Caracterización y cuantificación del antagonismo farmacológico

J. Sallés y A. Badía

Departamento de Farmacología y Psiquiatría. Universitat Autònoma de Barcelona.

Introducción

La inhibición o prevención de las respuestas inducidas por agonistas se denomina antagonismo farmacológico, y a los agentes químicos que poseen estas propiedades se les denomina antagonistas. Los antagonistas se pueden clasificar de acuerdo con su cinética de interacción con los receptores. Así por ejemplo, un antagonista puede disociarse rápidamente del receptor produciendo un antagonismo reversible, o bien formar un enlace covalente con el receptor (por ejemplo, agentes alquilantes) para producir un antagonismo irreversible. De forma similar, el antagonismo irreversible puede también conseguirse por antagonistas que si bien no alquilan los receptores, se disocian muy lentamente de ellos (antagonismo seudoirreversible). Sin embargo, se considera que la clasificación de los antagonistas debe realizarse sobre la base de los mecanismos moleculares por los que antagonizan las respuestas de los agonistas. De acuerdo con esto se pueden establecer cuatro mecanismos generales por los cuales un antagonista puede inhibir la respuesta de un agonista.

En primer lugar, un fármaco puede interaccionar químicamente con el agonista y de esta forma prevenir la activación del receptor y por tanto la respuesta subsiguiente asociada; este mecanismo se denomina antagonismo químico o neutralización.

En segundo lugar, el antagonista se puede unir al mismo lugar de reconocimiento del receptor que el agonista e inhibir las respuestas del mismo; a este mecanismo se le denomina antagonismo competitivo.

En tercer lugar, el antagonista se puede unir a un lugar del receptor distinto de la zona de reconocimiento del agonista, pero a través de un mecanismo alostérico u otro puede prevenir la activación del receptor por el agonista; a este mecanismo se le ha denominado antagonismo no competitivo.

Finalmente, el antagonista puede interferir en algunos procesos subsiguientes a la activación del receptor por el agonista, inhibiendo la respuesta; este mecanismo se denomina antagonismo fisiológico o antagonismo funcional.

Las tres primeras categorías pueden ser descritas mediante modelos matemáticos relativamente sencillos, mientras que la cuarta clase de antagonismo puede tener una amplia variedad de mecanismos y por tanto pueden manifestarse diferentes efectos sobre las curvas concentración-respuesta del agonista. En este capítulo se perfilarán brevemente estos tipos de antagonismo, y se hará especial hincapié en el antagonismo competitivo reversible.

Antagonismo químico

El antagonista no produce sus efectos en virtud de una interacción con moléculas del organismo, sino como resultado de una reacción química con el agonista. En consecuencia éste pierde su capacidad para desarrollar su efecto («antagonismo por neutralización»). El antagonismo de la actividad anticoagulante de la heparina por la protamina, una proteína de bajo peso molecular con gran carácter básico, se combina con la heparina (de fuerte carácter ácido) formando una sal estable, disminuyendo la concentración libre de heparina y por tanto su actividad anticoagulante.

El principio del antagonismo por neutralización se ha utilizado extensamente en el tratamiento de las intoxicaciones causadas por metales pesados (por ejemplo, la acción del dimercaprol frente a los compuestos de arsénico).

El modelo matemático que nos permitiría conocer la fracción de fármaco libre en presencia de una determinada concentración de antagonista es el de la interacción reversible entre un fármaco y sus lugares de unión en las proteínas plasmáticas.

Antagonismo competitivo reversible

La condición en la cual el agonista y el antagonista se unen reversiblemente a los mismos sitios de reconocimiento del receptor, y de este modo cuando ambos se encuentran presentes compiten por tales sitios, se denomina antagonismo competitivo reversible. Gaddum¹ propuso las ecuaciones originales que predicen los efectos cuantitativos de un antagonista de este tipo sobre las curvas concentración-respuesta de un agonista.

Si consideramos las reacciones en equilibrio que describen la interacción de un agonista [A] y un antagonista competitivo [B] con los receptores libres [R]:

donde K_1 y K_2 son las constantes de velocidad de asociación y disociación de A o B por el receptor, y [AR] y [BR] son los complejos formados, receptor agonista y antagonista, respectivamente.

