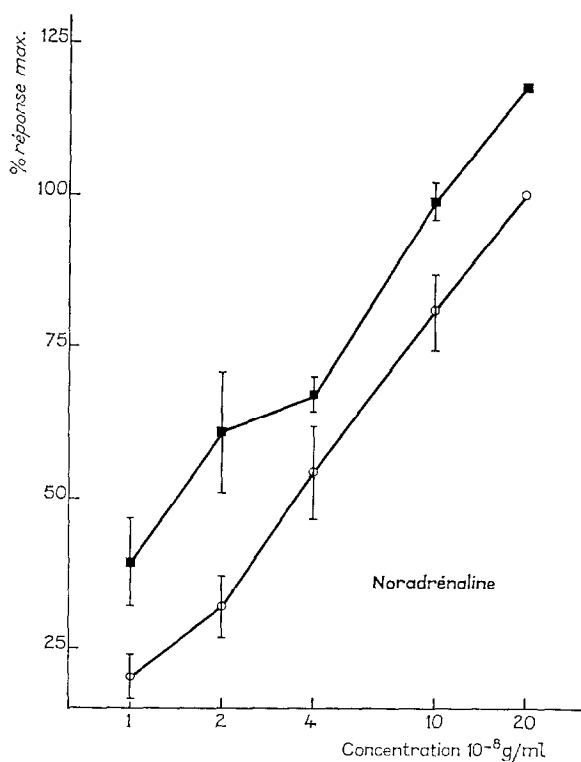


FIG. 4.

FIGS. 4-6. Courbes concentration-action de trois sympathomimétiques sur le duodénum isolé de rat; ○ organes traités par la désipramine; ■ organes précédents traités en 4 et 5 par le cyanure de potassium ( $4,5 \cdot 10^{-5}$  M) et en 6 par le malonate de sodium ( $6,7 \cdot 10^{-8}$  M).

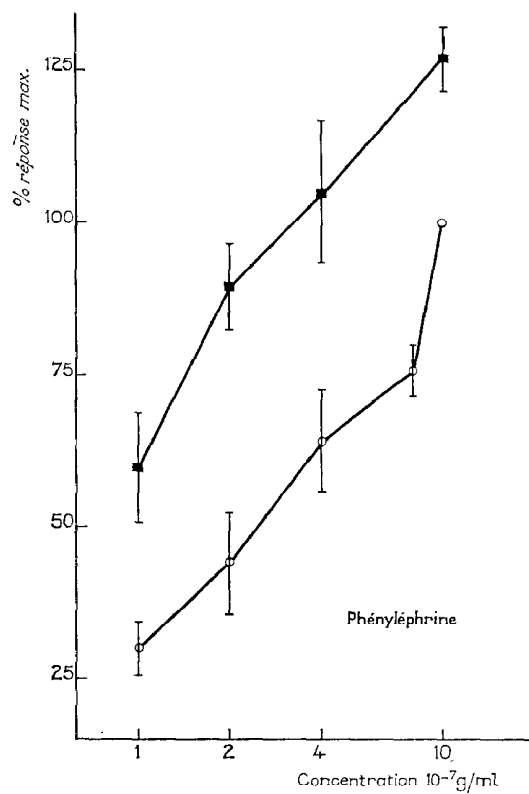


FIG. 5.

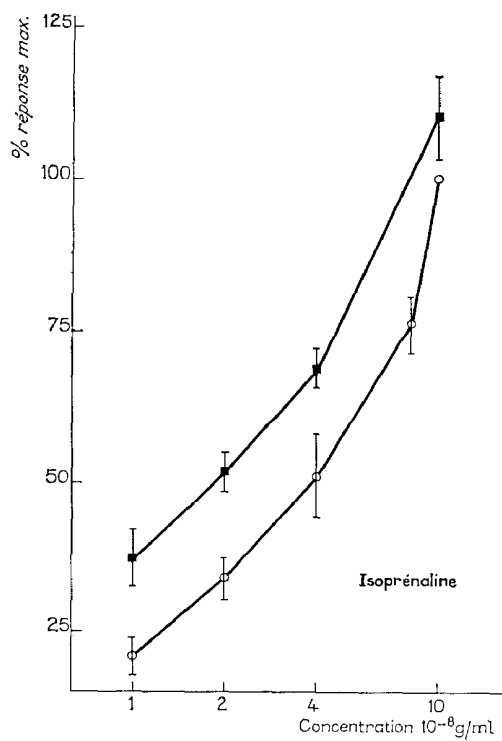


FIG. 6.

D'ailleurs, et d'une façon générale, les degrés de sensibilisation que nous avons observés au cours de ces nouvelles expériences sont nettement moins intenses que ceux que nous avons rapportés dans nos précédentes publications.

Mais le résultat le plus surprenant qui ressort du présent travail est l'interversion que nous constatons dans la spécificité des effets potentialisants des divers inhibiteurs métaboliques à l'égard des actions adrénergiques  $\alpha$  et  $\beta$ . Alors que le cyanure de potassium sensibilisait exclusivement l'intestin isolé à l'action des agents  $\beta$  adrénergiques, nous constatons qu'après inhibition des phénomènes de captation, ce sont seulement les réponses aux agents  $\alpha$  adrénergiques que cet inhibiteur amplifie. De même, le malonate de sodium qui sensibilisait l'intestin isolé exclusivement à l'action des agents  $\alpha$  stimulants, sensibilise, au contraire, cet organe aux effets  $\beta$  stimulants, après blocage des phénomènes de captation.

