

Table II. Ethanol levels in blood following withdrawal from exposure to ethanol vapor and acute or chronic treatment with Δ^9 -THC (see Methods)

Time after withdrawal (h)	Blood ethanol (mg/ml)			
	Acute		Chronic	
	Vehicle	Δ^9 -THC	Vehicle	Δ^9 -THC
1.5	0.86 $\pm$ 0.04	0.85 $\pm$ 0.08	1.08 $\pm$ 0.27	1.09 $\pm$ 0.16
2.0	0.75 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.06	0.96 $\pm$ 0.26	0.96 $\pm$ 0.16
3.0	0.53 $\pm$ 0.05	0.54 $\pm$ 0.03	0.75 $\pm$ 0.24	0.70 $\pm$ 0.16
4.0	0.35 $\pm$ 0.06	0.39 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.22	0.46 $\pm$ 0.13
5.0	0.23 $\pm$ 0.06	0.24 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.23	0.31 $\pm$ 0.10

Each value represents the mean $\pm$ SEM of 3 animals. All values obtained with Δ^9 -THC are not significantly different from the corresponding control (Student *t*-test).

to the control animals receiving the vehicle (acute study, Day 4, Table I); the period for recovery was also prolonged in the Δ^9 -THC group. To determine whether or not this effect was due to properties intrinsic to Δ^9 -THC (as seen with several other compounds⁶), convulsions on handling were scored in separate groups of animals not exposed to ethanol but were given Δ^9 -THC with or without 3-day pretreatment with pyrazole. In either case the scores were minimal (0.6 to 0.7) and began to diminish 1 to 2 h after administration; these findings could not, therefore, account for the prolonged facilitation of withdrawal seizures by Δ^9 -THC seen in Figure 1. Our results contrast with those reported previously³ in which synhexyl, a synthetic THC derivative, lessens withdrawal symptoms in alcoholics. On the other hand, the above data indirectly confirm the findings of GOLDSTEIN⁶ indicating that drugs which modify brain catecholamine

levels intensify ethanol withdrawal seizures. Δ^9 -THC has been shown to manifest a dose-dependent modification of brain norepinephrine levels in mice^{8,9}. Moreover, a fluctuation of norepinephrine and dopamine levels in the brain during the first 12 h of withdrawal was observed in mice exposed to ethanol vapor for 3 days¹⁰. Recently, it was found that Δ^9 -THC also facilitates minimal seizures induced by pentylenetetrazol (PTZ)¹¹. Reserpine which is known to enhance PTZ convulsions¹² has also been reported to facilitate alcohol withdrawal seizures⁶.

When Δ^9 -THC was given chronically to mice undergoing ethanol addiction (chronic study, Days 1 to 3, Table I), the resulting withdrawal response was not significantly different from that seen in the vehicle control (Figure 2).

To examine the possibility that Δ^9 -THC could effect the disappearance of ethanol after withdrawal, blood ethanol levels were monitored during this period. As indicated in Table II, no significant difference was found between the vehicle control and the THC group in either the acute or chronic study.

Our findings indicate variable interactions between Δ^9 -THC and ethanol: acute injection of Δ^9 -THC affects the withdrawal, whereas chronic administration produces no significant effect on the dependence and hence the withdrawal. This implies that addiction and withdrawal are manifestations of different biological processes. It is hoped that these studies will stimulate further investigation into the combined effects of alcohol and marijuana.

⁸ D. HOLTZMAN, R. A. LOVELL, J. H. JAFFE and D. X. FREEDMAN, *Science* 163, 1464 (1969).

⁹ B. T. HO, D. TAYLOR, G. E. FRITCHIE, L. F. ENGLERT and W. M. McISAAC, *Brain Res.* 38, 163 (1972).

¹⁰ H. R. MATTHEWS and E. MISSIRLIS, *Trans. Am. Soc. Neurochem.* 5, 159 (1974).

¹¹ R. KARLER, W. CELY and S. A. TURKANIS, *Life Sci.* 15, 931 (1974).

¹² G. CHEN, C. R. ENSOR and B. BOHNER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 86, 507 (1954).

Sur l'inversion de l'action hypertensive de la prostaglandine $F_{2\alpha}$, chez le rat¹

Reversal of the Pressor Effect of $PGF_{2\alpha}$ in the Rat

J. DAMAS

Institut Léon Frédéric, Physiologie humaine, normale et pathologique, Université de Liège, 17, place Dêlcour, B-4020 Liège (Belgium), 14 janvier 1976.

