

**ESTUDIOS SOBRE TAQUIFILAXIS A LA MORFINA EN RATAS.
I. LOCALIZACION INDIRECTA DE EFECTO EN LOS NEURO-RECEPTORES E
INFLUENCIA DEL INTERVALO ENTRE DOSIS ***

Studies on Morphin Tachyphylaxis in Rats. I. Indirect localization of the effect in the neuroreceptors and influence of the time interval between doses.

RAFAEL PRIETO, MALVINA BERDICHESKY y JORGE ALDUNATE

*Instituto de Farmacología, Escuela de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 12967,
Santiago, Chile.*

Recibido para su publicación el 3 de Mayo de 1963

RESUMEN

En un trabajo anterior se había demostrado que en la rata la inyección intravenosa de morfina produce apnea, bradicardia e hipotensión reflejas. Este fenómeno se inicia en neuroreceptores del vago ubicados en el pulmón y presenta taquifilaxis. Con el objeto de excluir la posibilidad de que la taquifilaxis sea la consecuencia de acciones de la morfina en zonas del reflejo diversas de los neuroreceptores, se estudió si este fármaco modifica las respuestas respiratoria y cardiaca a la estimulación eléctrica del vago. Los resultados mostraron que la morfina no modifica la apnea ni la bradicardia, lo que representa un apoyo indirecto a la localización de la taquifilaxis en los neuroreceptores.

Se estudió asimismo la influencia que tiene el intervalo entre ambas dosis de morfina sobre la magnitud de la taquifilaxis, y se observó que ésta se mantiene máxima cuando el intervalo es de 15 a 60 minutos y que, cuando los intervalos son mayores, desciende linealmente con el logaritmo del tiempo, de modo que llega a ser nula cuando éste es de 8 horas.

INTRODUCCIÓN

En un trabajo anterior (1) se observó que en la rata la inyección intravenosa de morfina produce la estimulación de neuro-receptores ubicados en el territorio tributario de la circulación menor, cuya respuesta refleja consiste en apnea, bradicardia e hipotensión. Schmidt y Livingston (2) habían descrito este reflejo en perros y gatos, aunque sin referirse al sitio de su iniciación. Hemos podido demostrar que este reflejo presenta taqui-

filaxis (1), la que es influenciada por el intervalo de tiempo transcurrido entre la primera y la segunda inyección, así como por la magnitud de las dosis empleadas. En este mismo trabajo postulamos la hipótesis de que la taquifilaxis a la morfina tiene su localización en neuro-receptores periféricos. Esta hipótesis necesitaba ser sometida a prueba, pues un efecto de la droga en cualquier segmento del arco reflejo (vía centripeta, sinapsis centrales o vía eferente del vago), podría crear la impresión de una falsa taquifilaxis.

Para ubicar el sitio en el cual se produce la taquifilaxis se estudió la influencia de la morfina en las respuestas a la estimulación eléctrica del vago cervical.

Si la morfina no bloquease los efectos de estos estímulos, habría que pensar que el sitio de la taquifilaxis estuviera localizado en los neuro-receptores mismos.

En cuanto a la importancia del tiempo transcurrido entre dos dosis sobre la magnitud de la taquifilaxis observada en los efectos reflejos de la morfina, se había demostrado en un trabajo anterior (1) que ella crece linealmente con el logaritmo de la dosis inyectada entre 0,1 y 2,0 mg de morfina base por kg de peso corporal y que decrece con el tiempo transcurrido entre la primera y la segunda dosis cuando este lapso es de 1 o de 4 horas.

Como estas relaciones pueden servir como base para una teoría que explique la taquifilaxis, convenía ampliar la información, estudiando variaciones de tiempo mayores.

* Esta investigación fue financiada por la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Proyecto 59-5) y por la Fundación Rockefeller (Grant 60038), según programa conjunto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del sitio en el cual se produce la taquifilaxis a morfina. Con este objeto se practicó en ratas que habían recibido una dosis de morfina, la estimulación eléctrica del vago izquierdo o del cabo central de este cuando se había seccionado, estando el vago derecho intacto.

