

**EFEITOS DA KETAMINA SOBRE A CAPTAÇÃO E LIBERAÇÃO DE NORADRENALINA PELOS TERMINAIS ADRENÉRGICOS DE CANAIS DEFERENTES DE RATOS (\*)**

1336

**DR. DANILO FREIRE DUARTE, E.A.**  
**DR. JOSÉ GILBERTO AUCÉLIO (\*\*\*)**  
**DR. JOÃO BATISTA CALIXTO (\*\*\*\*)**

AP 1723

*A interferência da ketamina com mecanismos adrenérgicos foi estudado em canais deferentes isolados de ratos.*

*Além de ser confirmado um bloqueio da captação de noradrenalina similar ao promovido pela cocaína, é proposto que a ketamina provoque liberação deste neurotransmissor de um "pool lábil" constituído, provavelmente, pela noradrenalina recém-captada. Esta hipótese está baseada nos seguintes fatos:*

*1 — A ketamina somente contrai a preparação após incubação com noradrenalina.*

*2 — Esta contração é de maior amplitude após a depleção do neuromediador.*

*3 — É inibida pela adição de um bloqueador-alfa.*

*4 — Instala-se rapidamente taquifilaxia.*

*O provável mecanismo de ação e possíveis implicações clínicas são discutidas.*

*A constatação de que as respostas à noradrenalina e ao cloreto de bário foram inibidas pela administração de ketamina ( $10^{-3}M$ ) permitiu sugerir uma ação anestésica local.*

Um dos primeiros estudos sobre os efeitos farmacológicos da ketamina (2 (0-clorofenil)-2 metilanino-ciclohexanona) em voluntários e sobre os primeiros resultados de seu emprego em clínica anestesiológica foram publicados por Corssen e

(\*) Trabalho premiado em 2.º lugar. Prêmio SBA-Parke Davis, 1977. Financiado parcialmente pelo CNPq.

(\*\*) Livre Docente, Professor Adjunto da Disciplina de Anestesiologia do Departamento de Processos Diagnósticos e Terapêuticos Complementares.

(\*\*\*) Doutor em Ciência, Professor Visitante da Disciplina de Farmacologia do Departamento de Patologia, UFSC.

(\*\*\*\*) Mestre em Ciência, Professor Assistente da Disciplina de Farmacologia do Departamento de Patologia, UFSC.

recebido em 2/8/77

aprovado p/ publicação em 24/2/78

Domino (8). Neste trabalho os autores fazem referências a estudos preliminares sobre a fenciclidina, publicados a partir dos últimos anos da década de 50, assinalando que os efeitos psicomiméticos eliminaram a possibilidade do emprego do produto como anestésico. Um dos seus derivados, o CI 581, que recebeu, posteriormente, o nome de ketamina, apresentava resultados muito mais favoráveis no que concerne aos efeitos psicológicos, podendo por isso ser aceito para emprego clínico.

Quer em voluntários não pré-medicados, quer em pacientes cirúrgicos, o GI 581 provocou elevação da pressão arterial e da frequência cardíaca, ficando conservados os reflexos faríngeos e laríngeos. Foi observado um aumento de tono da musculatura esquelética, predominando no masséter e na musculatura dos membros. Foram também evidenciadas alterações do EEG com aparecimento de atividade teta e foi constatado que alguns pacientes adultos apresentavam alucinações. O reflexo de deglutição e o reflexo da tosse foram mantidos, porém a droga provocava abundante salivação na ausência de atropinização prévia (30). A anestesia obtida com a ketamina foi denominada de "anestesia dissociativa", por promover uma dissociação entre as estruturas talâmicas e corticais, permitindo que os impulsos sensoriais cheguem às áreas corticais de recepção sem que os mesmos sejam integrados nas áreas de associação (19).

A elevação da pressão arterial e da frequência cardíaca foram confirmadas tanto em animais de experimentação (35,37,42) como em pacientes anestesiados (9,33,39) e, na procura da explicação, surgiram indícios de um envolvimento do sistema adrenérgico. Assim, Traker et al. (36,37) constataram ausência de resposta pressora em cães, cuja condução dos impulsos simpáticos foi interrompida por anestesia peridural, ou pelo emprego de ganglioplégicos Dowdy e Kaya (14) sugerem que haja diminuição de sensibilidade de presso/receptores. Outros autores (4,43) evidenciaram aumento da noradrenalina circulante e Matsuki et al. (26) demonstraram que há uma relação direta entre a elevação da noradrenalina plasmática e o surgimento da hipertensão e da taquicardia.

Mais recentemente, a interação da droga com o sistema adrenérgico tem sido analisada sob novos ângulos. Assim, foram publicados trabalhos que apontam para a ketamina um efeito similar ao da cocaína, ou seja bloqueio da captação de noradrenalina pela fibra pós-ganglionar simpática (27,29,34). A possibilidade de que a droga também promova liberação do neurotransmissor adrenérgico não pode ser descartada,

sendo possível, inclusive, que o efeito final resulte do bloqueio da captação e da liberação (27).

Outros estudos em órgãos isolados não são conclusivos. Assim, a inibição da contratilidade uterina obtida em útero isolado de rata, compatível com estimulação de receptores adrenérgicos beta 2, assinalada por Cremonesi et al. (10), não coincide com os resultados de Jawalekar et al. (20) que realizaram experiências similares em útero isolado de camundongo. As contrações espontâneas de duodeno isolado de coelho também foram inibidas pela ketamina, não sendo este efeito abolido pelo uso concomitante de acetilcolina, bloqueadores adrenérgicos e cloreto de bário (1). Deve ser lembrado que já foi descrita ação anestésica local (12).

Embora nas pesquisas referidas fossem utilizadas várias preparações, nenhum trabalho publicado chegou ao nosso conhecimento no qual a ketamina e suas possíveis interações com a noradrenalina fosse testada em canal deferente de rato.

Considerando que a ketamina é bastante usada em anestesia, embora o seu mecanismo de ação não esteja completamente esclarecido, e que os trabalhos constantes na literatura farmacológica, visando elucidar o seu papel como agente potenciador do sistema adrenérgico, ainda não tenham logrado um resultado conclusivo, foi julgado oportuno estudar os efeitos desta droga na preparação acima referida, que tem sido largamente empregada para se estudar mecanismos de ação de drogas.

#### MATERIAL E MÉTODOS

1 — *Animais*: Desenvolveu-se o trabalho, utilizando ratos machos albinos adultos, criados em biotério da Disciplina de Farmacologia e mantidos à temperatura de cerca de 24°C com período de 14 horas de escuro e 10 de luz, distribuídos em dois grupos:

A - Ratos normais, com cerca de 4 meses de idade, pesando entre 300 e 350 g;

B - Ratos normais, com 4 meses de idade com peso médio de 300-350 g tratados com uma associação de reserpina (5 mg/kg e  $\alpha$ metil-dopa (200 mg/kg) em três injeções consecutivas, com intervalos de 24 horas antes da experiência.

2 — *Drogas*: Foram empregadas as seguintes drogas: noradrenalina (Arterenol chloride), Sigmachemical Company; cloridrato de ketamina (Ketalar), Parke Davis, solução 50 mg/ml; cloridrato de piperóxano; cloreto de bário, Merck;

reserpina (Serpasol), Ciba, ampolas 2,5 mg/ml;  $\alpha$  metil-dopa (Aldomet) Merck Sharp e Dohme.

3 — *Isolamento dos canais deferentes*: O animal era sacrificado por inalação prolongada de vapores de éter etílico. Aberta a parede abdominal, eram isolados os ductos deferentes e colocados em Placa de Petri contendo líquido nutritivo. A seguir eram separados dos tecidos adjacentes e, com auxílio de uma seringa com agulha, eram lavados internamente com o mesmo líquido nutritivo.

4 — *Montagem da preparação farmacológica*: Para o estudo "in vitro" dos canais deferentes foi usada cuba de vidro de 10 ml de capacidade, com dupla parede. No compartimento interno, colocava-se o órgão e, no externo, circulava água aquecida a 30°C, impulsionada por uma unidade de circulação, que alimentava simultaneamente quatro dessas cubas.

A solução nutritiva, colocada em frasco de Mariotte, entrava pela parte superior das cubas, depois de pré-aquecida em serpentina mantida também a 30°C, pela mesma unidade de circulação.

