

Estudio del mecanismo de acción neurofarmacológica del litio en el modelo experimental de plexo mientérico de cobayo

Frederic Màrmol Carrera

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE BIOLOGIA

ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCION NEUROFARMACOLOGICA
DEL LITIO EN EL MODELO EXPERIMENTAL DE PLEXO MIENTERICO
DE COBAYO

Tesis presentada por
Frederic Mármol Carrera para
optar al grado de Doctor en
Biología.

Barcelona, 1988.

Als meus pares.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Xavier Forn Dalmau, por haber dirigido esta tesis, así como por sus orientaciones y consejos desde que me encuentro en la Unidad de Farmacología de la Facultad de Medicina.

Al Dr. Pere Puig Parellada, por su inestimable ayuda tanto en el trabajo experimental como en la redacción de esta tesis, así como por su constante apoyo y amistad desde que inicié mis pasos en la farmacología experimental.

Al Dr. J.A. Salvá Miquel, con quien me he formado y del que tanto he aprendido gracias a sus amplios conocimientos en el área de la farmacología.

A la Dra. M^a Teresa Mitjavila, por haber aceptado ser la ponente de esta tesis.

A Inmaculada Trabal y a Artur Conesa, por su colaboración en la realización de gran parte del trabajo experimental de esta tesis.

A la Dra. Catalina Caballero y a la Dra. Elionor Pla, por sus enseñanzas sobre la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, así como por la ayuda prestada en el aprendizaje del funcionamiento y manejo de los baños de órgano aislado.

Al Dr. Antonio Concellón, cap del servei d'Inspecció Sanitària de l'Escorxador de Barcelona, por su amabilidad y colaboración en el suministro de cápsulas suprarrenales de bóvidos.

Al Dr. Prats del Departamento de Bioquímica del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, por su

colaboración en la valoración de los niveles de litio en suero.

A mi esposa, M^a LLuisa Rodriguez Villaverde, por la gran ayuda, comprensión y paciencia que ha mostrado durante el tiempo que han durado los trabajos experimentales y de redacción de esta tesis.

A todos los compañeros de la Unidad de Farmacología y muy especialmente a J.M^a. Planas, Lourdes Carbonell y Juan Sanchez, de los que nunca me ha faltado su apoyo y ánimo para la realización de esta tesis.

INDICE

<u>LISTA DE ABREVIATURAS</u>	8
<u>INTRODUCCION</u>	9
<u>-CLINICA DEL LITIO</u>	11
El litio en el tratamiento de los estados maniacos.....	13
El litio en el tratamiento de los estados depresivos.....	17
Dosis y niveles de litio en plasma.....	20
Concentraciones intracelulares de litio.....	21
Selección de la preparación de litio.....	22
<u>-TOXICOLOGIA DEL LITIO</u>	23
Efectos secundarios producidos por el litio....	23
Intoxicación con litio.....	23
Prevención de la intoxicación con litio.....	24
Tratamiento de la intoxicación.....	25
<u>-FARMACOCINETICA DEL LITIO</u>	29
Absorción, distribución y excreción de litio...	29
<u>-FARMACOLOGIA Y BIOQUIMICA DEL LITIO</u>	32
<u>-LITIO Y METABOLISMO DE LA ACETILCOLINA</u>	32
Incremento en la liberación de acetilcolina....	32
Inhibición de la síntesis de acetilcolina.....	32
Reducción de la cantidad total de acetilcolina liberada.....	32
<u>-LITIO Y METABOLISMO DE LAS AMINAS BIOGENAS</u>	34
Efectos agudos del litio sobre el metabolismo de las aminas.....	34
Efectos subagudos del litio en el metabolismo de las aminas.....	36

Efectos crónicos del litio sobre el metabolismo de las aaminas.....	37
Variaciones producidas durante la terapia con litio en el metabolismo de las aaminas.....	39
-LITIO Y AMPc.....	41
Receptores y AMPc.....	41
Adenilciclase.....	47
Fosfodiesterase.....	50
Litio y adenilciclase.....	54
El AMPc en los desórdenes afectivos.....	54
Efectos del litio sobre el AMPc cerebral.....	56
Efectos del litio sobre el AMPc tiroideo.....	58
Efectos del litio sobre el AMPc renal.....	58
Efectos de las sustancias opiáceas sobre el AMPc.....	59
AMPc y plexo mientérico-músculo longitudinal de ileon de cobayo.....	60
Efectos del litio sobre el sistema del AMPc en otros tejidos.....	61
- <u>OTRAS ACCIONES DEL LITIO</u>	63
-EFECTOS DEL LITIO SOBRE EL BALANCE ELECTROLITICO.....	63
Efectos del litio sobre los electrolitos.....	63
Litio y ATP-asa.....	66
-LITIO Y METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS.....	67
Efectos del litio sobre el metabolismo intermediario.....	67
-LITIO Y METABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS.....	69
Efectos del litio sobre el metabolismo de los aminoácidos.....	69

-EFECTOS ENDOCRINOS DEL LITIO.....	71
Efectos agudos del litio sobre la glándula tiroidea.....	71
Efectos crónicos del litio sobre la glándula tiroidea.....	72
Efectos del litio sobre los pacientes tirotóxicos y la corteza suprarrenal.....	72
-EFECTOS DEL LITIO SOBRE EL RINON.....	74
- <u>MODELO EXPERIMENTAL</u>	75
-LA PREPARACION PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO COMO TEST DE ENSAYO FARMACOLOGICO. ACCION DE DIFERENTES NEUROTRANSMISORES.....	75
Efectos del litio sobre la preparación plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo.....	79
<u>OBJETIVOS</u>	81
<u>MATERIAL Y METODOS</u>	84
- <u>MATERIAL</u>	85
Animales de experimentación.....	85
Sustancias utilizadas.....	85
Preparación de las disoluciones.....	86
- <u>METODOS</u>	87
Preparaciones de íleon de cobayo.....	87
Preparación de la columna de cromatografía de DEAE-sefarosa.....	90
Preparación de la proteína de fijación.....	91

Ensayo de la proteína de fijación.	
Determinación de los niveles de AMPc	
por desplazamiento isotópico.....	94
Administración crónica de litio a cobayos.....	100
Estudio de los niveles de AMPc en plexo	
mientérico-músculo longitudinal de íleon	
de cobayo.....	101
Estudio del contenido de proteína.....	105
Cálculos estadísticos.....	106
<u>RESULTADOS</u>	107
-EFECTOS DEL CLORURO DE LITIO Y DEL CLORURO	
SODICO SOBRE LAS PREPARACIONES DE PLEXO	
MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE	
COBAYO.....	109
-ESTUDIO DE LAS ACCIONES DEL LITIO SOBRE	
DIFERENTES RECEPTORES EXISTENTES EN EL PLEXO	
MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE	
COBAYO.....	117
Efectos del litio sobre los receptores	
opiáceos.....	117
Efectos del litio sobre los receptores α y β	
adrenérgicos.....	122
Bloqueantes β -adrenérgicos.....	123
Bloqueantes α -adrenérgicos.....	124
Efectos del litio sobre los receptores	
histaminérgicos.....	137
Efectos del litio sobre los receptores	
serotoninérgicos.....	143
Acciones de un inhibidor de la fosfodiesterasa	
3-isobutil 1-metil xantina, sobre el efecto	
de la noradrenalina y litio.....	150

-EFECTOS DEL LITIO SOBRE LAS PREPARACIONES DE PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO PROCEDENTES DE ANIMALES TRATADOS CRONICAMENTE CON ESTE ION.....	155
-DETERMINACION DE LOS NIVELES DE AMP _c EN PREPARACIONES DE PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO CUANDO SE AÑADIA DE FORMA AGUDA LITIO.....	176
-DETERMINACION DE LOS NIVELES DE AMP _c EN PREPARACIONES DE PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYOS ADMINISTRADOS CRONICAMENTE CON LITIO.....	181
<u>DISCUSION</u>	187
-EXPERIENCIAS REALIZADAS EN BAÑO DE ORGANO AISLADO CON PREPARACIONES DE PLEXO MIENTERICO MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO.....	188
-EXPERIENCIAS REALIZADAS EN BAÑO DE ORGANO AISLADO CON PREPARACIONES DE ILEON PROCEDENTES DE COBAYOS TRATADOS CRONICAMENTE CON LITIO....	200
-VARIACIONES OBSERVADAS EN LOS NIVELES DE AMP _c CON HOMOGENIZADOS DE PREPARACIONES DE ILEON DE COBAYOS.....	205
-VARIACIONES OBSERVADAS EN LOS NIVELES DE AMP _c CON PREPARACIONES DE ILEON PROCEDENTES DE COBAYOS TRATADOS CRONICAMENTE CON LITIO.....	207
<u>CONCLUSIONES</u>	210

BIBLIOGRAFIA.....216

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACTH, Hormona adenocorticotrópica.
- ADH, Hormona antidiurética.
- ADP, Difosfato de adenosina.
- AMP, Monofosfato de adenosina.
- AMPC, Monofosfato cíclico de adenosina.
- ATP, Trifosfato de adenosina.
- GABA, Acido γ -aminobutírico.
- GAD, Acido glutámico descarboxilasa.
- GMPc, Monofosfato cíclico de guanosina.
- GTP, Trifosfato de guanosina.
- 5-HIAA, Acido 5-hidroxiindolacético.
- 5-HT, 5-Hidroxitriptamina (Serotonina).
- 5-HTP, 5-Hidroxitriptófano.
- IBMX, 3-Isobutil 1-metil xantina.
- IMAO, Inhibidor de la monoaminoxidasa.
- MHPG, 3-Metoxi 4-hidroxi propilenglicol.
- TSH, Hormona estimulante del tiroides.
- VMA, Acido 3-metoxi 4-hidroxivanililmandélico.

INTRODUCCION

En la presente tesis vamos a considerar el litio en sus aspectos farmacológicos y clínicos. Sin embargo nos ha parecido de interés el exponer en estas primeras líneas algunos datos históricos, así como citar otras utilidades de este elemento.

En el año 1817, un estudiante sueco de químicas, Arfwedson, consiguió aislar un constituyente particular del mineral petalita. Arfwedson y Berzelius, le pusieron el nombre de litio porque fue encontrado en una piedra, en griego, lithos.

No fue sin embargo hasta 1855, cuando los químicos consiguieron, por electrolisis, litio en estado puro. El nuevo elemento era de color blanco-plateado y lo suficientemente blando como para ser cortado con un cuchillo.

Actualmente sabemos que el litio es un elemento muy ubicuo en la naturaleza ya que se encuentra presente en muchos minerales, agua del mar, manantiales y en los tejidos de plantas y animales.

En los últimos cincuenta años se han ido incrementando sus aplicaciones especialmente en cerámica y metalurgia, ya que es un elemento metálico ligero y posee grandes ventajas para la obtención de aleaciones de bajo peso.

Muchas otras tecnologías han explotado diferentes propiedades del litio, por ejemplo, algunos derivados de este elemento, son muy higroscópicos y se emplean como eficientes deshumificadores. Otro compuesto, el estearato de litio es extremadamente estable y se utiliza como aditivo de lubricantes, ya que permite que mantengan la estabilidad entre amplios márgenes de temperaturas. En la tecnología nuclear, las peculiares características de la estructura atómica del litio son utilizadas en las reacciones termonucleares.

CLINICA DEL LITIO

Presumiblemente los médicos utilizaron el litio por primera vez, en la segunda mitad del siglo pasado, para el tratamiento de la gota; esto surgió gracias a una serie de experimentos realizados in vitro, que demostraron que las sales de litio disolvían tanto las piedras del riñón, como los depósitos de urato de los cartílagos. Estas experiencias resultaron convincentes para los médicos y acordaron prescribir sales de litio para el tratamiento de la gota. Esta creencia se mantuvo durante algunos años, hasta que se comprobó que lo que sucedía en el tubo de ensayo no era comparable al tejido vivo, ya que para conseguir los mismos efectos se necesitaban cantidades de litio muy tóxicas para el individuo.

A principios de este siglo, se utilizó el bromuro de litio como agente sedante y antiepiléptico, aunque nunca apareció bibliografía de porqué el bromuro de litio era mejor que los otros bromuros utilizados.

En la década de los 40, ya se habían acumulado evidencias de que los enfermos cardíacos e hipertensos mejoraban con dietas libres de cloruro sódico, por lo que se pensó en buscar un sustituto a esta sal. El cloruro de litio pareció ideal ya que su sabor era muy similar, era barato y fácil de usar. Pronto muchas personas en Estados Unidos sazonaron su comida con litio. Sin embargo en 1949, aparecieron varios trabajos médicos que describían graves envenenamientos e incluso tres muertes producidas por este ion, Corcoran y cols (1949); por lo que todas las sustancias que contenían litio fueron retiradas del mercado.

De todas formas, fue en este mismo año, 1949, cuando se volvió a hablar del litio, ya que fue propuesto por primera vez por Cade para el tratamiento específico de la psicosis maniaca. Desde entonces se han realizado muchos estudios clínicos, que han demostrado la eficacia de este ion para controlar la manía. Por otro lado existen evidencias, como mas adelante comentaremos, que sugieren que el litio puede tener un efecto protector frente a las psicosis recurrentes y episodios maniaco-depresivos. Existe la curiosa coincidencia como apuntó Kline (1970), de que en el siglo V, Caelius Aurelianus ya recomendó la utilización de aguas alcalinas, probablemente ricas en litio, para el tratamiento de la manía; una recomendación que ha persistido durante muchos siglos.

Aparte de sus efectos terapéuticos, el litio posee otras cualidades que lo diferencian del resto de los fármacos utilizados en psiquiatría, entre ellas cabe destacar que el litio no se metaboliza y no se une ni a proteínas de tejidos ni de la sangre. Esto es interesante, ya que se pueden controlar los niveles del agente activo en cerebro o riñón simplemente por la determinación de su concentración en sangre.

Las ventajas clínicas de su administración, fueron descritas por Schou (1969) en los siguientes términos, "Muchas sustancias son administradas de acuerdo con un rígido patrón de dosis; es sin embargo mucho mas racional ajustar las dosis de acuerdo con ciertos parámetros como: niveles en sangre de azucar durante el tratamiento con insulina, valores de protrombina-proconvertina durante el tratamiento con anticoagulantes, o bien, según los niveles de fármaco en el organismo; este último es el procedimiento seguido con el litio".

El litio en el tratamiento de los estados maniacos

Entre los principales síntomas de la manía cabe destacar:

-Los enfermos maniacos se encuentran muy bien tanto mental como físicamente y poseen una gran energía.

-Tienen siempre en la cabeza docenas de proyectos ruinosos y curiosas relaciones.

-Estas personas pueden gastar todos los ahorros de su vida en cualquier turbio negocio o verse de repente envueltas en numerosas situaciones conflictivas.

-Los maniacos hablan incesante y rápidamente; son irritables, discutidores y muy distraídos.

La manía se clasifica en crónica, cuando no hay intervalos de normalidad o en recurrente si los hay. Krauthammel y cols (1979).

La probabilidad de que una persona contraiga la enfermedad maniaco-depresiva a lo largo de su vida, se encuentra comprendida entre el 0.5 y el 2%. Afecta por igual a hombres y mujeres; suele iniciarse durante la juventud, sin relación con la clase social a la que se pertenezca ni con el nivel de educación. Tampoco está relacionada con el estrés, ni con los fracasos que se hayan presentado durante la infancia o poco tiempo antes de que se manifieste la enfermedad.

Algunos estudios sugieren que las familias en las que hay casos de enfermedad maniaco-depresiva tienden a ser inestables, aunque esto no demuestra que las familias inestables den lugar a la enfermedad maniaco-depresiva. American Psychiatric Association (1980).

La eficacia del litio como agente psicoactivo, fue descubierta por casualidad como ya hemos indicado, por el psiquiatra australiano Cade (1949), el cual trabajando con carbonato de litio, observó que esta sustancia poseía propiedades sedantes inusuales, ya que después de inyectarla a cobayos, los animales se encontraban en un

estado totalmente letárgico y no volvían a su estado normal hasta transcurridas una o dos horas. Estas observaciones le llevaron a centrarse en pruebas clínicas que demostraran la eficacia del litio para disminuir los síntomas de la manía.

El primer paciente al que Cade administró litio, se encontraba internado en un hospital con un estado de manía crónica desde hacía cinco años. Según este autor, "Era un hombre joven, muy delgado, sucio, malicioso, extrovertido, destructivo y desafiante, que se divertía molestando al personal médico y a los demás internos...". Cuatro meses mas tarde fue dado de alta y recuperó su antiguo trabajo.

Alentado por esta respuesta, administró a otros pacientes sales de litio. Algunos de ellos eran considerados como maniacos crónicos, o sea, parecidos al paciente descrito anteriormente y otros sufrían ataques de manía recurrente. Durante un año Cade trató diez casos de excitación maniaca, observando importantes mejorías en todos los casos. En principio, estos trabajos no fueron aceptados por la clase médica ya que no eran estudios controlados.

El primer estudio controlado fue llevado a cabo por Schou y cols (1954), al administrar al azar sales de litio o placebo mediante ensayos doble ciego, evaluando diariamente la conducta de los pacientes maniacos. Entre los enfermos que obtuvieron mejoría, los había tanto con historiales recientes de manía como otros que la padecían desde hacía mucho tiempo. Ni el sexo ni la edad influían en la respuesta positiva al fármaco y así mismo comprobaron, que los síntomas maniacos reaparecían cuando se interrumpía el tratamiento, por lo que el litio parecía producir un alivio sintomático mas que curativo.

Nueve años mas tarde, Maggs (1963), realizó el segundo estudio controlado con litio, en el que se incluyeron controles mas rígidos y sofisticados que los

de Schou, utilizando además varios tipos de escalas para clasificar a los pacientes. De este estudio se concluyó que el grado de manía disminuía, de forma muy significativa, después de dos semanas de tratamiento con litio.

Estos resultados positivos animaron a la realización de la tercera prueba sistemática sobre el efecto del litio en la manía. La experiencia la llevaron a cabo Fieve y cols (1968), al estudiar, mediante la realización de pruebas abiertas y doble ciego, el efecto de este ion en pacientes con psicosis maniaco-depresivas recurrentes. Estos autores al concluir su trabajo postularon que el litio era efectivo, incuestionablemente, en el 44% de los pacientes y tenía un cierto efecto en otro 24%, demostrando, además, que este ion también era efectivo en tipos específicos de pacientes maniacos cuyos ataques no remitían con fenotiacinas.

Por su parte Bunney y cols (1968), realizaron un ensayo, doble ciego, con litio y placebo, empleando una escala de 24 puntos para evaluar la conducta de los pacientes, incluyendo el humor, lenguaje y actividad física. Estos autores compararon los informes diarios de comportamiento con los niveles de litio en sangre demostrando dos cosas: primero, que el tratamiento con litio restablecía el estado normal de ánimo a los pacientes y segundo, que estos presentaban una marcada sensibilidad a la retirada temporal de este ion.

Más tarde, Stokes y cols (1971), seleccionaron varios pacientes diagnosticados como casos típicos de la enfermedad maniaco-depresiva y los trataron alternativamente con litio y placebo, observando mejoría en el 75% de los pacientes tratados con litio, mientras que tan solo no respondían un 18%. Con el placebo, el 40.5% mejoraba y el 40.5% no respondía, por lo que el litio producía una disminución estadísticamente muy

significativa de los episodios maniacos. Los niveles de litio plasmático después de 7 a 10 días de tratamiento eran de 0.93 mEq/l.

Johnson y cols (1968), realizaron el primer estudio, doble ciego, comparando los efectos del litio y de la clorpromacina en los estados maniacos; la duración del tratamiento oscilaba entre tres y cuatro semanas y las dosis utilizadas se iban incrementando hasta obtener una respuesta terapéutica adecuada, o bien, hasta que empezaban a aparecer los primeros síntomas de intoxicación. Según estos autores "los resultados muestran inequívocamente una superior eficacia terapéutica del litio en los estados maniacos, ya que aparece una marcada mejoría con este ion en el 78% de los pacientes, mientras que tan solo es del 36% con clorpromacina".

Spring y cols (1969), confirmaron estos resultados, mediante un estudio realizado a doble ciego durante tres semanas, en el que administraron, a enfermos maniacos, carbonato de litio o bien clorpromacina, observando mejoría en un 80% de los pacientes tratados con litio y en un 60% de los tratados con clorpromacina.

Más tarde Prien y cols (1972), realizaron una prueba multicéntrica con pacientes maniacos, a los que asignaron tratamiento con carbonato de litio o con clorpromacina, durante un periodo de tres semanas, no observando diferencias significativas, en cuanto a efectividad, entre los enfermos tratados con litio o con clorpromacina. En donde si apreciaron diferencias fue en el número de pacientes que terminaron la prueba; ya que mientras con litio finalizaron casi todos los enfermos, con clorpromacina se produjeron muchas bajas; por lo que Prien y cols concluyeron su trabajo resaltando el hecho de que la clorpromacina producía más efectos secundarios y más abandonos que el litio.

Desde entonces se han realizado otros estudios, como los de Schou (1979), que demuestran una mayor eficacia del litio sobre la clorpromacina en el tratamiento de la manía aguda.

En resumen podemos afirmar que las sales de litio son efectivas, para el tratamiento de la manía, entre un 60 a un 80% de los pacientes, teniendo la ventaja sobre la clorpromacina de que no produce tantos efectos secundarios ni tantas molestias a los enfermos.

El litio en el tratamiento de los estados depresivos

Tradicionalmente se ha tendido a estudiar los síndromes clínicos de la manía y la depresión como estados opuestos, a pesar de que Kraepelin (1921), ya describió una serie de estados, que él definió como manía depresiva, depresión excitada y estupor maniaco, como una transición entre la manía y la depresión.

En este sentido Mendels y Hawkins (1971), observaron que el sueño electroencefalográfico de los pacientes maniacos era similar al de un grupo de enfermos depresivos estudiados bajo las mismas condiciones, postulando la teoría de que el litio podía tener un efecto antidepresivo al ser un eficaz agente antimaniaco.

Los efectos antidepresivos del litio fueron evaluados por primera vez por Cade (1949), que observó que este ion no reportaba ningún beneficio a un pequeño grupo de pacientes depresivos.

Dos años después, Noack y Trautner (1951), tampoco apreciaron efectos terapéuticos beneficiosos, en otro pequeño grupo de pacientes depresivos, cuando se les administraba carbonato de litio.

Varios años más tarde, otros autores volvieron a esta línea de investigación y realizaron trabajos que sugerían que los pacientes depresivos mejoraban cuando se

les administraba litio. Por ejemplo, Vojtechovsky (1957), observó en pacientes depresivos que no habían respondido a la terapia electroconvulsiva, que el 60% mejoraban cuando se trataban con litio.

Hartigan (1963), demostró que un 80% de los pacientes depresivos tratados con una combinación de terapia electroconvulsiva y litio presentaban una respuesta positiva.

Dyson y Mendels (1968), comprobaron en un grupo heterogeneo de enfermos depresivos que el 61% mejoraban cuando se trataban con este ion. Así mismo demostraron que los enfermos que respondían al tratamiento poseían una alta incidencia de enfermedades afectivas en su historial familiar, en contraste con el grupo que no respondía.

Nahunek y cols (1970), observaron que de 98 pacientes, diagnosticados como depresivos endógenos, el 54% de ellos mejoraba con el tratamiento con litio, oscilando las cantidades recibidas de este ion entre 300 y 2100 mg diarios. Esta gran dispersión en las cantidades de litio administradas a los enfermos dificultó en gran medida la evaluación del estudio.

Goodwin y cols (1969, 1972), realizaron dos pruebas controladas con pacientes depresivos que recibieron placebo o litio alternativamente, observando una remisión completa de los síntomas en un 29% de los enfermos tratados con litio y una remisión parcial en otro 40%. Comprobaron así mismo que cuando el litio era sustituido por el placebo se producían recaídas.

Mendels (1972), estudió el efecto del carbonato de litio en pacientes hospitalizados con depresión severa. En esta prueba, el criterio primario para la confirmación de mejoría era que el enfermo alcanzaba el suficiente alivio en su sintomatología para no necesitar de otras formas de tratamiento antidepresivo. Utilizando este criterio, mejoraron inequívocamente un 62% de los

pacientes, los cuales recaían si la subsecuente administración era placebo. Mendels también observó que la mejoría era mucho mas importante en enfermos con historiales familiares de enfermedades afectivas.

En contraposición, Van der Velde (1970), no observó mejoría en un pequeño grupo de pacientes que habían recibido litio e incluso sugirió que producía un aumento de la depresión en estos enfermos.

Fieve y cols (1968), compararon los efectos antidepressivos del litio con los de la imipramina en un grupo de pacientes depresivos hospitalizados; concluyendo que la imipramina era claramente superior al litio y que este solo proporcionaba efectos antidepressivos suaves.

Por su parte, Stokes y cols (1971), después de tratar pacientes depresivos con litio o placebo, observaron una reducción significativa en los síntomas depresivos, independiente del tratamiento, lo que sugirió que no habían diferencias significativas entre la mejoría producida por ambas sustancias.

En otros estudios posteriores, Jann y cols (1982), demostraron que el litio aumenta la acción antidepressiva de los fármacos tricíclicos, especialmente la de la óxido N-imipramina. Para ello realizaron una prueba, doble ciego, en la cual los pacientes recibían el fármaco tricíclico con litio, o bien solo. La superioridad de la combinación era evidente después de una o dos semanas de tratamiento. Estos autores observaron además que este ion evitaba el paso a la manía, en ocasiones inducida por los antidepressivos tricíclicos.

Para finalizar, hay que destacar que existe una gran dificultad en la evaluación de los trabajos, debido a los diferentes grupos de pacientes depresivos que existen, ya que el síndrome clínico, definido como depresión, consiste en un variado número de subtipos con diferencias en la sintomatología y la patofisiología que pueden alterar la respuesta al tratamiento.

