ANTAGONISTAS DE RECEPTOR ADRENÉRGICO β1 E β1/β2 BLOQUEIAM AS CONTRAÇÕES INDUZIDAS POR 6-NITRODOPAMINA NO VAS DEFERENS EPIDIDIMAL DE RATO

Palavras-Chave: Distúrbios ejaculatórios, nitrocatecolaminas, L-NAME

Autores/as:

Raquel Rios Campitelli[1], Antonio Tiago Lima[1], Amanda Consulin Amorim[1], José Britto-Júnior[1], Adriano Fregonesi[1], Fabíola Z. Mónica[1], Edson Antunes[1], Gilberto De Nucci[1,2,3].

1. Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 - Cidade Universitária, Campinas, SP 13083-887, Brasil.
2. Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.
3. Universidade Brasil Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Brasil, Fernandópolis, São Paulo.

INTRODUÇÃO

A 6-nitrodopamina (6-ND; figura 1) é uma nova catecolamina liberada pelo endotélio de tecidos vasculares, como os vasos do cordão umbilical humano (Britto-Jr et al. 2021a), a aorta de *Chelonoidis carbonaria* (Campos et al. 2020), e o vas deferens isolado de ratos (RIEVD; Britto-Júnior et al. 2021b, 2022). Ela foi caracterizada como o principal modulador endógeno da contratilidade do RIEVD (Britto-Jr et al. 2021b; Britto-Jr et al. 2022), e aparenta ser o principal mediador local do processo de emissão da ejaculação. O uso de antagonistas beta-adrenérgicos seletivos ou não seletivos está associado a distúrbios ejaculatórios em ratos (Srilatha et al. 1999) e em humanos (O'Meara and White 1988).

Essas observações experimentais e clínicas abrem a possibilidade de que betabloqueadores atuem como antagonistas de receptor de 6ND no vas deferens. Neste estudo, foram investigados os efeitos de antagonistas seletivos de receptor β1- e β1/β2-adrenérgico nas contrações induzidas por 6-ND, dopamina, noradrenalina, adrenalina e estimulação de campo elétrico (EFS) no RIEVD.

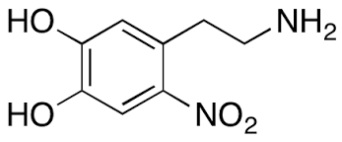

Figura 1: Estrutura molecular da 6ND. Fonte: https://www.trc-canada.com/product-detail/?N493720

METODOLOGIA

Após a eutanásia por overdose de isoflurano (agente anestésico líquido inalatório), a porção epididimal do vas deferens de ratos (figura 2) foi removida e dissecada livremente do tecido conjuntivo adjacente, sendo separada em strips de 1,5 cm cada, os quais foram imediatamente colocados em solução de Krebs-Henseleit's (KSH).

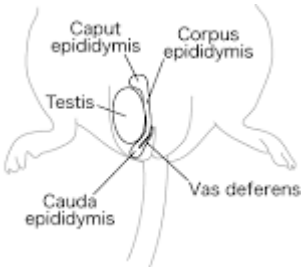

Figura 2 Anatomia do vas deferens de rato. Fonte: http://card.medic.kumamoto-u.ac.jp/card/english/sigen/manual/cetransp.html

Em cubas de órgãos (imagem 3), os strips foram suspensos verticalmente por ganchos de metal na presença de 10mL de KSH e gaseificados constantemente com uma carbogênio (95%O2: 5%CO2) a 37°C, sendo-lhes aplicada uma tensão de repouso de 10mN, e o sistema PowerLab foi utilizado para mensurar as tensões provenientes da contração e relaxamento do tecido. Antes de iniciar, houve um tempo de estabilização do tecido de 45 minutos, e posteriormente foram realizados experimentos de curva cumulativa dose-resposta e estimulação de campo elétrico (EFS; imagem 4). Todos os protocolos experimentais realizados foram autorizados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da UNICAMP (CEUA/UNICAMP, protocolo 5952-1/2022 e 5831-1/2021).