Uma haste de vidro terminada em S, introduzida no compartimento interno, servia para fixar o órgão e aerar a solução nutritiva. A extremidade livre do músculo era presa a uma alavanca isotônica de inscrição frontal com carga de 0,5 g e ampliação de 6 vezes. O registro foi feito em tambor com papel enfumaçado, movido por quimógrafo Palmer.

A solução nutritiva usada tinha a seguinte composição molar:

NaCl	0,136	M
KCl	0,0056	M
CaCl <sub>2</sub>	0,0018	M
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,00036	M
NaHCO <sub>3</sub>	0,015	M
Glicose	0,0055	M

Após a montagem de preparação, trocava-se o líquido nutritivo e aguardava-se 30 minutos antes do início do ensaio farmacológico.

5 — *Curvas dose-efeitos*: Foi usada a técnica cumulativa descrita por Van Rossum (<sup>40</sup>) para obtenção de curvas dose-efeito médias para noradrenalina e ketamina.

Em geral 3 curvas de noradrenalina e ketamina eram realizadas em cada experiência, começando sempre pela ketamina. A concentração molar das drogas empregadas era aumentada em progressão geométrica de razão 3,2. A cada nova dose adicionada, sem trocar o líquido nutritivo, o órgão

apresentava contração superposta, até atingir o efeito máximo (quando o aumento da concentração do agonista não mais era acompanhado de resposta). Interrompia-se então o registro, lavava-se a preparação várias vezes e aguardava-se 30 minutos para obtenção de nova curva.

As alturas das contrações produzidas pelas diversas concentrações molares de noradrenalina, ketamina e cloreto de bário, calculadas como porcentagem do efeito máximo produzido pela noradrenalina ou pelo cloreto de bário respectivamente, eram levadas como ordenadas a um gráfico, tendo como abcissas os logaritmos das concentrações molares correspondentes. A partir desses gráficos eram calculadas as doses efetivas 50% ( $ED_{50}$ ).

As curvas de ketamina eram obtidas após incubação por 5 minutos com noradrenalina, seguida de lavagem e repouso por um período de 30 minutos.

Nas experiências, onde foram feitas curvas de noradrenalina em presença de cocaína ou ketamina, ambas eram incubadas 20 minutos antes, na cuba, com líquido nutritivo. Após esse período, sem lavar a preparação, realizava-se nova curva dose-efeito para a noradrenalina.

6 — *Análise estatística*: A partir dos dados, obtidos nas diversas experiências, foram determinadas as médias e os erros padrões. As diferenças entre as médias foram analisadas pelo teste "t" de Student.

## RESULTADOS

### EFEITOS SOBRE A LIBERAÇÃO DE NEUROMEDIADOR DE TERMINAIS ADRENÉRGICOS

*Experimentos em ductos deferentes isolados de doadores não tratados* — Os histogramas da figura 1 (A) representam as porcentagens médias da amplitude das contrações dos ductos deferentes frente à ketamina e à noradrenalina. O percentual das respostas contrácteis foi calculado em relação às respostas máximas obtidas para a noradrenalina. Como se pode observar a ketamina, administrada antes da noradrenalina, não logrou induzir nenhuma resposta contráctil. Entretanto, após a noradrenalina, a substância em questão contraiu cerca de 77% dos órgãos testados (tabela I). O valor máximo da média das contrações induzidas pela ketamina "pós-noradrenalina" foi da ordem de 12%.

*Experimentos em ductos deferentes de doadores pré-tratados com reserpina associada a  $\alpha$  metil dopa* — Da mesma forma que o observado anteriormente, a ketamina adminis-

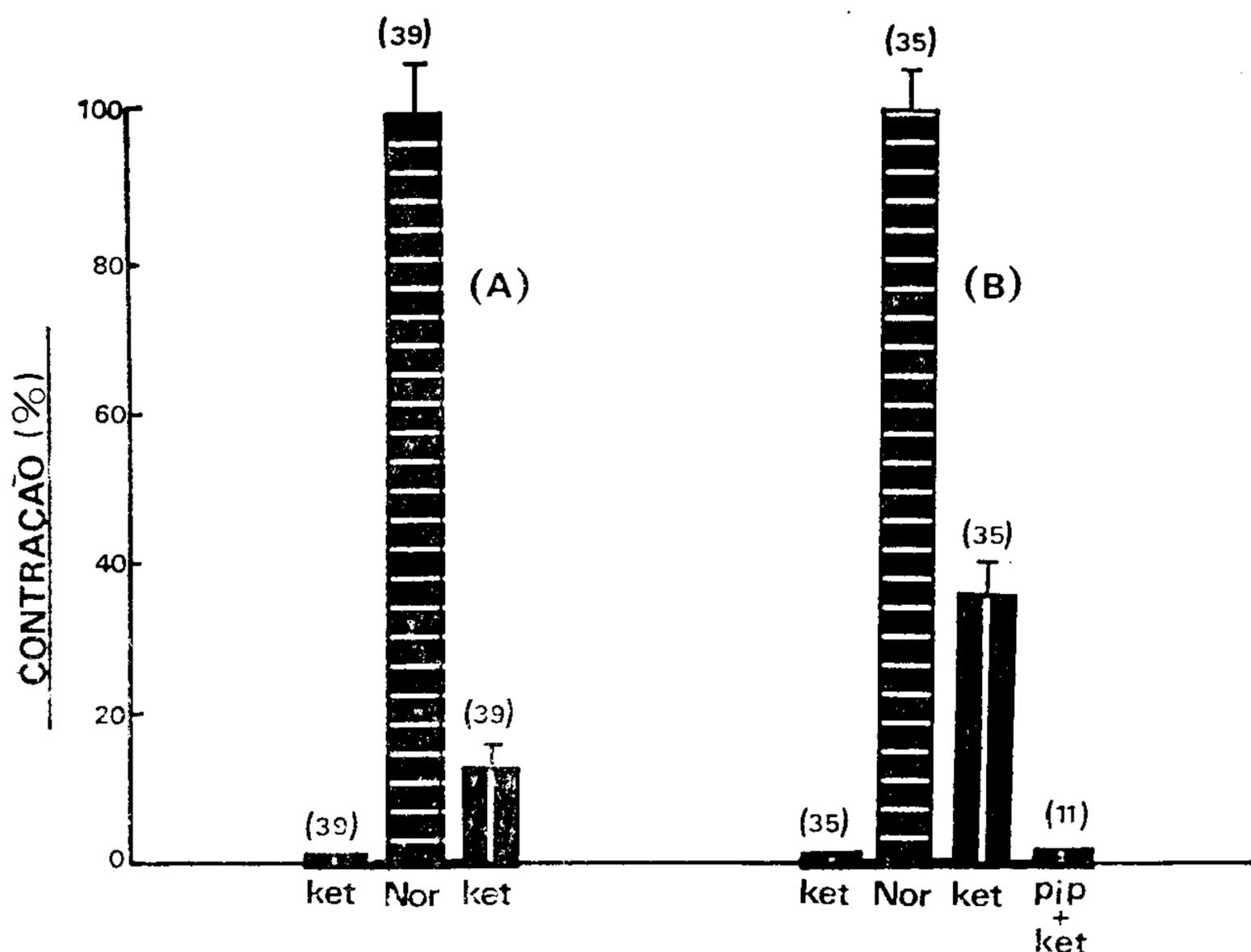


FIGURA 1

Histograma representativo das respostas máximas produzidas pela ketamina em ductos deferentes isolados de ratos, tomadas como porcentagem da resposta máxima produzida pela noradrenalina. (A) ratos normais, (B) ratos pré-tratados com reserpina + α metil-dopa. As barras verticais indicam os erros padrões das médias e os valores entre parênteses indicam o número de experiências. Notar a presença de resposta da ketamina somente após noradrenalina, nos dois casos. A amplitude das respostas da ketamina foi maior no grupo pré-tratado, mas tendo sido completamente inibido pelo piperóxano.