Los experimentos fueron realizados en un grupo de 12 ratas blancas adultas de ambos sexos de la colonia del Instituto. Como anestésico se empleó una solución de uretano al 10% administrada por vía intraperitoneal en dosis de 1 ml por cada 100 g de peso corporal. El nervio vago se aisló en el paquete vaso-nervioso del cuello. La respiración y la frecuencia cardiaca se inscribieron en un polígrafo Stoelting. Las inyecciones de morfina (1 mg de morfina base por kg de peso) se hicieron en una vena del muslo. La estimulación del vago se practicó con un electrodo bipolar utilizando un estimulador Textronix. Los estímulos fueron rectangulares de 5 V; de duración variable entre 0,02 y 20 milisegundos; y de frecuencia variable entre 12 y 200 por segundo. La estimulación se aplicó durante 3 segundos. En cada caso se eligió el estímulo mínimo que antes de administrar la droga fuera capaz de producir una apnea de 2,5 a 3,0 segundos de duración.

Estudio de la influencia del intervalo entre las dos dosis. En otro grupo de 23 animales en los que la anestesia y el registro de la respiración y de la frecuencia cardiaca se hicieron en igual forma que en el grupo anterior, se estudió la magnitud de la taquifilaxis en función del tiempo. Las dosis de morfina, administradas por vía intravenosa fueron de 0,8 mg de morfina base por kg de peso corporal, dosis que cuando se repite con una hora de intervalo produce taquifilaxis tal que el segundo efecto variaba entre 0 y 20% del inicial. Estas dosis iguales fueron administradas en cada animal con intervalos de 15, 30, 60, 120, 240 o 480 minutos.

En ambos grupos de experimentos, el efecto producido sobre la respiración se midió por la duración de la apnea, y el efecto sobre la frecuencia cardiaca por el tanto por ciento de disminución en el número de contracciones durante los 3 segundos que siguieron a la iniciación del efecto, o durante los segundos 5º a 7º inclusivos, posteriores a la inyección cuando el descenso de la frecuencia

no era apreciable a simple vista. La magnitud de la taquifilaxis se expresó en tanto por ciento de disminución del efecto de la segunda dosis inyectada en relación a la primera.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Localización del sitio en el cual se produce la taquifilaxis a la morfina. En 12 experimentos se estudió la influencia de la inyección de morfina sobre la duración de la apnea producida por estimulación del vago (en 8 casos el vago intacto y en 4, el cabo central del vago izquierdo seccionado). El promedio de la apnea antes de la administración de morfina fue de $2,8 \pm 0,3$ segundos, y 5 minutos después de la administración intravenosa de la morfina, aplicando un estímulo igual fue de $3,0 \pm 0,2$ segundos. En consecuencia, la administración de morfina no modificó la duración de la apnea refleja.

En los 8 experimentos en que se practicó la estimulación eléctrica sobre el vago intacto, la frecuencia cardiaca bajó a $31,7 \pm 5,3\%$ de la frecuencia previa y después de la inyección de morfina, la misma estimulación ocasionó un descenso a $36,0 \pm 5,7\%$. Estas cifras demuestran que la morfina, en las dosis empleadas, no modifica significativamente la respuesta cardiaca consecutiva a los estímulos vagales.

En 4 experimentos en los cuales se estimuló el cabo central del vago izquierdo seccionado, dejando intacto el derecho, antes de la administración de morfina la estimulación produjo una reducción de la frecuencia cardiaca a $68,5 \pm 4\%$ de la que existía previamente y 5 minutos después de inyectar morfina (1 mg/kg i.v.) la estimulación produjo una disminución de la frecuencia cardiaca a $71,5 \pm 5,8\%$ de la inicial. Estos resultados muestran que la morfina en las dosis estudiadas no ejerce una influencia apreciable en las

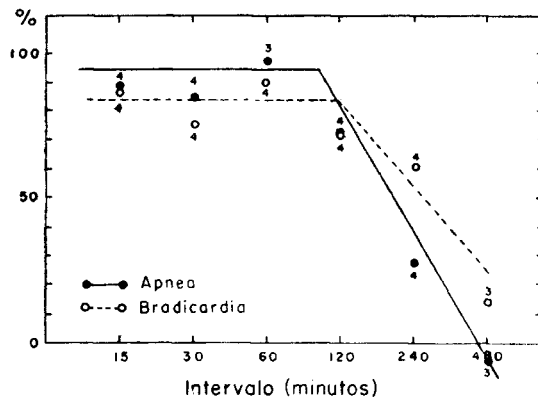


FIG. 1. Influencia del tiempo (escala logarítmica) que media entre dos dosis de 0.8 mg de morfina base por kg de peso corporal, administradas por vía venosa, sobre la magnitud de la taquifilaxis. En las ordenadas, tanto por ciento de la disminución del efecto sobre la apnea y sobre la frecuencia cardíaca considerando 100 el efecto de la primera dosis.

vías centrales que relacionan el vago centrípeto de un lado con el vago centrífugo del lado opuesto.

