



ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN DOPAMINA-FÁRMACOS PSICOTRÓPICOS SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO"

EFFECTS OF INTERACTION DOPAMINA-DRUGS PSICOTROPICOS ON OXYGEN UPTAKE OF BRAIN OF RAT BRAIN SLICES "IN VITRO"

Martín R*, Alamo C**, Velasco A*, Rodríguez-Mayo JC*, Carvajal A*

*Departamento de Farmacología, Universidad de Valladolid (Spain)

** Departamento de Farmacología, Universidad de Alcalá de Henares (Spain)

KEY-WORDS

Oxygen uptake, dopamine, antidepressants, neuroleptics, ATPase activity

PALABRAS CLAVE

Dopamina, Antidepresivos, Neurolepticos, Actividad ATPasa

Correspondencia:

R. MARTÍN
Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
Avda Ramón y Cajal s/n
47005 Valladolid.(España)

RESUMEN

El efecto de la dopamina en el consumo de oxígeno sobre cortes de cerebro de la rata "in vitro" y estudio de su modificación por clozapina, pimocida, tiaprida, clotiapina, droperidol, haloperidol, tiotixeno, loxapina, nomifensina, mianserina, viloxacina, trazodona, doxepina y amoxapina. El consumo de oxígeno en cortes y homogeneizados es determinado por la manometría. En los homogeneizados, el medio de la incubación es la sucrosa protegida (pH 7.4) con los substratos y los cofactores; en los cortes cerebrales es fosfato del Krebs-Campanero con glucosa 10 milímetros (pH 7.4), solución libre de Krebs del calcio con el exceso del potasio y de la solución de Krebs en el cual el cloruro de sodio es substituido por el cloruro del colina. La dopamina aumenta el consumo de oxígeno en los cortes del cerebro de la rata incubadas en la solución del sodio del fosfato del Krebs-Campanero con glucosa 10 milímetros, su dosaje50 eficaz que es el $1.99 \times 10^{-8} M$. Este aumento del consumo de oxígeno no se considera en homogeneizados. Las drogas psicotropas utilizadas ponen de manifiesto el aumento del consumo en contra de oxígeno inducido por la dopamina en una manera no competitiva. El aumento del consumo de oxígeno inducido por la dopamina es debido a la activación del Na^+ membrana-dependiente - K^+ , Actividad del aTPase.

SUMMARY

The effect of dopamine on oxygen uptake of slices of rat brain "in vitro" and its modification by pimozide, tiapride, clotiapine, droperidol, haloperidol, tiotixene, loxapine, nomifensine, mianserin, viloxazin, trazodone, doxepin and amoxapin is analyzed. Oxygen uptake in slices and homogenates is determined by manometry. In homogenates, the incubation medium is buffered sucrose (pH 7.4) with substrates and cofactors; in slices it is Krebs-Ringer phosphate with glucose 10 mM (pH 7.4), calcium free Krebs solution with excess of potassium and Krebs solution in which sodium chloride is replaced by choline chloride. Dopamine increases oxygen uptake in slices of rat brain incubated in Krebs-Ringer phosphate sodium solution with glucose 10 mM, its effective dosage50 being $1.99 \times 10^{-8} M$. This oxygen uptake increase is not seen in homogenates. The psychotropic drugs used antagonize the oxygen uptake increase induced by dopamine in a non-competitive fashion. The oxygen uptake increase induced by dopamine is due to activation of the membrane-dependent Na^+ - K^+ , ATPase activity.

INTRODUCCION

La dopamina incrementa el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" (1-3), este aumento del consumo de oxígeno cerebral se debe al estímulo de la actividad ATPasa de membrana sodio potasio dependiente que incrementa la concentración intracelular de ADP que a su vez aumenta el consumo de oxígeno cerebral (4-7). El incremento del consumo de oxígeno cerebral inducido por la dopamina es suprimido

por la ouabaina (conocido inhibidor de la ATPasa de membrana sodio potasio dependiente), la fenoxibenzamina y los bloqueantes de adrenoceptores beta (1).