TABELA I

EFEITO DA KETAMINA EM DUCTOS DEFERENTES DE RATOS APÓS A INCUBAÇÃO COM NORADRENALINA E O BLOQUEIO PELO PIPEROXANO

Grupos	Drogas	Preparações que apresentaram respostas contrácteis (%)	Número de órgãos empregados (n)
Não tratados	Ketamina	77	39
Pré-tratados com Reserpina + α metil-dopa	Ketamina	91	35
	Ketamina na presença de Piperóxano	0	11

trada antes da noradrenalina se mostrou ineficaz para contrair os ductos deferentes (figura 1 B), mas após a incubação da preparação com a noradrenalina, por um período de 5 minutos e subsequente lavagem, contraiu cerca de 91% dos órgãos estudados (tabela I). Neste grupo de animais, a amplitude das respostas induzidas pela ketamina "pós-noradrenalina" foi significativamente maior do que aquela obtida no mesmo órgão de doadores não tratados ( $P < 0,01$ ).

*Análise de curvas dose-resposta* — A figura 2 mostra as curvas dose-resposta para a ketamina e para a noradrenalina em ductos deferentes de doadores normais e pré-tratados com reserpina e  $\alpha$  metil-dopa. A reserpinização crônica acrescida da inibição da síntese de catecolaminas pela  $\alpha$  metil-dopa induziram supersensibilidade na musculatura lisa deferente, caracterizada pelo deslocamento da curva de noradrenalina para a esquerda, quando comparada com a de controle. O desvio do valor médio é significativo ( $P < 0,01$ ).

Da mesma maneira as respostas contrácteis induzidas pela ketamina sofreram significativo aumento de amplitude nos órgãos de animais pré-tratados. Observaram-se, neste caso, diferenças marcantes em relação aos efeitos das doses mais elevadas de ketamina que induziram contração nos ductos pré-tratados, sendo que o mesmo não se verificou nos órgãos controle.

*Inibição das respostas contrácteis da ketamina "pós-noradrenalina" pelos bloqueadores adrenérgicos* — O efeito do bloqueador  $\alpha$  — sobre as respostas contrácteis da ketamina "pós-noradrenalina" foram estudados em ductos deferentes isolados de doadores pré-tratados pelo fato dessas respostas, induzidas pelas referidas drogas, serem mais freqüentes e de maior amplitude neste grupo experimental (tabela I e figura 1 (A)). Em todos os casos estudados o piperoxano na concentração de 20  $\mu\text{g/ml}$  inibiu de modo completo as respostas da ketamina (figura 1 (B) e tabela I).

*Efeito taquifilático* — Curvas dose-efeito consecutivas de ketamina obtidas em ductos deferentes de doadores não tratados, após a noradrenalina, revelaram ação taquifilática, que se caracterizou pela redução progressiva das respostas contrácteis (figura 3). Nesta mesma figura se pode notar a ausência de respostas à ketamina, quando administrada antes da Noradrenalina.

O histograma da figura 4 representa a média da resposta máxima obtida para a 1.<sup>a</sup>, 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> curvas consecutivas de ketamina, expressas em porcentagem em relação à obtida para a 1.<sup>a</sup> curva tomada como 100%. Em todos os casos estudados observou-se rápido decaimento das respostas contrácteis.

%: CONTRAÇÃO DE DUCTOS DEFERENTES DE RATOS

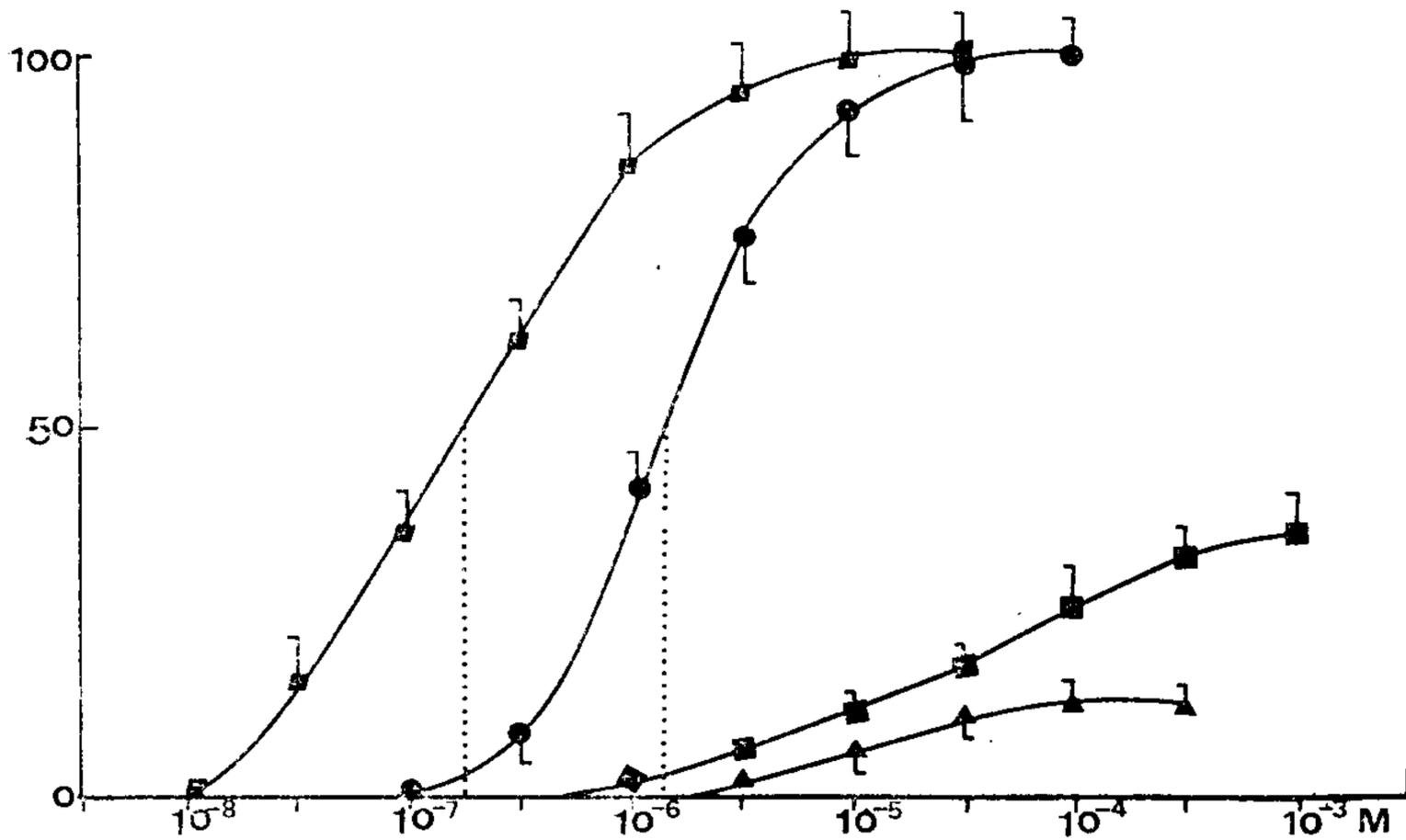


FIGURA 2

Curvas dose-efeito médias obtidas pelo método cumulativo para noradrenalina e ketamina. (●—●) noradrenalina, controle; (Δ—Δ) ketamina após noradrenalina, ratos normais; (■—■) ketamina após noradrenalina, ratos tratados com reserpina e  $\alpha$  metil-dopa; (◆—◆) noradrenalina, ratos tratados com reserpina +  $\alpha$  metil-dopa. As barras verticais representam os erros padrões das médias e as linhas pontilhadas indicam as  $ED_{50}$  ( $EA/E_{am} = 1/2$ ). Abcissas: concentrações molares das drogas; Ordenadas: efeito como porcentagem da contração máxima produzida pela noradrenalina.