En présence de ces résultats, il nous semble possible d'admettre que, puisque le malonate a perdu une partie de son effet sensibilisant aux effets adrénergiques à la suite du blocage de la captation, c'est que cet inhibiteur métabolique agit au moins partiellement en entravant ces phénomènes de captation.

Il est plus difficile d'expliquer l'interversion que nous observons dans le cas du cyanure de potassium. La disparition des effets  $\beta$  sensibilisants est peut-être dans ce cas imputable à l'élimination de la captation, mais l'apparition d'effets  $\alpha$  sensibilisants ne peut s'expliquer que par des causes d'une autre nature, comme par exemple l'interaction de cet inhibiteur métabolique, soit avec les échanges de calcium (phénomène qui fera l'objet d'une autre publication) au niveau de la membrane de la fibre musculaire lisse, soit sur le déroulement des phénomènes métaboliques qui influent sur l'activation des récepteurs adrénergiques.<sup>1</sup> Nos travaux ultérieurs devront s'efforcer d'apprécier la validité de l'une ou l'autre de ces hypothèses.

**Résumé**—Afin d'examiner dans quelle mesure les effets potentialisants exercés par le cyanure de potassium et le malonate de sodium, sur les réponses du duodénum isolé de rat aux agents adrénergiques sont imputables à une inhibition de la captation, des expériences ont été faites sur des organes où cette captation était bloquée par un traitement préalable des animaux par la réserpine, l'organe étant ensuite traité par la tranlycypromine.

Dans ces conditions, les effets potentialisants des deux inhibiteurs métaboliques sur les réponses à la noradrénaline, à la phényléphrine et à l'isoprénaline sont encore observés, mais avec cette particularité que la spécificité de ces inhibiteurs à l'égard des effets  $\alpha$  et  $\beta$  présente une interversion par rapport aux résultats précédents, le cyanure potentialisant l'action des adrénergiques  $\alpha$  (noradrénaline et phényléphrine) et non plus celle des adrénergiques  $\beta$ , le malonate potentialisant au contraire, mais à une faible degré, l'action d'un adrénergique  $\beta$ , l'isoprénaline et non plus celle des adrénergiques  $\alpha$ . Le seul traitement des organes isolés par la tranlycypromine fournit des résultats de même ordre que ceux qui ont été observés à la suite du traitement des animaux par la réserpine, avec la même interversion de la spécificité d'action des deux inhibiteurs. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la tranlycypromine se comporte, non seulement comme un IMAO, mais encore comme un inhibiteur de la captation.

En effet, en traitant les organes non plus par la tranlycypromine, mais par le nialamide, autre IMAO inactif sur la captation, l'interversion des activités spécifiques des deux inhibiteurs métaboliques n'a plus lieu. Au contraire, l'action de la désipramine sur l'organe isolé modifie, de la même façon que la tranlycypromine, les effets des deux inhibiteurs métaboliques sur les deux sortes de sympathomimétiques  $\alpha$  et  $\beta$ . En conclusion de ces recherches, il est possible d'admettre que l'effet de sensibilisation que produisent le malonate de sodium et le cyanure de potassium sur les réponses de l'organe isolé aux sympathomimétiques  $\alpha$  et  $\beta$  est lié à un blocage du phénomène de



captation mais l'interversion constatée dans la spécificité d'action de ces deux inhibiteurs à l'égard des sympathomimétiques des deux types ne peut être totalement éclaircie.

# BIBLIOGRAPHIE

1. S. DICKSTEIN, in *Fundamental concepts in drug-receptor interactions*, Symposium on Molecular Pharmacology. Buffalo. (J. F. DANIELLI, *et al.* édit.) AC PRESS, p. 47, 1970; *ibis.* J. B. FARMER et G. P. LEVY, *Br. J. Pharmac.* **40**, 154 (1971).
2. G. HERTTING, J. AXELROD et L. G. WHITBY, *J. Pharmac.* **134**, 146 (1961).
3. L. L. IVERSEN, *J. Pharm. Pharmac.* **16**, 435 (1964).
4. L. L. IVERSEN, *Ad. Drug Res.* **2**, 1 (1965).
5. L. L. IVERSEN, *Br. J. Pharmac.* **14**, 536 (1965).
6. L. L. IVERSEN, The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. Cambridge Univ. Press, p. 147 (1967).
7. G. VALETTE, *C.R. Ac. Sc.* **269**, 1795 (1969).
8. G. VALETTE, *C.R. Ac. Sc.* **269**, 1693 (1969).
9. G. VALETTE et M. F. LECLAIR, *C.R. Ac. Sc.* **270**, 2215 (1970).
10. G. VALETTE et M. F. LECLAIR, *J. Pharmac. Paris* **1**, 445-456 (1970).
11. D. P. WESTFALL, *Br. J. Pharmac.* **39**, 121 (1970).