Mendels (1968, 1970), Klerman (1972) y Robins y cols (1972).

Dosis y niveles de litio en plasma

Los niveles recomendados de litio en plasma son variables y hasta hace unos años no habían prácticamente trabajos en este sentido. Prien y cols (1972), estudiaron las relaciones entre la respuesta clínica y los niveles de litio en plasma en un grupo de pacientes maniacos, observando que cuando los niveles de este ion excedían de 1.5 mEq/l, había un mayor riesgo de efectos tóxicos, no produciéndose por encima de ellos mejoría en el estado clínico del paciente.

La concentración de litio que actualmente se considera óptima es de 0.8 a 1.5 mEq/l, siendo los valores de 1.25 a 1.5 mEq/l, los idóneos para el tratamiento de pacientes maniacos o hipomaniacos, mientras que de 0.75 a 1 mEq/l, ya se consideran suficientes y mas inocuos para su utilización a largo plazo en la prevención de la enfermedad maniaco-depresiva recurrente. Los niveles mas bajos de litio en suero para que este tenga un nivel profiláctico adecuado son de 0.6 a 0.8 mEq/l. Estas concentraciones se obtienen de muestras sanguíneas extraídas a las 10±2 horas después de la última dosis administrada. La concentración de litio recomendada, se logra normalmente administrando de 900 a 1500 mg/día de litio en pacientes ambulatorios y de 1200 a 2400 mg/día en enfermos maniacos hospitalizados. Prien y cols (1971), Schou (1973), Johnson (1975), Kerry (1975), Judd y cols (1977), Strayhorn y Nash (1977) y Baldessarini (1984).

Concentraciones intracelulares de litio

Como parte de los esfuerzos que se han hecho para distinguir a los pacientes que respondían de los que no respondían al tratamiento con litio, se examinaron las concentraciones intracelulares (eritrocitarias) de este ion, ya que se ha demostrado que la medición de los niveles de litio en plasma no siempre es un parámetro eficaz para estudiar la mejoría clínica y la toxicidad del litio.

En un estudio realizado por Mendels y Stinnet (1973), en el que trabajaron con varones maniaco-depresivos hospitalizados, observaron que los enfermos que respondían al tratamiento con carbonato de litio, poseían una alta concentración intracelular de este ion, en comparación con los que no respondían, mientras que la cantidad de litio plasmático era la misma en todos los enfermos. Lo mismo observaron en un grupo de mujeres maniaco-depresivas.

Strayhorn y Nash (1977), propusieron una hipótesis en la que sugerían que los pacientes maniaco-depresivos respondían al tratamiento con litio cuando había una alta concentración intracelular de este ion, y no mejoraban cuando la concentración era baja.

Todo esto sugirió que los pacientes maniaco-depresivos que respondían al tratamiento con carbonato de litio, podían tener algunas diferencias en las propiedades de las membranas celulares con respecto a los enfermos que no respondían. Mendels (1975).

Se ha observado, igualmente, que la concentración de litio en cerebro es una importante variable para determinar la respuesta clínica de los pacientes, viéndose que había una mejor correlación entre las concentraciones cerebrales de litio con los niveles intracelulares que con los plasmáticos. Mendels (1975) y Balfour (1979).

Selección de la preparación de litio

El carbonato de litio es sin duda en la actualidad la preparación mas utilizada.

También se han empleado aunque mucho menos que el carbonato, el sulfato, citrato, glutamato, gluconato, adipato y acetato. Las diferencias entre las diferentes sales son simplemente marginales. El cloruro no se utiliza ya que es bastante higroscópico e irritante.

El carbonato se ha ganado la aceptación universal, ya que es el que posee mayor proporción molecular de litio, permitiendo prescribir menor cantidad de fármaco, asociado esto a los escasos efectos secundarios que produce.

Los preparados que se emplean en la actualidad consisten en comprimidos o cápsulas de carbonato de litio, aunque también hay preparados líquidos de citrato de litio. Kerry (1975).

TOXICOLOGIA DEL LITIO

El litio es el único ion que ejerce una acción terapéutica en psicofarmacología, y al igual que los demás fármacos produce efectos secundarios indeseables. Ver (Tabla 1). Boissier (1979).

Efectos secundarios producidos por el litio

Los efectos secundarios mas frecuentemente observados son: nauseas, molestias abdominales, polidipsia, poliúria, debilidad muscular, pequeño temblor en las manos, fatiga y somnolencia. En algunas ocasiones pueden aparecer vómitos y diarreas. Estos efectos secundarios se empiezan a observar cuando los niveles, en suero de este ion, alcanzan 1 mEq/l.

Hay que destacar que estos síntomas son normalmente transitorios y desaparecen espontaneamente al cabo de unas pocas semanas de tratamiento. Si persisten hay que reducir temporalmente la dosis, o dar litio de una forma discontinua; y si no cesan se debe cambiar la medicación. Shopsin y Gershon (1973), Vacaflor (1975) y Boissier (1979).

Algunos de los efectos indeseables pueden reaparecer a lo largo del tratamiento, y aunque casi todos son reversibles, ocasionalmente pueden continuar durante meses o años. Schou (1970).

Intoxicación con litio

Cuando los niveles séricos de litio llegan a valores de 2 mEq/l, se puede producir intoxicación. Esta se manifiesta por síntomas que incluyen indolencia, cansancio, modorra, confusión mental, disartria, ataxia,

temblor, contracciones musculares, anorexia, vómitos, diarrea y finalmente coma. Schou y cols (1968), Allgen (1969) y Boissier (1979).

Prevención de la intoxicación con litio

Como ya indicó Schou (1968), la prevención de la intoxicación con litio se basa en tres criterios fundamentales:

- a/ Dosis apropiada.
- b/ Control de los niveles sanguíneos.
- c/ Exclusión de los individuos que presenten historiales de enfermedades renales y cardiovasculares. Esto último se puede considerar relativo y nunca absoluto, ya que hay pacientes en los que la necesidad del tratamiento con litio puede ser considerado de importancia crítica, para no caer en brotes maniacos que aun pueden ser mas peligrosos. Lo mas importante para la utilización segura de este ion es evitar su acumulación en los tejidos, lo que depende en gran parte de su efectiva eliminación por los riñones. Shopsin y Gershon (1973). Entre los casos de riesgo se incluyen los pacientes con glomerulonefritis bilateral, falta de uno de los riñones, enfermedades graves congénitas y/o cardíacas, arterioesclerosis, insuficiencia coronaria, etc. El litio para ser utilizado en estos casos, debe tener justificaciones excepcionales. Warick (1970).

Otros grupos de pacientes que deben ser cuidadosamente evaluados, antes de empezar el tratamiento, son los que presentan historiales de enfermedades tiroideas, así como los que tienen historiales de enfermedades metabólicas o endocrinas, (diabetes mellitus, baja concentración de potasio en suero, etc). Tampoco es recomendable la utilización de litio durante el primer trimestre del embarazo.

Así mismo, las infecciones virales y las temperaturas ambientales elevadas, pueden conducir a tener que disminuir o cesar temporalmente la medicación. Lo mismo sucede cuando se produce deshidratación, ya que puede ser el síntoma de un desajuste electrolítico.

Otro factor que puede restringir el tratamiento con litio es, según Shopsin y Gershon (1973) y Vacaflor (1975), la vejez, ya que puede producir cambios en el organismo que causen una disminución en la tolerancia de este ion y predispongan a la toxicidad aunque haya un buen funcionamiento renal.

Hay que tener cuidado, así mismo, con la utilización de diuréticos durante el tratamiento con este ion.

Tratamiento de la intoxicación

Es muy importante que la intoxicación sea diagnosticada lo mas rapidamente posible, ya que se desarrolla gradualmente y no es muy peligrosa si se controla a tiempo. Boissier (1979).

Para la intoxicación con este ion, se utiliza el mismo tratamiento correctivo y de soporte que para el envenenamiento con fármacos psico-depresores, que incluye, determinación frecuente y cuidadosa de la presión sanguínea, controles regulares con rayos X, vigilancia de la respiración, etc. Mandel y cols (1980).

Durante la intoxicación es particularmente importante corregir el balance electrolítico, y a los pacientes que sufren poliuria y se encuentran en un estado precomatoso es conveniente darles mucho líquido. También es conocido, que las concentraciones tóxicas de litio producen un progresivo balance negativo de sodio, observándose que la administración de este ion ayuda a mejorar el estado general del paciente intoxicado con

litio. Thomsen y Schou (1975), Mandel y cols (1980) y De Paulo (1981).

Tabla 1. EFECTOS SECUNDARIOS DEL LITIO
(Boissier, 1975).

NIVELES BAJOS DE LITEMIA:

1/ Efectos precoces:

Nauseas
Temblores
Movimientos bruscos
Poliuria
Somnolencia

2/ Efectos tardíos:

Temblores
Poliuria importante
Polidipsia
Ganancia de peso
Edema
Hipertiroidismo

NIVELES ALTOS DE LITEMIA:

Vómitos y diarrea
Temblores en las manos
Sopor
Vértigo
Disartria
Ataxia

NIVELES MUY ELEVADOS DE LITEMIA:

Alteración de la consciencia
Fasciculación muscular
Hiperreflectividad, nistagmus
Crisis epilépticas
Coma

FARMACOCINETICA DEL LITIO

Absorción, distribución y excreción de litio

El litio se absorbe en el tracto gastrointestinal. La absorción total se produce en unas ocho horas, obteniéndose las máximas concentraciones plasmáticas de dos a cuatro horas después de una dosis oral. Los preparados de liberación lenta de carbonato de litio tardan mas en absorberse y reducen al mínimo las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas del ion, aunque la absorción es variable e incompleta.

El litio se distribuye primero en el líquido extracelular y luego se acumula gradualmente en los tejidos en diferentes cantidades, siendo los gradientes de concentración a través de las membranas celulares mucho mas pequeños que los del sodio y potasio. El volumen final de distribución, (0.7 a 0.9 l/Kg), se aproxima al del agua corporal total. El paso a través de la barrera hematoencefálica es lento, aunque cuando se logra la estabilidad basal, la concentración de litio en el líquido cefalorraquídeo es de alrededor del 40% de la concentración plasmática. No se une a las proteínas plasmáticas. Kerry (1975).

Schou (1973) y Baldessarini (1984), observaron que de uno a dos tercios de una dosis de ataque se excreta durante una fase de eliminación inicial que oscila entre 6 y 12 horas, seguida esta fase por otra de excreción lenta durante los 10 a 14 días siguientes.

En un tratamiento crónico, la excreción de litio aumenta durante los primeros 5 ó 6 días, hasta llegar a un equilibrio entre ingestión y eliminación. Al cesar la administración, hay una rápida fase de excreción renal, seguida de otra lenta, que dura entre 10 y 14 días. El

80% del litio filtrado se reabsorbe en los túbulos renales, oscilando la depuración renal de este ion entre 15 y 30 ml/min. Estos valores son algo menores en la vejez, 10 a 15 ml/min, y mayores en las personas jóvenes. La carga de sodio produce un pequeño aumento de excreción de litio y la depleción de sodio promueve un aumento clinicamente importante de retención de litio.

Como hemos comentado anteriormente, debido al bajo índice terapéutico del litio, siempre se deben determinar sus concentraciones plasmáticas o séricas para facilitar la utilización sin problemas de este ion. Así mismo, debido al muy bajo margen de seguridad del litio, se deben usar dosis diarias divididas, e incluso, los preparados de liberación lenta se deben administrar normalmente dos veces al día.

La farmacocinética del litio es relativamente estable y característica en cada paciente, lo que hace posible prever las necesidades de dosificación en un individuo, basándose únicamente en los resultados de la administración de una sola dosis de prueba de carbonato de litio seguida de un único análisis plasmático 24 horas después. Cooper y Simpson (1978) y Jefferson y cols (1982).

La mayor parte de la absorción tubulorrenal del litio parece tener lugar en el túbulo proximal, sin embargo, su retención puede aumentar con cualquier diurético que produzca depleción de sodio, (furosemina, ácido etacrínico, tiazidas, etc). Himmelhoch y cols (1977) y De Paulo y cols (1981). La excreción renal puede incrementarse algo con la administración de diuréticos osmóticos como acetazolamida o aminofilina, aunque no son de mucha utilidad para el tratamiento de la intoxicación producida por litio. El triamtereno aumenta la excreción de este ion, lo que sugiere que una parte de la reabsorción puede producirse en la nefrona distal; no obstante, la espironolactona no aumenta la excreción de

litio. Algunos antiinflamatorios no esteroideos, (indometacina, fenilbutazona, etc), facilitan la reabsorción de litio en el túbulo proximal del riñón, aumentando así las concentraciones plasmáticas de este ion. De Paulo y cols (1981).

Hay que destacar que menos del 1% del litio ingerido se elimina del organismo por las heces, mientras que del 4 al 5% se excreta por el sudor. El litio se elimina por la saliva a concentraciones dobles de las plasmáticas, mientras que en las lágrimas su concentración es la misma que en el plasma; por lo que para vigilar las concentraciones de este ion, también se pueden analizar estos fluidos corporales. Brenner y cols (1982) y Selinger y cols (1982). Se ha demostrado así mismo que el litio también se excreta con la leche humana, por lo que las mujeres que lo toman no deben amamantar a sus hijos. Johnson y Johnson (1978).

FARMACOLOGIA Y BIOQUIMICA DEL LITIO

LITIO Y METABOLISMO DE LA ACETILCOLINA

Se ha demostrado que el litio es capaz de afectar la transmisión colinérgica, siendo sus efectos tanto pre como postsinápticos; entre ellos se incluyen:

Incremento en la liberación de acetilcolina

El pasajero incremento producido por el litio sobre la liberación de acetilcolina puede ser debido a una combinación de acciones, que incluyen despolarización de la membrana, afluencia de calcio y una disminución parcial en el contenido celular de sodio y potasio. Todos estos efectos son debidos según Berridge y cols (1982) y Berridge (1984), a la acumulación de litio en el interior de las terminaciones nerviosas.

Inhibición de la síntesis de acetilcolina

Cowie y cols (1978) y Reese y Cooper (1982), observaron que la inhibición de la síntesis de acetilcolina puede ser atribuida a un efecto inhibitorio del litio sobre el enzima acetil-coenzima A sintetasa y sobre la recaptación de colina.

Reducción de la cantidad total de acetilcolina liberada

Berridge y cols (1982), observaron que el litio disminuye la liberación de acetilcolina por inhibición de

su síntesis y porque se acumula en el interior de las terminaciones nerviosas. Mas tarde, Berridge (1984), comprobó que el litio, incluso a concentraciones bajas, puede reducir la conducción axonal y la generación del impulso nervioso, lo que podría afectar directamente a la producción de acetilcolina.

LITIO Y METABOLISMO DE LAS AMINAS BIOGENAS

De las hipótesis que intentan explicar las bases bioquímicas de las enfermedades afectivas, una de las mas importantes es sin duda la de las aminas.

Efectos agudos del litio sobre el metabolismo de las aminas

Uno de los primeros estudios en esta área fue el realizado por Corrodi y cols (1967). Estos autores trataron ratas por vía intraperitoneal con dosis de litio entre 2.5 y 15 mEq/Kg/día, estudiando los niveles de noradrenalina cerebral, desde pocos minutos, hasta 48 horas después de la administración. Corrodi y cols demostraron, que la recaptación de noradrenalina es mayor en los animales tratados con litio que en los controles, siendo el incremento, en la recaptación de noradrenalina cerebral, proporcional a la dosis administrada de este ion.

Stern y cols (1969), comprobaron que el litio produce un 95% de incremento en la recaptación de noradrenalina en cerebro y un 45% en corazón.

Mas recientemente, Nozdrachev y cols (1977) y Treiser y cols (1979), han investigado, en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo y en corazón perfundido de cobayo, el efecto del litio sobre las catecolaminas, sugiriendo que la acción del litio puede ser a nivel postsináptico.

Los datos recogidos en estos y otros estudios indican que el litio induce un incremento en la degradación intracelular de noradrenalina, retención de la amina y en general un aumento de su recaptación.

Respecto a la serotonina (5-HT), Corrodi y cols (1967), demostraron que dosis superiores a 15 mEq/Kg/día de cloruro de litio, disminuían la cantidad de 5-HT cerebral.

Katz y cols (1968) y Katz y Kopin (1969), estudiaron, la liberación de aminas marcadas, en cortes cerebrales de ratas previamente administradas con noradrenalina o 5-HT tritiada. Estos autores observaron que cuando se añadía litio a concentraciones de 2-4 mM al medio de incubación que contenía los cortes de cerebro, no variaba la cantidad de aminas que se liberaba espontáneamente, pero sí disminuía la que se liberaba cuando se estimulaban eléctricamente los cortes cerebrales.

Sheard y Aghajanian (1970), midieron los niveles de 5-HT y de su metabolito principal el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en cerebro de rata y observaron que en los animales tratados con litio, a dosis de 2.5 a 5 mEq/Kg durante 2 a 4 días, o 7.5 mEq/Kg durante 2 días, los niveles de 5-HT y de 5-HIAA eran menores que en los controles, lo que sugería que el litio aceleraba la recaptación de 5-HT.

Knapp y Mandell (1973) y Yuwiler y cols (1979), estudiaron los efectos del litio sobre la actividad de la triptófano hidroxilasa y sobre el transporte de triptófano en los sinaptosomas, observando que en la fase aguda del tratamiento, del 3º al 5º día, se producía una disminución significativa en la actividad de la triptófano hidroxilasa.

Por su parte, Iwata y cols (1974), comprobaron que tras una administración aguda de litio, el triptófano, la 5-HT y el 5-HIAA, no tenían modificados sus niveles ni en suero ni en cerebro, aunque sí se encontraban disminuidos después de administrar crónicamente este ion.

Así mismo, Treiser y cols (1980), estudiaron los efectos del litio en cerebro de rata, comprobando una

disminución en la densidad de los receptores de la 5-HT en el hipocampo.

Efectos subagudos del litio en el metabolismo de las aminas

Schildkraut y cols (1969), realizaron una serie de experiencias en las que inyectaron intracisternalmente noradrenalina tritiada, a ratas tratadas subagudamente durante 7 días con dosis de 2.4 mEq/Kg/día de litio; comprobando que los resultados eran similares a los obtenidos en los estudios agudos, ya que el litio producía una reducción significativa en la cantidad de noradrenalina tritiada. También observaron una pequeña pero significativa reducción de la normetanefrina marcada.

Desde entonces, muchos grupos de investigación, Edelfors (1980), Guerri (1982), Reese y Cooper (1982, 1984, 1984) y Vatal y Aiyar (1984), han trabajado en este campo, demostrando en estudios realizados in vitro, con sinaptosomas de animales tratados con litio, que este ion produce un incremento significativo en la recaptación de noradrenalina por los sinaptosomas.

Greenspan y cols (1970) y Baldessarini (1984), observaron que el litio producía cambios en los depósitos y en el metabolismo de la noradrenalina, comprobando que después de administrar este ion durante diez días a ratas que habían recibido un inhibidor de la monoaminoxidasas (IMAO), en los animales aparecía midriasis, exoftalmia e hiperactividad; sin embargo, las que no habían recibido un IMAO no presentaban estos síntomas y además poseían una mayor recaptación cerebral de noradrenalina.

Schubert (1973), después de tratar subagudamente a ratas, durante siete días, con dos dosis distintas de litio con las que obtuvo concentraciones séricas de 0.4 y 0.7 mEq/l respectivamente, comprobó que la dosis baja no

afectaba el metabolismo de las aminas cerebrales, mientras que la dosis alta incrementaba la acumulación de 5-HT y de 5-HIAA en el cerebro durante la infusión endovenosa de H³-triptófano.

Efectos crónicos del litio sobre el metabolismo de las aminas

Corrodi y cols (1969), observaron que después de tratar ratas con 2 mEq/Kg/día de litio durante 15 días, en algunos de los animales aparecía poliuria y diarrea, aunque las concentraciones cerebrales de noradrenalina, dopamina y 5-hidroxitriptamina, no variaban. Al bloquear la tirosina hidroxilasa y la triptófano hidroxilasa no se produjeron cambios en la noradrenalina, pero si comprobaron que la dopamina se encontraba incrementada en el área infundibular y disminuida en la región mesotelencefálica, mientras que la recaptación de 5-hidroxitriptamina estaba totalmente inhibida. Resultados parecidos observó Schubert (1973).

Ho y cols (1970), demostraron tras la administración en ratas de 2 mEq/Kg de litio, durante 28 días, que los animales presentaban signos de toxicidad como poliuria, diarrea y pérdida de peso. Después de inhibir la monoaminoxidasa comprobaron que había una disminución en la recaptación de dopamina en el pedúnculo cerebral y de noradrenalina en el hipotálamo.

Bliss y Ailion (1970), después de administrar durante 15 días a ratas 4 mEq/Kg/día de carbonato de litio, examinaron los cerebros de los animales para comprobar si se apreciaban cambios en las concentraciones de noradrenalina, 5-hidroxitriptamina y dopamina, observando que en los animales tratados con litio, las concentraciones cerebrales de estos neurotransmisores, no diferían de los controles. Tampoco observaron variación alguna, entre los animales controles y los tratados con

litio, al bloquear durante una hora la síntesis de noradrenalina con α -metil-p-tirosina. La única diferencia que apreciaron, fue una pequeña disminución en el porcentaje de recuperación de los metabolitos desaminados, que seguía a la inyección intracisternal de noradrenalina tritiada en las ratas tratadas con litio. Por último hay que señalar, que tampoco observaron diferencias, entre los animales controles y los tratados con este ion, al bloquear la degradación de 5-hidroxitriptamina con feniprazina. Estos autores concluyeron diciendo que probablemente el litio no afectaba al metabolismo de la noradrenalina, dopamina y 5-hidroxitriptamina en cerebro de rata. Resultados parecidos obtuvieron, Treiser y cols (1980).

Cameron y Smith (1980), estudiaron de forma aguda y crónica el efecto del litio, sobre la recaptación y retención de H^3 -noradrenalina en cuatro regiones cerebrales de rata: pedúnculo cerebral, hipotálamo, corteza parietal y núcleo caudado. El efecto agudo, sobre el aumento de recaptación de H^3 -noradrenalina, era mayor en cortes de núcleo caudado y menor en cortes de pedúnculo cerebral, hipotálamo y corteza parietal. En cuanto a la administración crónica, cuando se realizaba con dosis bajas de este ion, 1.25 mEq/Kg/día, la recaptación de H^3 -noradrenalina se encontraba incrementada en todos los casos al cabo de 7 días de tratamiento, pero volvía a los valores normales después de 14 días. Con dosis altas, 5 mEq/Kg/día, la recaptación se incrementaba significativamente después de 2 días y volvía a los valores normales al cabo de 7 días. Solo en los cortes de núcleo caudado la recaptación de H^3 -noradrenalina se encontraba elevada después de 21 días de tratamiento y no volvía a los valores normales hasta transcurridos 42 días. Por tanto, según estos autores, el incremento en la recaptación de noradrenalina producida

por el litio no se mantiene durante todo el tiempo que dura el tratamiento crónico con este ion.

Berridge y cols (1982) y Berridge (1984), observaron que el litio agotaba los fosfatidilinositoles, reduciendo la capacidad de respuesta de las neuronas a los estímulos colinérgicos, muscarínicos, adrenérgicos, etc. Por lo que según estos autores, este ion podría actuar modulando las funciones neuronales.

En cuanto a la dopamina, Friedman y Gershon (1973), demostraron que tras administrar ratas durante 14 días con dosis de 1 y 2 mEq/Kg/día de litio, se inhibía la síntesis de dopamina en un 34 y 62% respectivamente. Resultados parecidos fueron obtenidos años más tarde por Berridge y cols (1982), Tanimoto y cols (1982) y Berridge (1984).

Variaciones producidas durante la terapia con litio en el metabolismo de las aminas

Murphy y cols (1969), al tratar crónicamente con litio a pacientes maniaco-depresivos, comprobaron que en las plaquetas de estos enfermos, la recaptación de 5-hidroxitriptamina se encontraba incrementada en comparación con los controles.

Bowers y cols (1969), trabajando con pacientes maníacos, comprobaron que el litio no producía cambios en los niveles de 5-HIAA en el fluido cerebroespinal. Así mismo, Haskovec y Rysanek (1969), no observaron variaciones en la excreción de 5-HIAA después de la administración de litio, aunque sí comprobaron que la excreción del ácido 3-metoxi 4-hidroxivanidilmandélico (VMA), se encontraba incrementada durante los dos primeros días de tratamiento, aunque después volvía a los valores normales. Estos autores también observaron, una disminución estadísticamente significativa en la excreción de metanefrina y normetanefrina entre el 5^o y

6^a día de tratamiento. Hay que señalar, que estas últimas experiencias no se realizaron con enfermos, sino con voluntarios sanos, por lo que los resultados no se pueden comparar con los obtenidos por los investigadores que habían trabajado con pacientes maniacos. Entre ellos cabe destacar a Greenspan y cols (1970), que observaron una disminución estadísticamente significativa después del tratamiento con litio, en la excreción de metanefrina y normetanefrina, en pacientes maniaco-depresivos, así como una reducción en los niveles de dopamina, aunque no comprobaron ningún tipo de efecto sobre la excreción de VMA.

Mendels (1971), observó que los niveles de 5-HIAA en el fluido cerebroespinal se encontraban disminuidos durante los episodios maniacos y aumentados con la terapia con litio. Sin embargo con el 3-metoxi 4-hidroxi propilenglicol (MHPG) comprobó lo contrario, ya que esta sustancia tenía incrementados sus niveles durante la manía, pero sus valores disminuían bajo el tratamiento con litio.

En definitiva, las causas exactas por las que este ion produce un aumento en la retención intraneuronal y en la recaptación de noradrenalina aun no se conocen, aunque los trabajos anteriormente mencionados sugieren un incremento de la recaptación sinaptosomal, aumento de la degradación intraneuronal y limitación de su liberación.

