

Efecto del Dipyridamol sobre el consumo de oxígeno de algunos tejidos de rata *in vitro*

J. L. Velasco, J. M. Arévalo, J. Portugal, C. Perezagua y A. Velasco

Departamento de Farmacología
Cátedra de Hidrología Médica
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
Madrid-3 (España)

(Recibido el 18 de noviembre de 1972)

J. L. VELASCO, J. M. AREVALO, J. PORTUGAL, C. PEREZAGUA and A. VELASCO. *Effect of Dipyridamol on Oxygen Uptake by Several Tissues of Rat in vitro*. R. esp. Fisiol., 29, 51-54. 1973.

Dipyridamol (10^{-3} , 10^{-4} M) inhibits oxygen uptake by rat brain homogenates; at a 2×10^{-5} M concentration, it increases oxygen consumption by rat diaphragm during 45 minutes. It has none action on the liver (slices and homogenates) in this experimental situation.

La anoxia (anóxica o de éstasis) con gran frecuencia produce graves trastornos, especialmente a nivel de algunos órganos vitales (corazón, retina, hígado, cerebro, etcétera); por esta razón, se ha tratado de sintetizar sustancias que prolonguen la supervivencia de los tejidos en esta situación patológica.

En 1959 se introdujo en terapéutica un vaso dilatador coronario de síntesis: el Dipyridamol [2,6-bis (dietanolamino) 4,8-dipiperidino-pirimido (5,4-D)-pirimidina], con efectos vasculares poco intensos, pero muy prolongados. BRUGGER *et al.* (4) demostraron que el Dipyridamol disminuía el consumo de oxígeno miocárdico, aumentando la concentración de este gas en muestras extraídas de sangre del seno venoso.

Los estudios de LAUDAHN (7) en mito-

condrias aisladas de corazón demostraron que, *in vitro*, el Dipyridamol inhibía la captación de oxígeno, sin deprimir la captación de fósforo inorgánico, incrementándose, en consecuencia, la relación P/O. Diversos autores (6, 9-12, 14-17, 19-20) encontraron que esta sustancia modificaba la ultraestructura de las mitocondrias cardíacas, en donde se fijaba con gran selectividad (2, 8). Trabajos de BEDATE *et al.* (1) y BELMONTE y MONFORT (3) demostraron que el Dipyridamol protegía a los animales de experimentación frente a la anoxia histotóxica provocada por la administración de cianuro potásico o la anoxia anóxica inducida por la asfixia.

El objeto de este trabajo es el estudio de las modificaciones que sobre el consumo de oxígeno pueda influir el Dipyridamol en tejidos de distinta estructura, tales

como diafragma, cerebro e hígado de rata *in vitro*, en cortes y homogeneizados.

Material y métodos

Los cortes y homogeneizados fueron obtenidos a partir de ratas blancas, machos (150-200 g de peso) muertas por decapitación. Los cortes de hígado y cerebro, de un espesor de 100 μ , se obtuvieron de acuerdo con la técnica de MCILWAIN y BUDDLE (13). El diafragma fue dividido en cuadrantes, colocándose un hemidiafragma en cada frasco. Cortes y diafragma se incubaron en Krebs-Ringer fosfato (pH 7,4) conteniendo glucosa 10 mM. Los homogeneizados de cerebro total fueron preparados a 2-4° C en un homogenizador Potter-Elvehjen, mezclando 1 g de la muestra de tejidos con 9 ml de una solución que contiene sacarosa 0,25 M tamponada a pH 7,4 (23, 24), siendo esta solución el medio de incubación en homogeneizados.

El consumo de oxígeno fue determinado por la técnica manométrica (21), utilizando aire como fase gaseosa en cortes y homogeneizados; en diafragma la fase gaseosa fue oxígeno. Los resultados se expresan en μ l/100 mg de tejido fresco. Las concentraciones de fármaco utilizadas aparecen expresadas en los resultados. El contraste estadístico se verificó mediante un t-test (18). Se calcularon, además, las ecuaciones de las rectas de regresión tiempo-consumo de oxígeno.

Resultados

EFEECTO DEL DIPIRIDAMOL SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO EN HOMOGENEIZADOS Y CORTES DE HÍGADO DE RATA *in vitro*

El Dipiridamol a las concentraciones de 10^{-3} y 10^{-4} M no modifica significativamente el consumo de oxígeno en homogeneizado de hígado. En cortes de hígado a las concentraciones de 10^{-3} , 5×10^{-4}

y 10^{-4} M tampoco modifica significativamente el consumo de oxígeno.