Summary. In normal rats, prostaglandin $F_{2\alpha}$ is a potent vasoconstrictor. The corresponding systemic hypertension is progressively attenuated by tachyphylaxis, revealing a longlasting fall of blood pressure. Tachyphylaxis is accelerated by previous injection of arachidonic acid and bradykinin. The vasodepressive activity of $PGF_{2\alpha}$ is inhibited by indomethacin.

Les prostaglandines E et A sont vasodilatatrices et hypotensives. Par contre, l'activité cardiovasculaire de la prostaglandine $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) est variable selon l'espèce animale: la $PGF_{2\alpha}$ est vasodépressive chez le Chat et le Lapin, hypertensive chez le Chien². Chez le Poulet anesthésié, elle déclenche selon l'animal et la dose, des modifications de trois types: hypertension artérielle, hypotension ou réponse biphasique hypertension-hypotension. Chez le Poulet spinal, elle est uniquement hypertensive³. Chez le Rat, elle augmente la pression artérielle suite à son pouvoir vasoconstricteur périphérique^{2,4-6}.

En étudiant chez le Rat les interactions entre les activités cardiovasculaires de la bradykinine et celles de la $PGF_{2\alpha}$, nous avons observé que trois conditions expéri-

mentales au moins permettent d'inverser l'hypertension artérielle liée à cette prostaglandine, la transformant en une action hypotensive. En voici la description.

¹ Nous remercions vivement le docteur PIKE (Upjohn, Kalamazoo) qui nous a fourni gracieusement ces prostaglandines.

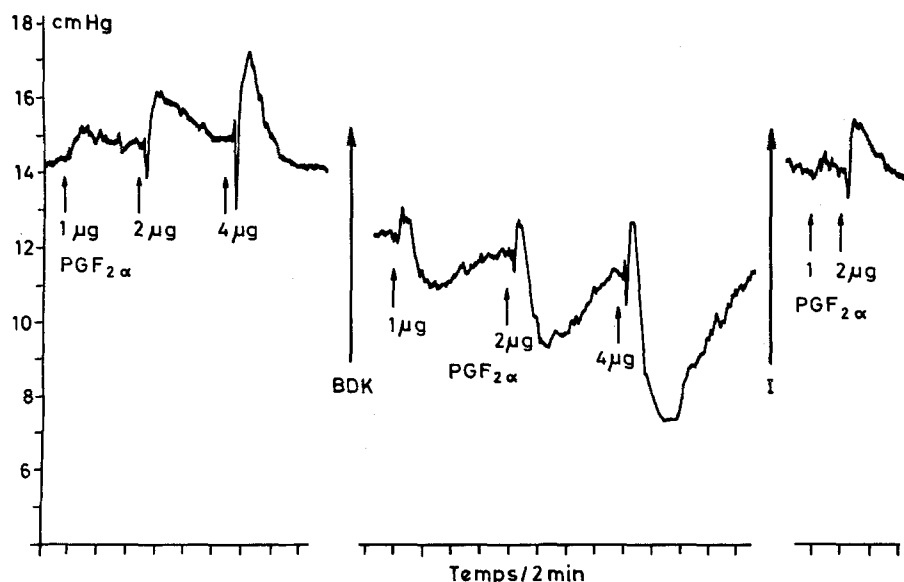
² J. NAKANO, in *The Prostaglandins* (Ed. P. W. RAMWELL; Plenum Press, New York 1973), vol. 1., p. 239.

³ E. W. HORTON et I. H. M. MAIN, *Br. J. Pharmac.* 30, 568 (1967).

⁴ D. W. DUCHARME, J. R. WEEKS et R. G. MONTGOMERY, *J. Pharmac. exp. Ther.* 160, 1 (1968).

⁵ M. G. VIGUERA et F. A. SUNAHARA, *Can. J. Physiol. Pharmac.* 47, 627 (1969).

⁶ E. ELLIS et P. HUTCHINS, *Prostaglandins* 7, 345 (1974).