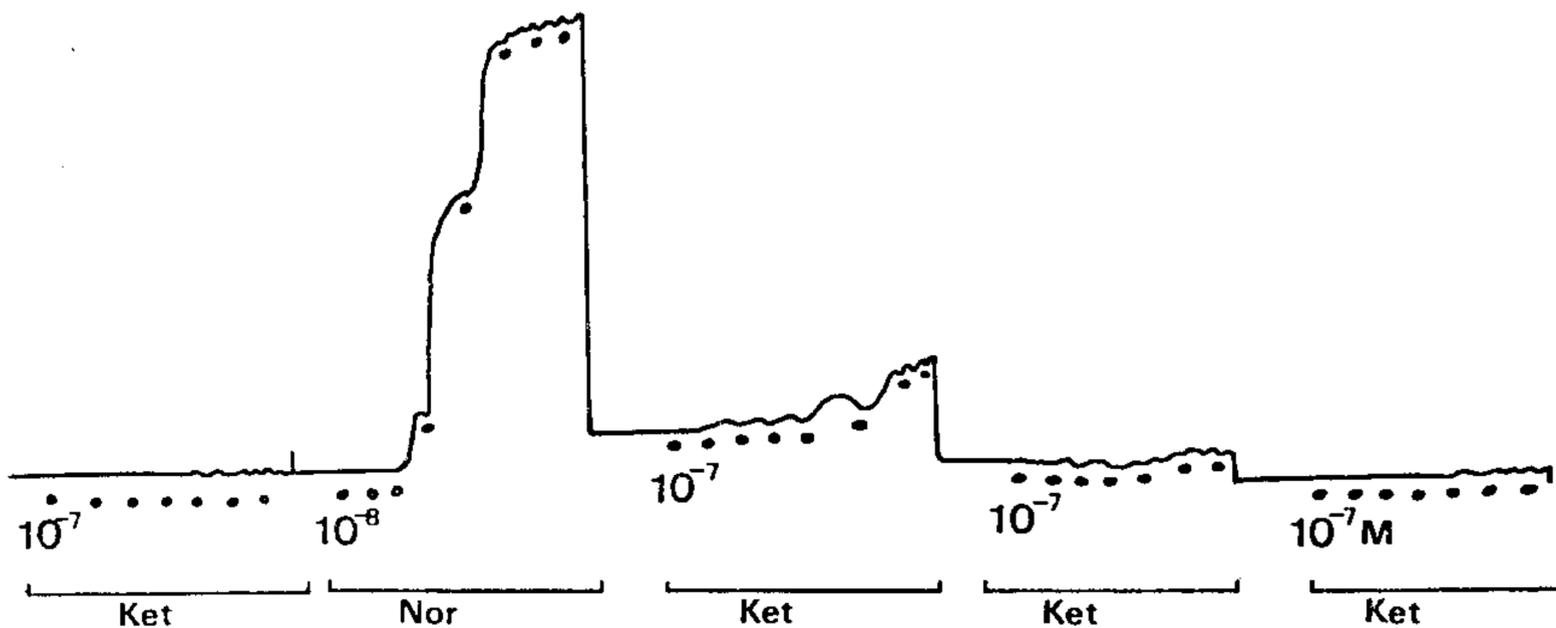


FIGURA 3

Esquema representativo das curvas dose-efeito obtidas pelo método cumulativo em ductos deferentes isolados de ratos para a ketamina e noradrenalina. Notar a presença de respostas da ketamina somente após a noradrenalina e o decremento das respostas após a administração repetitiva da droga. Os pontos indicam o local da aplicação, que aumentam numa razão constante de 3,2.

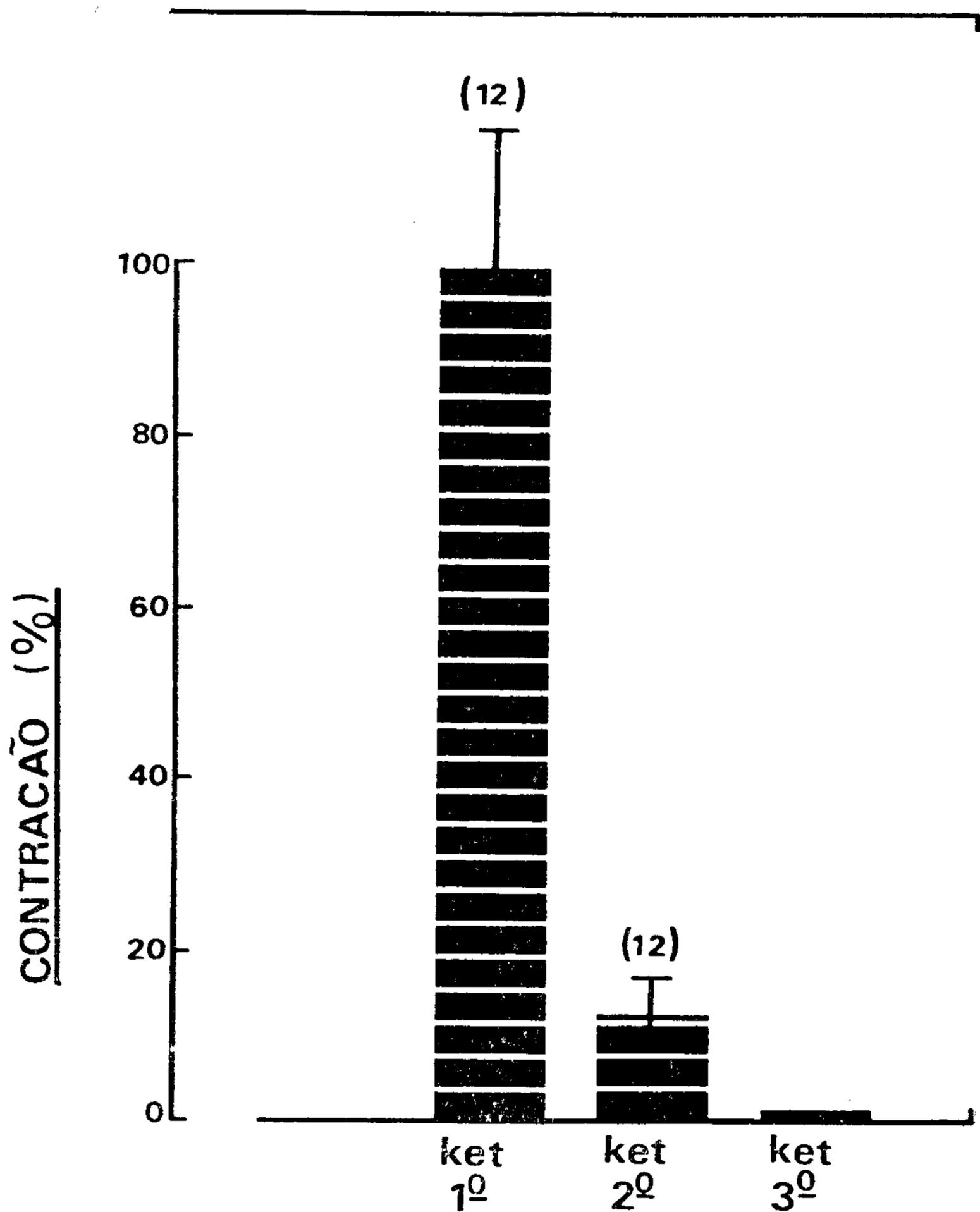


FIGURA 4

Histograma representativo das respostas máximas produzidas pela ketamina após noradrenalina em ductos deferentes isolados de ratos, tomadas como porcentagem da resposta máxima da primeira curva de ketamina. As barras verticais indicam os erros padrões das médias e os valores entre parenteses o número de experiências realizadas. Notar o desaparecimento das respostas da ketamina após curvas sucessivas.

da ordem de 80% entre as curvas sucessivas, não tendo sido verificadas respostas, já na 3.<sup>a</sup> curva.

*Análise comparativa das curvas dose-efeito com a noradrenalina e noradrenalina na presença de ketamina mais*

*cocaína* — A ketamina na concentração de  $10^{-5}M$  não afetou significativamente as respostas contrácteis da noradrenalina. Entretanto, doses  $10^{-4}M$  desta mesma substância potenciaram, de modo significativo, os efeitos desta última (figura 5). Como se pode observar, a curva de noradrenalina, na presença de ketamina ( $10^{-4}M$ ), sofreu significativo deslocamento para