EFEECTO DEL DIPIRIDAMOL SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO EN HOMOGENEIZADOS Y CORTES DE CEREBRO DE RATA *in vitro*

En homogeneizados de cerebro, el Dipiridamol a la concentración de 10^{-3} M inhibe significativamente ($P < 0,05$) el consumo de oxígeno a los 30, 45 y 60 minutos, siendo esta inhibición a los 60 minutos de un 13,8 %; a la concentración de 10^{-4} M, inhibe significativamente el consumo de oxígeno ($P < 0,05$) a los 45 y 60 minutos, siendo esta inhibición al cabo de una hora de incubación de un 17,1 % (fig. 1).

El Dipiridamol en cortes de cerebro a las concentraciones de 10^{-3} y 10^{-4} M inhibe significativamente el consumo de oxígeno sólo en los 15 y 30 primeros minutos de la incubación, siendo esta inhibición a los 15 minutos con la concentración de

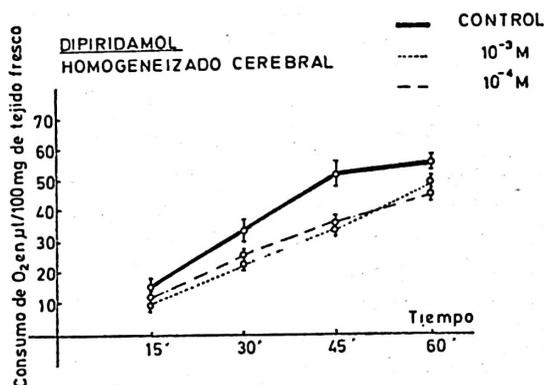


Fig. 1. Efecto del Dipiridamol sobre el consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro.

Medio de incubación solución de sacarosa 0,25 M tamponada a pH 7,4. Control (número de frascos, 11): ecuación de regresión $y = 0,942x + 3,673$. Exp. 10^{-3} M (número de frascos, 14): ecuación de regresión $y = 0,787x + 0,107$. Exp. 10^{-4} (número de frascos, 9): ecuación de regresión $y = 0,720x + 3,207$. Las ecuaciones de regresión se calcularon a partir de los valores medios.

Tabla I. Efecto del Dipiridamol sobre el consumo de oxígeno de diafragma de rata *in vitro*. Consumo de oxígeno expresado en $\mu\text{l}/100$ mg de tejido fresco; valores medios \pm E.S.M. Medio de incubación Krebs-Ringer fosfato pH 7,4. Experimentos pares, entre paréntesis debajo de los valores controles el número de pares y debajo de los valores experimentales la significación correspondiente. En la parte inferior de la tabla aparecen los valores de las ecuaciones de regresión.

Tiempo min	Control	Dipiridamol 2×10^{-4} M	Control	Dipiridamol 2×10^{-5} M
15	33,55 \pm 2,53 (7)	33,56 \pm 1,58 (0,97 < P < 0,98)	19,35 \pm 0,89 (5)	25,47 \pm 0,72 (P < 0,02)
30	60,38 \pm 3,30 (7)	61,88 \pm 2,42 (0,30 < P < 0,40)	44,86 \pm 0,73 (5)	51,83 \pm 0,84 (P < 0,02)
45	83,01 \pm 4,09 (7)	90,25 \pm 4,11 (0,05 < P < 0,10)	68,14 \pm 1,95 (5)	76,13 \pm 1,52 (P < 0,01)
60	112,88 \pm 5,32 (7)	116,26 \pm 5,21 (0,30 < P < 0,40)	92,14 \pm 1,57 (5)	110,24 \pm 9,39 (0,05 < P < 0,10)
Ecuación de regresión	$y = 1,737x + 7,306$	$y = 1,843x + 6,371$	$y = 1,611x + 4,289$	$y = 1,857x - 3,735$

10^{-3} M de un 20,4 % y con la concentración de 10^{-4} M de un 24,40 por ciento.

EFFECTOS DEL DIPIRIDAMOL SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO DE DIAFRAGMA *in vitro*

El Dipiridamol a la concentración de 2×10^{-5} M incrementa significativamente el consumo de oxígeno a los 15 minutos (31,4 %), 30 minutos (16,0 %), 45 minutos (11,0 %), a los 60 minutos de la incubación produce un aumento del consumo de oxígeno en los límites de la significación estadística que no se valora. En este caso, el contraste estadístico fue un t-test para experimentos pares, dado que en cada experimento un hemidiafragma sirvió como control y otro como experimental (tabla I).

Discusión

Los resultados obtenidos en homogeneizados hepáticos discrepan de los encontrados por VELASCO y PEREZAGUA (22), que observaron una inhibición del consumo de oxígeno, si bien es cierto que estos autores utilizaron otro medio de suspensión (Krebs-Ringer fosfato) y ya es cono-

cido que los diferentes medios de incubación inducen modificaciones en este sentido.