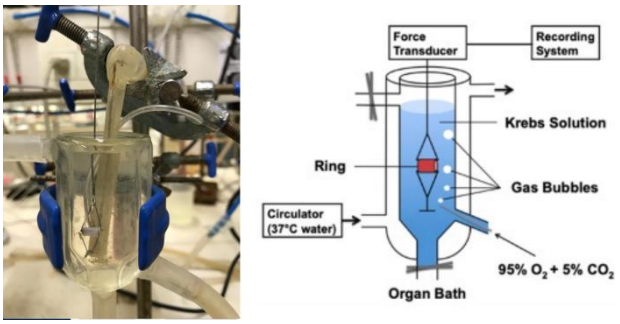

Figura 3: Exemplo de tecido montado em cuba de órgãos.

Figura 4: Aparelho utilizado para estimulação de campo elétrico.

RESULTADOS

Os antagonistas seletivos de receptor β1-adrenérgico atenolol (0.1 e 1μM), betaxolol (1μM) e metoprolol (1μM) e os antagonistas não seletivos de β1/β2-adrenérgico propanolol (1 e 10μM) e pindolol (10μM) causaram um desvio à direita significativo da curva de contração em resposta à 6ND (pA2 6.41, 6.91, 6.75, 6.47 e 5.74; para atenolol, betaxolol, metoprolol, propranolol e pindolol), mas não tiveram efeito nas contrações induzidas por dopamina, noradrenalina e adrenalina.

Os efeitos dos antagonistas seletivos de receptor β1- e β1/β2-adrenérgico em maior concentração (atenolol 1μM, betaxolol 1μM, metoprolol 1μM, propranolol 10μM e pindolol 10μM) reduziram, também, as contrações induzidas por EFS em RIEVD, mas não o fizeram em RIEVD obtidos de animais tratados cronicamente com o L-NAME, inibidor da óxido nítrico sintase (NOS). O antagonista de receptor β1-adrenérgico RO-363, o antagonista seletivo de receptor β2-adrenérgico salbutamol e o antagonista seletivo de receptor β3-adrenérgico mirabegrona, até 300 μM, não alteraram o tônus do RIEVD.

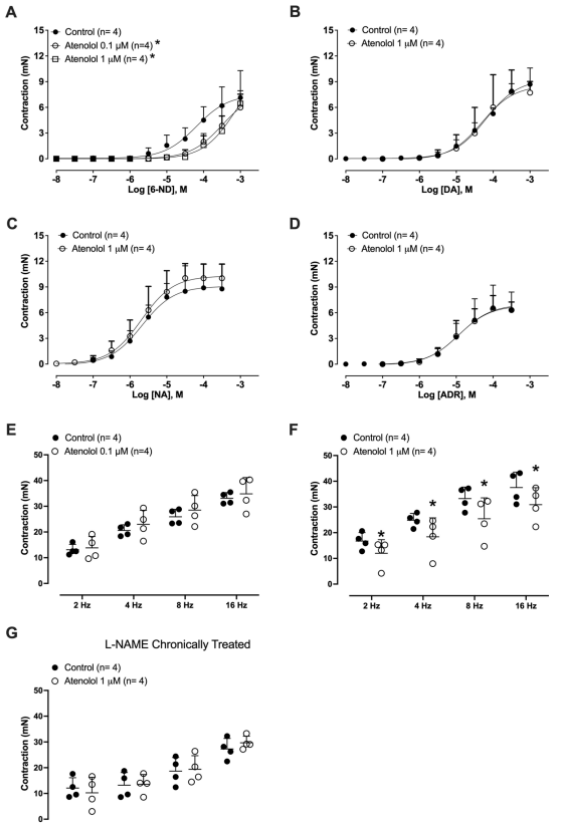

Figura 5: Gráficos referentes à resposta do RIEVD a atenolol.