Los efectos sobre la 5-hidroxitriptamina son menos claros, aunque el tratamiento crónico con litio parece afectar a la cantidad de 5-hidroxitriptamina y dopamina, ya que se ha observado una disminución de estas sustancias en muchas áreas cerebrales.

LITIO Y AMPc

Receptores y AMPc

Los receptores hormonales, son muy selectivos en cuanto a su capacidad de unión con la hormona para la cual han sido diseñados, sin duda porque la configuración molecular del receptor permite que la molécula hormonal se encaje de forma bastante precisa. Las fuerzas que mantienen la unión entre la hormona y el receptor no son de tipo covalente como las que unen entre si los átomos de una molécula, sino que son fuerzas mas débiles que no tardan en liberar a la hormona, dejando al receptor libre y preparado para recibir nuevas moléculas de la misma hormona.

Una vez la hormona se ha unido al receptor ¿como transmite su mensaje al interior de la célula?. Los primeros en plantear esta cuestión hace mas de veinte años fueron Sutherland y cols (1962), al comprobar que cuando se ponían en presencia de adrenalina membranas celulares aisladas a partir de células hepáticas, se producía un factor no identificado, que al entrar en contacto con el citoplasma de las células hepáticas imitaba la acción de la adrenalina, provocando la conversión de glucógeno en glucosa. Por tanto, la respuesta a la hormona parecía presentar dos etapas, la interacción de la hormona con la membrana resultando la formación de un factor no identificado, seguida de la activación por parte de este factor del mecanismo bioquímico del citoplasma. Experimentos posteriores identificaron a dicho factor como al AMPc.

Hoy en día se acepta de un modo general que el AMPc generado por la adenilciclase como respuesta a la unión de una hormona al receptor de la membrana, actúa

como un segundo mensajero que desde la membrana retransmite el mensaje de la hormona (que es el primer mensajero) a la maquinaria bioquímica de la célula. De esta forma la señal de bajo nivel, que representa la hormona, puede ser amplificada miles de veces mediante la fabricación de AMPc.

La primera vez que se relacionó al AMPc con el cerebro fue cuando Sutherland y cols (1962), hallaron grandes cantidades de adenilciclase y fosfodiesterasa en el cerebro de animales vertebrados, lo cual indicaba que este órgano era un lugar de síntesis y degradación activa de AMPc. Mas tarde, De Robertis y cols (1967), observaron que las fracciones cerebrales que contenían una mayor cantidad de partículas constituidas por terminaciones sinápticas eran también las que presentaban niveles de actividad mas altos para la adenilciclase y fosfodiesterasa.

El hecho de que la adenilciclase y fosfodiesterasa estuvieran asociadas a dichas terminaciones sinápticas de un modo específico, sugería que el AMPc podía desempeñar un importante papel en la neurotransmisión.

Daly (1977), demostró que se podían conseguir incrementos considerables en los niveles de AMPc en el tejido nervioso, estimulándolo electricamente o mediante un neurotransmisor, ya que los cortes de tejido cerebral, presentaban grandes incrementos de su contenido en este nucleótido cíclico cuando se ponían en presencia de neurotransmisores como la noradrenalina o la histamina.

Forn y Krishna (1970), demostraron en otro tipo de estudios, que los efectos de diferentes neurotransmisores sobre los niveles de AMPc en cerebro, dependen de la región cerebral utilizada y de las especies animales. Así mismo observaron que la complejidad de estas preparaciones limita mucho las conclusiones finales, ya que en los cortes cerebrales hay tanto neuronas como células de la glía, por lo que en muchas ocasiones no es

posible diferenciar cuales son las células responsables de los cambios producidos sobre las concentraciones de AMPc, debiéndose hacer con grandes precauciones la extrapolación de los resultados obtenidos en cortes cerebrales al cerebro intacto. En este sentido, Gilman y Nirenberg (1971), comprobaron en células derivadas de tumores neuronales, que la prostaglandina E₁ produce incrementos en la acumulación de AMPc, mientras que en células de tumores de la glía los niveles de AMPc no se encuentran afectados por las prostaglandinas pero si por la noradrenalina e isoproterenol.

Aunque todos los experimentos anteriores indicaban la existencia de algún tipo de asociación entre los receptores del neurotransmisor y los niveles de AMPc, dejaban sin resolver la siguiente cuestión, ¿podían los efectos de un neurotransmisor determinado estar acoplados directamente a la activación de la adenilciclase?. A fin de poder dar pruebas de la existencia de un vínculo funcional entre la unión de un neurotransmisor determinado con su receptor y la síntesis ulterior de AMPc, se tenía que demostrar la presencia de una adenilciclase sensible a un neurotransmisor específico, es decir, un enzima cuya actividad dependiera en gran parte de la presencia de un neurotransmisor determinado. Esto se consiguió al demostrarse la existencia de adenilciclasas sensibles a la noradrenalina, dopamina, serotonina, histamina, etc, y que mas adelante describiremos.

Por último hay que comentar, como un incremento en los niveles de AMPc producido por algunos neurotransmisores, puede transformar el mensaje del neurotransmisor en una acción fisiológica. Bloom (1975), logró aislar una proteinkinasa dependiente de AMPc. El enzima se hallaba presente en el tejido cerebral en cantidades relativamente elevadas en comparación con la mayoría de los demás tejidos y su actividad dependía de

la presencia de AMPc.

Otros experimentos posteriores realizados por Greengard (1976) y Nathanson (1977), demostraron que al homogenizar tejido cerebral, la mayor parte de las proteínas fosforiladas se encuentran en las fracciones de tejido que contienen una mayor cantidad de fragmentos constituidos por membranas sinápticas, y que dichas fracciones también son las que poseen la concentración de proteinkinasa mas elevada.

De este modo se hizo evidente que la membrana sináptica contenía todos los elementos esenciales para la transferencia, inducida por el neurotransmisor, de un grupo fosfato a un sustrato proteico situado en la membrana; una adenilciclase, sensible al neurotransmisor, capaz de generar AMPc como respuesta a un neurotransmisor específico; una proteinkinasa, dependiente de AMPc, capaz de fosforilar un sustrato proteico; y finalmente, el sustrato proteico localizado en la membrana y fosforilado por la proteinkinasa.

Una profundización en la investigación puso de manifiesto que las fracciones correspondientes a las membranas sinápticas, también contenían la maquinaria enzimática necesaria para detener el proceso de fosforilación dependiente de AMPc y devolver la membrana a su estado de reposo. Este conjunto de enzimas comprende no solo a la fosfodiesterasa, encargada de degradar al AMPc, sino también a la fosfoproteínfosfatasa, encargada de separar el grupo fosfato de las proteínas que han sido previamente fosforiladas por acción de la proteinkinasa dependiente de AMPc.

En definitiva, la gran cantidad de estudios que se han llevado a cabo en los últimos años, sugieren que los procesos en los que actúan como mediadores los nucleótidos cíclicos, están implicados no solo en el mecanismo de cambios de permeabilidad iónica, inducido por neurotransmisores, sino también en la regulación de

otros fenómenos entre los que cabe destacar: disminución o incremento de la síntesis de un neurotransmisor como respuesta a la estimulación sináptica, iniciación de movimientos intracelulares destinados a transportar los productos recién sintetizados, activación del metabolismo de los carbohidratos con el fin de colmar las necesidades energéticas que forzosamente debe tener la célula, y efectos directos sobre el material genético en el núcleo de la célula, que pueden producir alteraciones del comportamiento a largo plazo. Bloom (1975), Greengard (1976), Daly (1977) y Nathanson (1977).

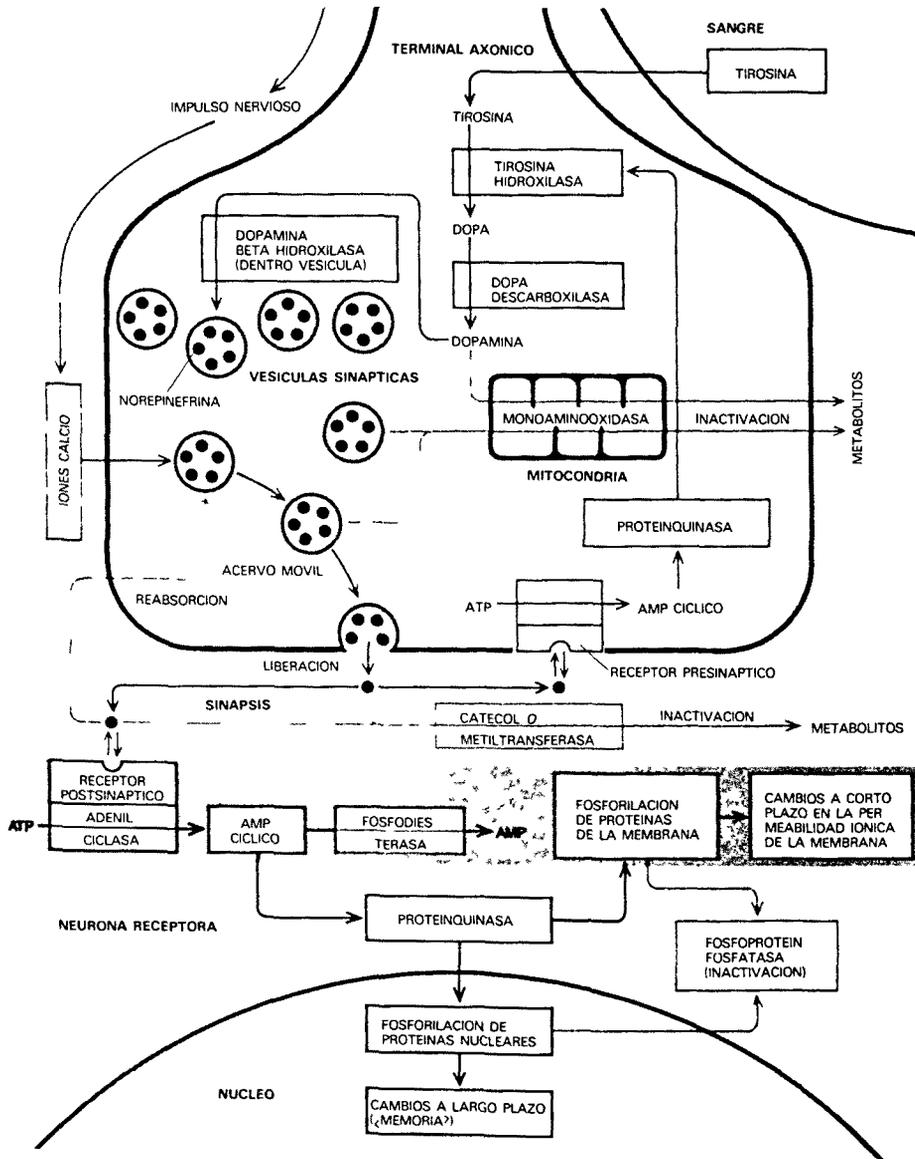


Fig. 1. Proceso de transmisión en una sinapsis noradrenérgica.

Adenilciclase

La adenilciclase es un complejo enzimático que contiene una subunidad reguladora y otra catalítica. La fijación del transmisor a la subunidad reguladora produce un cambio conformacional que da como resultado la activación del enzima. Cuatrecasas (1975).

En la Fig. 2, se muestra el estado actual de conocimientos sobre la regulación hormonal de la adenilciclase. El sistema se compone esencialmente de cinco elementos: el receptor estimulador R_s ; una proteína estimuladora glicosilada G_s , que se encuentra compuesta de tres subunidades: α_m, β, γ ; el complejo catalítico C ; el receptor inhibitorio R_i ; y una proteína inhibitoria glicosilada G_i , que también se encuentra compuesta de tres subunidades α, β, γ . Levitzki (1987).

Los componentes del sistema de la adenilciclase, presentes en la membrana celular, interactúan entre sí y funcionan como un mecanismo de transducción o transmisión de información a través de dicha membrana. Los estímulos son determinadas hormonas, aquellas para las cuales existen receptores específicos en la superficie externa de la membrana, y las respuestas consisten en activar o inhibir la actividad enzimática del componente catalítico de la adenilciclase, situado en la superficie interna de la membrana, siendo el resultado el aumento o disminución de la síntesis intracelular de AMPc. En lo que concierne al sistema activador, los distintos receptores R_s , al unirse específicamente con la correspondiente hormona estimulante H_s , interactúan con una proteína determinada de la membrana, la llamada G_s . Esta resulta activada e interactúa a su vez con el componente catalítico C de la adenilciclase, con el resultado de que aumenta su actividad enzimática y la síntesis intracelular de AMPc.

En lo que concierne al sistema inhibitorio, sus distintos receptores R_i , al unirse específicamente con la

correspondiente hormona inhibidora H_i , interactúan con otra proteína determinada de la membrana, la llamada G_i . Esta es activada e interactúa a su vez con el componente catalítico C de la adenilciclase, pero en sitio diferente de la molécula y de manera que su actividad enzimática resulta inhibida y la síntesis intracelular de AMPc disminuye.

Tanto en el sistema activador de la adenilciclase como en el inhibidor, las reacciones de activación y desactivación de las proteínas G se suceden de una manera cíclica.

La unión de una hormona agonista o estimulante H_s a su receptor específico R_s situado en la superficie externa de la membrana, da lugar a un complejo H_sR_s que interactúa con la proteína G_s ($\alpha_s\beta\gamma$), resultando esta preactivada por incorporación de GTP en presencia de Mg^{++} . La forma preactiva $GTP-\alpha_s\beta\gamma$ es capaz de provocar la disociación del complejo H_sR_s y de soltar el grupo $\beta\gamma$ pasando a la forma activa $GTP-\alpha_s$. Esta interactúa a su vez con el componente catalítico C de la adenilciclase, situado en la superficie interna de la membrana, y lo convierte en la forma activa C, que cataliza la formación intracelular de AMPc, a expensas de ATP y en presencia de Mg^{++} .

Por su actividad GTPasa, la forma activa $GTP-\alpha_s$ se desactiva por hidrólisis, con pérdida de fosfato inorgánico y reincorporación del grupo $\beta\gamma$, convirtiéndose en $GDP-\alpha_s\beta\gamma$. Esta forma inactiva puede ser nuevamente preactivada, con desprendimiento de GDP e incorporación de GTP en presencia de Mg^{++} , si otra molécula de hormona H_s se une a su receptor específico R_s formando el complejo H_sR_s , capaz de interactuar con la proteína G_s ($\alpha_s\beta\gamma$). Reaparece así la forma preactiva $GTP-\alpha_s\beta\gamma$ y se inicia otro ciclo de activación de la adenilciclase.

La afinidad de los receptores para sus correspondientes hormonas es elevada cuando las proteínas

G están desactivadas y disminuye durante la activación de las mismas. Las interacciones o los intercambios entre distintas moléculas de Gs y Gi son posibles por intermedio del grupo $\beta\gamma$ que es idéntico o común para ambas proteínas. Codina (1986).

Aparte del sustrato (ATP), la adenilciclase también requiere como anteriormente hemos comentado la presencia de concentraciones milimolares de un cofactor iónico, que normalmente es el magnesio, aunque también pueden ser el manganeso o el cobalto. Clement-Cormier y cols (1975). Bajas concentraciones (1-10 μM), de algunos otros metales como plomo, mercurio o cobre, inhiben potentemente la actividad de la adenilciclase cerebral, aunque sus efectos se encuentran antagonizados por agentes reductores sulfidrilos. Otros cofactores adicionales como los fosfolípidos, también son necesarios para la óptima actividad enzimática de la adenilciclase. Rodbell y cols (1975), Storm y cols (1975) y Nathanson y cols (1976).

Así mismo, la adenilciclase es estimulada por concentraciones milimolares de fluoruro y por concentraciones micromolares de calcio. Berridge (1975).

La exacta distribución subcelular de la adenilciclase aun no se conoce, entre otras causas por el gran número de problemas que presentan los métodos histoquímicos utilizados para la localización del enzima. Nathanson y cols (1976).

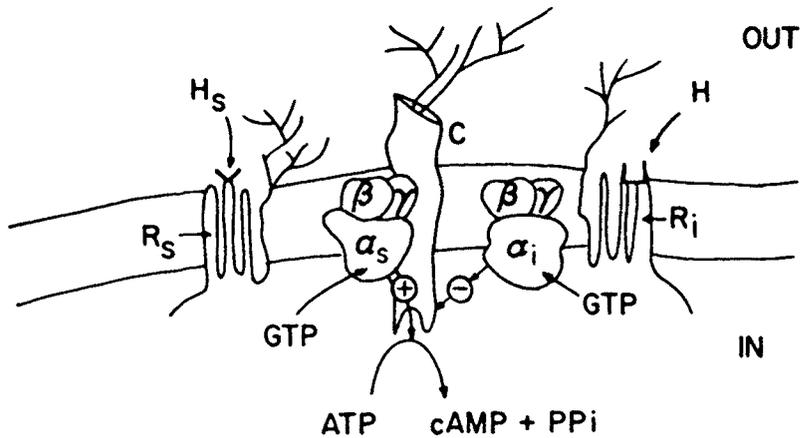


Fig. 2. Componentes de la estructura del sistema de la adenilciclase.

Fosfodiesterasa

La concentración de AMPc también se encuentra regulada por la fosfodiesterasa, ya que este enzima convierte el nucleótido cíclico en un derivado inactivo, el 5'-AMP.

La fosfodiesterasa, de la misma manera que la adenilciclase, también necesita para su actividad de magnesio o manganeso, siendo inhibida por un exceso de ATP, por pirofosfato y por citrato. Así mismo se ha comprobado que hay otras sustancias que inhiben este enzima, entre las que cabe destacar las metilxantinas, papaverina, diazóxido, diuréticos tiacídicos y dipiridamol. Weiss (1975). La inhibición de la fosfodiesterasa tiene como efecto aumentar y prolongar

las reacciones mediadas por el AMPc, así como potenciar otros procesos fisiológicos realizados por los inhibidores de la fosfodiesterasa.

El cerebro contiene una considerable actividad fosfodiesterásica. Los estudios de distribución regional del enzima, muestran que la corteza cerebral posee niveles relativamente altos de fosfodiesterasa, mientras que en el cerebelo y pedúnculo cerebral son considerablemente mas bajos, Krishna y cols (1970). Los estudios sobre la distribución subcelular de este enzima en el cerebro intacto, demuestran una concentración de fosfodiesterasa en las sinapsis de las fracciones de membrana, mucho mayor que en las vesículas sinápticas y microsomas, mientras que los procedimientos histoquímicos revelan una intensa actividad postsináptica de la fosfodiesterasa en cerebro de rata; por lo que según Florendo y cols (1971), esta localización confirma el papel del AMPc en la neurotransmisión.

La fosfodiesterasa es el único sistema enzimático que inactiva el AMPc, y en consecuencia la naturaleza y regulación de este enzima es muy compleja y aun no del todo conocida. A pesar de ello, existen en la actualidad un número importante de hechos y conceptos que se aceptan:

1/ Existen múltiples formas de fosfodiesterasa que se encuentran en distintas cantidades en las diferentes áreas del cerebro de los mamíferos.

2/ Todas las formas de fosfodiesterasa hidrolizan tanto al AMPc como al GMPc, si estos nucleótidos se encuentran en grandes cantidades o bien si sus concentraciones son muy pequeñas. En cambio a niveles fisiológicos algunos de estos enzimas muestran especificidad para el AMPc o GMPc.

3/ La actividad de al menos una y posiblemente mas fosfodiesterasas es regulada por una proteina activadora calcio-dependiente, la calmodulina, que forma un complejo

con el enzima dando como resultado un incremento en la velocidad enzimática de la fosfodiesterasa. Strada y cols (1974), Uzunov y cols (1974), Wang y cols (1975) y Weiss (1975).

Existen bastantes posibilidades de que el activador proteico de la fosfodiesterasa sea idéntico al que activa la adenilciclase, por lo que esta proteína sería un regulador común tanto de la síntesis como de la degradación de los nucleótidos cíclicos. Brostrom y cols (1975) y Codina (1986).

Las metilxantinas son sin duda los inhibidores mas importantes de la fosfodiesterasa y entre ellas cabe destacar: cafeína, teofilina, teobromina y 3-isobutil 1-metil xantina.

Los estudios realizados con metilxantinas sobre la inhibición de la fosfodiesterasa, han revelado que el orden de potencia es: 3-isobutil 1-metil xantina > teofilina > cafeína > teobromina, siendo el 3-isobutil 1-metil xantina unas mil veces mas potente que la teofilina.

En definitiva, Rall y cols (1963), postularon que las metilxantinas poseen tres acciones celulares básicas:

a/ Las asociadas con translocaciones del calcio intracelular.

b/ Las mediadas por acumulación creciente de nucleótidos cíclicos, especialmente AMPc.

c/ Las mediadas por el bloqueo de los receptores para la adenosina.

Existen además otras acciones celulares de las metilxantinas, entre las que cabe destacar la inhibición de la unión de las benzodiazepinas con sus lugares específicos en el tejido cerebral y la potenciación de los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas. Kalsner (1971), Kalsner y cols (1975) y Vinegar y cols (1976).

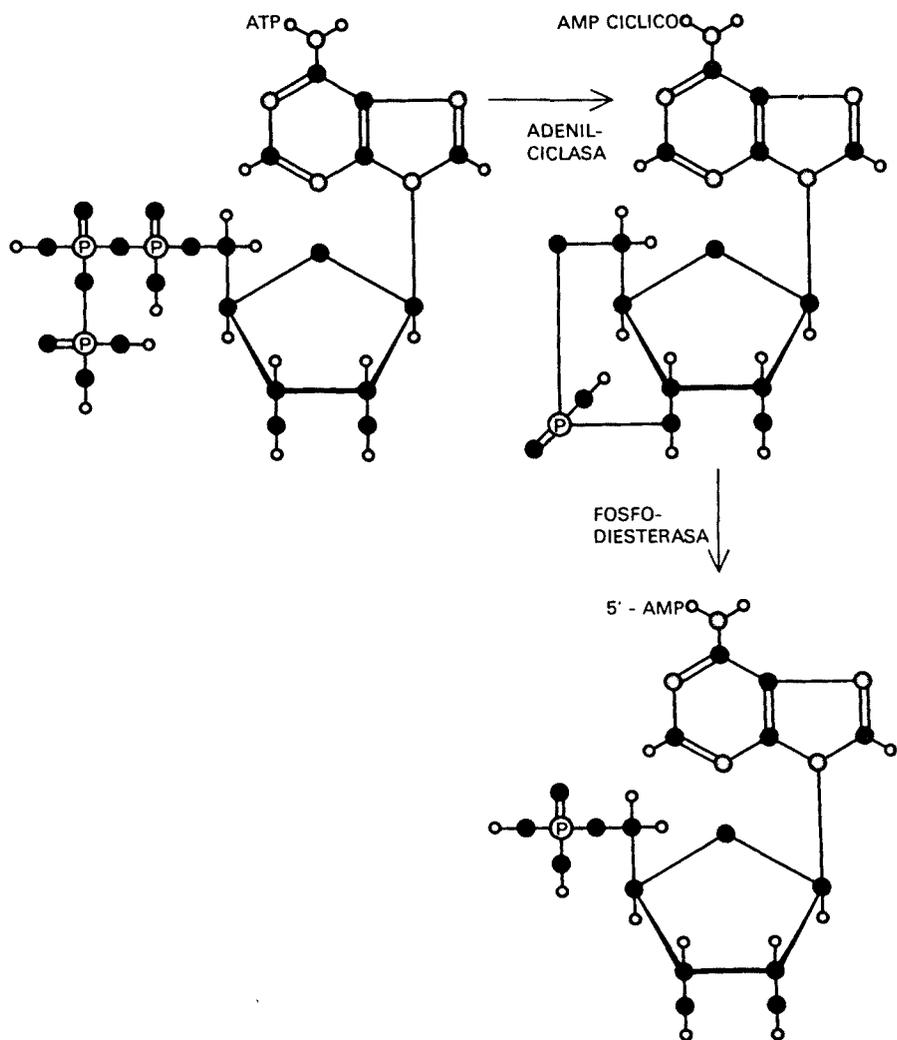


Fig. 3. Síntesis y degradación del AMPc.

Litio y adenilciclase

Se ha comprobado que el litio inhibe la actividad de la adenilciclase en muchos tejidos, entre los que cabe destacar: inhibición cerebral en conejo de la adenilciclase sensible a la adrenalina; inhibición en glía de rata de la adenilciclase sensible a la adrenalina; inhibición de la adenilciclase sensible a la hormona estimulante tiroidea; inhibición de la adenilciclase sensible al glucagón pancreático de conejo; etc. Geisler y Klysner (1977), demostraron, in vitro, con homogenados de células de núcleo caudado de rata, que existía una inhibición de la adenilciclase sensible a la dopamina con concentraciones de 10 mM de litio. Ebstein y Belmaker (1977), obtuvieron resultados similares, aunque necesitaron concentraciones de litio más altas.

Sin embargo, un año más tarde, Reches y cols (1978), comprobaron que a dosis terapéuticas el litio ya inhibe, de forma estadísticamente significativa, la adenilciclase sensible a la dopamina.

Existen también evidencias que sugieren con concentraciones de litio 1mM, una inhibición de la adenilciclase sensible a la adenosina. Forn (1975), Macneil y Jenner (1975) y Zohar y cols (1982).

De todas formas, también hay autores que han observado que el litio no modifica en muchos tejidos la actividad basal de la adenilciclase, tal es el caso de la médula renal humana, riñón de perro, diafragma, tiroides, retina y homogenados cerebrales de rata, en los que se necesitan altas concentraciones de este ion para que se pueda observar una inhibición significativa del enzima. Forn (1975), Reches y cols (1978) y Zohar (1982).

El AMPc en los desórdenes afectivos

Sobre la base de un incremento en la excreción

urinaria de AMPc en pacientes maniacos y una disminución en los enfermos depresivos, Abdulla y Hamada (1970), introdujeron la hipótesis de que en las enfermedades afectivas, se producían importantes variaciones de las concentraciones de AMPc en las células de todos los tejidos incluido el cerebro.