Por otro lado, si la población total de receptores viene dada por la suma de receptores libres [R] y receptores ocupados, tendremos:

1.
$$[R_t] = [R] + [AR] + [BR]$$

Cuando se alcanza la situación de equilibrio, la velocidad de asociación o formación de los complejos será igual a la velocidad de disociación de los mismos:

2.
$$K_{1A} \cdot [A] \cdot [R] = K_{2A} \cdot [AR]$$

despejando [R] en la ecuación 1 y substituyendo en la ecuación 2 tendremos:

$$K_{1A} \cdot [A] \cdot \{[R_t] - [AR] - [BR]\} = K_{2A} \cdot [AR]$$

ésta reordenada, da:

3.
$$\frac{[BR]}{[R_1]} = 1 + \frac{[AR]}{[R_1]} \left(1 + \frac{K_A}{[A]} \right)$$

donde $K_A = K_{2A}/K_{1A}$

Una ecuación análoga a la ecuación 3 puede obtenerse para la interacción en el equilibrio entre [B] y [R], y substituyendo la expresión del tipo [BR]/[R_t] en la ecuación 3 tenemos:

$$\frac{\mathsf{K}_{\mathsf{B}}}{[\mathsf{B}]} = \frac{[\mathsf{A}\mathsf{R}]}{[\mathsf{R}_{\mathsf{I}}]} \left\{ \left(1 + \frac{\mathsf{K}_{\mathsf{A}}}{[\mathsf{A}]} \right) \left(1 + \frac{\mathsf{K}_{\mathsf{B}}}{[\mathsf{B}]} \right) - 1 \right\}$$

donde K_B es la constante de disociación en el equilibrio para el antagonista.

La reordenación de la ecuación anterior proporciona la ecuación clásica para el antagonismo competitivo derivada por Gaddum¹:

4.
$$\frac{[AR]}{[R_t]} = \frac{[A]}{[A] + K_A (1 + [B]/K_B)}$$

Ésta nos ofrece la fracción de receptores ocupados por un agonista ([AR]/[R_t]) para cualquier concentración de agonista y antagonista. Esta ecuación predice que en presencia de un antagonista competitivo la fracción de receptores ocupados por el agonista será menor que en ausencia del antagonista, y esto es lógico puesto que la condición definida es que ambos fármacos compiten por los mismos receptores.

En 1937, Clark y Raventós² sugirieron para estimar la potencia antagonista de un fármaco «determinar la concentración de antagonista que produce un aumento seleccionado de la concentración de agonista necesario para inducir un determinado efecto». Esta sugerencia contiene la base del método aplicado posteriormente por Schild para el estudio del antagonismo competitivo de fármacos.

Medida de la potencia de un antagonista: regresión de Schild³

La estimación se realiza a partir de las concentraciones de agonista necesarias para producir respuestas iguales en el tejido, en ausencia y presencia del antagonista. Para describir los efectos de un antagonista competitivo sobre las respuestas a un amplio rango de concentraciones de agonista se utiliza el concepto de razón o razones de dosis, que se definen como los múltiplos del incremento en la concentración de agonista requerida para alcanzar una respuesta dada, al aumentar progresivamente la concentración de antagonista.

Si consideramos la ocupación de un receptor por un agonista [A] en ausencia de antagonista ([B]=0) de acuerdo con la ley de acción de masas tendremos:

$$\frac{[AR]}{[R_t]} = \frac{[A]}{K_A + [A]}$$

En presencia de antagonista, y tomando una concentración de agonista [A'] que produzca una misma respuesta que [A], puesto que presumiblemente y de acuerdo con la teoría de la ocupación deberá ocupar la misma fracción de receptores, tendremos:

$$\frac{[AR]}{[R_t]} = \frac{[A']}{[A'] + K_A (1 + [B]/K_B)}$$

La relación de concentraciones equiactivas de agonista en presencia y ausencia de antagonista (razón de dosis) viene dada por [A']/[A]. Así igualando las dos ecuaciones anteriores (iguales respuestas igual fracción de receptores ocupados) tendremos:

$$\frac{[A']}{[A]} = dr = \frac{[B]}{K_B} + 1$$

Esta ecuación cuantifica la relación existente entre el incremento en la concentración de agonista requerida para producir respuestas iguales en presencia de concentraciones crecientes de antagonista. Como puede observarse, la magnitud de la razón de dosis depende de dos factores: *a)* la concentración del antagonista [B], y *b)* la constante de disociación en el equilibrio K_B o afinidad del antagonista por el receptor. Puesto que la concentración de antagonista es conocida y la razón de dosis se determina experimentalmente, es posible calcular la constante de disociación del antagonista. Esto normalmente se realiza convirtiendo la ecuación en su forma logarítmica:

$$log (dr - 1) = log [B] - log K_B$$

La recta definida por esta ecuación es denominada *recta de Schild*.