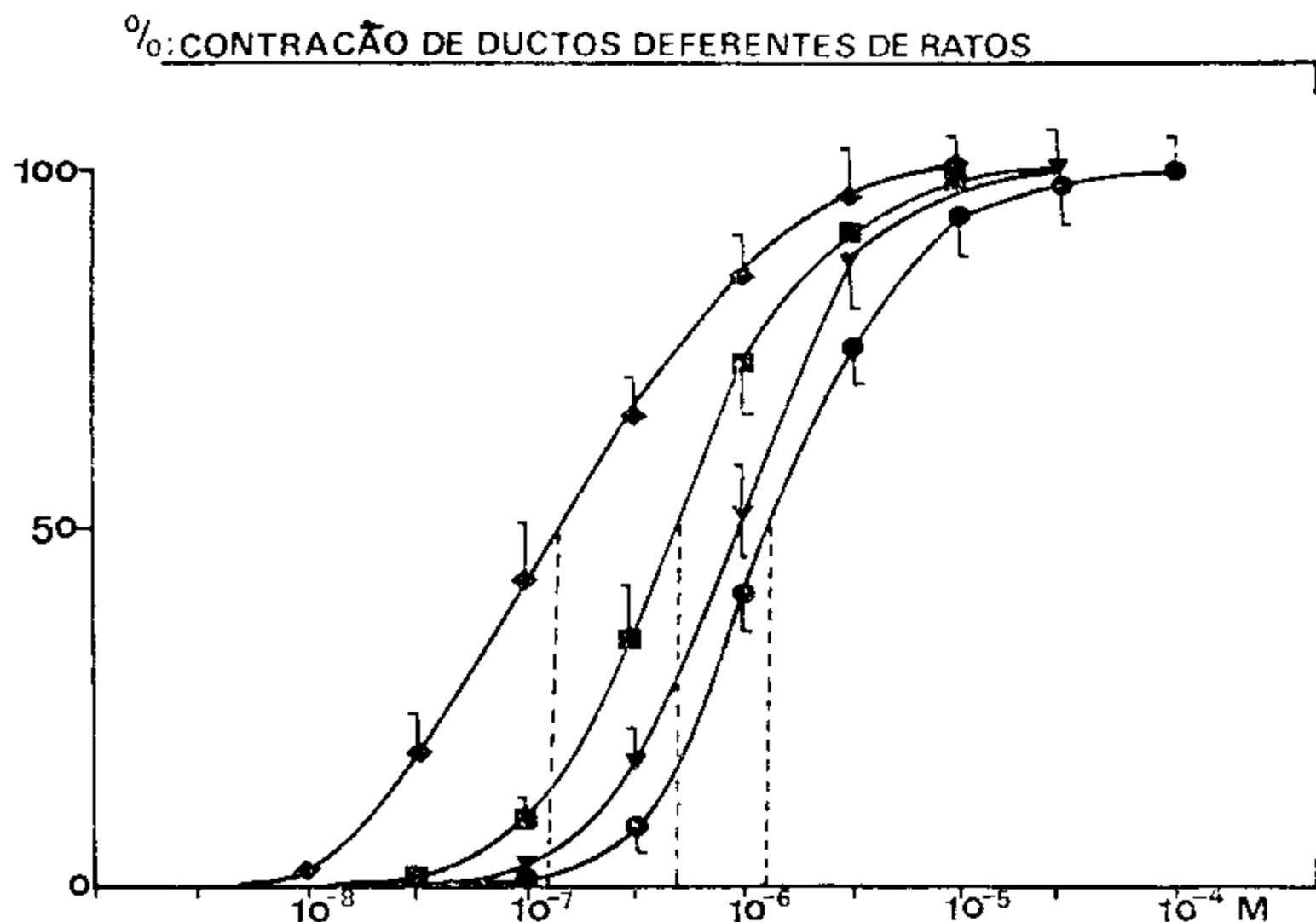


FIGURA 5

Curvas dose-efeito médias obtidas pelo método cumulativo para noradrenalina em canais deferentes isolados de ratos: (●—●) noradrenalina, controle; (Δ—Δ) noradrenalina em presença de ketamina ( $10^{-5}M$ ); (■—■) noradrenalina em presença de ketamina ( $10^{-4}M$ ); (◆—◆) noradrenalina em presença de cocaína ( $10^{-6}M$ ). Em Ordenadas e Abcissas o mesmo da fig. 2. As linhas pontilhadas indicam os ED<sub>50</sub> e as barras verticais os erros padrões.

a esquerda, quando comparada com a curva controle. Os dados relacionados na tabela II mostram que o valor da  $\Delta \log ED_{50}$  das curvas em questão é estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) e corresponde a um aumento de sensibilidade da preparação para as respostas contrácteis da noradrenalina da ordem de 4,5 vezes. Por outro lado a ketamina ( $10^{-4}M$ ) se revelou cerca de 2 vezes menos potente do que a cocaína ( $10^{-6}M$ ) para potencializar as respostas da noradrenalina. A cocaína induziu um aumento na sensibilidade da preparação da ordem de 9,5 vezes (tabela II e figura 5).

TABELA II

VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE DUCTOS DEFERENTES APÓS ADMINISTRAÇÃO DE KETAMINA. COMPARAÇÃO DAS ED<sub>50</sub> DA NORADRENALINA EM PRESENÇA OU COCAÍNA (MÉDIA  $\pm$  ERRO PADRÃO)

Experiência	Log ED <sub>50</sub>	ED <sub>50</sub> (m)	Poten- ciação	N.º órgãos (n)
Noradrenalina		8,31 x 10 <sup>-7</sup> $\pm$ 3,32 x 10 <sup>-8</sup>		
Noradrenalina na Presença de Ketamina (10 <sup>-5</sup> M)	0,15 $\pm$ 0,01	6,02 x 10 <sup>-7</sup> $\pm$ 3,01 x 10 <sup>-8</sup>	1,41	8
Noradrenalina na presença de Ketamina (10 <sup>-4</sup> M)	0,70 $\pm$ 0,04	1,65 x 10 <sup>-7</sup> $\pm$ 9,07 x 10 <sup>-9</sup>	5,01*	8
Noradrenalina na presença de Cocaína (10 <sup>-6</sup> M)	0,98 $\pm$ 0,15	8,70 x 10 <sup>-8</sup> $\pm$ 5,22 x 10 <sup>-9</sup>	9,55*	7

\* — Difere significativamente (P 0,05)

log ED<sub>50</sub> — log ED<sub>50</sub> controle — log ED<sub>50</sub> na presença de Ketamina ou Cocaína.

*Efeitos da ketamina (10<sup>-3</sup>M) sobre as respostas contrácteis da Noradrenalina* — Os efeitos da noradrenalina, após a incubação da preparação com a ketamina (10<sup>-3</sup>M), sofreram inibição da ordem de 95% (figura 6). Após a lavagem da preparação, a curva de noradrenalina mostra-se bastante alterada em relação à do controle. Uma análise mais minuciosa mostra que as modificações observadas na curva em questão são devidas a dois eventos distintos:

a) Potenciação das respostas contrácteis para as doses menores de noradrenalina, evidenciada pelo deslocamento para a esquerda;

b) Inibição parcial dos efeitos contrácteis para as doses mais elevadas, caracterizada pelo decréscimo da amplitude da resposta máxima.

*Efeitos da ketamina (10<sup>-3</sup>M) sobre as respostas contrácteis do BaCl<sub>2</sub>* — Da mesma forma que o observado anteriormente, a ketamina (10<sup>-3</sup>M) inibiu os efeitos do BaCl<sub>2</sub> (figura 7). A inibição observada foi também da ordem de 95%. Após lavagem da preparação, a curva de BaCl<sub>2</sub> também foi deslocada para a esquerda mas, neste caso, o efeito máximo foi obtido.

