

ACTUALIZACION POR TEMAS

Modificación de receptores a GABA-A durante la administración crónica de neurolépticos

José Luis Chávez*

Gerardo Heinze*

Summary

The effects of chronic treatment with haloperidol, trifluoperazine, chlorpromazine, tioproperazine and pipotiazine were examined in GABA receptors in the cerebral cortex. Injections of 3 mg/K one of the various drugs were administered subcutaneously once daily for 21 days. Two days after the last injection, the rats were killed by decapitation, the brains quickly removed and the cerebral cortex dissected and homogenized.

- 1) Repeated administration of chlorpromazine, pipotiazine and tioproperazine, did not induce any change in the number (Bmax), the affinity (Kd) or the [3H]flunitrazepam binding in the cerebral cortex.
- 2) Chronic treatment with haloperidol and trifluoperazine induced an increase in the affinity (Kd) and Bmax of flunitrazepam binding in the cerebral cortex.
- 3) The [3H] flunitrazepam displacement was not altered by chlorpromazine, tioproperazine, pipotiazine, haloperidol and trifluoperazine.
- 4) This study suggests the possibility that GABA-diazepam receptors may play a role in the effect of chronic administration of neuroleptics.

Resumen

Los experimentos fueron realizados para valorar los efectos de la administración crónica de haloperidol, trifluoperazina, clorpromazina, pipotiazina y tioproperazina, sobre la unión al receptor del GABA. Las ratas fueron inyectadas de forma subcutánea por 21 días, con 3 mg/K de las diferentes drogas, dos días después de la última inyección, las ratas fueron muertas por decapitación, los cerebros fueron removidos y la corteza y el estriado, fueron disecados y homogenizados.

- 1) El tratamiento crónico con clorpromazina, pipotiazina y tioproperazina no provocó ningún cambio ni en la afinidad ni en el número de receptores en la corteza cerebral, como tampoco en el estriado.
- 2) La unión de flunitrazepam (Bmax) y la afinidad, se incrementaron por la administración de haloperidol y trifluoperazina; el incremento más pronunciado se encontró ocasionado por la administración de haloperidol y trifluoperazina.

- 3) El desplazamiento de flunitrazepam [3H] no se dio por ninguna de las drogas valoradas.
- 4) Esto sugiere que el continuo tratamiento con los diferentes neurolépticos, provoca alteraciones en diferente grado en las características básicas de los receptores a GABA, en la corteza cerebral de la rata.

Introducción

A pesar de que se ha probado la eficacia de las drogas antipsicóticas, los efectos celulares y los mecanismos moleculares exactos de su acción terapéutica permanecen oscuros.

Las drogas antipsicóticas actúan vía modificación de la transmisión sináptica de los neurotransmisores. Diferentes candidatos han sido propuestos, y son: noradrenalina, 5- hidroxitriptamina, neurotensina, somatostatina, GABA, glutámico y dopamina; la mayoría de la información concierne a dopamina e indica que las drogas antipsicóticas actúan vía bloqueo de los receptores dopaminérgicos D2 (7,12). Esto ha provocado que prácticamente todos los neurolépticos sean antagonistas dopaminérgicos (14,19). Pese a que su potencia clínica se correlaciona ampliamente con la afinidad para los sitios marcados por los antagonistas del receptor D2 (6,19), el tiempo que tarda para llevar a cabo la acción terapéutica suele ser después de 3 semanas (12). Esto no es explicable sólo por la acción de los receptores D2, y tampoco es probable que únicamente sea una cuestión farmacocinética (13). Otras explicaciones para este retardo, han incluido modificaciones en las constantes de unión de los receptores, así como, cambios en el metabolismo de dopamina y modificaciones en la tasa de disparo de las diferentes neuronas, han sido advertidas en modelos animales, durante la administración repetida de antipsicóticos (3,4,8). Todas estas manifestaciones ocurren en periodos que son concordantes con la acción terapéutica, y se ha sugerido que estos cambios adaptativos están asociados con la respuesta clínica (5). No obs-

* División de Investigaciones Clínicas. Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco No. 101, Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370, México, D.F.