Rat de 320 g, anesthésié au pentobarbital sodique (3 mg/100 g, i.p.) et hépariné (20 mg/kg). Enregistrement de la pression artérielle. En ordonnées, la pression en cm de Hg; en abscisses, le temps en 2 min. Injection de $\text{PGF}_2\alpha$ et d'indométhacine (I, 4.5 mg/kg) et infusion lente de bradykinine (BDK 100 $\mu\text{g/kg}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 ml en 4 min). La PGF_2 exerce une action hypertensive en début d'expérience. Après infusion lente de bradykinine, l'action cardiovasculaire de la PGF_2 est inversée. Cette inversion est supprimée par l'indométhacine.

Nous utilisons des rats albinos d'un poids moyen de 300 g, anesthésiés au pentobarbital sodique (3 mg/100 g). La pression artérielle est enregistrée à l'une des carotide primitive. Les injections i.v. sont effectuées par des cathéters introduits dans les 2 jugulaires. Les rats sont héparinés au début de l'expérience (5 à 40 mg/kg). Ils sont trachéotomisés et respirent spontanément.

Les prostaglandines E_2 et $\text{F}_{2\alpha}$ ¹ sont dissoutes dans l'éther de pétrole et conservées à 4°C; une partie aliquotée est prélevée au début de l'expérience, évaporée sous azote et redissoute dans NaCl 0.9 g/100 ml. La bradykinine triacétate Sigma et l'acide arachidonique Sigma sont aussi utilisées. L'indométhacine (Indocid Merck, Sharp & Dohme) est extemporanément dissoute dans une solution saturée en carbonate de sodium, ajustée à pH 7,4 par HCl 1 N et amenée à la concentration de 1 mg/ml dans NaCl 0.9 g/100 ml.

En début d'expérience, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ déclenche une augmentation transitoire de la pression artérielle, d'intensité et de durée proportionnelles à la dose. Cette phase hypertensive peut atteindre jusqu'à 5 cm Hg pour 24 $\mu\text{g/kg}$. Les doses liminaires varient, selon l'animal, de 4 à 8 $\mu\text{g/kg}$. Lorsque la quantité administrée dépasse 15 $\mu\text{g/kg}$, l'hypertension est précédée d'une chute immédiate de la pression artérielle, de brève durée (de 15 à 20 sec). L'hypertension artérielle n'est pas modifiée par l'indométhacine (5 mg/kg). Ces résultats sont en accord avec ceux d'ELLIS et HUTCHINS⁶.

Les réinjections successives de 15 $\mu\text{g/kg}$ de $\text{PGF}_{2\alpha}$, de 10 en 10 min environ, modifient ces réponses vasomotrices. La chute initiale brève est toujours présente, mais les clochers hypertenseurs diminuent progressivement d'amplitude jusqu'à parfois disparaître, révélant ainsi une troisième phase hypotensive tardive, d'importance croissant avec les réinjections. Chez un rat qui a finalement reçu 200 $\mu\text{g/kg}$, les modifications de la pression artérielle comprennent ainsi une chute initiale immédiate, suivie du retour de la pression à son niveau de départ, puis une hypotension tardive, d'établissement plus lent. Cette dernière est proportionnelle à la dose; pour 16 $\mu\text{g/kg}$, elle atteint 3 à 5 cm Hg et dure de 4 à 8 min. Son amplitude n'est pas modifiée par la vagotomie bilatérale. A ce stade, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ est devenue essentiellement hypotensive.

L'indométhacine inhibe la phase hypotensive de longue durée déclenchée par la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Après indométhacine,

la $\text{PGF}_{2\alpha}$ n'exerce plus alors qu'une action hypertensive; celle-ci cependant est sujette à tachyphylaxie comme chez le Rat intact. Les doses nécessaires (4 à 5 mg/kg) sont notamment supérieures à celles qui font disparaître le pouvoir hypotenseur de l'acide arachidonique lié chez le Rat à la formation des PG endogènes⁷.

Chez le Rat fortement hépariné (20 à 50 mg/kg) qui réagit à l'acide arachidonique (2,5 à 5 mg/kg) par une chute importante et durable de la pression artérielle⁸⁻¹⁰, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ injectée ultérieurement est d'emblée hypotensive (15 $\mu\text{g/kg}$). Le clocher hypertenseur a disparu. Cette hypotension est supprimée par l'indométhacine (4 à 5 mg/kg).