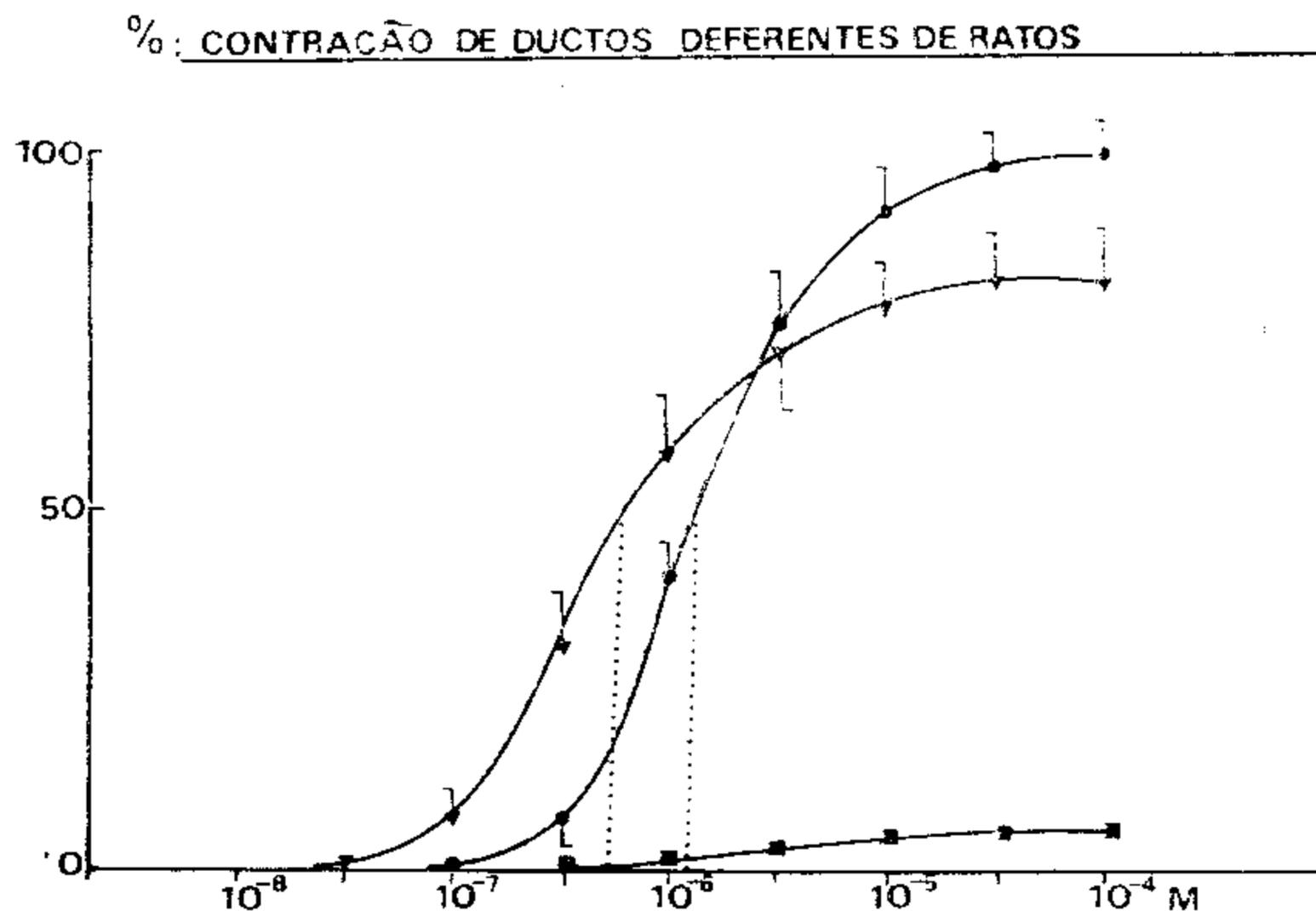


FIGURA 6

Curvas dose-efeito médias obtidas pelo método cumulativo para noradrenalina (●—●), controle; ■—■, noradrenalina em presença de ketamina ( $10^{-3}M$ ); (△—△) noradrenalina após lavagem da preparação. Em abscissas e ordenadas o mesmo da fig. 2. As linhas pontilhadas indicam a  $ED_{50}$  e as barras verticais os erros padrões.

### DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que os efeitos contráteis da ketamina em ductos deferentes de ratos são indiretos e dependem da noradrenalina, já que são bloqueados pelo piperóxano. Parece ter sido também demonstrado que a ketamina atua sobre o sistema adrenérgico através de mais de um mecanismo de ação. Deve ser destacado que, em nenhum caso estudado, a ketamina promoveu contração dos deferentes se administrada antes da preparação ter sido incubada com noradrenalina. Este dado leva a admitir a hipótese de que a ketamina provoca a liberação de estoques lábeis de noradrenalina recém-captada pelos terminais adrenérgicos.

As diferenças nas amplitudes das respostas, nos dois grupos de animais estudados, podem ser explicadas, não apenas com base no aumento da sensibilidade da preparação induzida pela depleção do neuromediador adrenérgico (<sup>38</sup>), mas

## % : CONTRAÇÃO DE DUCTOS DEFERENTES DE RATOS

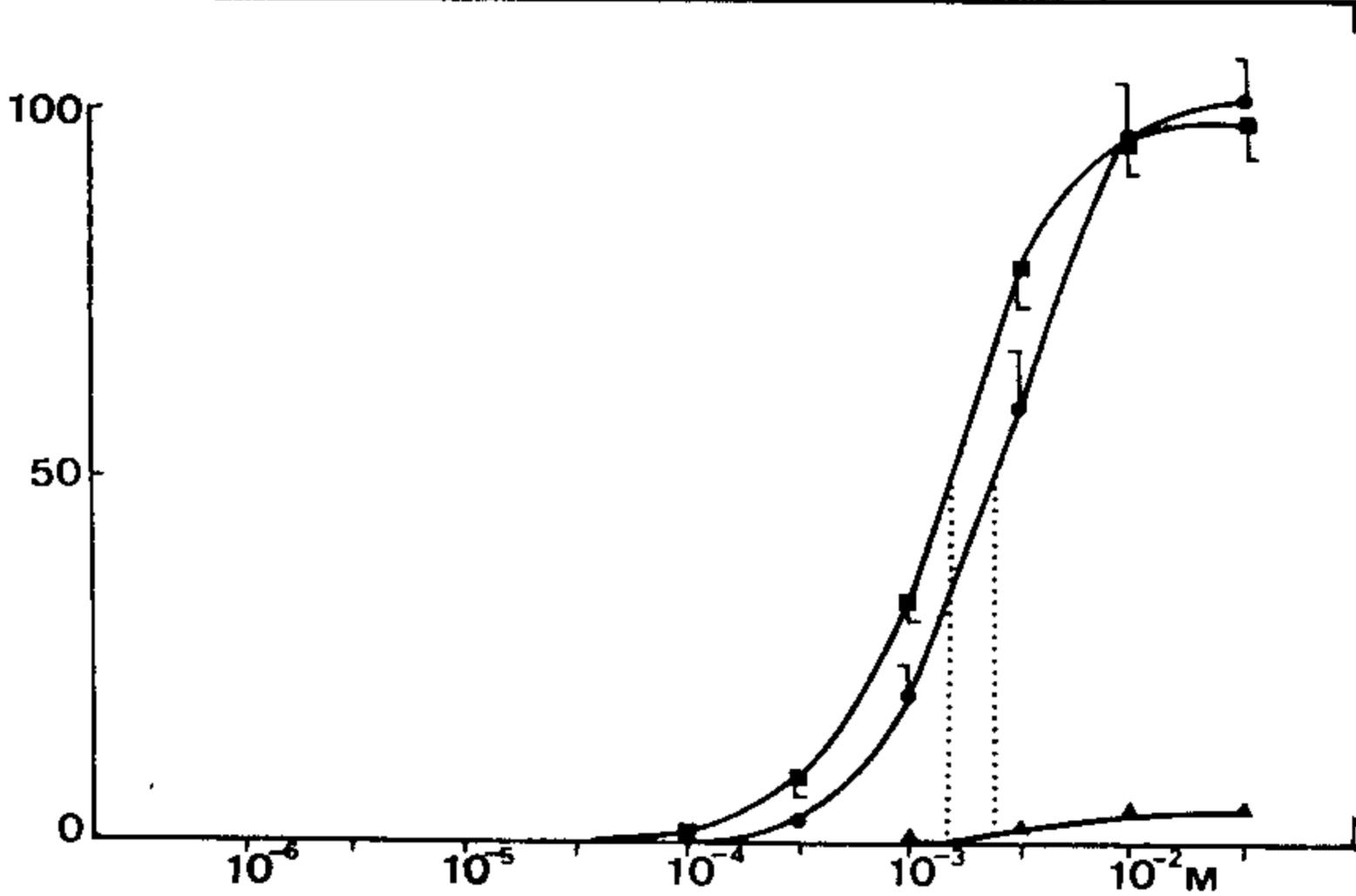


FIGURA 7

Curvas dose-efeito médias obtidas pelo método cumulativo para o cloreto de bário em ductos deferentes de ratos (●—●), controle; (Δ—Δ) cloreto de bário em presença de ketamina (10<sup>-3</sup>M); (■—■) cloreto de bário após lavagem da preparação. Em abcissas: concentração molar; em ordenadas: efeito como porcentagem da contração máxima produzidas pelo cloreto de bário. As linhas pontilhadas indicam as ED<sub>50</sub> e as barras verticais representam os erros padrões.

também pela possibilidade de que maior quantidade de nora-drenalina esteja sendo liberada, posto que a captação desta substância, nas preparações oriundas de animais pré-tratados, deve ter sido mais intensa.