En este trabajo se pretende analizar la interacción de diversos Fármacos psicotrópicos (clozapina, pimocida, tiaprida, clotiapina, droperidol, haloperidol, tiotixeno, loxapina, nomifensina, mianserina, viloxacina, trazodona, doxepina y amoxapina) con la dopamina sobre el consumo de cortes de cerebro

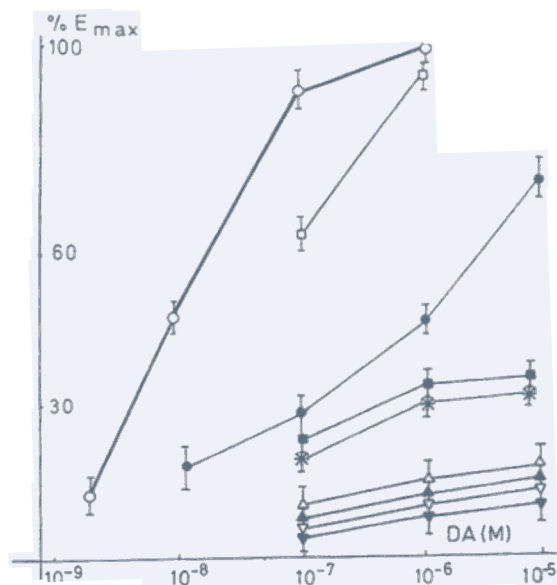


Figura 1.- Curva dosis-efecto que relaciona la concentración molar de dopamina (DA) con el porcentaje de incremento de consumo de oxígeno en cortes de cerebro de rata "in vitro" en ausencia y presencia de distintos fármacos antidepresivos. ○Control; □Tiotixeno 10^{-6} M; ●Pimocida 10^{-6} M; ■Haloperidol 10^{-6} M; ▲Clotiapina 10^{-6} M; ▲Droperidol 10^{-6} M; ▼Clozapina 10^{-6} M; ▼Loxapina 10^{-6} M; *Tiaprida 10^{-6} M. Valores medios \pm ESM de al menos cinco valores para cada punto de la curva. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM y potasio 5 mM.

de rata "in vitro". También pretende analizar el efecto directo de dichos fármacos psicotrónicos (antidepresivos y neurolepticos típicos y atípicos) sobre el consumo de oxígeno de cortes y homogeneizados de cerebro de rata y sobre la actividad ATPasa sensible y no sensible a ouabaina.

MATERIAL Y MÉTODOS

El consumo de oxígeno en cortes y homogeneizados de cerebro de rata "in vitro" se determinó por técnica manométrica (8). En homogeneizados el medio de incubación fue sacarina tamponada a pH 7.4 con sustratos y cofactores(9); en cortes de cerebro de rata se empleó solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM Y potasio 5 mM. El consumo de oxígeno ligado a la actividad ATPasa sodio potasio dependiente de membrana se estimó mediante el proceder de Gubitzy y col (5). La actividad ATPasa en homogeneizados de corteza cerebral de rata se estimó mediante el proceder de Wu y Phillis (10). Se determinó la dosis-eficaz50 que relacionaba la concentración molar de dopamina con el incremento de consumo de oxígeno en cortes de cerebro de rata mediante el proceder de Litchfield y wilcoxon (11). El contraste estadístico de los datos fue un t-test para datos no apareados (12).

FÁRMACOS

Se han utilizado los siguientes fármacos: Dopamina clorhidrato (Sigma), Tiotixeno (Pfizer), Pimozide (Janssen),