Le Rat perfusé de bradykinine (2.5 $\mu\text{g}/100 \text{ g/min}$) présente une chute transitoire de la pression artérielle qui disparaît alors que la perfusion se poursuit. L'administration intercurrente de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (15 $\mu\text{g/kg}$) entraîne une chute de la pression artérielle. Celle-ci est présente soit d'emblée soit après tachyphylaxie accélérée. Cette hypotension est supprimée par l'indométhacine (4 à 5 mg/kg; Figure).

Ainsi, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ devient hypotensive chez le Rat dans trois circonstances particulières: tachyphylaxie, perfusion continue de bradykinine, traitement préalable par l'acide arachidonique. L'hypotension, dans chaque cas, est de même nature et de même origine puisqu'elle est, dans chacune de ces circonstances, supprimée par l'indométhacine à fortes doses. Toutefois la chute de pression ne dépend pas d'une synthèse et d'une libération de prostaglandines endogènes, comme semblerait l'indiquer l'antagonisme qu'exerce l'indométhacine¹¹. En effet, l'hypotension n'est pas augmentée par l'héparine^{8,9} et les doses d'indométhacine nécessaires pour la supprimer sont supérieures à celles qui inhibent le pouvoir hypotenseur de l'acide arachidonique, précurseur des dites prostaglandines.

⁷ J. DAMAS et C. DEBY, *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 983 (1976).

⁸ C. DEBY, G. BARAC et Z. M. BACQ, *Archs int. Pharmacodyn. Théor.*, **208**, 363 (1974).

⁹ C. DEBY et J. DAMAS, *Archs int. Physiol. Biochim.*, **82**, 742 (1974).

¹⁰ C. LARSSON et E. ANGAARD, *J. Pharm. Pharmacol.*, **25**, 653 (1973).

¹¹ J. R. VANE, *Nature, Lond.*, **231**, 232 (1971).

L'indométhacine semblerait agir par antagonisme direct. Elle se comporterait ainsi comme d'autres anti-inflammatoires, les fénamates, l'aspirine et la phénylbutazone qui inhibent l'action de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ sur les bronches humaines in vitro¹².

Comme l'indométhacine n'inhibe que l'hypotension artérielle tardive sans modifier l'hypertension qui la précède, on serait conduit à admettre que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ se fixe chez le Rat sur deux types de récepteurs vasculaires au moins: les premiers qui sont initialement les plus actifs, commandent la vasoconstriction. Leur action est labile et sensible aux processus de tachyphylaxie. Les seconds sont responsables de la vasodilatation. Ils seraient différents des récepteurs à la PGE_2 puisque l'action hypotensive de cette dernière n'est pas modifiée par l'indométhacine. Toutefois JONES¹³ estime qu'un seul type de récepteurs vasculaires serait responsable de la vasodilatation induite par les PG: il serait activé principalement par la PGE_2 . Aussi, une autre éventualité reste à discuter: l'hypotension dépendrait de la conversion de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ en PGE_2 ou en un autre facteur hypotenseur. Certains tissus du Rat possèdent une 9 oxo-réductase qui catalyse la transformation de PGE_2 en $\text{PGF}_{2\alpha}$ et vice versa^{14,15}. L'antagonisme exercé par l'indométhacine résiderait

alors dans le blocage de cette étape métabolique, l'anti-inflammatoire interférant avec plusieurs enzymes qui interviennent dans la synthèse et le métabolisme des PG^{16,17} dont la 9 oxo-réductase.

Cette enzyme serait activée progressivement par la $\text{PGF}_{2\alpha}$ tout comme par les PG dérivées de l'acide arachidonique ou encore par celles mises en circulation par la bradykinine¹⁸; celle-ci, de plus, active une 9 oxo-réductase isolée à partir d'artères mésentériques de Bœuf¹⁹. Cette dernière interprétation: la conversion de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ en PGE_2 nous paraît s'inscrire le mieux dans la biochimie et la pharmacologie des PG.

¹² H. O. J. COLLIER et W. J. F. SWEETMAN, *Nature*, Lond. 219, 864 (1968).

¹³ R. L. JONES, *Br. J. Pharmac.* 53, 464 P (1975).

¹⁴ C. A. LESLIE et L. LEVINE, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 52, 717 (1973).

¹⁵ C. N. HENSBY, *Br. J. Pharmac.* 52, 109 P (1974).

¹⁶ D. J. CRUTCHLEY et P. J. PIPER, *Arch. Pharmac.* 279, suppl. 27 (1973).