Este tipo de análisis tiene dos aplicaciones específicas; la primera tiene como finalidad determinar la naturaleza competitiva del antagonismo y el cálculo de la constante de afinidad del antagonista; la segunda sirve como indicador de estados estacionarios de no equilibrio con respecto a la homogeneidad de la población de receptores, los mecanismos de disposición de los fármacos en el tejido, o de múltiples propiedades del fármaco. Estas últimas propiedades se discutirán específicamente en la próxima sección.

Si una regresión de log (dr-1) sobre log [B] es lineal y tiene una pendiente de la unidad quiere decir que presumiblemente el antagonismo es competitivo, es decir el agonista y el antagonista compiten por los mismos sitios de re-

conocimiento en el receptor, y entonces la intersección de la recta con el eie de abscisas representa —log K_B (pK_B); se trata de una estimación de la constante de afinidad del antagonista por el receptor. El término pK_R es el valor de —log B cuando la razón de dosis es igual a 2; por lo tanto, esto corresponde al valor de pA₂, un parámetro empírico definido como el logaritmo negativo de la concentración molar de antagonista que produce una relación de dosis de 2. Como puede observarse de la ecuación de Schild, el valor de pKB se corresponde con el valor de pA2, ahora bien, lo contrario no siempre es cierto. Sólo cuando la regresión de Schild es lineal y tiene una pendiente igual a la unidad el valor de pA2 representa la estimación de la constante de disociación en el equilibrio del antagonista.

El mejor método para determinar la potencia de un antagonista se realiza valorando los efectos del mismo sobre la curva completa concentración-respuesta del agonista. De este modo, tras la obtención de la curva para el agonista, éste es eliminado por repetidos lavados del tejido, y se incuba con una concentración conocida de antagonista y se vuelve a repetir la curva para el agonista. Normalmente, el antagonista si es competitivo produce un desplazamiento a la derecha de la curva concentración-respuesta al agonista. Bajo estas circunstancias, la relación de dosis equiactivas es independiente del nivel de respuesta. Estas razones de dosis, expresadas como log (dr-1), si se enfrentan a log [B] por un análisis de regresión lineal. se obtiene la llamada recta de Schild que nos permite calcular los valores de la pendiente v la constante de afinidad del antagonista por el receptor (fig. 1).

Un aspecto práctico concierne al rango de concentraciones de antagonista usado. Aunque es preferible usar un rango tan amplio como sea posible para obtener mayores fracciones de receptores ocupados, y también definir los límites del antagonismo competitivo, en general, concentraciones altas del antagonista pueden producir efectos no específicos que interfieran con dicho antagonismo.

En determinados tipos de experimentos, en los que es difícil poder realizar varias curvas concentración-respuesta con el agonista, bien porque no se puede eliminar dicho agonista en su totalidad tras sucesivos lavados, bien porque la corta vida del preparado no lo permite, se puede utilizar el siguiente método alternativo previamente descrito por Davis et al⁴ y posteriormente desarrollado en nuestro laboratorio⁵.

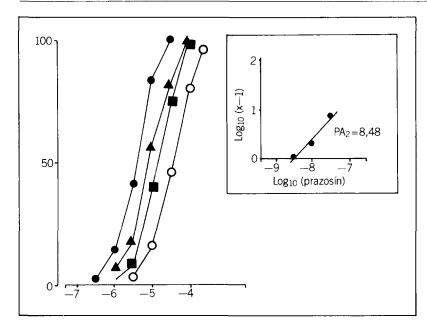


Fig. 1. Antagonismo de las curvas concentración-respuesta de fenilefrina por prazosín en la porción epididimal del conducto deferente de rata. (ullet -ullet)control; (▲—▲) en presencia de 3 nM de prazosín; (■ — ■) en presencia de 10 nM de prazosín y (O--O) en presencia de 30 nM de prazosín. En el recuadro aparece la regresión de Schild para el cálculo del pA2.