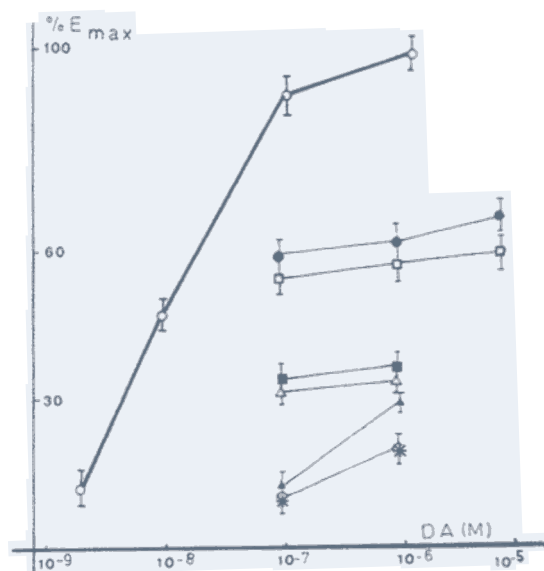


Figura 2.- Curva dosis-efecto que relaciona la concentración molar de dopamina (DA) con el porcentaje de incremento de consumo de oxígeno en cortes de cerebro de rata "in vitro" en ausencia y presencia de distintos fármacos antidepresivos. ○Control; ●Nomifensina 10^{-6} M; □Trazodona 10^{-6} M; ■Doxepina 10^{-6} M; *Mianserina 10^{-6} M; ▲Amoxapina 10^{-6} M; *Viloxacina 10^{-6} M. Valores medios \pm ESM de al menos cinco valores para cada punto de la curva. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM y potasio 5 mM.

Haloperidol (Janssen), Clotiapina (Wander), Clozapina (Wander), Droperidol (Janssen), Loxapina (Am Cyanamid), Tiapride (Sanofi Synth), Nomifensina (Hoechst), Trazodona (Angelini), Doxepina (Pfizer), Mianserina (Organon), Viloxacina (ICI), Amoxapina (Am Cyanamid).

RESULTADOS

El clorhidrato de dopamina incrementa el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM Y potasio 5 mM, siendo este aumento dosis-dependiente (Figuras 1 y 2). La dosis eficaz50 de dopamina es 1.99×10^{-8} M. Este incremento de consumo de oxígeno no se observa en homogeneizados ni en cortes de cerebro de rata cuando el medio de incubación contiene exceso de potasio (10^5 mM), déficit de calcio o se sustituye el cloruro de sodio por cloruro de colina.

Los fármacos psicotrónicos estudiados a la concentración de 10^{-6} M no modifican el consumo de oxígeno de homogeneizados y cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM Y potasio 5 mM, tampoco modifican el consumo de oxígeno ligado a la actividad ATPasa de membrana sodio potasio dependiente, ni la actividad ATPasa sodio potasio dependiente de membrana, ni la actividad ATPasa no sensible a ouabaina, pero antagonizan el incremento de consumo de oxígeno inducido por dopamina, siendo este antagonismo de tipo no competitivo y probablemente inespecífico (Figuras 1 y 2). DISCUSION El clorhi-

drato de dopamina incrementa el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM y potasio 5 mM siendo este aumento dosis-dependiente. Este incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina no se observa en homogeneizados (preparación que carece de membrana), ni en cortes de cerebro de rata cuando el medio de incubación contiene exceso de potasio (10^5 mM), déficit de calcio o se sustituye el cloruro de calcio por cloruro de colina (1). El exceso de potasio o el déficit de calcio en el medio de incubación incrementan la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente (13,14,15); mientras que la ausencia de sodio abole la actividad ATPasa $\text{Na}^+\text{-K}^+$ dependiente (1,5,9,16). El incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina es muy similar al inducido por el ion potasio y es abolido por la ouabaina conocido inhibidor de la ATPasa de membrana $\text{Na}^+\text{-K}^+$, dependiente (1). El incremento de la actividad ATPasa de membrana ha sido descrito por varios autores (5,6,7) y es abolido por los bloqueantes de adrenoceptores beta, la fenoxibenzamina y el haloperidol (1,4). En este trabajo se demuestra que los fármacos neurolépticos y antidepresivos estudiados a concentraciones a las que no modifican la actividad ATPasa ni el consumo de oxígeno en cortes y homogeneizados inhiben el incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina en cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM, siendo este antagonismo de tipo no competitivo y probablemente inespecífico, ya que la mayor parte de estos fármacos se comportan como estabilizadores de membrana al bloquear los canales iónicos dependientes de voltaje, principalmente los canales de sodio (17-19).