A constatação de que as doses mais elevadas de ketamina promovem contração em canais deferentes de doadores pré-tratados, mas não naqueles isolados de animais controles, onde já se observa o efeito máximo, parece indicar que tal discrepância seja decorrente da existência, nos dois tipos de preparação, de diferentes teores de catecolaminas no "pool lábil recém-captado" em condições de serem depletados pela ketamina.

A hipótese da liberação de neuromediador no terminal adrenérgico já havia sido aventada por Taube et al. (34) ao realizarem ensaios em fragmentos de cortex cerebral pré incubados com noradrenalina tritiada.

Ao que se sabe, os mecanismos de liberação operam diretamente nos grânulos, onde a noradrenalina se encontra ligada ao ATP e às proteínas solúveis, formando um complexo não difusível. A tiramina, por exemplo, desloca as moléculas de noradrenalina diretamente de grânulos isolados (16,17,18) e é capaz de promover respostas em ductos deferentes sem prévia incubação com noradrenalina (2,5,31). Ora, como a ketamina promove contrações dos canais deferentes somente após a noradrenalina, parece sugestivo que ela atue liberando o neuromediador de um estoque de maior labilidade, ou seja, de compartimentos em que a noradrenalina ou não esteja ligada ou, esteja apenas fracamente ligada a outro elemento. Outra evidência de que a ketamina deve mobilizar o neuromediador de "pools" de maior labilidade está na rapidez com que se instala a taquifilaxia. Conforme se verifica, o decaimento da amplitude das respostas foi da ordem de 80% de uma curva para outra e com total ausência de respostas já na 3.<sup>a</sup> curva consecutiva. A instalação rápida de taquifilaxia já havia sido demonstrada por Duarte et al. (15) no que diz respeito à resposta pressora em cães e por Sawege et al. (32) em estudos controlados realizados em pacientes cirúrgicos. O desenvolvimento rápido de tolerância em relação a duração do sono e da anestesia com doses repetidas de ketamina também foi evidenciada em primatas (7) e roedores (11).

Deve ser dito, no entanto, que a possibilidade da ketamina liberar noradrenalina de compartimentos extraneurais não pode ser afastada, tendo-se em vista os trabalhos de Axelrod (3), que demonstraram a grande capacidade dos tecidos extraneuronais para armazenar catecolaminas. Este tema será motivo de futuras investigações.

O efeito potenciador das respostas contrácteis da noradrenalina vem confirmar achados constantes na literatura, que atribuem à ketamina ação similar à da cocaína, inibindo a captação do neurotransmissor pelos terminais adrenérgicos (27,29,34).

Em corações isolados de ratos, perfundidos com ketamina, foi observado que a redução de captação da noradrenalina era proporcional à dose empregada e que, quando comparada à cocaína em doses equivalentes, seu efeito correspondia a 80% do efeito desta última (27). Estes resultados, no que concerne a potência das referidas drogas, são discordantes dos obtidos no presente trabalho. Em ductos deferentes isolados, a ketamina somente em doses 100 vezes maiores que a cocaína, mostrou eficiência em potenciar as respostas da noradrenalina e, ainda assim, o aumento da

sensibilidade induzida na preparação foi cerca de 2 vezes menor que o observado em relação à cocaína.

Outra ação da ketamina, que ficou bem caracterizada através dos ensaios realizados na presente investigação, foi a de inibir os efeitos da noradrenalina e do cloreto de bário em função da concentração. O fato de esta droga, na concentração  $10^{-3}M$ , abolir quase que completamente os efeitos tanto da noradrenalina quanto os do  $BaCl_2$  é sugestivo de que tais ações sejam devidas a atividade anestésica local, já assinalada por Diamond et al. (12). Nas experiências realizadas por estes autores, em nervo ciático de sapo, isolado, a ketamina reduziu de modo significativo os potenciais de ação e aumentou o limiar de excitabilidade de modo similar ao dos anestésicos locais.

As alterações observadas nas curvas dose-efeito cumulativas para a noradrenalina e  $BaCl_2$ , obtidas após a lavagem da preparação, merecem uma análise mais cuidadosa do ponto de vista farmacodinâmico. Ao que parece, tais modificações podem ser explicadas com base nos trabalhos de vários autores que postulam que a interação droga-receptor representa um dos passos para a produção do efeito, ocorrendo uma série de eventos intermediários posteriores a essa interação.

Van Rossum e Ariens (11) e Moran (28) sugeriram o seguinte modelo para representar estes vários eventos:



Onde *A* seria a droga, *R* receptor *a* e *b*, *1*, *m* e *n* seriam eventos intermediários que levariam ao efeito final. Jurkiewicz et al., (22) adotando este critério, propuseram um modelo para explicar os efeitos do  $BaCl_2$ , noradrenalina e acetilcolina em ductos deferentes de rato, após ter observado que as duas últimas drogas eram incapazes de contrair o órgão na ausência de cálcio externo. De acordo com o modelo proposto, a noradrenalina e a acetilcolina produziriam seus efeitos através de um evento comum que precederia aquele no qual o  $BaCl_2$  atuaria diretamente para atingir o evento final. Estes autores mostraram ainda que a possível explicação para o modelo proposto dependeria da liberação de cálcio, que estaria armazenado em dois tipos de compartimentos. Num deles, o íon estaria fortemente ligado e no outro estaria fracamente ligado. Assim, a adrenalina e acetilcolina, após interação com os seus receptores específicos, promoveriam a liberação de cálcio armazenado no 2.º tipo de compartimento citado. O  $BaCl_2$ , por sua vez, promoveria a liberação de cálcio do

compartimento onde ele se encontra fortemente ligado. Com base nestes dados poderia ser aventada a hipótese de que a ketamina, em doses maiores, atingisse esses compartimentos de armazenagem de  $Ca^{++}$  situados no efetuator, podendo interferir, de algum modo, com eventos da noradrenalina, sem interferir com os do  $BaCl_2$ , já que seu efeito máximo não foi alterado.

O deslocamento das curvas para a esquerda pode ser explicado pela capacidade da ketamina de aumentar a sensibilidade da preparação. Esta substância, como já foi observado, possui uma ação similar à da cocaína, bloqueando a captação neuronal e permitindo assim que maiores concentrações de neuromediador permanecessem disponíveis nos receptores (6,24,25).

Entretanto, o mesmo raciocínio não pode ser aplicado no caso do cloreto de bário, para o qual o aumento de sensibilidade verificado se enquadraria no tipo inespecífico. Os autores acima mencionados descreveram, em canais deferentes desnergados ou de doadores pré-tratados com reserpina, ou mesmo em canais deferentes de ratos normais, na presença de cocaína, aumento significativo da sensibilidade para a acetilcolina, cloreto de potássio e cloreto de bário. Estas observações levaram Kalsner (23) a propor duas formas de sensibilização:

A - Sensibilização tipo I: devida a mecanismos que, de algum modo, potenciariam as ações da droga, antes dela interagir com o seu receptor específico;

B - Sensibilização tipo II: devida a modificação no próprio efetuator, ou seja, em eventos situados depois da interação droga-receptor. Seria, portanto, um tipo de sensibilização inespecífica, já que os eventos intermediários podem ser comuns para vários tipos de drogas.

Como ficou demonstrado na presente investigação e, conforme os achados constantes na literatura, a ketamina, em relação ao sistema adrenérgico, atuaria através de mais de um mecanismo de ação:

A - Bloqueando a captação de noradrenalina pelos terminais adrenérgicos, de modo similar à cocaína;

B - Promovendo liberação deste neurotransmissor, possivelmente de um "pool lábil" constituído pela noradrenalina recém-captada. A confirmação da existência deste "pool" será motivo de trabalhos posteriores.

Ao que tudo indica, alguns de seus efeitos, desejáveis ou indesejáveis, observados em clínica anestesiológica, pode-

riam ser melhor explicados, e até mesmo prevenidos, se se considerar que um ou outro dos mecanismos descritos poderiam estar atuando com maior ou menor intensidade em pontos distintos do organismo, na dependência da dose empregada.

Não é ainda improvável que os efeitos psicomiméticos da Ketamina sejam mediados por substâncias adrenérgicas e possam vir a ser contornados por conhecimento mais completo do mecanismo de ação destas substâncias.