Dicho procedimiento consiste en realizar una curva concentración-respuesta con el agonista tras la cual se puede recuperar el estado basal del preparado por la adición acumulativa del antagonista, con lo que se puede obtener a su vez una curva concentración-respuesta de recuperación para el antagonista (fig. 2). Mediante el cálculo por interpolación en la curva control de las concentraciones de agonista equivalentes a la respuesta recuperada es posible determinar para cada preparado varias razones de dosis que nos permitan elaborar la correspondiente recta de Schild, y con ello obtener los valores de la pendiente y la constante de afinidad del antagonista por el receptor.

Regresiones con pendientes diferentes de la unidad

El hecho de que los datos experimentales se ajusten a la ecuación de Schild con pendientes diferentes de la unidad puede significar que nos encontremos en una de las siguientes situaciones: a) el antagonismo no es competitivo; b) la naturaleza competitiva del antagonismo está enmascarada por algún mecanismo de disposición del fármaco, o algún mecanismo que produzca estados estacionarios fuera del equilibrio; c) se ejerce el antagonismo competitivo sobre dos tipos de receptores (población heterogénea de re-

ceptores) los cuales desarrollan al activarse la misma respuesta en el tejido, y d) otras propiedades de los fármacos que dependen de las concentraciones utilizadas al realizar la valoración. En general, la primera alternativa se considera sólo después de la eliminación de los otros supuestos.

Utilización del análisis de Schild para detectar estados estacionarios de no equilibrio^{6,7}

La ecuación de Schild, como comentamos anteriormente, define la relación entre el desplazamiento a la derecha de la curva concentración-respuesta al agonista y la concentración de antagonista. De esta forma, puede ser un indicador muy sensible de los efectos secundarios (además de los efectos sobre el receptor) de los fármacos (el agonista y/o el antagonista).

En general, se sabe que muchos tejidos poseen mecanismos de eliminación del agonista de la biofase, produciendo una subestimación de la potencia del agonista. La detección de estos mecanismos es fundamental en el análisis de receptores, y pueden obviarse farmacológicamente por inclusión en el medio de incubación de un inhibidor del proceso de eliminación del agonista. Un aspecto práctico es la detección del proceso cuando no se dispone del inhibidor. Si el proceso de eliminación (por ejemplo la recaptación neuronal) es saturable, podemos aproximarnos al problema mediante el análisis de Schild. Así, en ausencia de antagonista, en un tejido con mecanismos de eliminación del agonista, la curva concentraciónrespuesta se produce sobre la base de la concentración remanente o residual de agonista. En presencia del antagonista al tener que utilizar concentraciones más elevadas del agonista, éstas pueden ser suficientes para saturar el proceso de eliminación del agonista, produciéndose una subestimación del antagonismo. En efecto, la sensibilización del tejido al agonista al saturarse el proceso de eliminación provoca que el antagonismo sea abolido parcialmente. lo cual produce razones de dosis más bajas que las predecidas por la ecuación de Schild y pendientes menores de la unidad.

Existen estados estacionarios de no equilibrio que pueden producir regresiones con pendientes mayores de la unidad. Por ejemplo, la elección inadecuada del período de tiempo de incubación del antagonista con el receptor produce estas regresiones. Ello se debe a que la velocidad de asociación del antagonista al receptor es concentración-dependiente, por lo tanto las concentraciones bajas requieren un mayor tiempo de incubación que las concentraciones altas para alcanzar el equilibrio. Así, el efecto de las dosis bajas puede subestimarse de forma considerable mientras que esto no sucede en las dosis altas. Este tipo de error se traduce en un aumento de la pendiente de la recta de Schild.

De cualquier forma, existen también situacicones en las cuales estos estados estacionarios de no equilibrio pueden producir rectas de Schild con pendientes iguales a la unidad. Una situación de este tipo se presenta cuando el período de incubación para el antagonista es insuficiente debido a que la difusión del antagonista a la biofase es un paso limitante. Las regresiones son lineales, con pendientes de valor próximo a la unidad, pero desplazadas a la derecha.