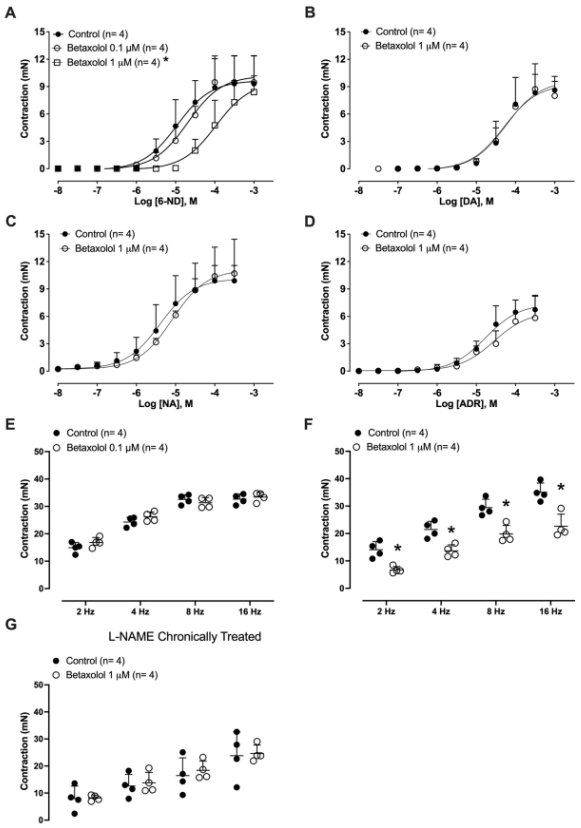

Figura 6: Gráficos referentes à resposta do RIEVD a betaxolol.

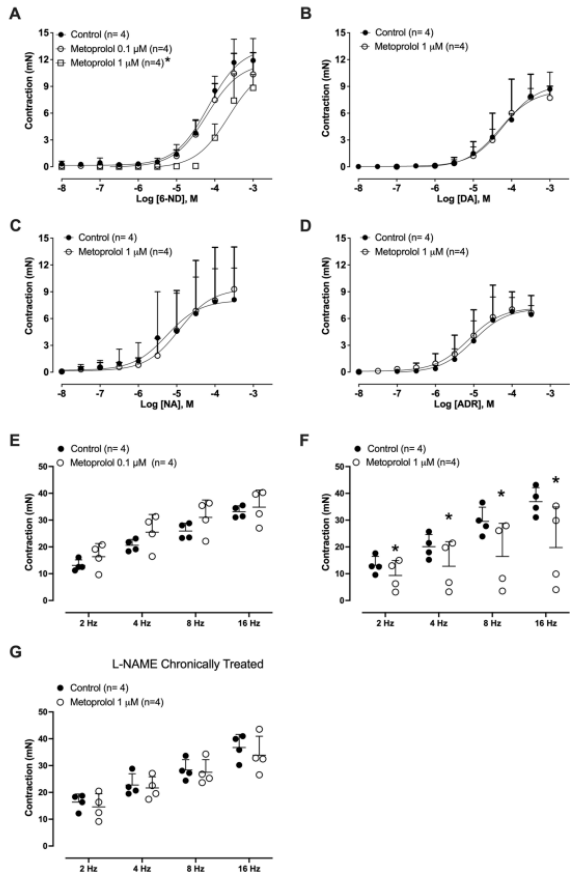

Figura 7: Gráficos referentes à resposta do RIEVD a metoprolol.

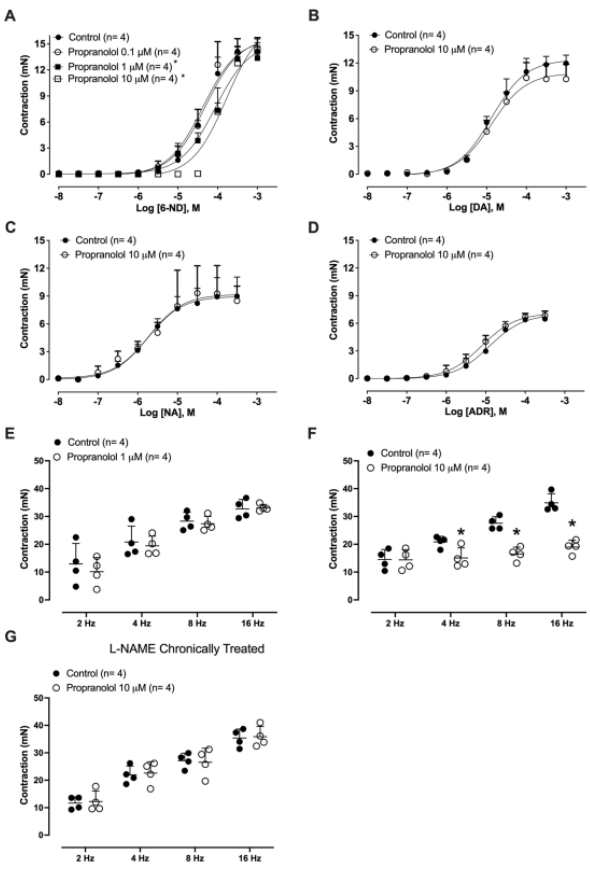

Figura 8: Gráficos referentes à resposta do RIEVD a propranolol.