BIBLIOGRAFÍA

1. González, J.L., Sanchez, A., Saiz, J., Velasco, A.: Effect of Amphetamine and Dopamine on Oxygen uptake of rat brain slices "in vitro", *11 Farmaco ed. Sci.*, 1980, 25, 568-578
2. Sánchez, A., Saiz, J., González, J.L., Velasco, A.: Efecto de agonistas alfa y beta adrenérgicos sobre el consumo de oxígeno de cerebro de rata "in vitro", *Arch. Farmacol. Toxicol.*, 1981, 7: 253-262
3. Plotkine, M., Boulu, R., Gueniau, G., Huidobro, N., Rossignol, P.: Acción de diversos agonistas dopaminérgicos sobre el pO₂ del cortex cerebral, *Arch. Farmacol. Toxicol.*, 1975, 4: 69-70
4. Sawas, A.H., Gilbert, J.C.: The effects of dopamine agonists and antagonists on $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase and Mg^{++} Activities of synaptosomes, *Biochem. Pharmacol.*, 1982, 31: 1531-1533
5. Gubitz, R.H., Akera, T., Brody, T.M.: Control of brain slices respiration and (Na-K) activated adenosine triphosphatase and the effects of enzyme inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 459: 263-270
6. Harris, N. E., Stahl, W. I.: Interaction of adrenergic compounds with brain membrane constituents. *Biochem. Pharmacol.*, 1978, 27: 2017-2019
7. Hexum, T.D.: The effect of catecholamines on transport (Na-K) adenosine triphosphatase. *Biochem. Pharmacol.*, 1977, 27: 2109-2114
8. Umbreit, W.W., Burris, R.M., Stauffer, Manometric and Biochemical Techniques" 5th Edition, Burgess Publishing Co. Minneapolis, 1972
9. Velasco, A., Holgado, E.R., García, J.L., Dueñas, A.: Effect of loxapine and amoxapine on oxidative metabolism of rat brain "in vitro". *Arch. Farmacol. Toxicol.*, 1985, 11: 117-125
10. Wu, P.H., Phillis, J.H.: The effect of noradrenaline on Na-K transport in rat cerebral cortical slices. *Eur. J. Pharmacol.*, 1981, 69: 529-532
11. Litchfield, J.T., Wilcoxon, F.A.: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1949, 96: 99-113
12. Delanois, A.L. (Editor): *Biostatistics in Pharmacology*; pergamon Press, Oxford, 1973
13. Hertz, I., Schou, M.: Univalent cations and the respiration of brain slices. *Biochem. J.*, 1962, 55: 93-102
14. Bassi, M., Bernelli-Zazzera, A.: Effects of potassium ions in brain respiration and aminoacids incorporations into brain proteins "in vitro", *Experientia*, 1960, 16: 430-432
15. Velasco, A., González, J.L.: Efecto de la composición del medio de incubación sobre el metabolismo celular de rata "in vitro". *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 1978, 95: 641-652
16. Velasco, A., García, J.L., Dueñas, A.: Effects of several neuroleptics, Antidepressants and Monoamine Uptake Blockers on ATPase activity and Related Oxygen uptake in rat Brain "in vitro". *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1989, 11: 737-741
17. Weatherall, M.: Drugs and excitable cell membranes. in Robson, J.M. & Stacey, R.S. (Editors) *Recent Advances in Pharmacology*, 4th Edition pages 1-27, J. & A. Churchill LTD, London, 1968
18. Soria, B., Ceña, V. (Editors): *Ion Channel Pharmacology*; Oxford University Press, Oxford, New York, 1998
19. Tamargo, J.L.: Canales de sodio sensibles a voltaje, in *Farmacología de los canales iónicos. Monografía Dr. Antonio Esteve*, Edited by Garcia, A.G. pages 53-61, Barcelona 1995