Antagonismo de una población heterogénea de receptores^{6,7}

El antagonismo competitivo asume que se encuentran en equilibrio el agonista, el antagonista y una población homogénea de receptores. Si, de cualquier forma, la población de receptores responsables de la respuesta es heterogénea con respecto a la unión del agonista o antagonista, o ambos, se pueden obtener desviaciones de la ecuación de Schild.

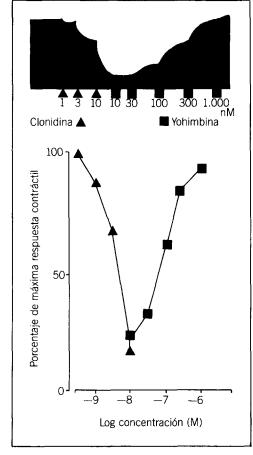


Fig. 2. Curvas concentración-respuesta del efecto inhibidor de la respuesta contráctil inducida por estimulación eléctrica de la porción prostática del conducto deferente de rata tras la activación de los adrenoceptores α_2 presinápticos por clonidina y su antagonismo por yohimbina.

El caso más típico es aquél en el que la regresión de Schild para un antagonista varía al cambiar el agonista con el que se realiza la curva.

Si consideramos, por ejemplo, un tejido con dos tipos de receptores que al activarse producen el mismo tipo de respuesta, un agonista que estimula ambos receptores con igual o diferente afinidad y/o actividad intrínseca, y asumimos que los estímulos son aditivos, la localización (a lo largo del eje de las x) y la pendiente de la recta de Schild para un determinado antagonista dependerá de: a) el estímulo relativo de los recep-

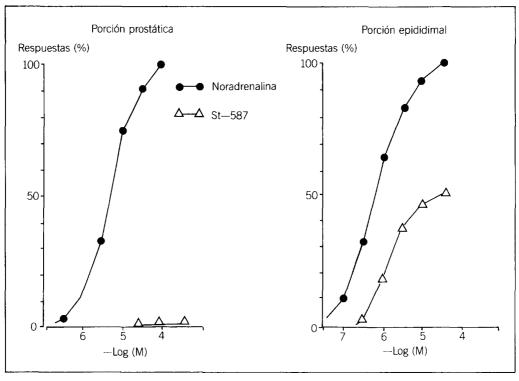


Fig. 3. Respuesta contráctil inducida por el agonista parcial de los adrenoceptores α_1 , St-587, y la noradrenalina sobre las porciones prostática y epididimal del conducto deferente de rata.

tores activados por el agonista (la afinidad y actividad intrínseca relativa del agonista por cada receptor); b) la afinidad relativa del antagonista por cada receptor, y c) las proporciones relativas de cada receptor (así como la eficiencia de acoplamiento).

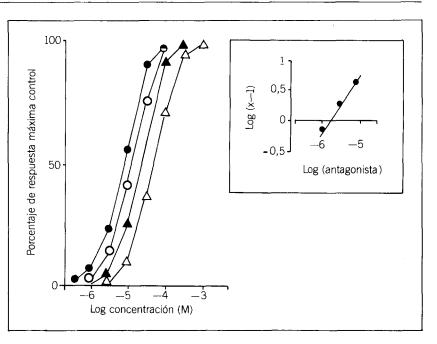
En general, esto produce rectas de Schild compuestas de porciones lineales con pendientes de la unidad y porciones no lineales de pendientes menores a la unidad. Dos hechos notables destacan de estas regresiones: el primero es que la localización de la recta de Schild depende de la importancia relativa de los dos tipos de receptores y esto no sólo está relacionado con la densidad de cada uno de ellos sino también con la eficacia de los mecanismos de acoplamiento a la respuesta de cada receptor; el segundo es que estas regresiones contienen una porción considerable que es lineal, lo cual puede producir errores de interpretación. Este tipo de error puede subsanarse midiendo razones de dosis menores de 10 y así determinar la posible no linealidad.

Detección de otras propiedades de los fármacos

Generalmente se asume que un fármaco tiene una actividad primaria y se le considera como selectivo. Sin embargo, existen fármacos que tienen varias propiedades que son aparentes o manifiestas en el mismo rango de concentraciones. La regresión de Schild puede ser útil para detectar este tipo de casos.