Los valores obtenidos en homogeneizado de cerebro *in vitro* están más de acuerdo con los datos obtenidos por la literatura y pudieran explicar los hallazgos de BEDATE *et al.* (1) de que el Dipiridamol incrementa la dosis letal de cianuro potásico en los animales de experimentación y los de BELMONTE y MONFORT (3) que a su vez demostraron que el Dipiridamol protege frente a la anoxia anóxica provocada por la sumersión o frente a la anoxia debida a un insuficiente flujo sanguíneo. Sin embargo, en cortes de cerebro la inhibición del consumo de oxígeno ocurre sólo en los 15 y 30 primeros minutos de la incubación, no apareciendo posteriormente.

Los resultados obtenidos en diafragma de rata son difíciles de explicar y están en contradicción con los valores obtenidos en corazón (que es músculo estriado) por BRUGGER *et al.* (4), LAUDAHN (7), quienes observaron una disminución del consumo de oxígeno *in vivo* e *in vitro* e incluso en mitocondrias aisladas, sin embargo, el Dipiridamol no mejora la fosforilización oxidativa (19, 20).

Puede observarse, pues, una gran variabilidad en la modificación del consumo de oxígeno tisular bajo la influencia del Dipiridamol.

Resumen

El Dipiridamol a las concentraciones 10^{-3} y 10^{-4} M deprime el consumo de oxígeno en homogeneizados de cerebro de rata; a la concentración 2×10^{-3} M incrementa el consumo de oxígeno por diafragma de rata en los 45 primeros minutos de incubación; no actúa sobre cortes y homogeneizados de hígado de rata a las concentraciones estudiadas.

Bibliografía

1. BEDATE, H., SÁINZ, G., BRUGGER, A. y ESPLUGUES, J.: *R. esp. Fisiol.*, **22**, 25, 1966.
2. BEISENHERZ, G., KÖSS, F. W., SCHULE, A., GEBAUER, J., BARISH, R. y FRODE, R.: *Arzneimittel Forsh.*, **10**, 307, 1970.
3. BELMONTE, A. y MONFORT, R.: *R. esp. Fisiol.*, **22**, 61, 1966.
4. BRUGGER, A., ESPLUGUES, J., LLUCH, S. y MARCO, J. R.: *R. Clin. Esp.*, **98**, 6, 1966.
5. ESPLUGUES, J., TORMO, V., ALGARRA, F., BRUGGER, A., HUESO, E., SOTO, L., CEBOLLA, R. y PERIS, R.: *R. Clin. Esp.*, **83**, 210, 1961.
6. GUSTAVINO, G., LAGUENS, R. y CASTELLANO, J.: *VIII Congreso Internacional de Cardiología*, Lima, 1968.
7. LAUDAHN, G.: *Experientia*, **17**, 415, 1961.
8. LITWACK, G., BURGER, N., TRYFIATES, G. P. y PRESSMAN, B. C.: *Biochem. Pharmacol.*, **13**, 609, 1964.
9. LÓPEZ CAMPOS, J. L. y VEGA CID, J.: *R. Clin. Esp.*, **105**, 123, 1967.
10. LÓPEZ CAMPOS, J. L. y VEGA CID, J.: *R. Clin. Esp.*, **110**, 453, 1968.
11. LOZADA, B. B. y LAGUENS, R. P.: *VII Congreso Internacional de Cardiología*. Junio 1964, Montreal (Canadá).
12. LOZADA, B. B. y LAGUENS, R. P.: *Cardiología*, **49**, Suppl. I, 33, 1966.
13. McILWAIN, H. y BUDDLE, H. L.: *Biochem. J.*, **53**, 412, 1953.
14. MEESEN, H.: *Dtsch. Ges. Path.*, **51**, 31, 1967.
15. MOLBERT, E. R. G.: *Rev. Can. Biol.*, **22**, 173, 1963.
16. POCHE, R. y HAUSSMAN, T. U.: *Virchow Arch. Path. Anat.*, **339**, 234, 1965.
17. SIRIGU, F. D., DEMURTAS, A. y PELEGRINI, A.: *Minerva Cardioangiol.*, **15**, 448, 1967.
18. SNEDECOR, W. C.: *Métodos Estadísticos CECSA*, Méjico, 1964.
19. SORDAHL, L. A. y SCHWARTZ, A.: *Mol. Pharmacol.*, **3**, 509, 1967.
20. SORDAHL, L. A. y SCHWARTZ, A.: *Pharmacologist*, **11**, 289, 1969.
21. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. F.: *Manometric techniques* (5th Ed.), Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1972.
22. VELASCO MARTÍN, A. y PEREZAGUA, C.: *R. Esp. Fisiol.*, **23**, 237, 1967.
23. VELASCO MARTÍN, J. L.: *Arch. Fac. Med. Madrid*, **22**, 473, 1972.
24. VELASCO MARTÍN, A., ARÉVALO ALONSO, J. CASTAÑEDA CASADO, J.: *Experientia*, **28**, 1070, 1972.