Paul y cols (1970), demostraron en tres grupos de personas: normales, maniacas y depresivas, que en el grupo maniaco, el volumen de orina excretada era mayor que en el normal y que en el depresivo, aunque al estudiar las concentraciones de AMPc en orina, no obtuvieron diferencias significativas entre los tres grupos.

Eccleston y cols (1970), han sugerido sin embargo, que pueden haber variaciones de AMPc en la orina durante las diferentes fases de las enfermedades afectivas, pudiendo ser debidas estas variaciones a cambios en la actividad motora. Siguiendo esta línea, Paul y cols (1971), observaron, en un estudio realizado con voluntarios normales, que el ejercicio físico incrementaba la excreción de AMPc sin ir acompañada de variaciones en el volumen de orina excretada. En cambio, Murad y Park (1972), no apreciaron incrementos de AMPc urinario en individuos normales después del ejercicio, ni tampoco en psicópatas, pacientes depresivos ni en niños hipercinéticos.

No obstante, Paul y cols (1971), comprobaron que en los pacientes maniaco-depresivos, había una marcada elevación en la excreción urinaria de AMPc el día en que se pasaba del estado depresivo al maniaco, demostrando además que este aumento no iba acompañado de una elevación del volumen urinario. Estos autores observaron sin embargo, que en la mayoría de los casos los niveles de este nucleótido cíclico volvían a los valores normales después del aumento inicial y solo en un pequeño grupo de pacientes permanecían elevados durante un cierto tiempo.

Paul y cols concluyeron postulando que la excreción urinaria de AMPc, puede reflejar cambios en el metabolismo de este nucleótido cíclico en el sistema nervioso central.

Para comprobarlo, Robison y cols (1971), compararon las concentraciones de AMPc en el fluido cerebroespinal de pacientes con enfermedades afectivas, no observando diferencias significativas entre los enfermos maniacos y depresivos. Este estudio contradice la teoría de una correlación entre la excreción de AMPc y cambios en el metabolismo de este nucleótido cíclico en el sistema nervioso central.

Efectos del litio sobre el AMPc cerebral

Muchos autores han demostrado interacciones entre el litio y el sistema cerebral de la adenilciclase; por ejemplo, Dousa y Hechter (1970), observaron que concentraciones de litio entre 25 y 50 mM, inhibían la actividad de la adenilciclase estimulada por fluoruro en cerebro de conejo, aunque no apreciaron efectos con concentraciones bajas de este ion. Forn y Valdecasas (1971), demostraron que concentraciones de litio inferiores a 2 mM, producían una pequeña pero significativa inhibición de la adenilciclase en homogenados y cortes cerebrales de rata y conejo.

Uzunoff y Weiss (1972), obtuvieron resultados similares en cortes de pedúnculo cerebral, ya que comprobaron que con litio 5 mM, se inhibía completamente la acumulación de AMPc inducida por la noradrenalina. Estos resultados sugieren que en el pedúnculo cerebral, la adenilciclase es más sensible al efecto inhibitorio del litio que en cortes de corteza cerebral. Estos autores realizaron, así mismo, estudios in vivo, comprobando que una dosis de litio de 4 mEq/Kg administrada a ratas, por vía intraperitoneal dos horas

antes de su sacrificio, es suficiente para inhibir completamente los niveles de AMPc en cerebelo.

Wong y cols (1974), sugirieron que los ensayos de la adenilciclase en homogenados, son mucho menos sensibles a la inhibición con litio que los realizados en cortes de tejidos conteniendo células intactas, lo que explicaría la necesidad de las altas concentraciones de este ion en los primeros trabajos realizados.

Sin embargo, Schimmer (1971), obtuvo resultados completamente diferentes en células de la glía, ya que observó que el litio incrementaba la actividad de la adenilciclase sensible a la adrenalina. Las diferencias funcionales entre las células neuronales y las de la glía podrían justificar estas discrepancias.

Más recientemente, Ebstein y cols (1980), demostraron, in vitro, una clara inhibición con concentraciones de litio de 2 mM, de la adenilciclase sensible a la noradrenalina en cortes de corteza cerebral de ratas tratadas crónicamente con este ion, ya que la acumulación de AMPc inducida por este neurotransmisor se encontraba inhibida en un 70% después de 21 días de tratamiento. Estos autores observaron que ni el rubidio ni el cesio mostraban efectos parecidos al del litio y así mismo demostraron que el litio 1 mM ya inhibía de forma estadísticamente significativa la acumulación de AMPc inducida por el isoproterenol.

Por otro lado, Zohar y cols (1982), comprobaron después de un tratamiento crónico con litio, en ratas, que la acumulación de AMPc inducida por la noradrenalina se encontraba inhibida de forma estadísticamente significativa en cortes de corteza cerebral de estos animales.

Estos resultados fueron confirmados por Newman y cols (1983), al comprobar que concentraciones de litio 1 mM inhibían, de forma muy significativa, el aumento de AMPc inducido por la noradrenalina, en cortes de corteza

cerebral humana.

Efectos del litio sobre el AMPc tiroideo

Ebstein y Belmaker (1977, 1979), comprobaron que la liberación de hormona tiroidea se encuentra mediada por el AMPc, ya que la TSH estimula la adenilciclase incrementando los niveles de AMPc en preparaciones de membrana tiroidea y en cortes de glándula tiroidea. También demostraron en estos estudios que la teofilina, un potente inhibidor de la fosfodiesterasa, potencia los efectos de la TSH sobre la formación de AMPc.

Wolff y cols (1970), demostraron en preparaciones de membrana tiroidea de bóvidos, que el litio inhibe la actividad de la adenilciclase estimulada por la TSH, ya que con concentraciones de litio entre 4 y 8 mM, obtuvieron un 50% de inhibición en los efectos de esta hormona, observando además que el litio y el magnesio presentaban efectos antagónicos, ya que cuando se añadía a la preparación magnesio 5 mM, se requerían concentraciones de litio 30 mM para obtener una inhibición del 50%. Hay que destacar, que el efecto inhibitorio, sobre la adenilciclase sensible a la TSH, era específico para el litio, ya que otros iones monovalentes no producían ningún tipo de acción o esta era muy pequeña.

Efectos del litio sobre el AMPc renal

Existen evidencias experimentales que sugieren que el AMPc actúa como mediador en la acción de la ADH. Por ejemplo, Geisler y cols (1972), observaron que el AMPc, de manera parecida a esta hormona, incrementa el flujo de agua en los túbulos colectores aislados de conejo. Por su parte, Dousa y Hechter (1970), demostraron una importante inhibición en la interacción vasopresina/adenilciclase en

riñón de conejo con concentraciones de litio entre 25 y 50 mM, observando además que la relación dosis-respuesta entre el litio y la inhibición del efecto de la vasopresina era lineal y significativa entre 0 y 100 mM de litio.

Beck y cols (1971), estudiaron las posibles interferencias del litio con la adenilciclase en cortes de riñón de perro, observando que el litio no afectaba a las concentraciones basales de AMPc, aunque si disminuía el AMPc inducido por la vasopresina. Así mismo comprobaron, que la parathormona también aumentaba los niveles de AMPc, aunque estos valores no estaban influenciados por el litio, lo que atribuían estos autores a la alta especificidad del efecto de este ion.

Forn (1975), demostró que el litio a concentraciones de 25 mM y en presencia de 150 mM de cloruro sódico, ejerce una inhibición significativa sobre la estimulación de la adenilciclase en médula de riñón.

Así mismo, Ebstein y Belmaker (1977), comprobaron en ratas que presentan poliuria por la administración crónica de cloruro de litio, que este ion disminuye la actividad de la adenilciclase sensible a la ADH.

Estos datos apoyan la teoría de que el litio inhibe la formación de AMPc en riñón. Esta posibilidad se ha visto respaldada por otros autores entre los que cabe destacar a Zohar y cols (1982).

Efectos de las sustancias opiáceas sobre el AMPc

Hay autores como Karras y North (1979), Amir y Simantov (1981) y Muraki y cols (1981), que han observado que las sustancias opiáceas inhiben la acumulación de AMPc producida por las prostaglandinas en homogenados de tejido cerebral y en cultivos celulares, siendo este efecto antagonizado específicamente por la naloxona y dependiente de la presencia de GTP.

Sin embargo, Togawa y cols (1979), North y Vitek (1980), Vizi y cols (1981) y Duggan y North (1983), pusieron en duda estos resultados, ya que según estos autores la morfina y los péptidos opioides no inhiben la acumulación de AMPc en muchos tejidos, entre los que cabe destacar el cerebro y el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo.

AMPc y plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo

Sawynok y Jhamandas (1976), demostraron que la adenosina y los nucleótidos derivados de la adenina inhiben la respuesta del plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo a la estimulación eléctrica.

Hayashi (1982), observó que esta inhibición era manifiesta entre 1 y 500 mM de adenosina y máxima al cabo de 1 min; así mismo comprobó que ni el propranolol ni la fenoxibenzamina alteraban la inhibición producida por la adenosina.

Dowdle y Maske (1980), también demostraron que la adenosina, AMP, ADP, ATP y AMPc, inhibían la respuesta contráctil del plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo a la estimulación eléctrica, comprobando además que esta inhibición era antagonizada por la teofilina e incrementada por el dipiridamol. Resultados parecidos obtuvieron Small y Weston (1979) y White (1984), postulando que el ATP podía actuar como un neurotransmisor en nervios sensoriales periféricos, nervios motores, plexo mientérico, vejiga, vasos deferentes y células cromafines adrenales y de plaquetas.

En otras experiencias, Jhamandas y cols (1980), demostraron una gran heterogeneidad en los receptores de la adenina, ya que el coenzima A producía una inhibición dosis-respuesta en plexo mientérico-músculo longitudinal

de íleon de cobayo, siendo este efecto antagonizado por la teofilina y el 3-isobutil 1-metil xantina; sin embargo el coenzima A no producía ningún tipo de efecto en esta preparación sobre el ATP y el ADP.

Alberts y Stjarne (1982), White y Leslie (1982) y Reese y Cooper (1984), observaron que el dibutiril AMPc, también inhibía la respuesta contráctil del plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, aunque su efecto era menos potente que el producido por el ATP, AMP, AMPc y adenosina.

Todos estos resultados sugieren que la adenosina y los nucleótidos derivados de ella actúan sobre un receptor común, mientras que los inhibidores de la fosfodiesterasa actuarían como antagonistas competitivos de estas sustancias.

Para terminar, hay que destacar que Yoshida y cols (1979), demostraron que el efecto de la noradrenalina sobre los niveles de AMPc en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de rata variaba con la edad del animal, observando que durante las dos primeras semanas después del nacimiento, los efectos de la noradrenalina sobre el AMPc eran mínimos al ser los niveles de este nucleótido cíclico muy altos en comparación con las ratas adultas. Por tanto, según estos autores, la edad del animal podría ser importante en los efectos producidos por el litio sobre los nucleótidos cíclicos.

Efectos del litio sobre el sistema del AMPc en otros tejidos

En algunos tejidos, los efectos producidos por el litio sobre el sistema del AMPc son de poca importancia, por lo que en muchos casos no tienen implicaciones fisiológicas ni farmacológicas. Por ejemplo, Birnbaumer y cols (1969), observaron que este ion a concentraciones de

100 mM, inhibía en un 52% la adenilciclase estimulada por la ACTH en células grasas de rata.

Thams y Geisler (1980, 1981), demostraron que el litio, a concentraciones de 10 mM, inhibía la adenilciclase estimulada por la noradrenalina en células grasas de rata, aunque esta inhibición se producía de una forma no competitiva. Hay que destacar, que el efecto inhibitorio del litio disminuía en un 40% cuando se incrementaban las concentraciones de noradrenalina. Estos autores comprobaron a su vez que el magnesio producía un efecto antagónico al del litio y que el contenido basal de AMPc no se encontraba inhibido por este ion.

Frazer y Mendels (1971), observaron en corazón aislado perfundido de cobayo, que el litio a concentraciones de 10 mM, disminuye significativamente el efecto inotrópico positivo inducido por la noradrenalina e isoproterenol. Existen evidencias experimentales que sugieren que la respuesta inotrópica positiva, producida por las catecolaminas, es mediada por un incremento en los niveles intracelulares de AMPc, por lo que según estos autores, la inhibición producida por el litio se debería a una interferencia con la formación de AMPc.

Murphy y cols (1969, 1973), demostraron que las prostaglandinas estimulan la actividad de la adenilciclase tanto en preparaciones celulares intactas como en homogenados de plaquetas y observaron que las plaquetas obtenidas de pacientes bajo tratamiento crónico con litio, con niveles séricos de este ion entre 0.9 y 1.5 mEq/l, tenían reducida en un 50% la cantidad de prostaglandina E₁ en comparación con los controles. En contraposición, en otras experiencias realizadas in vitro, se necesitaron concentraciones muy altas de litio para observar una inhibición similar.

OTRAS ACCIONES DEL LITIO

Aparte de las acciones que acabamos de comentar y que son relevantes con relación a la presente tesis, existen otros efectos del litio que exponemos de forma somera en esta parte final de la Introducción.

EFFECTOS DEL LITIO SOBRE EL BALANCE ELECTROLITICO

Efectos del litio sobre los electrolitos

El hecho de que las sales de litio sean potentes agentes antimaniacos y la evidencia de que también son efectivos agentes profilácticos en las enfermedades afectivas recurrentes, ha conducido a que se realizaran un gran número de estudios para determinar los balances electrolíticos durante el tratamiento con litio. En ellos se han observado importantes cambios en las concentraciones de sodio, potasio, calcio y magnesio, después de la administración de sales de litio. Hullin (1975) y Bond y cols (1975).

a/ Sodio. Tanto en estudios realizados in vitro como in vivo, se ha demostrado que la difusión pasiva de los iones de litio es parecida a los de sodio, pudiendo sustituir parcialmente tanto al sodio como al potasio en algunos mecanismos de transporte activo. Dimitrakoudi y Jenner (1975). Sin embargo, de forma distinta a estos iones, el litio se distribuye practicamente en la misma proporción en el fluido intra y extracelular, por lo que las concentraciones celulares siempre suelen ser bajas, lo que indica que este ion no se acumula en el interior

de las células mediante un gradiente de concentraciones. Baer y Fieve (1970) y Aronoff y cols (1971).

Arnett y Ritchie (1963), observaron que el litio cuando se encontraba dentro de la célula, actuaba inhibiendo los mecanismos de la bomba de sodio. A este respecto, Giacobini (1969), observó que la bomba de sodio-potasio en cangrejos de río era inhibida por dosis relativamente altas de litio en el medio nutriente.

Según todas estas teorías, los efectos producidos por el litio, sobre los mecanismos relacionados con la propagación del impulso nervioso, son el resultado de la sustitución parcial del sodio por el litio, y seguramente estas acciones se producirían a nivel de la sinapsis, por lo que la síntesis de neurotransmisores, la concentración vesicular, la liberación intra y extraneuronal y la recaptación a través de la membrana presináptica, serían procesos potencialmente sujetos a las influencias del litio, aunque los mecanismos postsinápticos también podrían estar alterados. Shagass y cols (1973) y Small y Small (1973).

b/ Potasio. Baer (1973) y Hullin (1975), observaron, en estudios realizados con animales, que el tratamiento con litio produce una disminución en los niveles de potasio en el músculo esquelético, aunque en humanos no comprobaron cambios significativos.

Tampoco observaron efectos del litio sobre los niveles de potasio, Trautner y cols (1955), Tupin y cols (1968), Murphy y cols (1969) y Baer (1973).

c/ Calcio. Tupin y cols (1968), demostraron que la terapia con litio produce cambios en el metabolismo del calcio, observando que los niveles en suero de este ion se encuentran incrementados por encima de lo normal los dos primeros días de tratamiento, aunque una vez transcurrida esta etapa inicial se produce una normalización de los valores.

d/ Magnesio. Nielsen (1964), observó que los niveles de magnesio en suero se encuentran incrementados después de administrar litio a pacientes maniacos. Sin embargo, no apreció diferencias significativas entre los controles y los enfermos maniacos en los niveles de magnesio eritrocitario.

Friezel y cols (1969), comprobaron en sus estudios, que los niveles totales de magnesio en plasma se encuentran disminuidos en los pacientes que sufren depresión endógena y que la administración de litio produce una reducción adicional en estos niveles que puede llegar hasta el 50%.

Sin embargo, Aronoff y cols (1971), obtuvieron resultados contrarios a los de Friezel, ya que observaron que el magnesio en plasma se encuentra incrementado en todos los pacientes tratados con litio, y en uno de ellos estos aumentos estaban asociados a niveles elevados de magnesio en orina.

En la actualidad existe la creencia generalizada, de que el tratamiento con litio produce un aumento en los niveles de excreción de magnesio durante los dos primeros días de tratamiento, aunque después los valores vuelven a la normalidad.

Hasta el momento, aun no se ha podido definir exactamente el lugar de acción en el que el litio produce sus efectos sobre el balance electrolítico, aunque no parece que actúe sobre un solo mecanismo, ya que tanto el sodio, como el potasio, calcio y magnesio parecen estar afectados por este ion.

En definitiva, las experiencias realizadas hasta ahora, tanto bioquímicas como fisiológicas, a pesar de que son importantes no son suficientes para conocer con exactitud las interacciones que ocurren entre el litio y otros cationes con características fisicoquímicas similares.

Litio y ATP-asa

Johnson (1975), observó en tejido cerebral in vitro, un incremento de la actividad de la ATP-asa de membrana tras la administración de litio, siendo este incremento inhibido por la ouabaina.

Según este autor, el aumento producido por el litio sobre el metabolismo del ATP, puede ser debido tanto a un incremento en la actividad de la ATP-asa, como a una modificación en el proceso de fosforilación oxidativa, ya que el intercambio ATP/ADP en las mitocondrias de hígado y corazón de rata, es estimulado por Tris, sodio, magnesio, litio y potasio con igual potencia, sugiriendo que las cargas positivas facilitan la fijación de los nucleótidos de la adenina a la membrana mitocondrial, por lo que según Johnson, los mecanismos que intervendrían en el intercambio ATP/ADP serían de tipo iónico.

Hay que destacar las diferencias existentes entre estos resultados y los obtenidos in vivo, en tejido cerebral, ya que en este caso nunca se han observado cambios en la actividad de la ATP-asa, lo que sugiere que los incrementos apreciados en los estudios in vitro, pueden ser debidos a un efecto secundario del litio y no a una acción directa sobre este enzima.

LITIO Y METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

Efectos del litio sobre el metabolismo intermediario

Se sabe en la actualidad, que hay un gran número de enzimas que pueden estar influenciados por el litio. Por ejemplo, Mellerup y Rafaelsen (1975), observaron que la fructosa 1-6 difosfatasa, que cataliza la hidrólisis de fructosa 1-6 difosfato en fructosa 1 fosfato y fosfato inorgánico, puede ser inhibida por el litio. También comprobaron que hay pirofosfatasas inórganicas y otras fosfatasas influenciadas por este ion.

En experiencias realizadas in vitro, Mellerup y cols (1970), postularon la teoría de que la secreción de insulina se ve reducida cuando el sodio es parcialmente reemplazado por el litio, ya que la administración de este ion a animales produce una disminución de los valores de insulina sérica.

Por otro lado, Plenge y cols (1973), demostraron, en estudios realizados en rata, que después de la administración de litio hay una disminución del glicógeno hepático, produciéndose en consecuencia un aumento de la glucosa sanguínea. También encontraron incrementada la actividad de la fosforilasa hepática, así como la cantidad de glucagón en plasma.

Como hemos comentado anteriormente, el litio puede influir en el metabolismo de los electrolitos sustituyendo parcialmente al sodio, potasio, magnesio, o calcio. No obstante, el metabolismo electrolítico también puede estar afectado secundariamente por cambios en el metabolismo de los carbohidratos, por lo que el que este ion induzca cambios en el metabolismo del sodio, calcio y magnesio, es secundario respecto a los efectos que

produce sobre la síntesis de glucosa y glicógeno.
Plenge y cols (1973), Plenge (1982) y Nag y cols (1983).

LITIO Y METABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS

Efectos del litio sobre el metabolismo de los aminoácidos

Dalen (1973) y Mattson (1973), han sugerido que el litio puede tener efectos beneficiosos sobre la corea de Huntington, al observar que en estos pacientes, el ácido glutámico descarboxilasa (GAD) que es el enzima responsable de la formación de GABA a partir de ácido glutámico, se encuentra en menor cantidad que en las personas normales, comprobando que el litio previene la disminución cerebral de este enzima.

Nag y cols (1983), en experiencias realizadas en ratas, comprobaron un incremento significativo en los niveles de glutamato y GABA en el hipotálamo de estos animales, una hora después de administrar una dosis aguda de litio. El tratamiento crónico con 2 mEq/Kg/día producía efectos similares, lo que sugería que estos aumentos en los niveles de glutamato y GABA podían ser los responsables de la acción beneficiosa del litio en la corea de Huntington.

En otros estudios realizados con cortes de corteza cerebral de rata, Berl y Clarke (1975), observaron que cuando se sustituía al sodio por litio se producía un incremento de glutamato, ácido aspártico y GABA, con un marcado efecto sobre el glutamato y GABA.

En otra experiencia, Berl y Clarke (1975), utilizaron el trazador 1-C¹⁴-acetato, para el estudio del efecto del litio sobre el metabolismo del glutamato, comprobando que la distribución de la radioactividad de este precursor se encontraba afectada por este ion, ya que disminuía el porcentaje de radioactividad de cuatro aminoácidos, siendo esta inhibición particularmente

evidente para la glutamina mientras que los valores de ácido glutámico se encontraban incrementados; por lo que, según estos autores, el flujo de ácido glutámico a glutamina se hallaba aparentemente disminuido. Una primera hipótesis indicaría que el litio inhibe la glutamina sintetasa. De todas maneras, no está muy claro que la inhibición de la glutamina marcada sea debida a la inhibición de la glutamina sintetasa. Una segunda hipótesis es que el pool de ATP requerido para la bomba de sodio-potasio sea el mismo o esté en estrecha relación con el pool de ATP necesario para la síntesis de glutamina. Una tercera hipótesis, que no excluye necesariamente la segunda, es que el glutamato formado en un lugar pueda ser transportado a otro por la conversión en glutamina, lo que indicaría que el glutamato determina la cantidad de glutamina mejor que la propia actividad de la glutamina sintetasa.

Al considerar la acción terapéutica del litio y según las experiencias realizadas por otros autores, Berl y Clarke (1975), postularon que el efecto primario de este ion es el de interaccionar entre las sinapsis excitatorias e inhibitorias, lo que sugiere que los ciclos de ánimo en las psicosis maniaco-depresivas pueden ser el resultado de un fallo metabólico en el flujo de transmisores excitatorios e inhibitorios en las áreas cerebrales que controlan el ánimo. También parece que el litio puede afectar al metabolismo de las células cerebrales, ya que es un transmsisor excitatorio del ácido glutámico.

EFFECTOS ENDOCRINOS DEL LITIO

De los múltiples efectos observados durante el transcurso de la terapia con litio, hay que destacar los producidos por este ion sobre las glándulas endocrinas y muy especialmente sobre el tiroides, que ha recibido una particular atención, debido a la gran facilidad con que puede ver alterada su función.

Existen evidencias clínicas que demuestran que el litio puede producir bocio e hipotiroidismo en un buen número de pacientes que se encuentran bajo terapia con este ion. Por ejemplo, Berens y cols (1970), observaron que un 3.8% de los enfermos estudiados presentaban hipotiroidismo y/o bocio, cuando estaban bajo tratamiento con litio; así mismo, otros muchos pacientes sufrían una función anormal del tiroides aunque no desarrollaran bocio ni hipotiroidismo.

Efectos agudos del litio sobre la glándula tiroidea

Los mecanismos del efecto antitiroideo producido por el litio, han sido estudiados en diferentes especies animales. Según Berens y Wolff (1975), estas acciones son dosis-dependientes y hay una clara diferenciación entre los efectos tóxicos agudos y los efectos tóxicos de naturaleza crónica.

Estos autores observaron tras administrar de forma aguda altas concentraciones de litio, que daban en suero niveles entre 3 y 4 mEq/l de este ion, que el metabolismo del yodo se encontraba inhibido, lo que sucede a nivel de la glándula tiroidea y no parece estar mediado por la hipófisis, ya que resultados parecidos se han encontrado con ratas hipofisectomizadas mantenidas con TSH exógeno.

Berens y cols (1970).

Efectos crónicos del litio sobre la glándula tiroidea

a/ Recaptación de iodo: Berens y wolff (1975), demostraron que el mecanismo de recaptación de iodo no se encuentra inhibido durante el tratamiento crónico con litio.

b/ Secreción de iodo: Sedwall y cols (1968, 1969), fueron los primeros que propusieron que el litio actuaba inhibiendo la liberación de iodo de la glándula tiroidea.

Cuando Berens y cols (1970), demostraron que raramente la estimulación de la TSH puede ser inhibida por el litio, surgió la posibilidad de que este ion interfiriera con el locus de estimulación o excreción de la TSH, aunque después de realizarse varias experiencias esta teoría quedó descartada, Berens y Wolff (1975). En la actualidad se ha demostrado que la TSH estimula la adenilciclasa tiroidea incrementando los niveles de AMPc. Existen evidencias experimentales que demuestran que el litio antagoniza este efecto, por lo que la inhibición de la secreción de iodo por parte del litio podría estar mediada por este mecanismo.