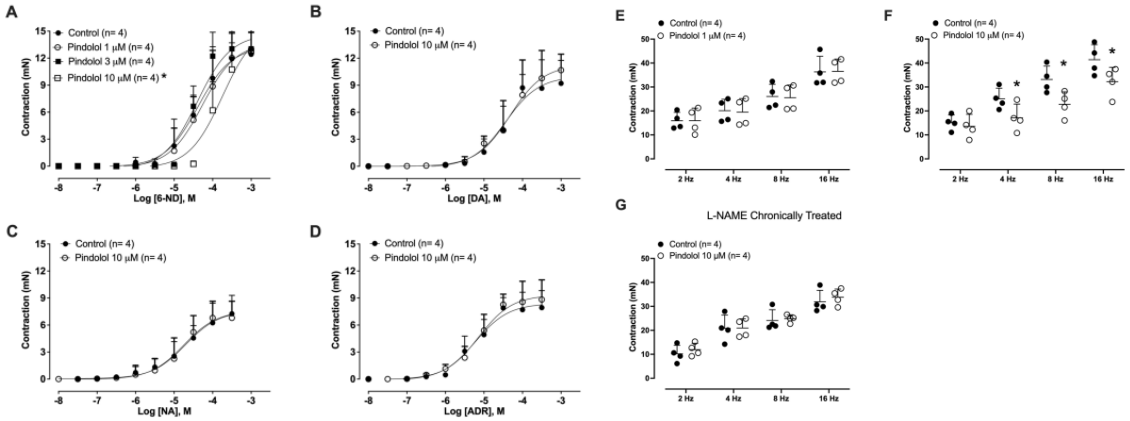

Figura 9: Gráficos referentes à resposta do RIEVD a pindolol.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que os antagonistas de receptor β1- e β1/β2-adrenérgico atuam como antagonistas de receptor de 6-ND no RIEVD, confirmando, assim, o papel principal da 6-ND na contratilidade do RIEVD.

Os autores agradecem à FAPESP e ao CAPES. RRC agradece à FAPESP pela bolsa de iniciação científica (2021/14120–4). Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

BIBLIOGRAFIA

Britto-Júnior J, Coelho-Silva WC, Murari GF, Serpellone-Nash CE, Mónica FZ, Antunes E, De Nucci G (2021a) 6-Nitrodopamine is released by human umbilical cord vessels and modulates vascular reactivity. Life Sci 1(276):119425. https://doi.org/10.1016/j.lfs. 2021.119425

Britto-Júnior J, Ximenes L, Ribeiro A, Fregonesi A, Campos R, Kiguti LRA, Mónica FZ, Antunes E, De Nucci G (2021b) 6-Nitrodopamine is an endogenous mediator of rat isolated epididymal vas deferens contractions induced by electric-feld stimulation. Eur J Pharmacol 1(911):174544. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174544

Britto-Júnior J, Ribeiro A, Ximenes L, Lima AT, Jacintho FF, Fregonesi A, Mónica FZ, Antunes E, De Nucci G (2022) Alpha1- adrenergic antagonists block 6-nitrodopamine contractions on the rat isolated epididymal vas deferens. Eur J Pharmacol 15(915):174716. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174716

Campos R, Pinheiro DHA, Britto-Júnior J, de Castro HA, Mendes GD, Moraes MO, Moraes MEA, Lopes-Martins RÁB, Antunes NJ, De Nucci G (2020) Quantifcation of 6-nitrodopamine in KrebsHenseleit's solution by LC-MS/MS for the assessment of its basal release from Chelonoidis carbonaria aortae in vitro. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 22(1173):122668. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122668

O'Meara J, White WB (1988) Ejaculatory failure and urinary dysfunction secondary to labetalol. J Urol 139(2):371–2. https://doi.org/ 10.1016/s0022-5347(17)42420-7Srilatha B, Adaikan PG, Arulkumaran S, Ng SC (1999) Sexual dysfunction related to antihypertensive agents: results from the animal model. Int J Impot Res 11(2):107–113. https://doi.org/10. 1038/sj.ijir.3900393