Un ejemplo claro es el de la amitriptilina, la cual en un mismo margen de concentración inhibe la recaptación neuronal de ciertos agonistas α -adrenérgicos, y es un antagonista α -adrenérgico. Como resultado de esto, la sensibilización del tejido al agonista que podría producir la amitriptilina (al inhibir el mecanismo de eliminación del agonista) queda suprimida por la potencia de este compuesto como antagonista α -adrenérgico. La regresión de Schild puede ser útil para diferenciar un mecanismo de otro. Así, si estudiamos el antagonismo de las curvas concentración-respuesta para un agonista α -adre-

Fig. 4. Antagonismo de las curvas concentración-respuesta de fenilefrina por el agonista parcial de los adrenoceptores α_1 , St-587, en la porción prostática del conducto deferente de rata. (●---) control; (O-O) en presencia de 1 µM de St-587; (▲—▲) en presencia de 3 μM de St-587 y (Δ - Δ) en presencia de 10 μM de St-587. En el recuadro aparece la regresión de Schild para el cálculo del pA2.



nérgico por un antagonista conocido en presencia de amitriptilina, observaremos una disminución de la potencia del antagonista conocido, lo cual nos estará indicando la segunda propiedad de la amitriptilina⁸.

Antagonismo competitivo por agonistas parciales

Los agonistas parciales se definen como fármacos que producen respuestas del tejido submaximales y que antagonizan competitivamente los efectos de los agonistas de mayor actividad intrínseca (véase el capítulo anterior de esta monografía). Debe remarcarse que el efecto estimulante del agonista parcial debe obtenerse con las mismas concentraciones que produce el antagonismo, puesto que ambas resultan de la interacción del agonista parcial con el receptor. En la figura 3 se muestra la actividad agonista parcial de una imidazolina, como el St-587, sobre los adrenoceptores α_1 en la porción epidimidal del conducto deferente de rata. En la misma figura puede verse la ineficacia de este compuesto para estimular la porción prostática del mismo órgano. Este diferente comportamiento del St-587 en cada una de las porciones del conducto deferente de rata es consecuencia de las diferencias en la eficiencia de los mecanismos de acoplamiento estímulo-respuesta en cada

uno de los tejidos. De este modo, en un tejido como la porción prostática, es posible determinar la constante de afinidad para el agonista parcial mediante el análisis de Schild⁹ (fig. 4).

Un método utilizado para evitar los errores en la estimación de la constante de afinidad del agonista parcial a partir de la curva concentración-respuesta que genera consiste en deprimir parcialmente la capacidad de respuesta del tejido (por ejemplo, alquilación parcial de la población de receptores) de forma que el agonista parcial no produzca respuesta, mientras se conserve la respuesta a un agonista de mayor actividad intrínseca. Llegados a este punto es posible cuantificar la constante de afinidad del agonista parcial mediante el análisis de Schild ya que se comportará como un antagonista competitivo¹⁰.

Antagonismo irreversible

Se considera antagonismo irreversible al que no puede ser revertido por sucesivos lavados del tejido con solución nutricia libre de antagonista. Un efecto de este tipo se observa con los antagonistas que forman un enlace químico con el receptor; por ejemplo, las β -haloalquilaminas forman especies reactivas cuando se encuentran en solución (iones aciridinio) que alquilan diversas proteínas. La característica del antagonismo irreversible es su dependencia con res-

pecto al tiempo, de forma que cuanto mayor es el contacto del antagonista con el tejido mayor es la magnitud del antagonismo observado. Ya que la velocidad de disociación de los complejos formados es insignificante comparada con la velocidad de asociación, el grado de alquilación del receptor es tiempo-dependiente. Por lo tanto, todas las estimaciones de la potencia del antagonista han de tener en cuenta el tiempo de incubación. Los antagonistas irreversibles producen efectos sobre las curvas concentración-respuesta al agonista similares a los antagonistas no competitivos, una depresión del efecto máximo que no es remontable al aumentar la concentración de agonista. De cualquier forma, no puede hacerse una estimación de la constante de afinidad del antagonista irreversible por el receptor, puesto que no se llega a alcanzar el equilibrio termodinámico durante el transcurso del experimento farmacológico. Además, las estimaciones suelen ser también tejidodependiente, no receptor-dependiente; debido a la velocidad de difusión en el tejido, formación especies reactivas, etc.