Efectos del litio sobre los pacientes tirotóxicos y la corteza suprarrenal

Berens y cols (1970) y Temple y Wolff (1973), demostraron que el efecto antitiroideo mas importante del litio es la inhibición de la secreción de iodo, por lo que según estos autores, se podría utilizar este ion en el tratamiento del hipertiroidismo. Por esta razón investigaron la utilización de litio en el tratamiento de la tirotoxicosis, observando que de todos los pacientes tratados con litio, un 40% tenían inhibida la secreción

de iodo tiroideo entre un 30 y un 80%, mientras que en el otro 60% no apreciaron diferencias estadísticamente significativas; por lo que no está nada claro que el litio produzca un efecto terapéutico en los enfermos tirotóxicos.

En cuanto a los efectos del litio sobre la corteza suprarrenal, esta no parece afectada en principio, por la administración terapéutica de este ion, ya que no se han observado cambios en la cantidad de cortisol ni en el metabolismo de los corticosteroides. Platman y Fieve (1968).

EFFECTOS DEL LITIO SOBRE EL RINON

En el año 1955, Trautner y cols ya demostraron que el tratamiento con litio produce en muchos casos poliuria y polidipsia, siendo el síndrome de diabetes insípida el mayor problema que pueden presentar los pacientes.

Harris y Jenner (1969), demostraron que el litio interfiere con la vasopresina, ya que después de inyectar por vía intravenosa a ratas con este ion se producía una disminución de la respuesta a la vasopresina que oscilaba entre el 40 y el 70%, siendo este efecto específico del litio, ya que no se producía con potasio, rubidio, calcio, magnesio y estroncio.

Más tarde, Thomsen (1970), postuló la hipótesis de que los mecanismos por los cuales el litio inhibe la acción de la vasopresina, produciendo el síndrome de diabetes insípida, se podrían deber a una interferencia de este ion con la adenilciclase.

Berens y Wolff (1975), observaron que cuando los niveles de potasio en orina eran altos, prevenían la inhibición del litio sobre la vasopresina, sugiriendo que la composición mineral de la orina puede ser importante para la prevención de la diabetes insípida producida por el litio.

En resumen, el litio produce en algunas ocasiones, un síndrome reversible de diabetes insípida, que algunos autores sugieren que se debe a una inhibición de la adenilciclase por parte de este ion. Berens y Wolff (1975).

MODELO EXPERIMENTAL

LA PREPARACION PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO COMO TEST DE ENSAYO FARMACOLOGICO. ACCION DE DIFERENTES NEUROTRANSMISORES

El íleon, duodeno y yeyuno, son las tres partes en que se divide el intestino delgado, y aunque existen ligeras diferencias entre estas regiones con transición gradual de una a otra, la disposición de los tejidos que constituyen la pared es en principio la misma en toda su longitud y está formada por cuatro capas: serosa, muscular, submucosa y mucosa.

La serosa es la capa mas externa; consiste en una membrana de tejido conectivo que continúa con el mesenterio y el revestimiento de la cavidad abdominal.

La muscular contiene dos capas de músculo liso, la externa, inmediatamente por debajo de la serosa, que tiene las fibras dispuestas longitudinalmente y se conoce con el nombre de plexo mientérico-músculo longitudinal o plexo mientérico de Auerbach y la interna que las posee en forma circular. Entre las dos capas musculares hay varias células ganglionares parasimpáticas y una red de fibras nerviosas.

La submucosa está formada por tejido conectivo; contiene grandes vasos sanguíneos y una red de fibras nerviosas y células glandulares y se conoce con el nombre de plexo submucoso de Meissner.

Por último, la mucosa, consta de tres capas; la muscularis mucosae, que es una lámina delgada de músculo liso que contiene algunas fibras elásticas; la lámina propia, que es una capa de tejido conectivo que contiene

capilares, venas y vasos linfáticos, y la capa epitelial de la mucosa muy rica en glándulas. La mucosa, posee un gran número de finas proyecciones, conocidas como vellosidades, que tienen como efecto aumentar su superficie de absorción.

Paton (1957) y Schaumann (1957), fueron los primeros que demostraron, en baño de órgano aislado, que la estimulación eléctrica de segmentos de íleon de cobayo producía contracciones y que estas se encontraban mediadas por la liberación de acetilcolina de las terminaciones nerviosas colinérgicas postganglionares.

Dichas contracciones son reproducibles, antagonizadas por pequeñas dosis de atropina, potenciadas por anticolinesterasas y resistentes a los agentes bloqueantes ganglionares. Cowie y cols (1978) y Ozaki (1979).

Johnson (1963) y Paton y Zar (1968), demostraron la procedencia nerviosa de la acetilcolina en íleon de cobayo, observando así mismo que los compuestos mas activos como analgésicos, por ejemplo la morfina, inhibían las contracciones intestinales, lo que indicaba la utilidad de esta preparación como modelo para determinar la actividad analgésica de los compuestos opiáceos.

Jhamandas y cols (1970), demostraron que concentraciones muy bajas de morfina inhibían la liberación de acetilcolina cerebral, siendo estas concentraciones, las mismas que reducían las contracciones de íleon de cobayo estimulado electricamente al inhibir la liberación de acetilcolina. Resultados parecidos obtuvieron North y Henderson (1975), en conducto deferente de ratón.

Así mismo, Paton (1957), Schaumann (1957), Goldstein y cols (1973), Puig y cols (1978) y Togawa y cols (1979), demostraron que las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo,

obtenidas de animales con dependencia a los opiáceos, presentaban un menor efecto a la morfina que las de animales no dependientes, lo que se podría explicar por un aumento de tolerancia en los animales tratados con estas sustancias. Así mismo demostraron, que la naloxona antagonizaba totalmente el efecto de la morfina.

Paton y Vizi (1969), Maske y cols (1980) y Kadlec y cols (1982), comprobaron que la adrenalina y la noradrenalina, al igual que sucedía con la morfina, también inhibían las contracciones inducidas electricamente en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo al inhibir la liberación de acetilcolina. La inhibición producida por estas sustancias era antagonizada por bloqueantes α y β -adrenérgicos, pero no por la naloxona, lo que confirmaba que los receptores opiáceos se encontraban separados de los adrenérgicos y que eran independientes unos de otros. Reese y Cooper (1984).

Nozdrachev y cols (1977), obtuvieron resultados parecidos al observar, que tanto la noradrenalina como la adrenalina inhibían las contracciones inducidas electricamente en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, demostrando que la fentolamina antagonizaba los efectos de ambas sustancias.

Drew (1978), comprobó que los receptores α -adrenérgicos en el íleon de cobayo eran del mismo tipo que los localizados en otros tejidos.

Años después, Bauer (1981) y Bauer y Kuriyama (1982), demostraron que el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, posee receptores adrenérgicos α_1 , α_2 y β .

En resumen, se ha demostrado una inhibición por parte de la noradrenalina y adrenalina sobre las contracciones inducidas electricamente en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, siendo esta inhibición mas importante cuanto mayor era la

dosis administrada de estas sustancias. Así mismo se ha comprobado, que tanto la fentolamina como la fenoxibenzamina inhiben competitivamente los efectos producidos por estos agonistas adrenérgicos.

Otros autores han observado efectos de la serotonina sobre el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo; por ejemplo, Henderson y North (1975), Vizi y Vizi (1978) y Huidobro-Toro y Foree (1980), demostraron que esta sustancia potencia las contracciones en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, mientras que la atropina, tetrodotoxina y morfina inhiben este efecto. Estos autores postularon que el efecto contráctil observado con serotonina podía estar mediado por un mecanismo colinérgico, ya que esta sustancia estimulaba las células ganglionares produciendo un incremento en la liberación de acetilcolina de los nervios terminales.

Resultados parecidos obtuvieron Wood y Mayer (1979), comprobando además que la serotonina aumentaba el tono de la función motora gastrointestinal.

Ahlman (1976), estudió los efectos de la serotonina sobre las contracciones inducidas eléctricamente en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo y gato, obteniendo resultados parecidos en ambos animales. Este autor observó, así mismo, que tanto los bloqueantes α como β -adrenérgicos antagonizan el efecto producido por la serotonina. Gershon y Sherman (1982), confirmaron estos resultados y demostraron además que los axones noradrenérgicos forman sinapsis facilitadoras con las neuronas entéricas serotoninérgicas.

Al-Humayyd y White (1985), comprobaron que la serotonina incrementa los niveles de ATP en el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, observando que la metisergida produce una pequeña inhibición en la liberación de ATP, mientras que la

morfina y la fenoxibenzamina no ejercen ningún tipo de efecto sobre este nucleótido.

También se han demostrado efectos de la histamina sobre el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo; por ejemplo, Sakai (1979), comprobó, en baño de órgano aislado, que la histamina potencia las contracciones espontáneas del íleon de rata aparentemente por una activación de los receptores H₁.

Más recientemente, Zaveck y Yellin (1982), observaron que la histamina potencia las contracciones inducidas eléctricamente en el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, demostrando así mismo que en esta preparación se encuentran presentes tanto receptores H₁ como H₂ que actúan, según estos autores, a través de un mecanismo colinérgico común. Zaveck y Yellin también comprobaron que el efecto de la histamina era dosis-dependiente y que dicho efecto era inhibido por antagonistas de los receptores histaminérgicos.

Como ya comentamos en el capítulo LITIO Y AMPc, muchos autores han demostrado que los nucleótidos cíclicos inhiben las contracciones inducidas eléctricamente en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, postulando la teoría de que la adenosina y los nucleótidos derivados de ella, actúan seguramente sobre un receptor purinérgico común.

Efectos del litio sobre la preparación plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo

En uno de los pocos trabajos publicados hasta la fecha, Hirsch y cols (1978), estudiaron los efectos que producía el cloruro de litio sobre la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimulado eléctricamente en baño de órgano aislado, observando que cuando se añadían exogenamente

concentraciones crecientes de esta sal tanto a las preparaciones de los animales no tratados, como tratados crónicamente con cloruro de litio, se producía una progresiva disminución de las contracciones inducidas eléctricamente. Así mismo demostraron, que el cloruro sódico también inhibía las contracciones, aunque las concentraciones necesarias para que esto sucediera eran mucho mayores que las utilizadas con cloruro de litio.

Estos autores concluyeron su trabajo postulando la teoría de que el efecto producido por el litio sobre el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimulado eléctricamente, se podría deber a una acción directa sobre el músculo y que el íleon de cobayo tal y como sugería Vizi (1975), era un buen modelo para investigar de forma detallada la acción de este ion.

OBJETIVOS

En la actualidad, las sales de litio son ampliamente utilizadas en psicofarmacología, ya que tal y como hemos comentado en páginas anteriores, constituyen el tratamiento de elección en la manía y también son utilizadas en las psicosis maniaco-depresivas.

Las acciones tanto bioquímicas como farmacológicas del litio han sido estudiadas en diferentes especies animales, incluido el hombre, y entre los tejidos mas frecuentemente utilizados cabe destacar el hígado, el riñón, el corazón y muy especialmente el cerebro. Sin embargo, no se han podido establecer hasta el presente cuales son los mecanismos de acción de este ion, bien porque las concentraciones utilizadas de litio eran muy elevadas y por tanto tóxicas para su utilización terapéutica, o bien porque los resultados obtenidos eran contradictorios. A pesar de ello existen en la actualidad un gran número de teorías que intentan explicar el mecanismo de acción del litio en las enfermedades afectivas, aunque ninguna ha resultado ser definitiva, por lo que el principal objetivo de esta tesis ha sido intentar esclarecer un poco mas los efectos farmacológicos del litio y muy especialmente los que están ligados a la inhibición del sistema adenilciclasa-AMPC por parte de este ion.

La elección del plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, como modelo experimental para estudiar los efectos del litio, se debió:

1/ A la presencia en esta preparación de una gran cantidad de receptores distintos: colinérgicos, adrenérgicos, serotoninérgicos, histaminérgicos, purinérgicos, opiáceos, etc, en ocasiones relacionados con este ion.

2/ A que algunos de los principales efectos secundarios producidos por el litio son nauseas, vómitos y diarrea, relacionados tanto con el sistema nervioso entérico como con el sistema nervioso central.

3/ A los escasos trabajos publicados referentes a los efectos del litio en esta preparación.

En nuestro intento de dilucidar el mecanismo de acción de las sales de litio hemos empleado las siguientes técnicas:

Baños de órgano aislado conteniendo las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimuladas electricamente, a los que se añadía directamente las diferentes sustancias a ensayar.

También estudiamos en baños de órgano aislado, los efectos producidos por el litio sobre las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de animales tratados crónicamente con diferentes dosis de litio, ya que se ha comprobado que las acciones terapéuticas de este ion aparecen a partir de la primera semana de tratamiento.

Por último y debido a la gran importancia de las teorías que postulan en tejidos como cerebro, hígado, riñón, etc, una inhibición por parte del litio sobre la adenilciclase, pusimos a punto una técnica radioactiva de desplazamiento isotópico, para valorar los niveles de AMPc en homogenizados de preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon, provenientes tanto de animales tratados como no tratados con litio.

Nuestros resultados han sido valorados tanto en sí mismos como en relación a los obtenidos por otros autores y en especial con los que se refieren al sistema nervioso central.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL

Animales de experimentación

Se han utilizado cobayos macho, de la cepa English Short Hair Tricolor, de un peso aproximado de 400 gr, procedentes de Representaciones Zoológicas Pascó, a los que se alimentaba con una dieta estandar de la casa Panlab para cobayo, verdura fresca y agua "ad libitum".

También se han empleado, ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, de 200 gr de peso, procedentes de nuestro estabulario, a las que se alimentaba con una dieta estandar de la casa Panlab para rata y agua "ad libitum".

Por último se han utilizado, conejos macho de la cepa Neozelandesa, de 1.5 a 2 Kg de peso, procedentes de Biocentre, a los que se alimentaba con una dieta estandar de la casa Panlab para conejo y agua "ad libitum".

Sustancias utilizadas

- Cloruro sódico, (Merck).
- Cloruro de litio, (Merck).
- Bitartrato de noradrenalina, (Sigma).
- Acido ascórbico, (Merck).
- Clorhidrato de fenoxibenzamina, (Smith Kline and French).
- 3-isobutil 1-metil xantina, (Aldrich Chemical Company, Inc).
- Clorhidrato de propranolol, (Sigma).
- Clorhidrato de atenolol, (Sigma).
- Clorhidrato de fentolamina, (Ciba).
- Clorhidrato de sotalol, (Mead Johnson).
- Clorhidrato de toliprolol, (Boheringer-Mannheim).
- 5-hidroxitriptamina, (Sigma).

- Clorhidrato de ciproheptadina, (Sigma).
- Clorhidrato de histamina, (Scharlau).
- Maleato de mepiramina, (Sigma).
- Monofosfato cíclico de adenosina, (Boheringer-Mannheim).
- Cloruro de lidocaina, (Jescuder).
- Clorhidrato de morfina, (Jefatura Provincial de Sanidad).
- Clorhidrato de naloxona, (Obsequio de la Dra. Puig del Departamento de Farmacología de la Universidad de Nueva York).

Preparación de las disoluciones

Todas las sustancias utilizadas, fueron disueltas en agua destilada y desionizada, o bien en Krebs-Ringer, añadiéndose al baño de órgano aislado en volúmenes no superiores a 0.1 ml y siempre a 37°C, para evitar posibles alteraciones en las contracciones debidas a las diferencias de temperatura.

Todas las concentraciones vienen expresadas como concentración final molar en el baño.

METODOS

Preparaciones de íleon de cobayo

Los cobayos se mantuvieron en ayunas las 24 horas anteriores al sacrificio, disponiendo durante este tiempo de agua "ad libitum".

Una vez sacrificados los animales por decapitación, se diseccionaba el abdomen mediante una incisión en la línea media y se separaba el íleon del resto del intestino, descartándose sistemáticamente los 15 cm próximos a la válvula ileocecal.

En nuestras experiencias utilizamos la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo. La disección de esta preparación, se llevaba a cabo de acuerdo con la descripción de Paton y Zar (1968) y Kosterlitz y cols (1970). Se cortaba un trozo de íleon de 5 a 6 cm de longitud y se introducía en una varilla de vidrio de unos 7 mm de diámetro, procurando que la unión del mesenterio al intestino quedase en línea recta. Con una torunda de algodón impregnada en líquido nutricio (Krebs-Ringer), se iba separando suavemente el músculo longitudinal del circular a lo largo de la unión de desgarro mesentérico. Por último, se cogía con unas pinzas la parte superior y se separaba de arriba a abajo del resto del íleon.

Esta preparación contiene la totalidad del músculo longitudinal y la mayor parte del plexo mientérico, ya que se encuentra fuertemente adherido a las fibras longitudinales, siendo el peso medio de las preparaciones de 35.2 ± 3.1 mg.

Una vez diseccionadas las preparaciones, se colocaban en baños de órgano aislado (Letica), de 7.5 ml de volumen, que contenían una solución bicarbonatada de

Krebs-Ringer a 37 °C. La composición de este líquido nutritivo era la siguiente:

- NaCl, 117.7 mM.
- KCl, 4.69 mM.
- CaCl₂, 2.47 mM.
- KH₂PO₄, 1.16 mM.
- MgSO₄+7H₂O, 1.18 mM.
- Glucosa anhidra, 9.9 mM.
- NaHCO₃, 24.3 mM.

En todas las experiencias, el líquido nutritivo se aireaba de forma continua con carbógeno (95% O₂-5% CO₂), con lo que se mantenía el pH de la solución en 7.4. Si el Krebs-Ringer no se aireaba, el pH iba aumentando y transcurridas cuatro horas pasaba de 7.4 a 8, mientras que si se aireaba, la variación era mínima, del orden de 0.1 unidades de pH para el mismo periodo de tiempo.

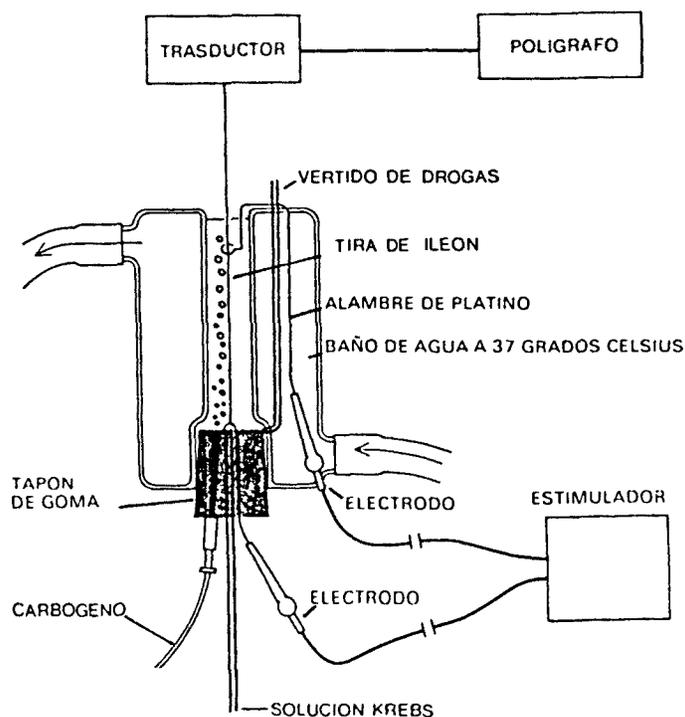


Fig. 4. Estructura de un baño de órgano aislado.

La tensión utilizada para la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal, era de 300 mg. Una vez transcurridos 30 min de estabilización de la preparación bajo estas condiciones en el baño de órgano aislado, se estimulaba electricamente por medio de dos electrodos circulares de platino situados en la parte superior e inferior del baño.

Los estímulos eléctricos eran producidos por un estimulador Li 12.100 (Letica) y consistían en impulsos rectangulares de 1 m.sec de duración, aplicados a un voltaje de 40 vóltios. La frecuencia de estimulación se mantenía constante en 0.1 ciclos /seg (Hz).

Para evitar cambios en la forma de los estímulos, causados por la elevada conductancia de la solución de Krebs-Ringer y conseguir siempre un estímulo idéntico y constante, se acoplaba entre el estimulador y los electrodos un amplificador que corregía este problema.

Las contracciones del plexo mientérico-músculo longitudinal se registraban mediante un transductor de tensión isométrico (Letica), acoplado a un polígrafo Letica 2000.

Hay que señalar que en todas las experiencias, una vez administrada la sustancia a estudiar y comprobado su efecto se lavaba por rebosamiento el baño de órgano aislado 3 veces cada 2 min.

La determinación cuantitativa de la respuesta producida por las sustancias administradas, se llevaba a cabo de la siguiente forma. Se medía la altura de las contracciones registradas antes (HA) y después (HP) de la aplicación de las sustancias a ensayar. El tanto por ciento de la respuesta conseguida (R), se calculaba de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%R = (1 - HP/HA) \times 100.$$

Preparación de la columna de cromatografía de DEAE-sefarosa

Se utilizaron los siguientes tampones:

(A) Tampón fosfato sódico 0.4 M, pH 7.5 + EDTA 4 mM.

(B) Tampón fosfato sódico 5 mM, pH 7.5 + EDTA 4 mM.

Una vez preparados los tampones se determinaba su conductividad mediante un conductímetro (Crison).

La DEAE-sefarosa CL-6B, (Pharmacia Fine Chemicals), se lavaba con agua destilada y desionizada, dejándola después de 2 a 3 horas inmersa en 3 ó 4 volúmenes de tampón (A). La cantidad de sefarosa empleada variaba dependiendo del tamaño de la columna.

Transcurrido este tiempo, se medía la conductividad del sobrenadante, que debía ser menor a la del tampón (A) y se lavaba varias veces con el tampón (B), hasta conseguir que la conductividad de la DEAE-sefarosa fuera la misma que la de este tampón.

Una vez realizados estos procesos, se desgasificaba la DEAE-sefarosa mediante una bomba eléctrica de vacío (Afa) y se empaquetaba en una columna de cromatografía (Pharmacia Fine Chemicals).

Una vez empaquetada, se eluía con 5 ó 6 volúmenes de tampón (B), quedando de esta forma la columna de cromatografía lista para su posterior empleo.

Preparación de la proteína de fijación

Para la purificación de una proteína de fijación, se ensayaron tres órganos de animales distintos, corazón de rata, corazón de conejo y cápsulas suprarrenales de bóvidos, para ver cual de ellos mostraba mayor actividad.

Las ratas procedían de nuestro estabulario, los conejos de Biocentre, mientras que las cápsulas suprarrenales de bóvidos, nos fueron suministradas por L'Escorxador del Ajuntament de Barcelona. Dichas cápsulas suprarrenales, se extraían de animales jóvenes recién sacrificados y se transportaban con hielo hasta el Departamento de Farmacología, donde inmediatamente empezaba la manipulación de las mismas.

Para los tres tejidos se seguía el mismo procedimiento de purificación, aunque en las páginas siguientes solo describamos el correspondiente a las cápsulas suprarrenales que eran las que presentaban una mayor actividad. (Tabla 3).

En principio se siguió la técnica de Brown y cols (1971), aunque para conseguir una mayor purificación de la proteína de fijación, modificamos esta técnica, de acuerdo con Wastila y cols (1971), Gilman y Murad (1972) y Tovey y cols (1974).

En resumen el proceso de purificación fue el siguiente:

1/ Se limpiaban de grasa las cápsulas suprarrenales.

2/ Se cortaban por la mitad y se separaba la médula de la corteza aprovechando esta última.

3/ Se troceaba la corteza.

4/ Se pesaba y se le añadía 1.25 volúmenes de tampón de homogenización, (Tris-HCl 50 mM, pH 7.5 + EDTA 4 mM).

5/ Se homogenizaba tres o cuatro veces con un homogenizador mecánico (Osterizer), por un periodo no

superior a 30 seg y con un intervalo entre homogenizados de 1 a 2 min, para evitar que la temperatura subiera por encima de los 4°C.

6/ Se centrifugaba el homogenizado en una centrífuga refrigerada, RC-5 (Sorvall), a 15.000 g, durante 30 min a 4°C.

7/ El sobrenadante se fraccionaba con sulfato amónico, hasta un 55% de saturación.

8/ Se volvía a centrifugar a 15.000 g durante 30 min a 4°C.

9/ Se descartaba el sobrenadante y el precipitado se resuspendía en el 5% del volumen original del homogenizado con tampón fosfato sódico 5 mM, pH 7.5 + 2-mercaptoetanol 6 mM (Merck).

10/ Una vez resuspendida la muestra, se colocaba en una bolsa de diálisis previamente hervida durante 30 min con tampón fosfato sódico 5 mM, pH 7.5 + 2-mercaptoetanol 6mM.

11/ Se dializaba la muestra con tampón fosfato sódico 5 mM, pH 7.5 + 2-mercaptoetanol 6 mM, durante 24 horas.

12/ Transcurrido este tiempo, el dializado se colocaba en la columna de cromatografía de DEAE-sefarosa o bien se congelaba a -20°C para su posterior utilización. (Esta proteína congelada, según nuestra experiencia, era perfectamente utilizable incluso un año después de ser preparada).

13/ Una vez colocado el dializado en la columna de cromatografía de DEAE-sefarosa, se eluía con tampón fosfato sódico 0.2 M, pH 7.5 + EDTA 4 mM, mediante una bomba peristáltica P-1 (Pharmacia Fine Chemicals), a una velocidad de 30 ml/hora, recogién dose mediante un colector de fracciones Alpha 200 (Buchler Instruments), 120 tubos en 24 horas, con un volumen final de 6 ml para cada uno de ellos.

14/ Con las muestras recogidas se realizaba un

ensayo de fijación de la proteína obtenida, para conocer cuales eran las fracciones que presentaban una mayor actividad.

Es muy importante que todos los procesos mencionados se realicen a temperaturas no superiores a los 4°C, por lo que es necesario trabajar en una cámara fría.

Ensayo de la proteína de fijación. Determinación de los niveles de AMPc por desplazamiento isotópico

Una vez recogidas las fracciones purificadas, procedentes de las cápsulas suprarrenales de bóvidos de la columna de cromatografía, se realizaba un ensayo de fijación de estas fracciones según la técnica de Brown y cols (1971).