TABLA 1
Efecto de administración crónica de Neurolépticos sobre las constantes de unión de Espiperona ³H a membranas de estriado de rata

	<i>Control</i>	<i>Haloperidol</i>	<i>Trifluoperazina</i>	<i>Clorpromazina</i>	<i>Triproperazina</i>	<i>Pipotiazina</i>
B max	96 ± 8	164 ± 11	140 ± 13	98 ± 7	96 ± 5	97 ± 9
Kd (nm)	0.23 ± 0.05	0.41 ± 0.08	0.44 ± 0.75	0.4 ± 0.06	0.3 ± 0.09	0.23 ± 0.09

TABLA 2
Efecto de administración crónica de Neurolépticos sobre las constantes de unión de Flunitrazepam ³H a membranas de corteza de rata

	<i>Control</i>	<i>Haloperidol</i>	<i>Trifluoperazina</i>	<i>Clorpromazina</i>	<i>Triproperazina</i>	<i>Pipotiazina</i>
B max	115 ± 9	117 ± 11	229 ± 15	120 ± 8	120 ± 6	106 ± 10
Kd (nm)	2.9 ± 0.19	2.9 ± 0.19	2.44 ± 0.2	2.48 ± 0.25	2.05 ± 0.22	1.12 ± 0.30

tante que todos estos fenómenos están relacionados en el tiempo, estas teorías han sido muy criticadas por diferentes grupos; y se ha propuesto un mecanismo psicogénico alterno para el retardo en la respuesta (14). Otras explicaciones han apuntado hacia acciones intracelulares que pueden ser posteriores al efecto inicial sobre el sistema de receptores. Este evento puede ser dependiente o independiente de dopamina y quizá mediado por segundos mensajeros; además se han encontrado modificaciones en la síntesis de proteínas (15) y en el incremento de encefalinas, proquinina y proencefalina (1). Por otra parte, se ha descrito que algunos neurolépticos modifican la activación de la calmodulina, que es la encargada vía Ca⁺⁺ de múltiples acciones intracelulares; se ha observado que la administración crónica de haloperidol, modifica las concentraciones de calmodulina citosólica y membranal (16,17) y también, que la trifluoperazina inhibe la liberación de dopamina, norepinefrina, GABA y glutámico de sinaptosomas aislados de diferentes regiones del cerebro de rata (18,20). Por lo que es muy probable que los neurolépticos actúen sobre diferentes sistemas de neurotransmisores.

Para investigar si las drogas antipsicóticas pueden ejercer su acción sobre otros receptores, además de los D2, se estudió la modificación de receptores benzodiazepínicos (BZ), en membranas aisladas de corteza cerebral de ratas en donde se ha descrito que este transmisor juega un papel preponderante; asimismo como control se procedió analizar a los receptores D2 en el estriado de estas ratas tratadas con neurolépticos, también se valoró el posible efecto de estas drogas sobre membranas aisladas de la corteza de ratas control y se estimó la IC50 de desplazamiento del receptor a BZ.

Material y métodos

Efecto de la administración crónica de neurolépticos

Tres grupos de cuatro ratas Wistar macho de 200 a 250 gr., fueron tratadas durante 21 días con haloperi-

dol (HAL), trifluoperazina (TFP), clorpromazina (CL), pipotiazina (Pip) y disolvente como control (CTL), a una dosis subcutánea de 3 mg/kg; 48 hrs. después de la última inyección fueron sacrificadas. La corteza y el estriado fueron disecados rápidamente en frío; las estructuras fueron homogeneizadas en amortiguador tris 25 mM MgCl 1.2 mM, NaCl 125 mM y centrifugadas a 17,000 xg por 20 minutos en tres ocasiones. La determinación de proteínas se realizó de acuerdo al método descrito por Lowry (1956).