¹⁷ C. PACE-ASCIAC et S. COLE, *Experientia* 31, 143 (1975).

¹⁸ J. DAMAS et C. DEBY, *C. r. Soc. Biol.*, Paris 168, 375 (1974).

¹⁹ P. Y. K. WONG, N. A. TERRAGNO, A. TERRAGNO et J. C. MCGIFF, *Physiologist* 18, 455 (1975).

Ouabain-Induced Release of Extraneuronal Catecholamine in the Isolated Guinea-Pig Vas Deferens

T. KATSURAGI and T. SUZUKI

Department of Applied Physiology, Tohoku University School of Medicine, Seiryō-cho 2-1, Sendai 980 (Japan), 4 December 1975.

Summary. It was found that ouabain (10^{-5} M) was effective in releasing the extraneuronal catecholamine which was taken up by uptake₂ process in the guinea-pig vas deferens. This result shows that a Na-K ATPase is essential for the storage of catecholamine in the extraneuronal site.

IVERSEN¹ originally described the existence of two mechanisms of uptake of catecholamine in the isolated perfused rat heart; uptake₁ (neuronal uptake) and uptake₂ (extraneuronal uptake). Uptake₂ appeared in several aspects to differ from uptake₁. In contrast to uptake₁, uptake₂ was usually inoperable at the low perfusion concentration of catecholamine, and the catecholamine taken up by uptake₂ process was washed out time-dependently if the perfusion was continued with catecholamine-free medium¹⁻³. Recently, it was found that metanephrine¹, clonidine⁴ and various steroids, including deoxycorticosterone (DOC)⁵ and cholesterol⁶, were effective to inhibit selectively the uptake₂ in the perfused rat heart. However, the physiological significance of this uptake₂ and its release processes are still obscure. We have suggested in the preceding paper⁷ that ouabain, a typical inhibitor of Na-K ATPase, might facilitate the release of catecholamine from the neuronal site in the guinea-pig vas deferens. The purpose of the present study has been to determine whether ouabain is effective in facilitating the release of catecholamine in extraneuronal site stored by uptake₂ process in the isolated guinea-pig vas deferens.

Materials and methods. Male guinea-pigs weighing 300–500 g were used. A piece of vas deferens was dissected and suspended in a bath containing Tyrode solution (32°C). The contraction was recorded isometrically on an inkwriting polygraph through a force-displacement transducer (Grass FT-03).

Results and discussion. The isolated muscle strips were immersed in Tyrode solution containing DL-epinephrine or DL-norepinephrine at the concentration of 10^{-6} to 10^{-4} M^{1,8-10} to allow the accumulation of catecholamine by uptake₂ process. 15 min after⁹ they were washed out twice with amine-free medium to obtain the complete recovery of resting muscle tone and then exposed to ouabain (10^{-5} M). As shown in Figure 1A, ouabain induced 2 steps of contraction; the rapid phase contraction and the late phase contraction. The rapid phase contraction starts immediately after exposure to ouabain, attains the peak level within 3 min and then returns to the resting level. About 10 min later, the late phase contraction developed, increased and reached the peak level after around 25 min. When the muscle strip was immersed in solution containing epinephrine rather than norepi-

¹ L. L. IVERSEN, *Br. J. Pharmac.* 25, 18 (1965).

² H. BÖNISCH, W. UHLIG and U. TRENDELENBURG, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac.* 283, 223 (1974).

³ R. LINDMAR and K. LÖFFELHOLZ, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac.* 284, 63 (1974).

⁴ P. J. SALT, *Eur. J. Pharmac.* 20, 329 (1972).

⁵ L. L. IVERSEN and P. J. SALT, *Br. J. Pharmac.* 40, 528 (1970).

⁶ P. J. SALT and L. L. IVERSEN, *Nature New Biol.* 238, 91 (1972).

⁷ H. OZAWA and T. KATSURAGI, *Eur. J. Pharmac.* 25, 147 (1974).

⁸ O. V. AVAKIAN and J. S. GILLESPIE, *Br. J. Pharmac.* 32, 168 (1968).

⁹ G. BURNSTOCK, M. W. MCCULLOCH, D. F. STORY and M. E. WRIGHT, *Br. J. Pharmac.* 46, 243 (1972).

¹⁰ D. M. PATON, *Br. J. Pharmac.* 49, 614 (1973).