

Efecto del dextropropoxifeno sobre el consumo de oxígeno y fosforilización oxidativa de cerebro e hígado de rata *in vitro*

I. Saiz, J. L. González de Zárate y A. Velasco

Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Córdoba

(Recibido el 3 de agosto de 1976)

I. SAIZ, J. L. GONZALEZ DE ZARATE and A. VELASCO. *Effect of Dextropropoxyphene on Oxidative Phosphorylation in Brain and Liver of Rat In vitro*. Rev. esp. Fisiol., 33, 109-112. 1977.

Dextropropoxyphene hydrochloride increases significantly oxygen uptake in whole rat brain homogenates at concentrations of 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} M when using sucrose 0.25 M pH 7.4 as incubation medium. If substrate and cofactors are added to the sucrose, this drug decreases oxygen uptake at 10^{-5} M concentration in brain and liver rat homogenates, and it also decreases significantly the P:O quotient of mitochondria in both organs by uncoupling the oxidative phosphorylation.

El dextropropoxifeno (clorhidrato de (+)- 1,2-difenil-2-propionil-oxi-3-metil-4-dimetilaminobutano) es un analgésico sintetizado por POHLAND y SULLIVAN (7). Los fármacos analgésicos (morfina, metadona, etc.) modifican el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata *in vitro* (10-11). En el presente trabajo se estudia el efecto de este fármaco sobre el consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro e hígado de rata *in vitro* y la fosforilización oxidativa mitocondrial en los mismos órganos, por estar relacionado estructuralmente con la metadona cuyo efec-

to desacoplante de fosforilización oxidativa fue observado por BRODY y BAIN (2).

Material y métodos

Se utilizaron ratas Wistar, machos, de 150 g, muertas por decapitación. Los homogeneizados de cerebro e hígado fueron preparados a 2-4° C de acuerdo con anteriores publicaciones (13-14), empleando sacarosa 0,25 M tamponada a pH 7,4 con fosfato. A este medio se añadía en otros experimentos: malato sódico 0,002 M, piruvato sódico 0,002 M, cloruro magné-

sico 0,0048 M, ATP sódico 0,0012 M y dinitrofenol 3×10^{-5} M (8), siendo la concentración final de sacarosa 0,10 M, durando la incubación 60 minutos. Las mitocondrias de cerebro e hígado de rata se obtuvieron de acuerdo con el proceder de BRODY y BAIN (1), siendo el medio de incubación sacarosa 0,05 M conteniendo: ATP sódico 0,0024 M, piruvato sódico 0,006 M, malato sódico 0,006 M, tampón de tricina 0,012 M, tampón de fosfatos 0,016 M, citocromo C $1,2 \times 10^{-5}$ M, sulfato magnésico 0,0004 M, fluoruro sódico 0,012 M, glucosa 0,02 M, hexoquinasa 0,02 mg.

El consumo de oxígeno se determinó por técnica manométrica (12) utilizando aire como fase gaseosa. El consumo de fósforo inorgánico se estimó fotocolorimétricamente (5) observando su desaparición del medio de incubación. Los resultados de consumo de oxígeno en homogeneizados se expresaron en $\mu\text{l}/100$ mg de tejido fresco. Cuando se trabajó con mitocondrias se calculó la relación P:O (1). Las concentraciones de fármaco empleadas son expresadas en resultados. El contraste estadístico se verificó mediante un t-test (9).

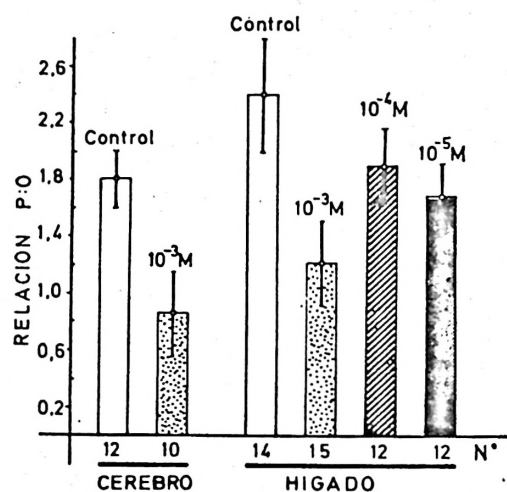


Fig. 1. Efecto del clorhidrato de dextropropoxifeno sobre la relación P:O de mitocondrias de cerebro e hígado de rata.

El medio de incubación contiene: tampón de fosfatos 0,016 M pH 7,4, ATP sódico 0,0024 M, piruvato sódico 0,006 M, malato sódico 0,006 M, tampón de tricina 0,012 M, citocromo C $1,2 \times 10^{-5}$ M, sulfato magnésico 0,0004 M, sacarosa 0,05 M, fluoruro sódico 0,012 M, glucosa 0,02 M, hexoquinasa 0,02 mg. La incubación se realizó a 30°C durante 30 minutos. Valores medios $\pm$ E.S.M.

Tabla I. Efecto del clorhidrato de dextropropoxifeno sobre el consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro e hígado de rata in vitro.

Valores medios $\pm$ E.S.M. Entre paréntesis se indica el número de experimentos. El medio de incubación contiene: tampón de fosfatos pH 7,4 0,012 M, malato sódico 0,002 M, piruvato sódico 0,002 M, cloruro magnésico 0,0048 M, ATP sódico 0,0012 M, dinitrofenol, $3,5 \times 10^{-5}$ M, sacarosa 0,10 M. N. S. = no significativo.