Determinación de receptores D2 en estriado

Se tomaron alícuotas de 0.15 mg. de proteína de la fracción membranal y se hizo una curva de unión (0.1 a 3.0 mM) de espiperona 3H, con una actividad de 19.6 Ci/nMol hasta saturación para determinar el número de receptores (Bmax) y la constante de disociación en el equilibrio (Kd); la unión no específica se de-

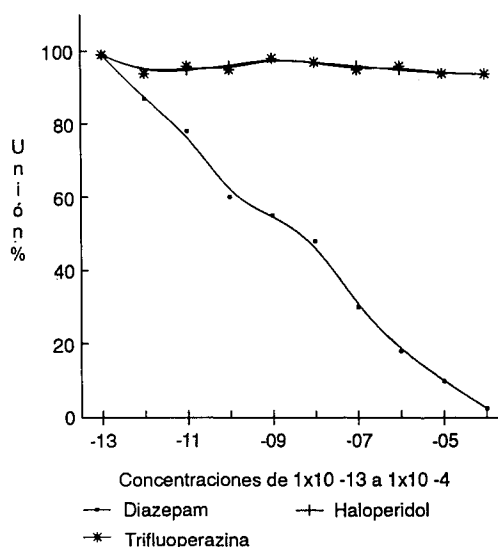


FIGURA 1. Desplazamiento FLU [3H] vs. Neurolépticos.

terminó en paralelo en presencia de 10 μ M de haloperidol.

Determinación de receptores BZ en corteza

Se realizó una curva de saturación de flunitrazepam 3H con una actividad de 80 Ci/mMol (0.15-3.5), en presencia de 0.25 mg. de proteína, la unión no específica se determinó en paralelo con 10 μ M de diazepam; la reacción se llevó a cabo durante 60 min. a 4 °C.

El análisis del desplazamiento *in vitro* se realizó de la siguiente manera: una alícuota de 1 mM de flunitrazepam fue incubada como en los ensayos de unión, en presencia de 0.25 mg. de proteína y concentraciones de 1×10^{-4} a 1×10^{-13} M de los diferentes neurolépticos.

Resultados

Análisis de receptores D2

La administración de Pip y Tio no indujo ningún cambio en los receptores D2 en el estriado; la administración de CLZ solamente provocó un incremento de 70% en Kd, pero no en Bmax. La TFP originó un incremento del 46% en Bmax y 91% en Kd; HAL indujo un incremento del 70% en Bmax y del 78% en Kd (Tabla 1).

Análisis de receptores a BZ

La administración de Pip y Tio no indujeron ninguna modificación en las constantes analizadas. Sin embargo, CLZ originó un incremento del 53% en Kd, y no provocó ningún cambio en Bmax. La administración de HAL generó un incremento del 53% en Bmax y un 150% en Kd, y la de TFP un 100% en Kd y Bmax. (Tabla 2). En los experimentos de desplazamiento, no se observó ningún cambio a ninguna concentración por los diferentes neurolépticos probados en este estudio. (gráfica 1)

Discusión

En el presente trabajo, se muestra que la administración crónica de HAL y TFP inducen modificaciones en las constantes de unión del sitio a BZ del polireceptor a GABA en la corteza cerebral.

Sin embargo, cuando se probó el efecto de estos neurolépticos *in vitro* no se observó ninguna modificación en la unión al receptor BZ.

La administración crónica de estos neurolépticos, también provocó modificaciones en las constantes de unión para el receptor D2 en el estriado, como ha sido ampliamente reportado (2). Estudios experimentales realizados en diferentes laboratorios han demostrado que el tratamiento crónico de neurolépticos en animales, disminuye la tasa de recambio del GABA y reduce la actividad de la enzima descarboxilasa del ácido glutámico (10,11).

El aumento en Bmax. y Kd del receptor a BZ es compatible con estos resultados, ya que si se disminuye la tasa de cambio de GABA en la sinapsis tendrá como consecuencia un aumento en Bmax, como en el presente trabajo, o bien un incremento en la respuesta neuronal a la aplicación iontoforética de GABA (8). Por otra parte la liberación de los neurotransmisores, GABA, glutámico, norepinefrina y dopamina es afectada por TFP y por HAL causado por un probable antagonismo sobre la calmodulina (18); esta sería la posible explicación del efecto a nivel presináptico de estos neurolépticos. La falta de un efecto de la administración de CLZ, Pip y Tio, quizá se deba a que la dosis administrada fue muy baja respecto a las administradas por otros autores.