Antagonismo no competitivo

Otro tipo de antagonismo de la respuesta del agonista es la producida por la interacción del antagonista con un lugar íntimamente relacionado con el receptor, pero distinto del de reconocimiento del agonista, con lo que anula la acción del agonista. Contrariamente al antagonismo competitivo, en el cual un exceso en la concentración de agonista permite una ocupación máxima de los receptores en presencia del antagonista, el antagonista no competitivo produce una depresión del efecto máximo de las curvas concentración-respuesta al agonista, es decir no es remontable. Esta depresión puede utilizarse para determinar la afinidad del antagonista no competitivo. En cualquier caso, los efectos resultantes sobre las respuestas del agonista en diversos tejidos pueden diferir considerablemente, debido a los efectos de la distinta eficiencia de acoplamiento estímulo-respuesta entre ellos.

La actividad de un antagonista no competitivo se expresa como el valor de pD'2, definido como el logaritmo negativo de la concentración molar de antagonista que produce una reducción del 50% de la respuesta del agonista.

Antagonismo funcional

Se habla de antagonismo funcional o fisiológico cuando 2 agonistas, interactuando con sus

propios receptores, causan efectos que se contrarrestan, y éstos se producen sobre el mismo sistema efector. El nombre de antagonismo funcional se utilizó originalmente para la relación antagónica de los impulsos nerviosos simpáticos y parasimpáticos sobre un órgano efector. El análisis cuantitativo de las interacciones funcionales es difícil y complicado, pero se puede conseguir en algunos casos (para más información véase Kenakin, 198711). De todas formas, el uso de las interacciones funcionales se ha utilizado como estrategia para producir modificaciones importantes de la respuesta primaria a un agonista; en general la respuesta puede ser bloqueada o potenciada. Frecuentemente se utiliza el antagonista funcional para deprimir la respuesta del órgano a un agonista parcial (pero no a un agonista de mayor actividad intrínseca) de forma que en esta situación se comporte como un antagonista competitivo y podamos determinar la constante de afinidad del mismo mediante el análisis de Schild, tal y como se ha comentado en apartados anteriores.

BIBLIOGRAFÍA

- Gaddum JH. The quantitative effects of antagonistic drugs. J Physiol 1937; 89: 7-9.
- 2. Clark AJ, Raventós J. The antagonism of acetylcholine and of quaternary ammonium salts. Quart J Exp Physiol 1937; 26: 375-392.
- 3. Arunlakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. Br J Pharmacoi 1959; 14: 48-58.
- 4. Davies C, Conolly ME, Greenacre JK. β -adrenoceptors in human lung, bronchus and lymphocytes. Br J Clin Pharmacol 1980; 10: 425-432.
- Badía A, Bermejo P, Jané F. Pre- and postsynaptic effects of sulpiride in the rat isolated vas deferens. J Pharm Pharmacol 1982; 34: 266-268.
- Kenakin TP. Schild regressions as indicators of non-equilibrium steady-states and heterogeneous receptor populations. Trends Pharmacol Sci 1985; 6: 68-71.
- Kenakin TP. The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. Pharmacol Rev 1984; 36: 165-221.
- 8. Kenakin TP, Beek D. The measurement of antagonist potency and the importance of selective inhibition of agonist uptake processes. J Pharmacol Exp Ther 1981; 219: 112-120.

9. Badía A, Salles J. Effects of St-587 on the α_2 and α_1 -adrenoceptors in the bisected rat vas deferens. 1988 (en preparación).

 Kenakin TP, Beek D. The measurement of the relative efficacy of agonists by selective potentiation of tissue responses: studies with isoprenaline and prenalterol in cardiac tissue. J Auton Pharmacol 1984; 4: 153-159.

 Kenakin TP. Functional antagonism and synergism. En: Kenakin TP, ed. Pharmacological analysis of drug-receptor interaction. Nueva York, Raven Press, 1987: 245-257.

DISCUSIÓN

J. GARZÓN: Está claro que de la exposición del Dr. Sallés se desprende que la utilidad de los antagonistas en la definición de las características de los receptores queda bastante limitada a unas condiciones tipo. Un aspecto que me interesa particularmente es la determinación de la constante de afinidad. El método clásico del pA2 a través del cual puede conocerse esta constante ¿da resultados comparables a lo expuesto anteriormente con el bloqueo en situaciones de receptores de reserva? El interés de esta cuestión radica en que el uso de antagonistas sólo es posible en determinados sistemas o preparaciones.