Clorhidrato de dextropropoxifeno M	Consumo de O ₂ en $\mu\text{l}/100$ mg de tejido fresco/hora a 37°C			
	Hígado		Cerebro	
	Sacarosa 0,25 M	Sacarosa con substrato	Sacarosa 0,25 M	Sacarosa con substrato
—	$33,1 \pm 1,6$ (11)	$184,6 \pm 10,3$ (12)	$36,6 \pm 0,9$ (17)	$178,6 \pm 7,3$ (12)
10^{-3}	$30,3 \pm 1,4$ (11) N.S.	$38,0 \pm 2,4$ (11) $P < 0,01$	$38,8 \pm 1,5$ (14) N.S.	$112,2 \pm 7,5$ (11) $P < 0,01$
10^{-4}	$36,5 \pm 1,2$ (11) N.S.	$218,1 \pm 20,5$ (11) N.S.	$44,0 \pm 2,1$ (14) $P < 0,01$	$177,7 \pm 8,4$ (11) N.S.
10^{-5}	$38,0 \pm 1,3$ (11) N.S.	$199,2 \pm 12,8$ (11) N.S.	$42,8 \pm 2,1$ (14) $P < 0,01$	$174,4 \pm 9,4$ (11) N.S.
10^{-5}	—	—	$40,7 \pm 1,6$ (12) $P < 0,05$	—

Resultados

Efecto del clorhidrato de dextropropoxifeno sobre consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro e hígado de rata in vitro. El clorhidrato de dextropropoxifeno no modifica el consumo de oxígeno de homogeneizado de hígado de rata incubado a 37° C en sacarosa 0,25 M pH 7,4. A las concentraciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M en homogeneizado de cerebro lo incrementa significativamente. Cuando el medio de incubación contiene además sustrato, dinitrofenol y cofactores, el clorhidrato de dextropropoxifeno a 10^{-3} M inhibe significativamente el consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro y de hígado (tabla I).

Efecto del clorhidrato de dextropropoxifeno sobre la relación P:O en mitocondrias de cerebro e hígado de rata in vitro. A la concentración de 10^{-3} M disminuye significativamente la relación P:O en mitocondrias de cerebro y de hígado, si bien en hígado a 10^{-4} y 10^{-5} M la inhibición se encuentra en los límites de la significación estadística (fig. 1).

Discusión

El clorhidrato de dextropropoxifeno a bajas concentraciones incrementa el consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro de rata incubado únicamente en sacarosa 0,25 M. Cuando el medio de incubación contiene sustrato, dinitrofenol y cofactores, este fármaco a la concentración de 10^{-3} M disminuye significativamente el consumo de oxígeno en homogeneizado de cerebro e hígado de rata. El dinitrofenol se ha añadido al medio de incubación para obtener valores elevados de consumo de oxígeno de acuerdo con el proceder de SIEKEVITZ y POTTER (8). Estos hallazgos sugieren un desacoplamiento de la fosforilización oxidativa y en efecto esta sustancia a la concentra-

ción de 10^{-3} M disminuye muy significativamente la relación P:O en mitocondrias de cerebro e hígado de rata inhibiendo fundamentalmente la incorporación de fosfato inorgánico. El clorhidrato de dextropropoxifeno se comporta a este respecto como otros analgésicos [metadona (2)] y depresores del sistema nervioso central: barbitúricos (2), fenotiazinas (3-4), benzodiacepinas (6), etc., que incrementan el consumo de oxígeno de hígado y cerebro de rata a bajas concentraciones, lo deprimen a concentraciones elevadas y desacoplan la fosforilización oxidativa.

Resumen

El clorhidrato de dextropropoxifeno a 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} M incrementa significativamente el consumo de oxígeno de homogeneizado de cerebro de rata *in vitro* en sacarosa 0,25 M pH 7,4. Si el medio de incubación contiene sustrato y cofactores, este fármaco, a 10^{-3} M, disminuye el consumo de oxígeno de cerebro e hígado de rata, así como la relación P:O de mitocondrias de ambos órganos desacoplando la fosforilización oxidativa.

Bibliografía

1. BRODY, T. M. y BAIN, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 685-696, 1952.
2. BRODY, T. M. y BAIN, J. A.: *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **110**, 148-156, 1954.
3. DAWKINS, M. J. R., JUDAH, J. D. y REES, K. R.: *Biochem.*, **72**, 204-209, 1959.
4. DAWKINS, M. J. R., JUDAH, J. D. y REES, K. R.: *Biochem. J.*, **73**, 16-23, 1959.
5. FISKE, C. H. y SUBBAROW, J.: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-381, 1925.
6. KADENBACH, B. y LUHRS, W.: *Nature*, **192**, 174-176, 1961.
7. POHLAND, A. y SULLIVAN, H. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4458-4461, 1953.
8. SIEKEVITZ, P. y POTTER, V. R.: *Fed. Proc.*, **12**, 267-272, 1953.

9. SNEDECOR, G. W.: Métodos estadísticos, C.E.C.S.A., Méjico, 1964.
10. TAKEMORI, A. E.: *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 135, 89-93, 1962 .
11. TAKEMORI, A. E.: *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 145, 20-26, 1964.
12. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. F.: Manometric and Biochemical techniques (5th edit.), Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1972.
13. VELASCO, A., ARÉVALO, J. M. y CASTAÑEDA, J.: *Experientia*, 28, 1070-1071, 1972.
14. VELASCO, A., ARÉVALO, J. M. DE ARMIJO, M. y VELASCO, J. L.: *Rev. esp. Fisiol.*, 29, 55-60, 1973.