Para ello se utilizaron los siguientes reactivos:

(A) Tampón Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, conteniendo teofilina 8 mM y 2-mercaptoetanol 6 mM.

(B) Agua destilada y desionizada.

(C) Monofosfato cíclico de adenosina tritiado (H^3 -AMPc), (New England Nuclear, 9.1 mCi/mg).

(D) Suspensión de carbón activo (Sigma) en tampón Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, conteniendo teofilina 8 mM, 2-mercaptoetanol 6 mM y un 2% de albúmina sérica bovina (Sigma).

A cada tubo se le añadía:

100 μ l de (A), 100 μ l de (B), 50 μ l de (C) y 100 μ l de cada una de las fracciones de proteína purificada. Se dejaban incubar durante 90 min a 4°C y una vez transcurrido este tiempo, se les añadía 100 μ l de (D). Se agitaban los tubos y se centrifugaban a 1.200 g durante 15 min a 4°C en una centrífuga refrigerada.

Del sobrenadante se extraían 200 μ l, que se ponían en viales de contaje a los que se añadía 4 ml de líquido de centelleo, Supersolve-X (Koch-Light, LTD); se agitaban y se contaba cada vial durante 5 min en un contador de centelleo LS-230 (Beckman).

En la Fig. 5, se aprecian los niveles de AMPc obtenidos con las fracciones purificadas de proteína procedentes de las cápsulas suprarrenales de bóvidos.

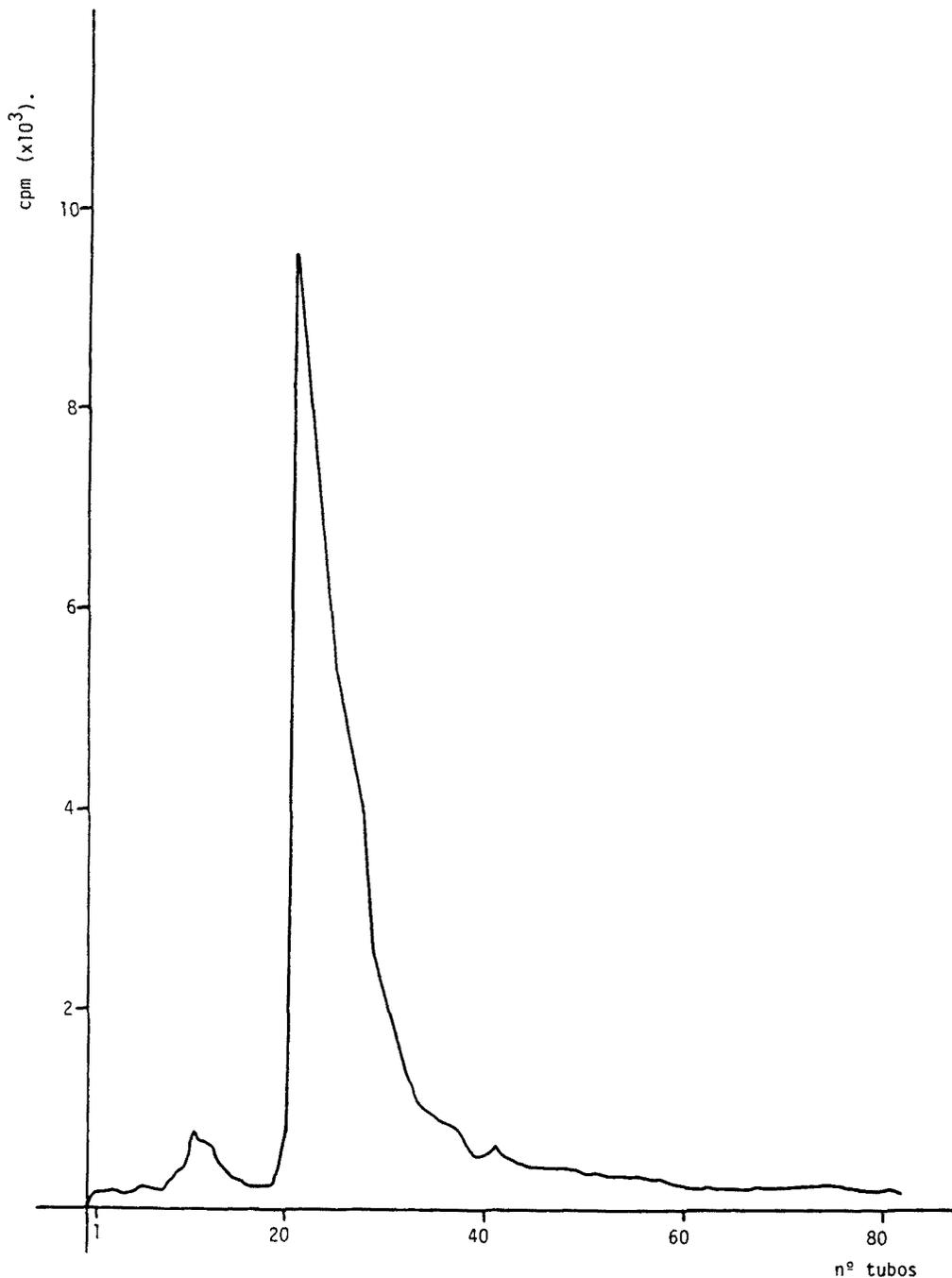


Fig. 5. Niveles de AMPc obtenidos después de un ensayo de fijación, con las fracciones purificadas de proteína procedentes de las cápsulas suprarrenales de bóvidos.

El último paso, era hacer un "pool" con las fracciones de proteína mas activas y realizar una curva estandar de AMPc por desplazamiento isotópico.

Para ello se prepararon concentraciones conocidas de AMPc frío: 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 16 pmoles, realizándose por triplicado cada punto de la curva estandar, según la siguiente tabla:

Tubos					"Pool"			
	(A)µl	(B)µl	(C)µl	AMPc frío µl	Proteína µl	(D)µl	(B)µl	
1,2,3	100	100	50	---	100	100	---	
4,5,6	"	50	"	50 (0.5 pmoles)	"	"	---	
7,8,9	"	"	"	" (1 pmoles)	"	"	---	
10,11,12	"	"	"	" (2 pmoles)	"	"	---	
13,14,15	"	"	"	" (3 pmoles)	"	"	---	
16,17,18	"	"	"	" (4 pmoles)	"	90'	---	
19,20,21	"	"	"	" (5 pmoles)	"	4°C	---	
22,23,24	"	"	"	" (6 pmoles)	"	"	---	
25,26,27	"	"	"	" (8 pmoles)	"	"	---	
28,29,30	"	"	"	" (10 pmoles)	"	"	---	
31,32,33	"	"	"	" (12 pmoles)	"	"	---	
34,35,36	"	"	"	" (16 pmoles)	"	"	---	
37,38,39	"	200	"	---	---	"	---	
40,41,42	"	"	"	---	---	---	100	

Tabla 2. Procedimiento a seguir para realizar una curva estandar de AMPc por desplazamiento isotópico.

Después de añadir los 100µl del "pool" de proteína, se incubaban los tubos durante 90 min a 4°C, y

se les añadía al final de la incubación 100 μ l de una suspensión de carbón activo (D), excepto a los tres últimos tubos a los que se añadía agua destilada y desionizada (B).

Para terminar, los tubos se agitaban y se centrifugaban a 1.200 g durante 15 min a 4°C en una centrífuga refrigerada, del sobrenadante se extraían 200 μ l, que se ponían en viales de contaje, a los que se añadía 4 ml de líquido de centelleo Supersolve-X, se agitaban y se contaba cada vial durante 5 min en el contador de centelleo.

En la Fig. 6, se observa una curva estandar de AMPc por desplazamiento isotópico, que como se puede apreciar, es lineal desde 0 hasta 16 pmoles de AMPc.

	Corazón Rata	Corazón Conejo	Suprarrenales Bóvidos
% fijación AMPc	56.4	26	70
mg/ml proteína	0.8	0.25	1
Actividad específica	3	8.5	14.5

Tabla 3. Valores obtenidos con corazón de rata, corazón de conejo y cápsulas suprarrenales de bóvidos, expresados en tanto por ciento de fijación de AMPc, mg/ml de proteína y actividad específica.

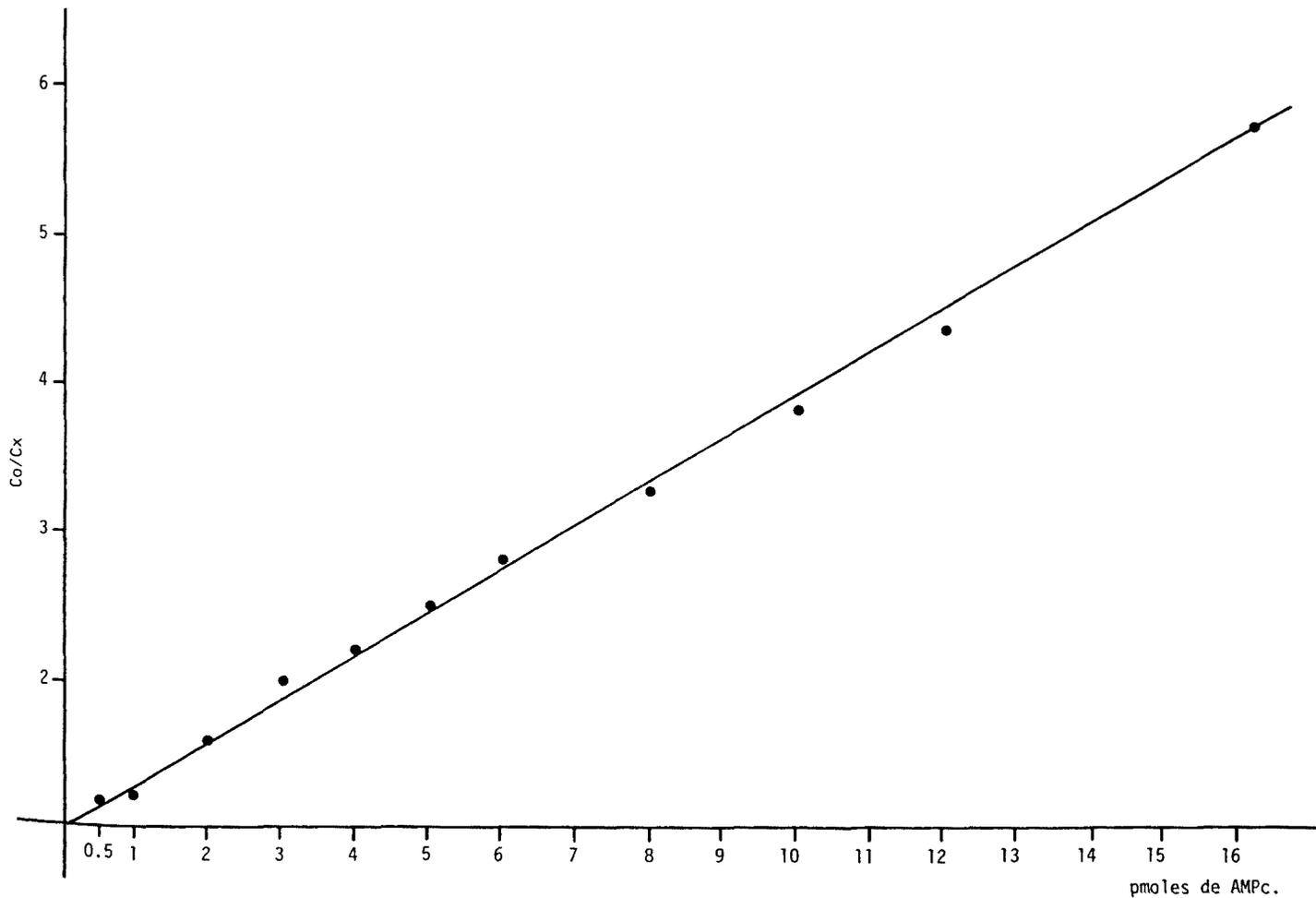


Fig. 6. Curva estandar de AMPc utilizando la proteina purificada de cápsulas suprarrenales de bóvidos.

Administración crónica de litio a cobayos

Para estas experiencias se utilizaron cobayos macho de unos 400 gr de peso, a los que se inyectaba cada 12 horas, durante 14 días, litio por vía intraperitoneal, siendo sacrificados el 15^o día.

A lo largo del tratamiento, se suministraba a los animales agua y comida "ad libitum", excepto el último día, en el que se les retiraba la comida para mantenerlos en ayunas 24 horas antes del sacrificio.

Se utilizaron para este tratamiento crónico 8 animales por dosis, siendo estas de: 8, 4, 2, 1 y 0.05 mEq/Kg/día de litio. Las soluciones, con las diferentes dosis de este ion, se esterilizaban en un autoclave durante 15 min a 120°C y se guardaban en la nevera a 4°C.

Los animales se sacrificaban por decapitación, 12±0.5 horas después de la última administración de litio, recogiénose a su vez muestras de sangre para determinar los niveles de litio en suero. Para ello, la sangre se colocaba en tubos de ensayo de 12x75 mm (Corning) a 37°C durante 2 horas, transcurridas las cuales, se separaba el suero por centrifugación a 1.000 g durante 15 min.

Los niveles séricos de litio se determinaron por absorción atómica, mediante un Perkin Elmer (503), en el Departamento de Bioquímica del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.

Además de extraer la sangre a los animales, se realizaron preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal, tanto para los ensayos en baños de órgano aislado como para medir, una vez homogenizadas, los niveles de AMPc por desplazamiento isotópico.

Estudio de los niveles de AMPc en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo

Para el estudio de los niveles de AMPc en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, se siguió, aunque modificada por nosotros, la técnica de Thams y Geisler (1979). Se utilizaron cobayos macho de unos 400 gr de peso, en ayunas 24 horas antes del sacrificio.

Las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, obtenidas como se ha descrito en la página 87, se pesaban y se distribuían en tubos de ensayo de 12x75 mm (Corning), que contenían 1 ml de Krebs-Ringer pH 7.4 a 37°C, previamente carbogenado durante 30 min.

A continuación, a unos tubos se les añadía 0.5 ml de diferentes concentraciones de cloruro de litio: $0.065 \times 10^{-2} M$, $0.125 \times 10^{-2} M$, $0.25 \times 10^{-2} M$, $0.5 \times 10^{-2} M$, $1 \times 10^{-2} M$, $2 \times 10^{-2} M$, $4 \times 10^{-2} M$ y $8 \times 10^{-2} M$; y a otros, 0.5 ml de la solución de Krebs-Ringer.

Se incubaban todos los tubos a 37°C con agitación constante, en un baño de incubación Unitronic-320 (Selecta), durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, se añadía a todos ellos 0.5 ml de un inhibidor de la fosfodiesterasa, 3-isobutil 1-metil xantina $1 \times 10^{-4} M$, y se ponían de nuevo a incubar en las mismas condiciones anteriores durante 5 min, ya que, según pruebas realizadas previamente, este era el momento en que el 3-isobutil 1-metil xantina producía la máxima acumulación de AMPc. (Fig. 7 y Tabla 4).

Al término de la incubación, se hervían los tubos durante 3 min, para parar la reacción, se dejaban enfriar y se congelaban a -20°C, en espera de determinar los niveles de AMPc. Para ello, se descongelaban los tubos a temperatura ambiente y se homogenizaban las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal, primero con

homogenizadores Potter Elvehjem de vidrio (Afora) y después con un homogenizador mecánico (Fisher). Una vez homogenizadas, se centrifugaban en una centrífuga refrigerada a 1.200 g durante 10 min a 4°C.

En el sobrenadante se determinaron los niveles de AMPc por desplazamiento isotópico y en el precipitado la cantidad de proteína según la técnica de Lowry y cols (1951).

Los resultados finales se expresaron en pmoles de AMPc/mg de proteína.

Hay que destacar, tal y como observaron Thams y Geisler (1979), la necesidad de disminuir la concentración de cloruro sódico de la solución de Krebs-Ringer, al añadir cloruro de litio a las muestras, ya que de no hacerlo la solución se volvía hipertónica y los resultados quedaban falseados.

T ² Incubación	pmoles AMPc/mg Prot.	pmoles AMPc/mg Prot.
IBMX	IBMX	LiCl + IBMX
2 min	240.7±16.1	110.8±6.65 **
5 min	401.9±32.8	152.6±20.1 **
10 min	215.3±19.2	161.0±18.7 **
20 min	155.2±18.9	86.3±7.80 **

** p<0.001

Tabla 4. Niveles de AMPc después de incubar las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo a diferentes tiempos con un inhibidor de la fosfodiesterasa, 3-isobutil 1-metil xantina (IBMX) $1 \times 10^{-3} \text{M}$, en presencia y ausencia de cloruro de litio $4 \times 10^{-2} \text{M}$.

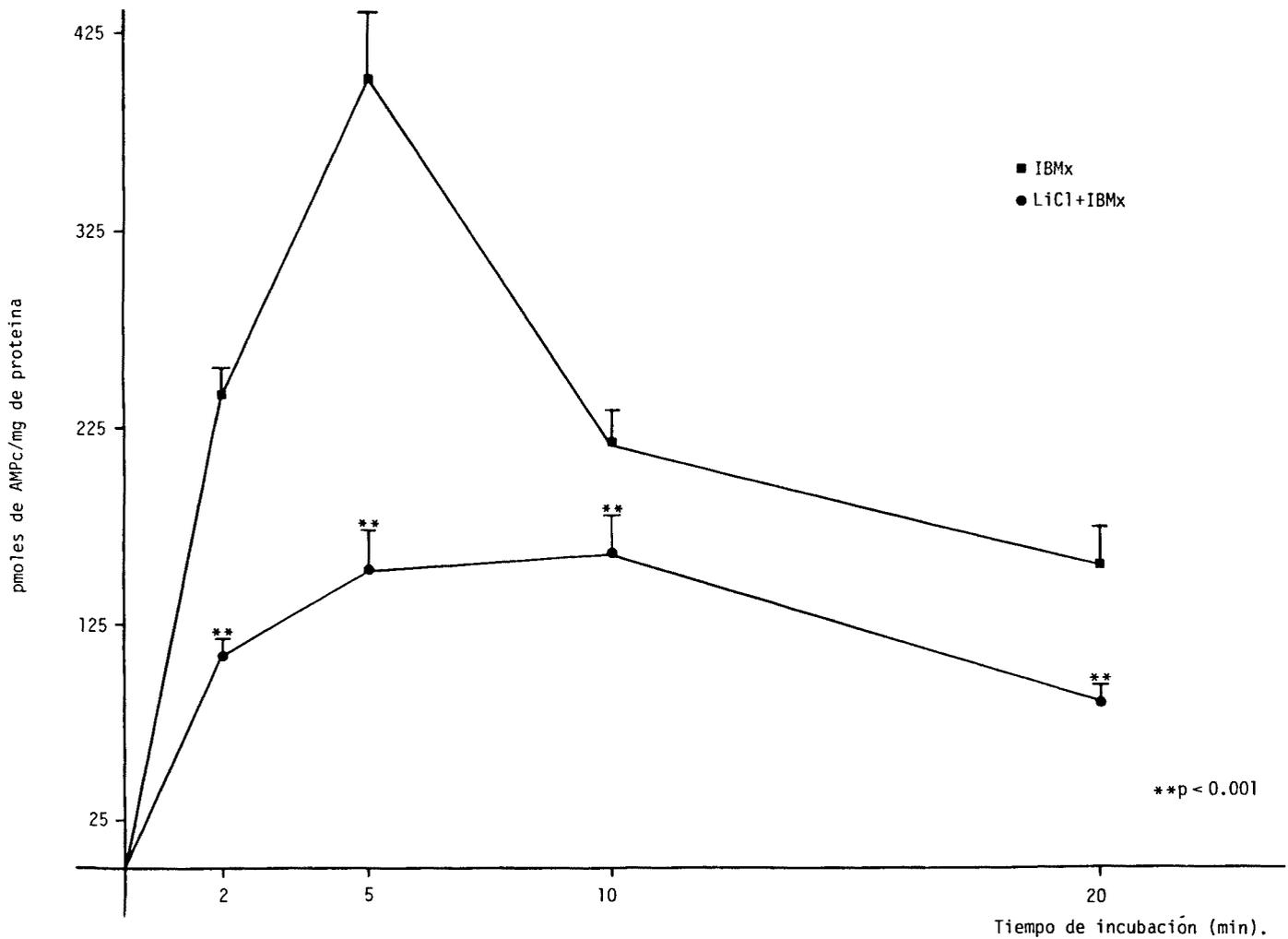


Fig. 7. Acción del cloruro de litio $4 \times 10^{-3} M$ sobre la acumulación de AMPc inducida por un inhibidor de la fosfodiesterasa, 3-isobutil 1-metil xantina (IBMX) $1 \times 10^{-3} M$, en plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo.

Estudio del contenido de proteína

Para realizar este ensayo se siguió la técnica de Lowry y cols (1951).

Los reactivos utilizados fueron los siguientes:

Reactivo (A), 60 gr de carbonato sódico y 8 gr de hidróxido sódico en 2.000 ml de agua destilada.

Reactivo (B), sulfato cúprico al 2%.

Reactivo (C), tartrato sódico al 4%.

Los reactivos (A), (B) y (C), se mezclaban en una proporción de 100:1:1.

Reactivo (D), 2 volúmenes de agua destilada + 1 volumen de Folin Ciocalteus 2N (Merck).

La recta patrón se realizaba con 6 tubos que contenían 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 ml de una concentración de 1 mg/ml de albúmina sérica bovina (Sigma) a los que se añadía agua destilada, hasta un volumen final de 0.5 ml para todos ellos; mientras que los tubos problema contenían 0.5 ml de las muestras a analizar.

Se añadía después a todos los tubos tanto patrones como problemas 5 ml del reactivo ABC, se agitaban y se incubaban a temperatura ambiente durante 15 min. Transcurrido este tiempo, se les añadía 0.5 ml del reactivo (D) y se volvían a agitar y a incubar en las mismas condiciones anteriores durante 10 min, después de los cuales se leían a 660 nm en un espectrofotómetro (Beckman-25).

Cálculos estadísticos

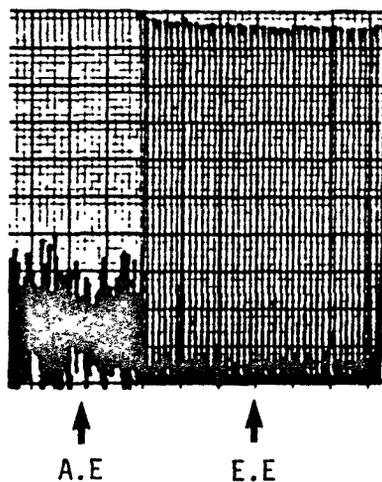
Los resultados obtenidos fueron procesados estadísticamente utilizando el test T de Student.

Las diferencias se aceptaron como significativas a partir de $p < 0.05$.

Todos los valores se encuentran expresados como la media \pm desviación estandar.

RESULTADOS

En la Gráfica 1 se observan las diferencias existentes en baño de órgano aislado, entre la respuesta de la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, antes de estimular (AE) y estimulando electricamente (EE), bajo las condiciones mencionadas en MATERIALES Y METODOS.



Gráfica 1. Registro de la actividad espontánea (AE) e inducida electricamente (EE) en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo.

EFFECTOS DEL CLORURO DE LITIO Y DEL CLORURO SODICO
SOBRE LAS PREPARACIONES DE PLEXO MIENTERICO-MUSCULO
LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO

Las primeras experiencias que realizamos, fueron para comprobar si el cloruro de litio ejercía alguna acción sobre la actividad espontánea de las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, no observando que esta sal produjera "per se" ningún tipo de efecto.

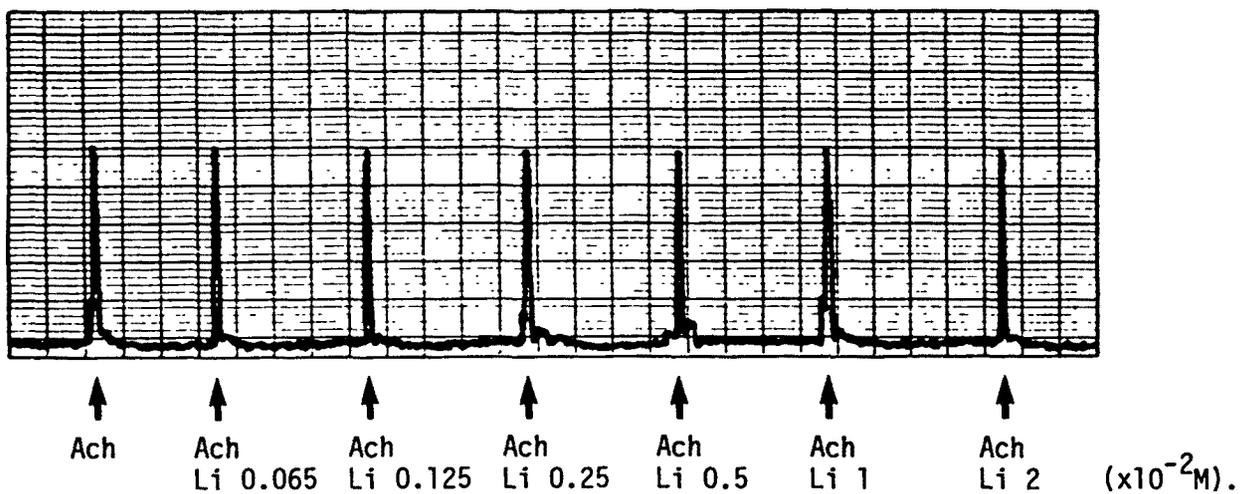
Así mismo estudiamos que ocurría, en estas mismas condiciones, al añadir diferentes concentraciones de cloruro de litio en presencia de acetilcolina $1.2 \times 10^{-7} M$, que era la concentración eficaz 50 que obtuvimos en experiencias previas. Como se observa en la Gráfica 2, esta sal no produce ningún tipo de efecto inhibitorio o excitatorio sobre las contracciones inducidas por la acetilcolina, por lo que pasamos a realizar estos mismos ensayos pero bajo estimulación eléctrica.

