



## **VERIFICAÇÃO DAS INFLUÊNCIAS, OU CONTROLES, DOS RECEPTORES COLINÉRGICOS E DE ADENOSINA DO TERMINAL NERVOSO MOTOR SOBRE O SISTEMA DE TRANSPORTE DE ALTA AFINIDADE PARA COLINA.**

Priscila Yumi Abiko (PIBIC/CNPq), Wilson Alves do Prado (Orientador),  
email: priscila\_abiko@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

### **Farmacologia - Farmacologia Geral**

**Palavras-chave:** acetilcolina, hemicolínio, receptor pré-sináptico

### **Resumo**

A acetilcolina (AC) é o neurotransmissor responsável pelas transmissões colinérgicas, aí incluída a transmissão neuromuscular. Pela relevância de tais transmissões torna-se importante estudar os mecanismos envolvidos com todas as etapas da transmissão neuromuscular, mas mais especificamente aqueles mecanismos limitadores da síntese de neurotransmissor acetilcolina, tal qual o sistema transportador de colina (TRANSPcolina) para o interior do terminal nervoso colinérgico (Ferguson; Blakely, 2004). Desde que esse sistema é limitador para a síntese de acetilcolina e, por tanto, também para a neurotransmissão colinérgica, estudar como esse sistema transportador pode ser regulado por receptores presentes no terminal nervoso motor pode contribuir para a terapêutica das patologias que envolvem algum grau de redução nas transmissões colinérgicas. Ao associar agonistas e antagonistas de receptores pré sinápticos (CGS activa receptores A2A, R-PIA activa receptores A1, DPCPX bloqueia receptores A1, ZM bloqueia receptores A2A, metocramina bloqueia receptores activa M2 e McNA-343c activa receptores M1) que estão envolvidos no controle fino da liberação de acetilcolina - com o hemicolínio, foi observado que os receptores inibitórios muscarínicos do subtipo M2 podem, ao contrário dos receptores excitatórios muscarínicos (M1) e receptores excitatórios de adenosina (A2A) presentes no terminal nervoso motor, controlar o transportador de alta afinidade para colina, posto que A1





causa um “down regulation” sobre os receptores M2 e metoctramina reduz a atividade inibitória de M2. Nestes mecanismos estariam a piora do efeito inibitório do hemicolínio por DPCPX e a melhora do efeito inibitório do hemicolínio por metoctramina.

### Introdução

A colina, formada a partir da hidrólise das moléculas de actilcolina liberadas para a fenda sináptica,, é recapturada para o terminal colinérgico através da ação de transportadores de colina (TRANSPcolina) (Ferguson; Blakely, 2004). Estes transportadores de colina são tão importantes para a eficiência da transmissão neuromuscular que a falta de eficiência desses sistemas TRANSPcolina determina graves reduções na quantidade de AC liberada dos terminais colinérgicos (Ferguson; Blakely, 2004). Por outro lado, tem-se demonstrado que há uma estreita correlação entre a liberação de AC e atividade dos TRANSPcolina, já que ocorre aumento nas atividades dos TRANSPcolina quando o terminal nervoso motor está com sua atividade aumentada (Kuhar; Murrin, 1978). Desde que esse eficiente sistema de transporte de colina poderia ser diferentemente influenciado, ou regulado, pelas atividades dos receptores (R) estimulatórios muscarínicos (M) M1 (+RM1), inibitórios M2 (-RM2), inibitórios adenosinérgicos (A) A1 (-RADA1) e adenosérgico facilitatório A2A (+RADA2A) presentes no terminal nervoso motor, no presente trabalho foi investigado os efeitos de agonistas e antagonistas de tais receptores sobre os efeitos de um seletivo bloqueador do TRANSPcolina, o hemicolínio.

### Materiais e métodos

O comitê de Ética de experimentação animal aprovou (ECEAS 7227300915) o procedimento usado no presente estudo. As preparações foram feitas como descrita por Bülbiring (1946). Cada preparação foi imersa em 30ml de uma solução contendo Krebs, mantida a 37°C e aerada com uma mistura de O<sub>2</sub> (95%) e CO<sub>2</sub> (5%). O nervo frênico foi estimulado por um eletrodo bipolar de platina. As preparações foram indiretamente estimuladas a 0.2 Hz e os estímulos de 50 Hz foram aplicados no intervalo de 20 em 20 minutos. A preparação foi conectada a um transdutor força deslocamento (Grass FT 03; Grass Instruments Division, West Warwick, RI, USA) para gravar as contrações musculares em um Software (Powerlab; ADInstruments, Castle Hill, NSW, Australia). A tensão tetânica inicial (A) e a (B) (after 5 s) foram registradas e calculadas. Entretanto, a razão foi usada para observar os





efeitos causados pelas drogas ao longo de 10 segundos. No presente estudo foi registrado que as alterações em valores de R causadas por colina não é um parâmetro adequado para avaliar o efeito de um tal agente com uma frequência de tetanização (50 Hz), como em tais circunstâncias (Falsa facilitação). Assim, o efeito de HEMICOLÍNIO em A foi o parâmetro avaliado no presente estudo. O instante ( $T = 45$  min) e o valor da menor concentração de HEMICOLÍNIO (4,0 M) capaz de produzir efeito nos valores de R foram pesquisados. O efeito causado por HEMICOLÍNIO separadamente, ou na presença de outras drogas, foi analisada a  $T = 45$  min. Os outros medicamentos (CGS, R-PIA, DPCPX, ZM, Metocramina e McNA-343) foram administrados 20 minutos antes da administração de colina. Os dados foram submetidos à análise de variância, seguida pelo teste de Bonferroni em  $P < 0,05$  nível de significância.

## Resultados e Discussão

O bloqueador de -RADA1 (DPCPX), ao contrário do bloqueador -RM2 (metocramina), aumentou o efeito inibitório do hemicolínio sobre a tensão máxima inicial (A). Outros tratamentos das preparações, tais como a ativação de +RADA2 por CGS, a ativação de -RADA1 por R-PIA, o bloqueio de +RADA2 por ZM ou a ativação +RM1 por McNA-343c (não mostrados) não modificaram o efeito inibitório do hemicolínio sobre a transmissão neuromuscular.

## Conclusão

Dados sugerem que os receptores inibitórios muscarínicos do subtipo M2 (-RM2) podem, ao contrário dos receptores +RM1, +RADA2 presentes no terminal nervoso motor, controlar o transportador de alta afinidade para colina, posto que RADA1 causa um “down regulation” sobre os receptores -RM2 e metocramina, reduz a atividade inibitória de -RM2. Nestes mecanismos estariam a piora (RADA1 controlando -RM2) do efeito inibitório do hemicolínio por DPCPX e a melhora do efeito inibitório do hemicolínio por metocramina (bloqueio da inibição pela ativação -RM2).

## Agradecimentos





Agradeço a Deus, ao Prof. Dr. Wilson Alves do Prado, a Lilian Castelão, Profa. Dra. Celia Regina Ambiel, Irani Lopes Santos e ao CNPQ que financiou esta pesquisa.

## Referências

- Bülbring, E. **Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat.** Br. J. Pharmacol., 1: 38-61, 1946.
- Ferguson, S.M.; Blakely, R.D. **The choline transporter resurfaces: new roles for synaptic vesicles?** Mol. Interv., 4(1):22-37, 2004.
- Kuhar, M.J.; Murrin, L.C. **Sodium-dependent, high-affinity choline uptake.** J. Neurochem., 30: 15–21, 1978.