J. SALLES: La estimación de la potencia del antagonista no dependerá de la eficiencia de los mecanismos de acoplamiento del receptor a la respuesta, puesto que siempre medimos efectos iguales. Esto dependerá en todo caso de la potencia del antagonista, de su constante de disociación y de la concentración utilizada; es decir, que el nivel de reactividad del tejido no influirá la estimación de la constante de afinidad del antagonista.

A. GARCÍA: Yo vuelvo a insistir en cuestiones de tipo práctico. Por ejemplo, cuando el agonista es el calcio ¿se puede hacer un análisis similar de la valoración de varios calcioantagonistas que actúan por distintos mecanismos aplicando la fórmula de Schild y determinando el pA2, por ejemplo en el caso del diltiacem, el verapamil, la cinaricina o de una dihidropiridina como la nifedipina? Me imagino que sí se podrá hacer, pero ¿es correcto ese análisis?

J. SALLÉS: Solamente sería correcto si los diversos antagonistas del calcio actuaran exactamente en el mismo lugar dentro de los mecanismos reguladores de la entrada de calcio.

A. GARCÍA: Es evidente que en este caso el concepto de receptor no se puede aplicar a este mecanismo farmacológico porque estos agentes actúan en distintos lugares dentro de la estructura macromolecular del canal del calcio que todavía no están muy precisados, y en rea-

lidad no son en rigor calcioantagonistas, simplemente favorecen la apertura o el cierre de canales del calcio, regulando de esta forma la cantidad de calcio accesible a la maquinaria contráctil. Por eso me preguntaba si éste sería un buen mecanismo para analizar farmacológicamente.

A. BADÍA: Quisiera hacer un comentario. Creo que es bastante importante el que se puedan aplicar los conceptos básicos de la ley de acción de masas a la interacción entre el fármaco y el receptor. Me imagino que en el caso de los antagonistas del calcio la complejidad de la interacción es bastante mayor. Esto no descarta que pueda estimarse un pA2 aproximado y éste pueda ser utilizado como índice de potencia, pero sin pretender afirmar que realmente exprese un concepto de afinidad del fármaco por el receptor.

P. SÁNCHEZ-BLÁZQUEZ: Simplemente una aclaración. Es bien sabido que el uso de antagonistas es uno de los métodos más utilizados para discriminar entre receptores y se ha descrito también que distintos receptores pueden estar presentes en proporciones diferentes en los diversos tejidos. Quisiera saber en opinión del Dr. Sallés ¿cuál sería el mejor abordaje cuando existen varios tipos de receptores y se dispone de un antagonista que también es capaz de unirse a varios de ellos y con distintas afinidades?

J. SALLÉS: Creo que el mejor abordaje consistiría en recurrir a estudios de desplazamiento de la fijación específica de un radioligando, por ejemplo un antagonista que no fuera específico por ninguno de los dos tipos de receptores, que marcara a ambos.

J.M. BÁEYENS: Quisiera volver de nuevo a la cuestión suscitada por el Dr. García. Nosotros en Granada llevamos a cabo un estudio diseñado para evaluar si los gráficos de Schild podían obtenerse valorando el antagonismo de la contracción inducida por calcio, en tejido despolarizado con potasio, en presencia de verapamil y diltiacem. Y los resultados fueron bastante curiosos porque aparentemente existe un antagonismo competitivo, puesto que se observa un desplazamiento hacia la derecha de la curva dosis-respuesta, pero al hacer un análisis de Schild las pendientes no son de 1 sino que son inferiores en los 2 casos estudiados, verapamil y diltiacem. Una revisión de los estudios parecidos a nivel vascular con estos 2 fármacos reveló que curiosamente se

- encontraban desde antagonistas competitivos prácticamente puros, con pendientes de 1, hasta antagonismos no competitivos pero también con pendiente de 1. Indudablemente este aspecto merece ser estudiado con mayor detalle.
- J. SALLÉS: Posiblemente se trata de un antagonismo de tipo funcional cuyo análisis es más complicado.