La estimulación eléctrica de esta preparación produce una liberación de acetilcolina de la mucosa postganglionar colinérgica, resultando una contracción del músculo longitudinal liso que es registrada y ampliada en un polígrafo. (Gráfica 1).

En primer lugar efectuamos varias curvas dosis-respuesta, con las siguientes concentraciones de cloruro de litio: $0.065 \times 10^{-7} M$, $0.125 \times 10^{-7} M$, $0.25 \times 10^{-7} M$, $0.5 \times 10^{-7} M$, $1 \times 10^{-7} M$, $2 \times 10^{-7} M$ y $4 \times 10^{-7} M$; observando con todas ellas una inhibición de las contracciones inducidas eléctricamente, siendo esta inhibición mayor cuanto mas altas fueran las concentraciones añadidas de esta sal al baño de órgano aislado. (Tabla 5 y Gráfica 3).

Para demostrar que el efecto producido por el cloruro de litio sobre las contracciones inducidas

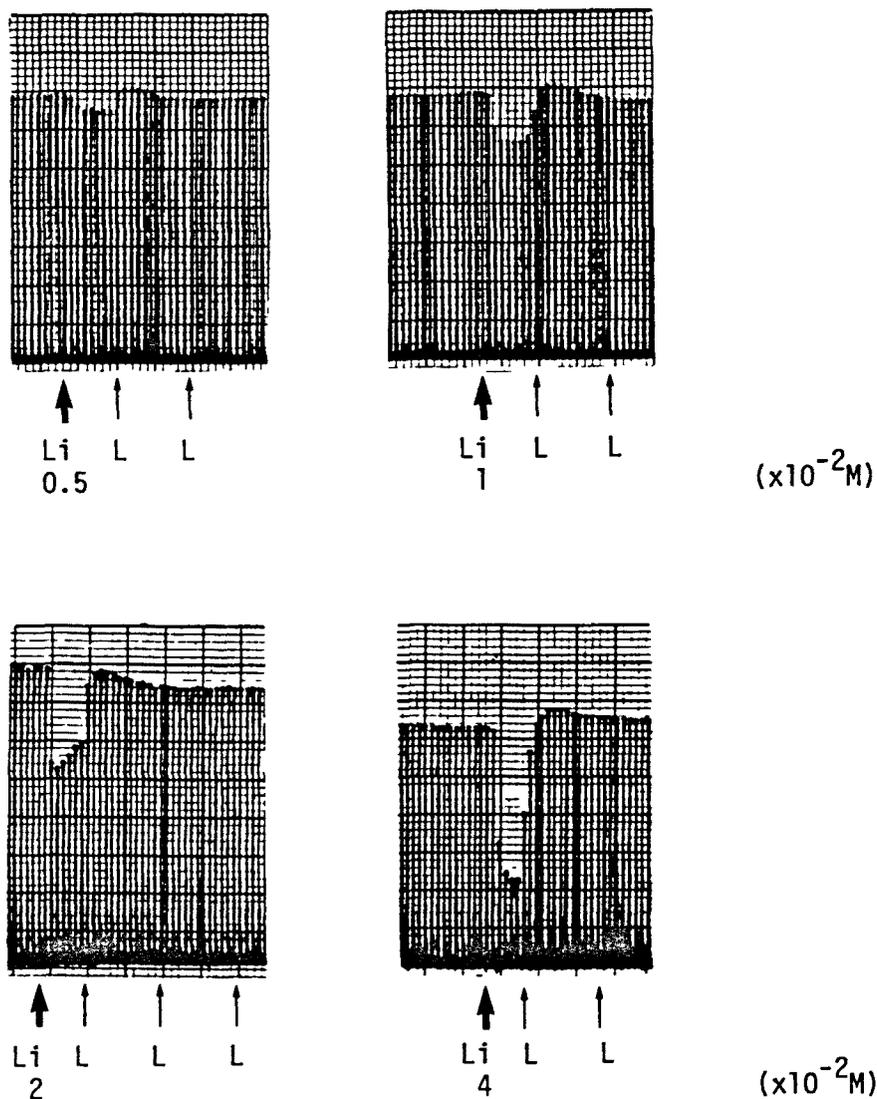
electricamente, en esta preparación, no era debido a una mera cuestión de balance electrolítico, sino que esta sal actuaba específicamente sobre el plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, realizamos varias curvas dosis-respuesta con cloruro sódico, utilizando las mismas concentraciones que con cloruro de litio: $0.065 \times 10^{-2} M$, $0.125 \times 10^{-2} M$, $0.25 \times 10^{-2} M$, $0.5 \times 10^{-2} M$, $1 \times 10^{-2} M$, $2 \times 10^{-2} M$ y $4 \times 10^{-2} M$; demostrando, (Tabla 6 y Fig. 8), que el efecto inhibitorio producido por el cloruro sódico era muy inferior al observado con el cloruro de litio, ya que con el sodio no se apreciaba ningún tipo de efecto hasta concentraciones de $0.5 \times 10^{-2} M$, (Gráfica 4), mientras que con litio la inhibición ya era evidente con $0.065 \times 10^{-2} M$.



Gráfica 2. Registro del efecto producido, en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo, por diferentes concentraciones de cloruro de litio (Li) sobre las contracciones inducidas por la acetilcolina (Ach) $1.2 \times 10^{-7} M$.

LiCl ($\times 10^{-3}M$)	% Efecto Inhibitorio
0.065	1.80 \pm 0.41
0.125	2.93 \pm 0.74
0.25	4.74 \pm 0.88
0.5	7.87 \pm 1.17
1	16.83 \pm 2.70
2	29.12 \pm 6.00
4	62.40 \pm 7.68

Tabla 5. Acción de diferentes concentraciones de cloruro de litio sobre la preparación de plexo mientérico estimulado electricamente. Cada dato corresponde al promedio de 22 experiencias, siendo el coeficiente de correlación lineal de 0.9989.

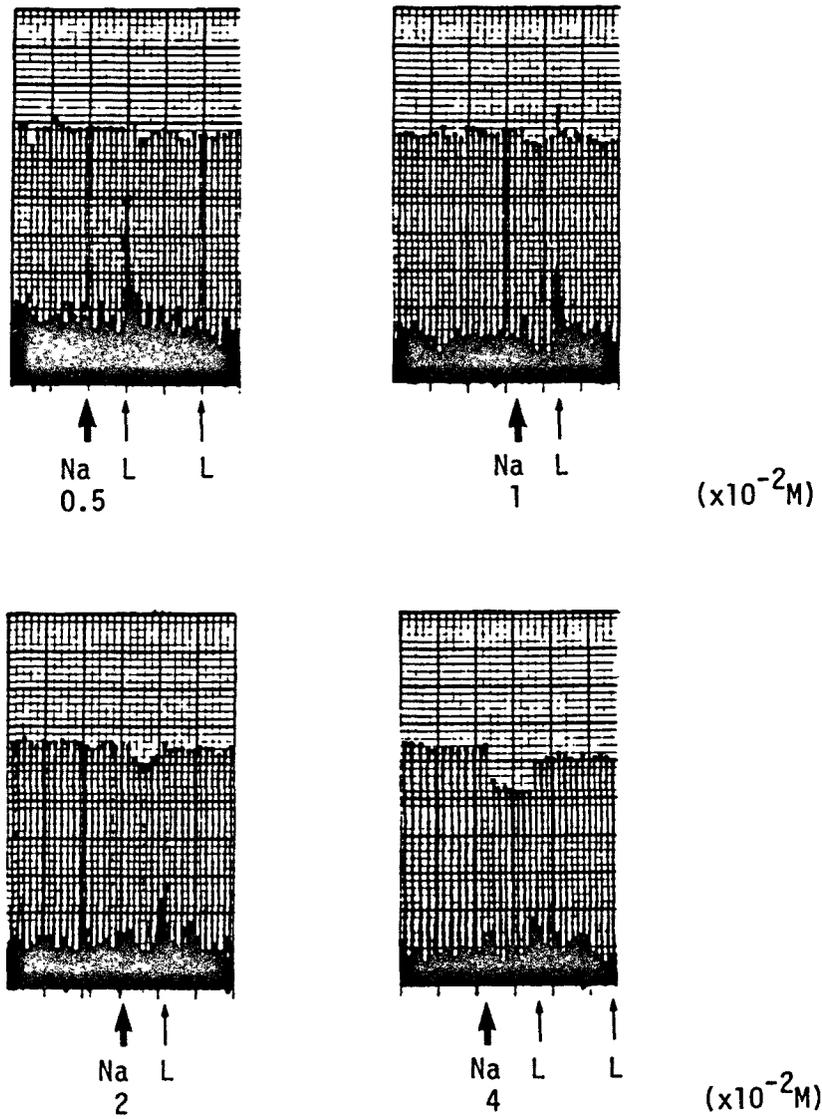


Gráfica 3. Registro del efecto producido por diferentes concentraciones de cloruro de litio (Li) sobre la preparación de plexo mientérico estimulado electricamente.
L=lavado.

Concentración (x10 ⁻² M)	%Inhibición LiCl	%Inhibición NaCl
0.065	1.80±0.41	0 **
0.125	2.93±0.74	0 **
0.25	4.74±0.88	0 **
0.5	7.87±1.17	2.60±0.42 **
1	16.83±2.70	5.65±0.35 **
2	29.12±6.00	9.50±0.42 **
4	62.40±7.68	23.05±0.64 **

** p<0.001

Tabla 6. Comparación entre la inhibición producida por el cloruro de litio y el cloruro sódico. Acción de diferentes concentraciones de cloruro sódico sobre la preparación de plexo mientérico estimulado electricamente. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias, siendo el coeficiente de correlación lineal de 0.9960.



Gráfica 4. Registro del efecto producido por diferentes concentraciones de cloruro sódico (Na) sobre la preparación de plexo mientérico estimulado electricamente.
L=lavado.

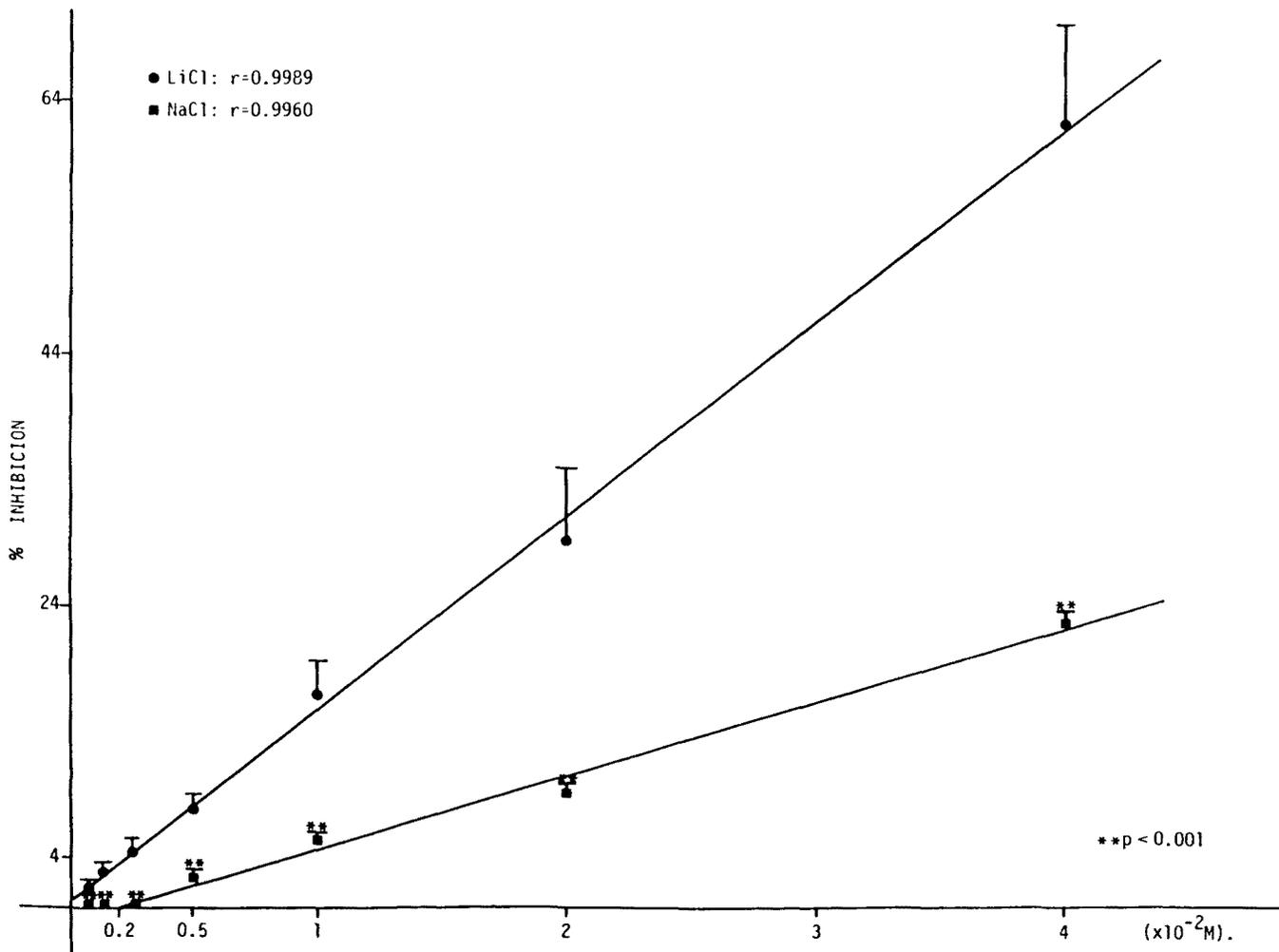


Fig. 8. Curvas dosis-respuesta obtenidas con cloruro de litio y cloruro sódico en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente.

ESTUDIO DE LAS ACCIONES DEL LITIO SOBRE DIFERENTES RECEPTORES EXISTENTES EN EL PLEXO MIENTERICO-MUSCULO LONGITUDINAL DE ILEON DE COBAYO

Una vez demostrada la especificidad de la acción inhibitoria, producida por el cloruro de litio, sobre la preparación de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimulado electricamente, empezamos a probar que efectos producía esta sal sobre los diferentes receptores presentes en este órgano.

Cabe destacar, que en todos los casos estudiados buscamos concentraciones de las sustancias a ensayar que produjeran un efecto, inhibitorio o excitatorio, de entre el 20 y 30%, para que así al añadir las diferentes concentraciones de litio, los efectos de este ion no quedasen enmascarados por una respuesta previa demasiado pequeña o demasiado grande.

Efectos del litio sobre los receptores opiáceos

Para realizar estas experiencias utilizamos una concentración de morfina $4 \times 10^{-8} M$, Puig y cols (1978), con la que se conseguía una inhibición del $25.87 \pm 1.6\%$, en las contracciones inducidas por las preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimulado electricamente.

Cuando añadíamos previamente al baño de órgano aislado, que contenía estas preparaciones, diferentes concentraciones de cloruro de litio, desde $0.065 \times 10^{-2} M$ a $2 \times 10^{-2} M$, esta sal no producía ningún tipo de efecto sobre la inhibición, inducida por morfina, de las contracciones eléctricas. (Tabla 7, Fig. 9 y Gráfica 5).

Con concentraciones superiores a $2 \times 10^{-2} M$, se empezaba a apreciar una disminución de los efectos

producidos por la morfina, aunque esta inhibición era muy pequeña, tan solo del $3.50 \pm 0.33\%$ con cloruro de litio $4 \times 10^{-2} M$.

Al añadir al baño de órgano aislado un antagonista opiáceo, naloxona, a una concentración de $4 \times 10^{-7} M$, Puig y cols (1978), observamos una recuperación total del efecto de la morfina, pero no del producido por el litio, por lo que descartamos que este ion actuara en esta preparación sobre los receptores opiáceos.

LiCl ($\times 10^{-2}M$)	% Inhibición Morfina $4 \times 10^{-6}M$
0	25.87 \pm 1.60
0.065	29.52 \pm 6.67
0.125	28.80 \pm 2.61
0.25	27.85 \pm 6.05
0.5	28.12 \pm 5.95
1	27.60 \pm 4.58
2	25.27 \pm 8.50

Tabla 7. Efecto producido, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, por la morfina $4 \times 10^{-6}M$ sola y en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de litio. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias.

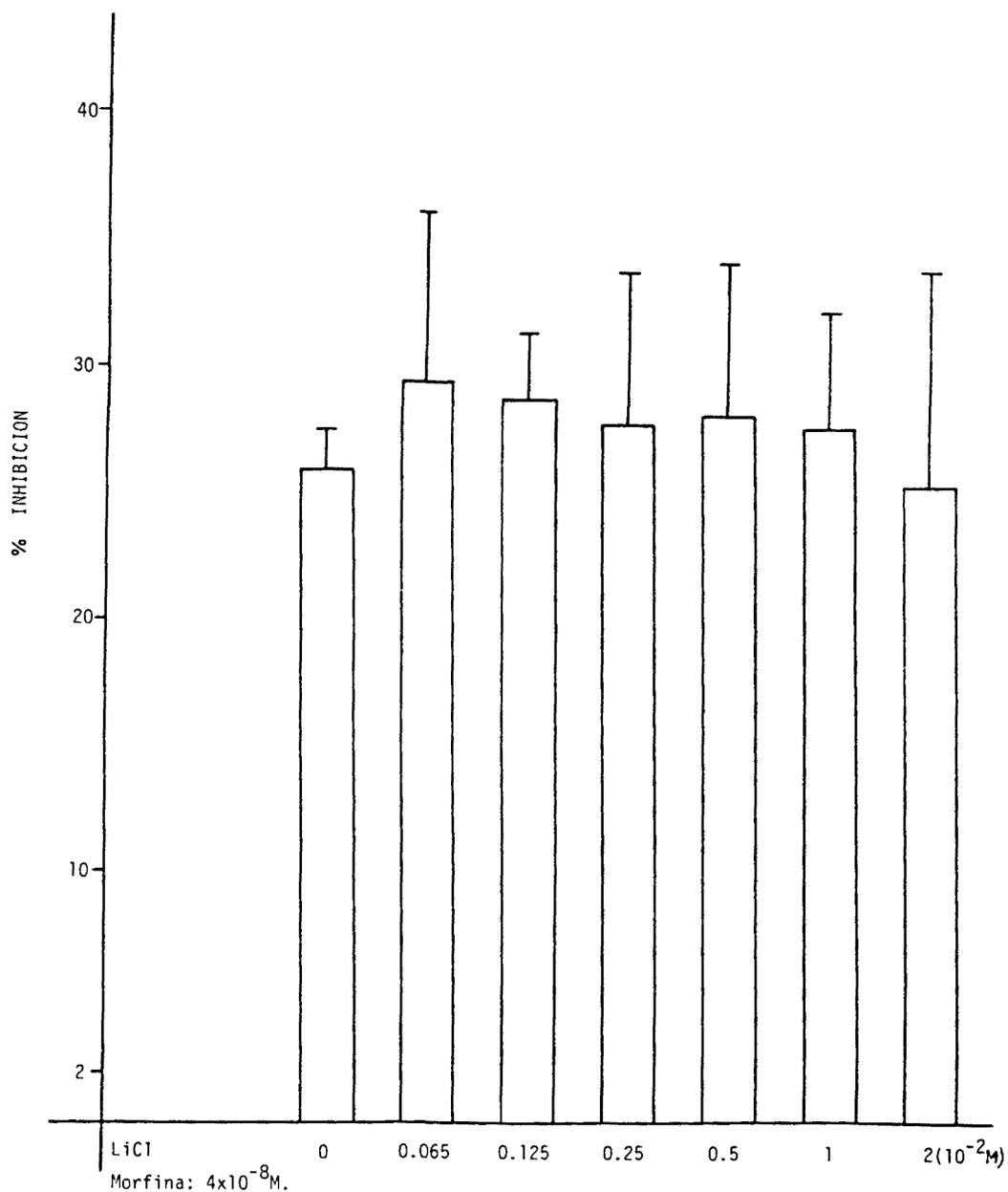
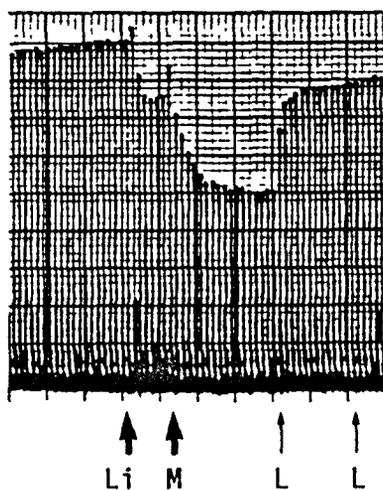
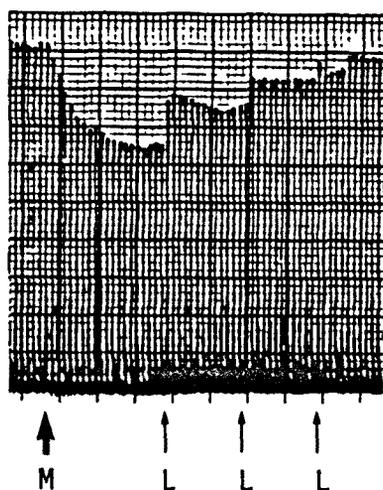


Fig. 9. Inhibición producida, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, por la morfina $4 \times 10^{-8} M$ sola y en presencia de concentraciones crecientes de cloruro de litio.



Gráfica 5. Registro del efecto inhibitorio producido por la morfina (M) $4 \times 10^{-6}M$ sola y en presencia de cloruro de litio (Li) $1 \times 10^{-2}M$, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente. L=lavado.

Efectos del litio sobre los receptores α y β adrenérgicos

La gran cantidad de trabajos publicados, ver INTRODUCCION, en relación a los efectos del litio sobre la noradrenalina en distintos órganos y tejidos, así como la existencia de receptores adrenérgicos en la preparación plexo mientérico-músculo longitudinal de ileon de cobayo, nos llevó a estudiar los efectos del litio sobre la noradrenalina en esta preparación, así como las acciones que producían los bloqueantes α y β adrenérgicos sobre este ion.

En primer lugar, realizamos una curva dosis-respuesta con noradrenalina $4 \times 10^{-9} \text{M}$ a $4 \times 10^{-5} \text{M}$, para comprobar cual era la concentración adecuada a añadir al baño de órgano aislado, observando, (Tabla 8 y Gráfica 6), una inhibición que oscilaba entre un $6.73 \pm 2.46\%$ para $4 \times 10^{-9} \text{M}$ y un $96.33 \pm 1.53\%$ para $4 \times 10^{-5} \text{M}$.

Realizamos después dos curvas dosis-respuesta con noradrenalina $4 \times 10^{-7} \text{M}$ y $4 \times 10^{-6} \text{M}$, en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de litio, 0 a $2 \times 10^{-2} \text{M}$, observando, (Tabla 9 y Fig. 10), que con $4 \times 10^{-7} \text{M}$, el cloruro de litio desde $0.065 \times 10^{-2} \text{M}$ a $0.25 \times 10^{-2} \text{M}$, no inhibía significativamente el efecto producido por esta concentración de noradrenalina; sin embargo a partir de cloruro de litio $0.5 \times 10^{-2} \text{M}$, la inhibición ya era estadísticamente significativa, siendo con $2 \times 10^{-2} \text{M}$ del 89.96%. (Gráfica 7).

En el caso de $4 \times 10^{-6} \text{M}$, a partir de concentraciones de cloruro de litio $0.125 \times 10^{-2} \text{M}$, la inhibición sobre la noradrenalina ya era estadísticamente significativa, siendo con $2 \times 10^{-2} \text{M}$ del 78.1%. (Tabla 9).

Anteriormente hemos comentado, que para nuestras experiencias nos interesaba obtener un efecto de la sustancia a ensayar de entre el 20 y 30%, por lo que en

todos los estudios posteriores, utilizamos concentraciones de noradrenalina de $4 \times 10^{-7} \text{M}$. (Tabla 9).

Después de comprobar el efecto inhibitorio producido por el cloruro de litio sobre la noradrenalina, ensayamos diferentes concentraciones de esta sal, $0.065 \times 10^{-2} \text{M}$ a $2 \times 10^{-2} \text{M}$, en presencia de bloqueantes tanto α como β -adrenérgicos.

Bloqueantes β -adrenérgicos

En primer lugar estudiamos los efectos de los bloqueantes β -adrenérgicos sobre la inhibición producida por el cloruro de litio, $0.065 \times 10^{-2} \text{M}$ a $2 \times 10^{-2} \text{M}$, de las contracciones inducidas electricamente en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo.

Los bloqueantes β -adrenérgicos utilizados fueron:

- Propranolol: bloqueante β -adrenérgico β_1 y β_2 .
- Toliprolol: bloqueante β -adrenérgico β_1 y β_2 .
- Atenolol: bloqueante β -adrenérgico selectivo β_1 .
- Sotalol: bloqueante β -adrenérgico β_1 y β_2 .

Estos bloqueantes β -adrenérgicos, se añadían al baño de órgano aislado a concentraciones de $1 \times 10^{-5} \text{M}$, y se preincubaban durante 15 min antes de poner el litio. Sawynok y Jhamandas (1976), Ennis y cols (1977), Bauer y Kuriyama (1982), Huidobro-Toro y Yoshimura (1983) y Hullihan y cols (1983).

Como se observa en la Tabla 10 y Fig. 11, solo el propranolol incrementa de forma estadísticamente significativa el efecto inhibitorio producido por todas las concentraciones de cloruro de litio.

Quedaba por comprobar, si el efecto potenciador de la inhibición que producía el propranolol sobre el litio, se debía a una acción específica de este ion sobre los receptores β -adrenérgicos, o bien era producido por otras causas.