### SUMMARY

#### EFFECTS OF KETAMINE ON THE UPTAKE AND RELEASE OF NOREPINEPHRINE OF ISOLATED VAS DEFERENS OF THE RAT

The interference of ketamine with adrenergic mechanisms is was studied in isolated vas deferens of rats. Besides being confirmed a blockade of the norepinephrine uptake, similar that one promoted by cocaine, it is proposed that ketamine causes a release of this adrenergic mediator from a labile store that is probably formed by the newly uptaken Norepinephrine.

This hypothesis is supported by:

I — Ketamine promotes contraction of the preparation only after a short period of incubation with norepinephrine.

II — This contraction is inhibited by the administration of an adrenergic alpha blocker.

III — This contraction is increased after pretreatment with reserpine.

IV — Tachyphylaxis takes place rapidly.

The confirmation that the response to norepinephrine and  $BaCl_2$  is inhibited by the administration of ketamine ( $10^{-3}M$ ) allows us to suggest the existence of a local anesthetic action for the drug.

Some possible mechanisms of action as well as some possible clinical implications are discussed.

### REFERÊNCIAS

1. Adena A J, Treff J L, Posso J P, Cremonesi E — Estudo da ketamina sobre a contratilidade da musculatura lisa le jejuno isolado de coelho. *Rev Bras Anest* 24:556, 1974.
2. Ambache N, Dunk L P, Verney G & Zar M A — Inhibition of pos-ganglionic motor transmission in vas deferens by indirectly acting sympathomimetic amines. *J Physiol* 227:433, 1972.
3. Axelrod J — The metabolism, storage and release of catecholamines. *Recent Progr Hormone Res* 21:597, 1965.
4. Baraka A, Harrison T & Kachachi T — Catecholamine levels after ketamine anesthesia in man. *Anesth and Analg* 52:198, 1973.
5. Barnett A, Symchowicz S & Taber R I — The effects of drugs inhibiting catecholamine uptake on tyramine and noradrenaline induced contractions of the isolated rat vas deferens. *Br J Pharmac* 34:484, 1968.
6. Birmingham A T — Sympathetic denervation of smooth muscle of the vas deferens. *J Physiol* 206:645, 1970.
7. Bree M M, Feller I & Corssen G — Safety and tolerance of repeated anesthesia with CI 581 (Ketamine) in monkey. *Anesth and Analg* 46:596, 1967.

8. Corssen G & Domino E F — Dissociative anesthesia: Further pharmacological studies and first clinical experience with the phencyclidine derivative CI 581. *Anesth and Analg* 45:29, 1965.
9. Corssen G, Groves E H, Gomez S, Allen R J — Ketamina: its place in anesthesia for neurosurgical diagnostic procedures. *Anesth and Analg* 48:181, 1960.
10. Cremonesi E, Bairão G S & Treff J L — Ação da ketamina sobre a contratilidade de útero isolado de rato. *Rev Bras Anest* 24:167, 1974.
11. Cumming J F — The development of an acute tolerance to ketamine. *Anesth and Analg* 55:788, 1976.
12. Diamond B I, Havdala H S & Sabelli H C — Differential membrane effects of general and local anesthetics. *Anesthesiology* 43:651, 1975.
13. Domino E F, Chodoff P P & Corssen G — Human pharmacological effects of GI 581, a phencyclidine derivative. *J Pharmacol* 6:279, 1965.
14. Dowdy E G & Kaya K — Studies of the mechanism of cardiovascular response to GI 581. *Anesthesiology* 39:760, 1968.
15. Duarte D F, Gandolfi N S, Filho G I & Harger J J — Avaliação da participação adrenérgica nas alterações tensionais provocadas pela ketamina. *Arc Cat Med* 4:115, 1975.
16. Euler V S & Lishajko — Effect of directly and indirectly acting simpathomimetic amines on adrenergic transmitter granules. *Acta physiol, Scand* 73:78, 1968.
17. Euler V S & Hillarp N A — Evidence for the presence of noradrenalina in submicroscopic structures of adrenergic axons. *Nature (London)* 177:44, 1956.
18. Euler V S — Synthesis, uptake and storage of catecholamines in adrenergic nerves, the effect of drugs. *Handbook of Exptl Pharmacol* 6:187, 1972.
19. Felipe M A N — Alterações psíquica pós-anestésica. Hipótese de sua produção. *Rev Bras Anest* 21:452, 1971.
20. Jawalekar K S, Jawalekar S, Mathew V P — Effect of ketamine on isolated murine myometrial activity. *Anesth and Analg* 51:685, 1972.
21. Jurkiewicz A, Barros G S G & Valle J R — Relative responsiveness (P) of pharmacological receptor systems in the rat vas deferens. *Pharmacology* 2:89, 1969.
22. Jurkiewicz A, Markus R P & Picarelli Z P — Effects of full agonists following calcium deprivation in rat vas deferens. *Eur J Pharmacol* 31:292, 1975.
23. Kalsner S — A new approach to the measurement and classification of forms of supersensitivity of autonomic effector responses. *Br J Pharmac* 51:427, 1974.
24. Kasuya Y, Goto K, Hashimoto H, Watanabe H, Munakata H, Watanabe M — Nonspecific denervation supersensitivity in the rat vas deferens "in vitro". *Eur J Pharmacol* 8:177, 1969.
25. Lee T J F, Westfall P D and Fleming W W — The correlation between spontaneous contractions and post junctional supersensitivity of the smooth muscle of the rat vas deferens. *J Pharmacol Exp Therap* 192:136, 1975.
26. Matsuki A, Zigmond E K, Martiner C A, Kothary S P — Efeito do brometo de pancurônio sobre a concentração de noradrenalina plasmática durante indução com ketamina. *Rev Bras Anest* 24:585, 1974.
27. Miletich D J, Ivankovic A D, Albrecht R F, Zahed B and Ilahi A A — The effect of ketamine on catecholamine metabolism in the isolated perfused rat heart. *Anesthesiology* 39:271, 1973.
28. Moran N C — Pharmacological characterization of adrenergic receptors. *Pharmacol Rev* 18:503, 1966.
29. Nedergaard O A — Cocaine like effect of ketamine on vascular adrenergic neurones. *Survey of Anesthesiology* 18:249, 1974.
30. Nicoletti R L, Biagini J A, Soares P M, Mele R A, Pereira M S C — Medicação pré-anestésica em pediatria com ketamina intramuscular. *Rev Bras Anest* 20:337, 1970.

31. Pennefather J N, Vardalov L and Heath P — Regional variation in the responses of rat vas deferens to field stimulation to noradrenalina and tyramine. *Clin Exp Pharmacol Phys* 1:451, 1974.
32. Sawege T M, Blogg C, Foley E I, Ross L, Lang M, Simpson B R — The cardiorespiratory effects of althesin and ketamina: a comparison. *Anaesthesia* 28:391, 1973.
33. Spoerel W E, Kandell P — Clinical experience with ketamine. *Canad Anesth Soc J* 18:319, 1971.
34. Taube H D, Montel H, Hau G and Starke K — Phencyclidine and ketamine: comparison with the effect of cocaine on the adrenergic neurones of the rat brain cortex. *Survey of anesthesiology* 20:415, 1976.
35. Traker D L, Wilson R D, Priano L L — Differentiation of the cardiovascular effect of GI 581. *Anesth and Analg* 47:769, 1968.
36. Traker D L, Wilson R D — Involvement of the sympathetic nervous system in the pressor response to ketamine. *Anesth and Analg* 48:248, 1969.
37. Traker D L, Wilson D R, Briano L L — Blockade of hypertensive response to ketamine. *Anesth and Analg* 49:420, 1970.
38. Trendelenburg V — Supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetic amines. *Pharmac Rev* 15:225, 1963.
39. Tweed W A, Minuck M, Mynim D — Circulatory response to ketamine anesthesia. *Anesthesiology* 37:613, 1972.
40. Van Rossum J M — Cumulative dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters. *Archs Int Pharmacodyn* 143:299, 1963.
41. Van Rossum J M, Ariens E J — Receptor reserve and threshold phenomena. *Arch Int Pharmacodyn* 136:385, 1962.
42. Virtue R W, Alawis J M, Mori M, La Fargue R F, Vogel J H K, Metcalf D R — On anesthetic agent: 2-ortociclophenil-2-metilamine ciclohexanone HCl (GI 581). *Anesthesiology* 28:823, 1967.
43. Zsigmond E K, Kelsch R C, Kolhary S P, Vandnay L — Concentração de noradrenalina livre no plasma durante a indução com a ketamina. *Rev Bras Anest* 22:443, 1972.