Por lo tanto, los resultados obtenidos excluyen la posibilidad de que la taquifilaxis que se observa para los efectos iniciales de la administración intravenosa de morfina, sea la consecuencia de un efecto en las sinapsis centrales o en las vías de conducción de este reflejo y, en consecuencia, puede concluirse que ella tiene lugar en los neuro-receptores periféricos del vago.

Influencia del intervalo entre las dosis. Los resultados del estudio de la influencia del tiempo transcurrido entre dos dosis de morfina sobre la magnitud de la taquifilaxis aparecen en la Fig. 1. En ella puede apreciarse que, tanto para la apnea como para la bradicardia, la taquifilaxis es de una magnitud vecina del 100% durante la primera hora, mientras que a partir de la segunda hora este valor decrece linealmente con el logaritmo del tiempo, hasta desaparecer alrededor de las 8 horas.

Si se expresa el intervalo (t) en el logaritmo del tiempo en minutos, el coefi-

ciente de regresión b de la línea representativa del fenómeno vale $6,5 \pm 2,2$ para la bradicardia y $-11,9 \pm 5,6$ para la apnea.

Si, según hemos postulado anteriormente, la taquifilaxis a la morfina es debida a la presencia en los neuro-receptores de una concentración del fármaco, o de uno de sus metabolitos, en concentraciones tales que impidan que se manifieste el efecto de una nueva dosis, los resultados demuestran que durante una hora esta situación se mantiene en un nivel suficiente para impedir casi totalmente el efecto de la segunda dosis y que esta concentración decrece posteriormente con el logaritmo del tiempo hasta desaparecer alrededor de las 8 horas.

La velocidad con que disminuye la taquifilaxis sugiere que el fenómeno responsable desaparece de acuerdo con una reacción de orden uno.

SUMMARY

In a previous paper (1) it was reported that the intravenous administration of morphine induced reflex apnoea, bradycardia and hypotension in the rat, effects which were observed by other authors in the cat and the dog (rev. in 2), and that this phenomenon is the consequence of the stimulation of vagus neuroceptors located in the thorax. This phenomenon exhibits tachyphylaxis.

In order to exclude actions of morphine in steps of the reflex different from the peripheral neuroceptors, experiments were performed to know whether or not a dose of morphine which could induce total tachyphylaxis (1 mg morphine base per kg of body weight) could influence the reflex apnoea induced by electrical stimulation of the vagal nerve and also the bradycardia provoked either by stimulation of the central end of the left sectioned vagus keeping the right one intact,

or by direct electrical stimulation of the entire left vagus nerve isolated in the neck.

In all the experiments an electrical stimulus which applied during three seconds induced an apnoea longer than 2.5 seconds, was employed. The stimuli were rectangular 5 V, 0.02 to 20 msec duration with a frequency of 12 to 200 per second.

The results showed no significant influence of this dose of morphine either on the duration of the apnoea (3.0 ± 0.2 versus 2.8 ± 0.3 sec) or on the reflex bradycardia (71.5 ± 5.8 versus $68.5 \pm 4.0\%$ of the previous frequency) or on the bradycardia induced by the stimulation of the intact vagus (36.0 ± 5.7 versus $31.7 \pm 5.3\%$ of the previous frequency).

These results support the idea that morphine tachyphylaxis is a phenomenon located in the peripheral neuroreceptors themselves.

It has been also reported (1) that the tachyphylaxis observed in the reflex apnoea and bradycardia induced by intravenous injections of morphine in rats, increased linearly with the log. of the doses and decreased with the time elaps-

ed between both equal doses, from one to four hours.

In this paper the influence of a wider range of time (15 minutes to 8 hours) between two doses of 0.8 mg of morphine base per kg of body weight, was studied.

The respiratory effect was evaluated by the duration of the apnoea, and the effect on the heart rate by the per cent of diminution of the cardiac contractions during the three seconds that followed the initiation of the effect or during the seconds 5th to 7th inclusives, when the effect was not initially clear.

The results (Fig. 1) showed that for intervals shorter than 60 minutes, the per cent of tachyphylaxis was constant and near 100%, but when the time elapsed between both doses was more than one hour, it decreased linearly with the log of the time, reaching the zero level at about 8 hours.

REFERENCIAS

- 1.—PRIETO, R.; ALDUNATE, J. y MARDONES, J. *Arzneimittelf.* **11**:665, 1961.
- 2.—SCHMIDT, C. F. y LIVINGSTON, A. E. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* **47**:411, 1933.