Conclusión

Los neurolépticos presentan una multitud de efectos, tanto a nivel presináptico como a nivel postsináptico; sin embargo, lo que se desprende de este trabajo es el que se deben abordar otras estructuras del cerebro que al parecer están implicadas en el desarrollo de la psicosis (2), así como otros neurotransmisores que se encuentren preferentemente en estas estructuras, como el GABA y el glutámico que son transmisores inhibidores y excitadores respectivamente; además para valorar el efecto de los diferentes neurolépticos, habrá que observar otras dosis de estas drogas y otras estructuras como el hipocampo, que se ha descrito también es afectado por la administración de antipsicóticos en el contenido de la calmodulina de las diferentes células que lo conforman por la administración de antipsicóticos (16,7).

REFERENCIAS

1. Angulo S, Jeanlud C, Bruce S: Effect of typical neuroleptic treatment on protachynin mRNA levels in the striatum of the rat. *Neuroscience Letters*, 113: 217-221, 1990.
2. Baker G, Greenshauj A: *Central Nervous System Cellular and Molecular Neurobiology*, New York, pag. 23-89, 1989.
3. Bunney S, Grace A: Acute and chronic haloperidol treatment comparison of effects on nigral dopaminergic activity, *Science*, 23: 1715-1728, 1978.
4. Burt R, Crees I, Snyder S: Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in brain, *Science*, 196: 1715-1728, 1978.
5. Chido A, Bunney A: Typical neuroleptics: differential effects of chronic administration on the activity of A9 and A100 midbrain dopaminergic neurons, *Journal of Neuroscience*, 3: 1607-1619, 1983.

6. Crees I, Burt D, Snyder S: Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs, *Science*, 192: 481-483, 1976.
7. Enna, S., Bennet, J., Burt, D., Crees, I. Snyder S: Sterospecificity of interaction of neuroleptic drugs with neurotransmitters and correlation of clinical potency, *Nature*, 263: 338-341, 1976.
8. Frey J, Morgan W: GABAergic supersensitivity within the pars reticulata of the substantia nigra following chronic haloperidol administration, *Brain Res*, 425: 73-84, 1987.
9. Frey M, Tikku K, Bell R, Huffman R: Chronic haloperidol increases GABA binding and enhances neuronal responses to iontophoresed GABA in rat Globulus pallidus, *Brain Res*, 491: 57-67, 1989.
10. Gunnel M, Hanstrom E: Reduction of nigral glutamic acid decarboxilase in rats with neuroleptic-induced oral dyskinesia, *Psychopharmacology*, 81: 191-194, 1983.
11. Itho M, Hanstrom E: Reduction of nigral glutamic acid decarboxilase in rats with neuroleptic-induced oral dyskinesia, *Psychopharmacology*, 81: 169-172, 1983.
12. Johnson E, Crow I: Antipsychotic effect in the treatment of schizophrenics. *Psychopharmacol*, 848-851, 1978.
13. Kolokawska T, Gelder M, Orr M: Drug-related and illness-related factors in the outcome of chlorpromazine treatment. *Psychol Med*, 10: 335-343, 1980.
14. Miller R, Wicknes M, Beninger A: Dopamine D-1 and D-2 receptors in relation to reward and performance : A case for the D-1 receptor as a primary site of therapeutic action of neuroleptic drugs, *Progres in Neurobiology*, 34: 143-183, 1990.
15. Nigaonkar L, Sawatla L: A specific effect of antipsychotic drugs on protein synthesis in human lymphomononuclear cells, *Journal of Neurochemistry*, 54: 1934-1940, 1990.
16. Popop N, Schulheed A, Nuss D: Alterations in calmodulin content of rat brain areas after chronic application of haloperidol and amphetamine, *Biomedical Biochemistry Acta*, 47: 435-441, 1988.
17. Sandoval M E, Aquino G, Chavez J L: Sodium Dependent, Calmodulin-Dependent transmitter release from synaptosomes, *Neuroscience Letters*, 56: 271-277, 1985.
18. Seeman P, Lee T: Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors, *Nature*, 201: 717-719, 1976.
19. Yukio Y, Kiyokasu O, Kisa O: High concentrations of calmodulin antagonist inhibit accumulation and binding activities of [3H] Glutamate in rat brain, *Neurochem Int*, 1: 17-23, 1989.