Se sabe desde hace tiempo, que el propranolol además de ser un bloqueante β -adrenérgico β_1 y β_2 , tiene también propiedades anestésicas locales. Es por ello que estudiamos que efectos producía la lidocaina, que es un anestésico local específico, sobre la inhibición por cloruro de litio de las contracciones inducidas electricamente en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo. Tanto la concentración de lidocaina añadida al baño de órgano aislado, como el tiempo de preincubación de esta sustancia antes de poner el litio, eran los mismos que para el propranolol.

Como se observa en la Tabla 11 y Fig. 12, la lidocaina $1 \times 10^{-5} M$, produce efectos muy parecidos a los del propranolol $1 \times 10^{-5} M$, ya que también aumenta de forma estadísticamente significativa la acción inhibitoria del cloruro de litio. Por tanto, la potenciación obtenida con el propranolol, se debía mas a una acción anestésica local de este bloqueante β -adrenérgico, que a una acción directa del litio sobre los receptores β -adrenérgicos de esta preparación.

Bloqueantes α -adrenérgicos

Para estas experiencias utilizamos:

-Fenoxibenzamina $4 \times 10^{-7} M$, que es un bloqueante α -adrenérgico irreversible, moderadamente selectivo para los receptores α_1 .

-Fentolamina $1 \times 10^{-6} M$, que es un bloqueante α -adrenérgico α_1 y α_2 .

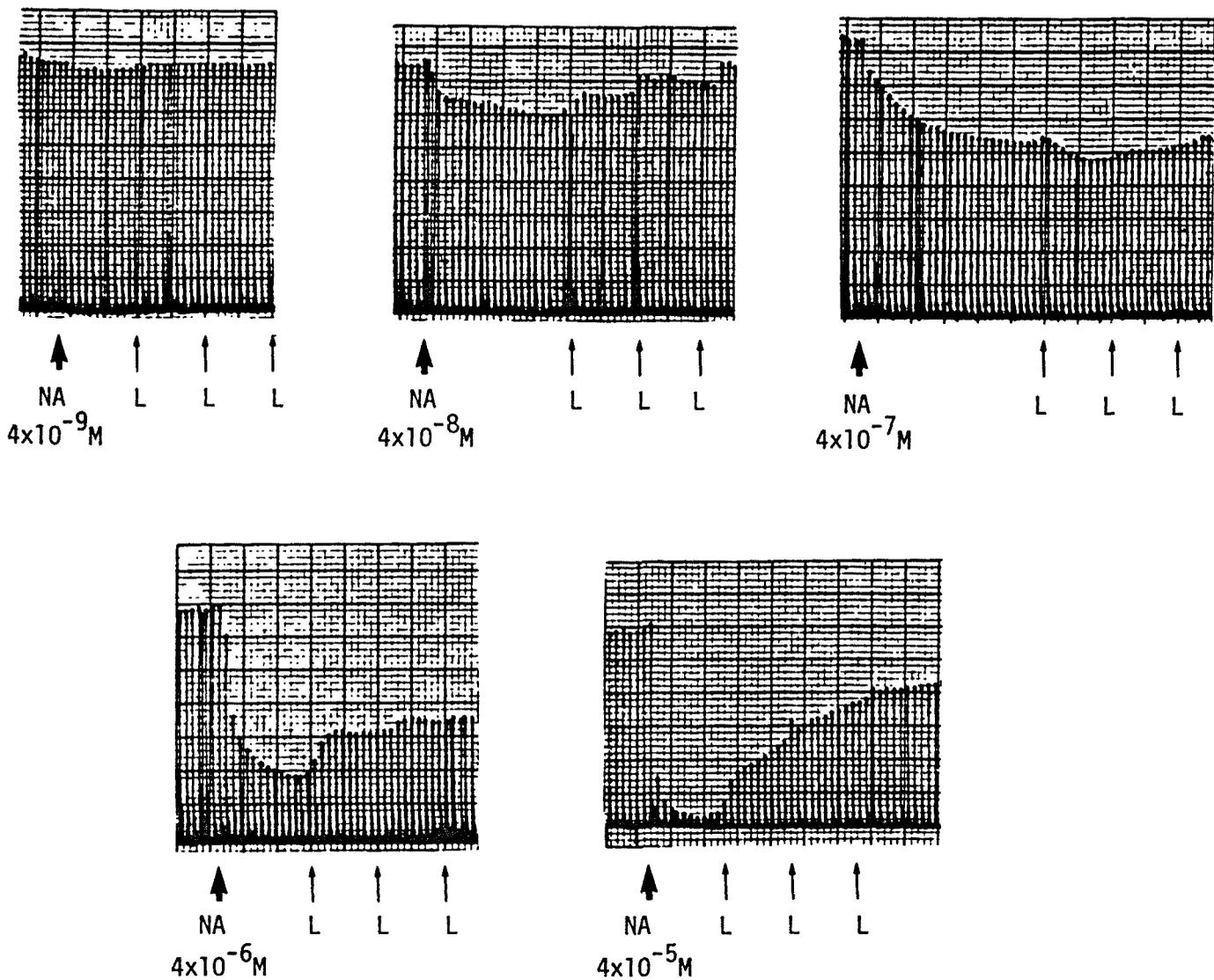
Las concentraciones utilizadas tanto de fenoxibenzamina como de fentolamina, fueron tomadas de Sawynok y Jhamandas (1976), Drew (1978) y Bauer y Kuriyama (1982), así como los tiempos de preincubación de estas sustancias, que eran de 30 min para la fenoxibenzamina y de 15 min para la fentolamina.

Como se observa en la Tabla 12, la fenoxibenzamina produce una disminución estadísticamente muy significativa del efecto inhibitorio observado con cloruro de litio, $0.065 \times 10^{-2} M$ a $4 \times 10^{-2} M$, sobre las contracciones inducidas eléctricamente en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo. La fentolamina, también disminuye de forma estadísticamente significativa el efecto inhibitorio producido por esta sal, aunque su acción no es tan potente como la observada con fenoxibenzamina. (Fig. 13).

Por tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, el litio podría tener cierta acción α -adrenérgica, ya que tanto la fenoxibenzamina como la fentolamina inhiben de forma estadísticamente significativa los efectos producidos por este ion. De todas formas, esta acción α -adrenérgica no puede ser muy importante, ya que ninguno de los dos bloqueantes α -adrenérgicos inhiben totalmente el efecto del litio.

Concentración	% Efecto
Noradrenalina	Noradrenalina
$4 \times 10^{-9} \text{M}$	6.73±2.46
$4 \times 10^{-8} \text{M}$	18.25±1.77
$4 \times 10^{-7} \text{M}$	30.67±6.03
$4 \times 10^{-6} \text{M}$	72.73±2.68
$4 \times 10^{-5} \text{M}$	96.33±1.53

Tabla 8. Efecto obtenido con diferentes concentraciones de noradrenalina en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente. Cada dato corresponde al promedio de 6 experiencias.



Gráfica 6. Registro del efecto producido por diferentes concentraciones de noradrenalina (NA) sobre la preparación de plexo mientérico estimulado electricamente.

L=lavado.

LiCl ($\times 10^{-2}M$)	%Efecto	% Efecto
	Noradrenalina $4 \times 10^{-7}M$	Noradrenalina $4 \times 10^{-6}M$
0	30.67 \pm 6.03	72.73 \pm 2.68
0.065	34.70 \pm 2.49	60.30 \pm 10
0.125	34.60 \pm 2.41	56.30 \pm 3.13 **
0.25	26.68 \pm 2.26	54.86 \pm 3.33 **
0.5	17.88 \pm 4.32 *	43.50 \pm 8.06 **
1	11.38 \pm 2.18 **	41.81 \pm 8.31 **
2	3.08 \pm 4.08 **	15.92 \pm 2.34 **

** p<0.001

* p<0.05

Tabla 9. Efecto producido, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, por diferentes concentraciones de cloruro de litio sobre la noradrenalina $4 \times 10^{-7}M$ y $4 \times 10^{-6}M$. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias, siendo el coeficiente de correlación lineal de 0.9391 para la noradrenalina $4 \times 10^{-7}M$ y de 0.9531 para la noradrenalina $4 \times 10^{-6}M$.

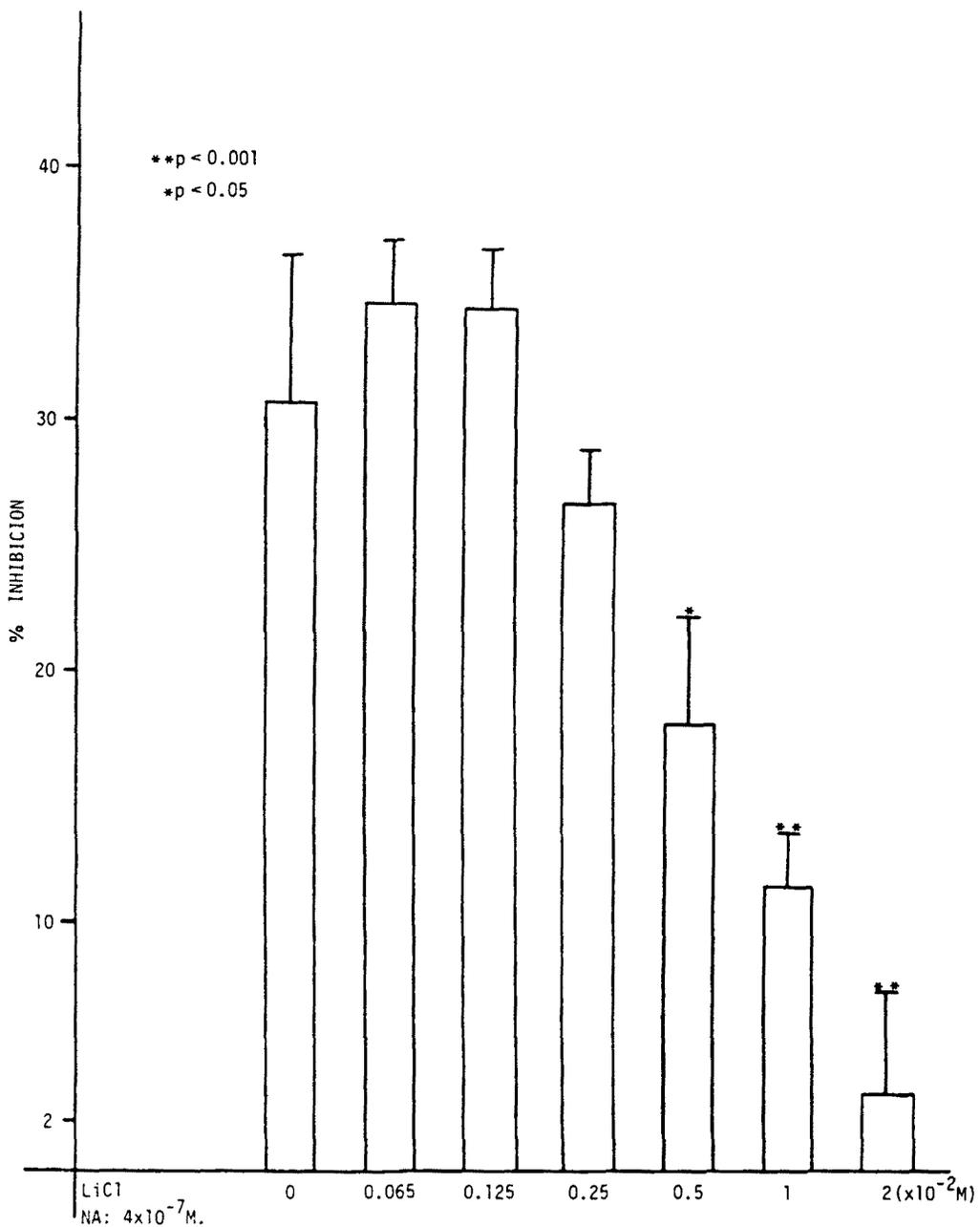
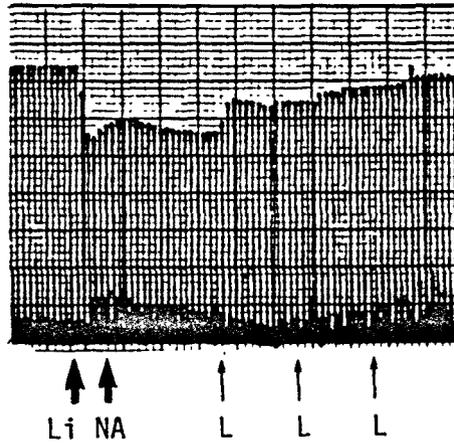
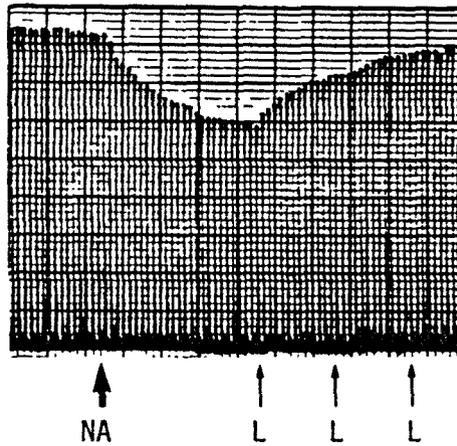


Fig. 10. Inhibición producida, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, por la noradrenalina (NA) $4 \times 10^{-7} M$ sola y en presencia de concentraciones crecientes de cloruro de litio.



Gráfica 7. Registro del efecto producido, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, por la noradrenalina (NA) $4 \times 10^{-7} M$, antes y después de añadir al baño de órgano aislado, cloruro de litio (Li) $2 \times 10^{-4} M$.
L=lavado.

LiCl ($\times 10^{-5}$ M)	% Efecto LiCl	% Efecto Propranolol +LiCl	% Efecto Toliprolol +LiCl	% Efecto Atenolol +LiCl	% Efecto Sotalol +LiCl
0.065	1.80 \pm 0.41	3.82 \pm 0.61 **	2.40 \pm 0.71	2.07 \pm 0.73	2.20 \pm 0.68
0.125	2.93 \pm 0.74	5.00 \pm 1.51 **	3.33 \pm 0.64	3.70 \pm 1.16	3.45 \pm 0.97
0.25	4.74 \pm 0.88	5.60 \pm 1.23 *	5.45 \pm 0.21	4.20 \pm 0.26	4.70 \pm 0.86
0.5	7.87 \pm 1.17	14.75 \pm 3.73 **	8.80 \pm 1.31	8.00 \pm 1.38	8.75 \pm 1.45
1	16.83 \pm 2.70	26.45 \pm 4.90 **	19.17 \pm 4.11	15.10 \pm 2.99	19.20 \pm 3.18
2	29.12 \pm 6.00	49.10 \pm 6.70 **	26.73 \pm 5.65	22.81 \pm 5.45	27.30 \pm 5.17

** p<0.001

* p<0.05

Tabla 10. Resultados obtenidos, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con propranolol 1×10^{-5} M, toliprolol 1×10^{-5} M, atenolol 1×10^{-5} M y sotalol 1×10^{-5} M, sobre el efecto inhibitorio producido por diferentes concentraciones de cloruro de litio. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias, obteniéndose los siguientes coeficientes de correlación lineal:

-Propranolol + LiCl, 0.9978.

-Toliprolol + LiCl, 0.9808.

-Atenolol + LiCl, 0.9896.

-Sotalol + LiCl, 0.9828.

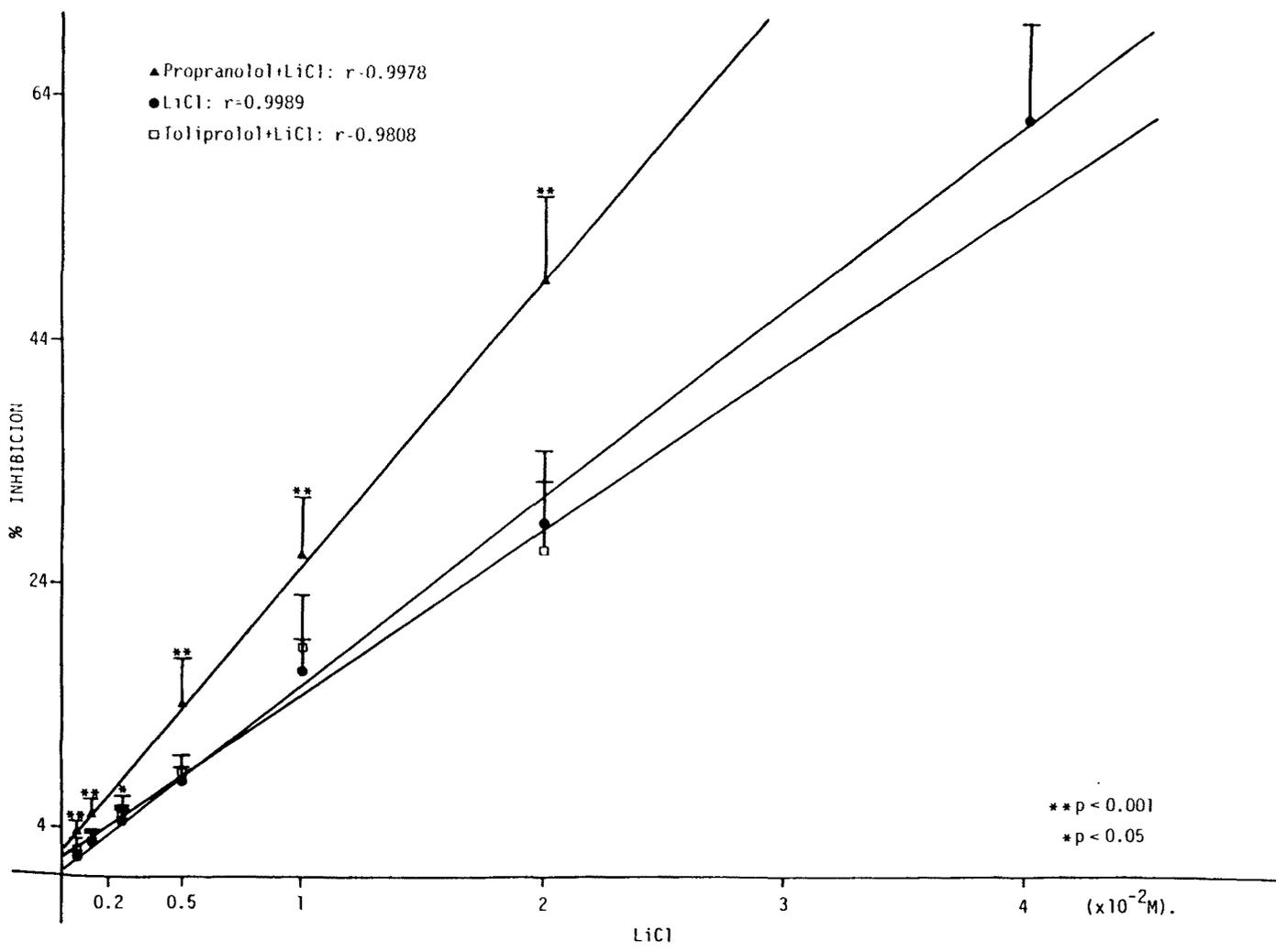


Fig. 11. Curvas dosis-respuesta obtenidas, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con propranolol $1 \times 10^{-5} M$ y toliprolol $1 \times 10^{-5} M$ en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de litio. Se incluye a efectos de comparación una curva correspondiente al cloruro de litio solo.

LiCl ($\times 10^{-5}M$)	% Efecto LiCl	% Efecto Propranolol +LiCl	% Efecto Lidocaina +LiCl
0.065	1.80 \pm 0.41	3.82 \pm 0.61 **	4.60 \pm 0.17 **
0.125	2.93 \pm 0.74	5.00 \pm 1.51 **	6.20 \pm 1.28 **
0.25	4.74 \pm 0.88	5.60 \pm 1.23 *	6.75 \pm 0.77 **
0.5	7.87 \pm 1.17	14.75 \pm 3.73 **	14.37 \pm 2.85 **
1	16.83 \pm 2.70	26.45 \pm 4.90 **	25.97 \pm 3.78 **
2	29.12 \pm 6.00	49.10 \pm 6.70 **	45.67 \pm 4.21 **

** p<0.001

* p<0.05

Tabla 11. Resultados obtenidos, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con propranolol $1 \times 10^{-5}M$ y lidocaina $1 \times 10^{-5}M$, sobre el efecto inhibitorio producido por diferentes concentraciones de cloruro de litio. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias, obteniéndose los siguientes coeficientes de correlación lineal:

-Propranolol + LiCl, 0.9978.

-Lidocaina + LiCl, 0.9979.

En ningún caso se observaron diferencias significativas entre propranolol y lidocaina.

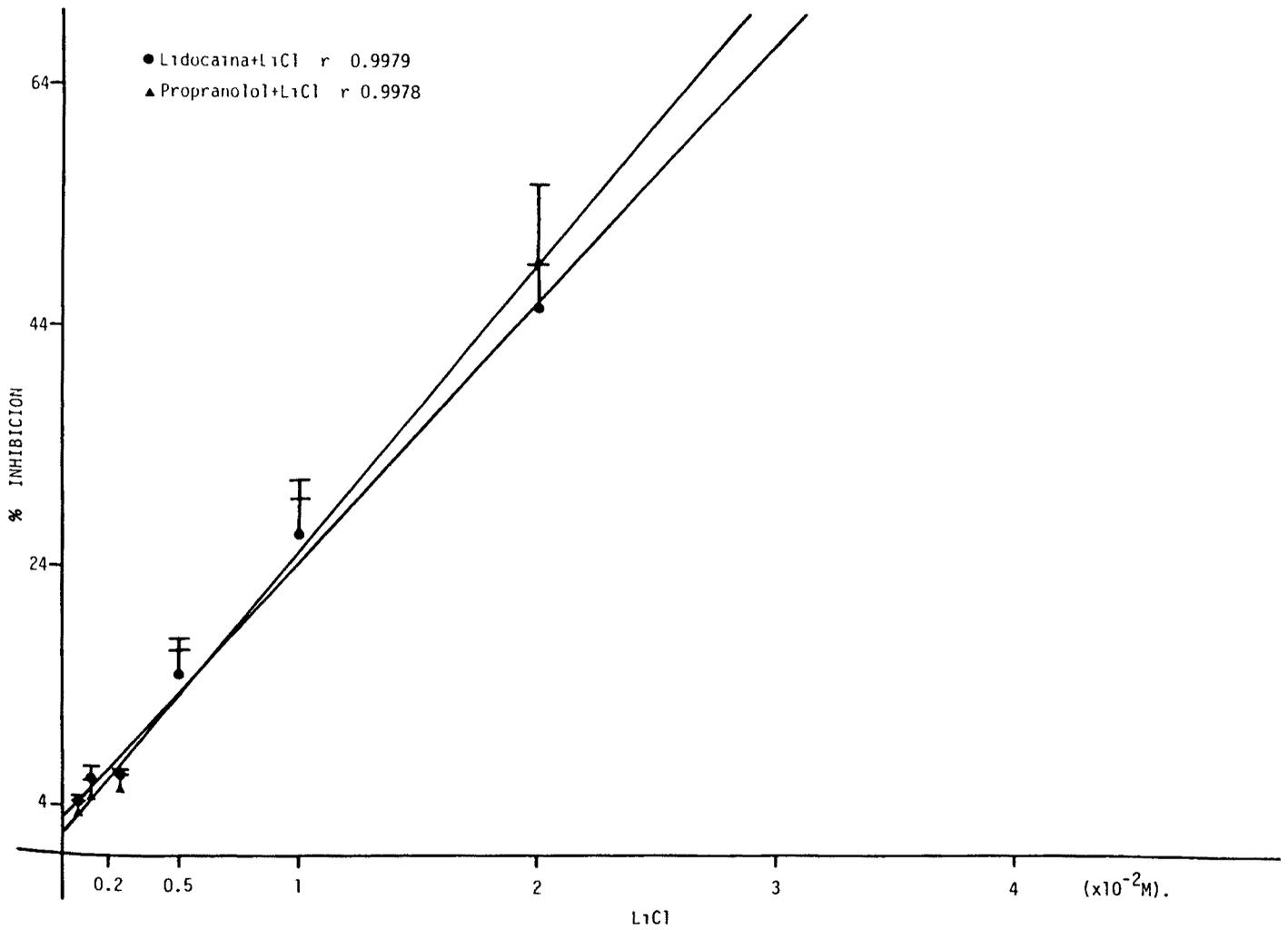


Fig. 12. Curvas dosis-respuesta obtenidas, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con propranolol $1 \times 10^{-5} \text{M}$ y lidocaina $1 \times 10^{-5} \text{M}$ en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de litio.

LiCl ($\times 10^{-2}$ M)	% Efecto LiCl	% Efecto Fenoxibenzamina	% Efecto Fentolamina
0.065	1.80 \pm 0.41	0.27 \pm 0.72 **	0.65 \pm 0.92 **
0.125	2.93 \pm 0.74	0.43 \pm 0.79 **	2.00 \pm 0.81 *
0.25	4.74 \pm 0.88	0.84 \pm 1.16 **	3.00 \pm 0.81 **
0.5	7.87 \pm 1.17	3.21 \pm 1.52 **	5.50 \pm 1.81 *
1	16.83 \pm 2.70	6.11 \pm 3.23 **	12.92 \pm 3.92 *
2	29.12 \pm 6.00	8.76 \pm 2.81 **	21.30 \pm 6.40 *
4	62.40 \pm 7.68	20.30 \pm 3.18 **	---

** p<0.001

* p<0.05

Tabla 12. Resultados obtenidos, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con fenoxibenzamina 4×10^{-2} M y fentolamina 1×10^{-6} M, sobre el efecto inhibitorio producido por diferentes concentraciones de cloruro de litio. Cada dato corresponde al promedio de 8 experiencias, obteniéndose los siguientes coeficientes de correlación lineal:

-Fenoxibenzamina + LiCl, 0.9942.

-Fentolamina + LiCl, 0.9941.

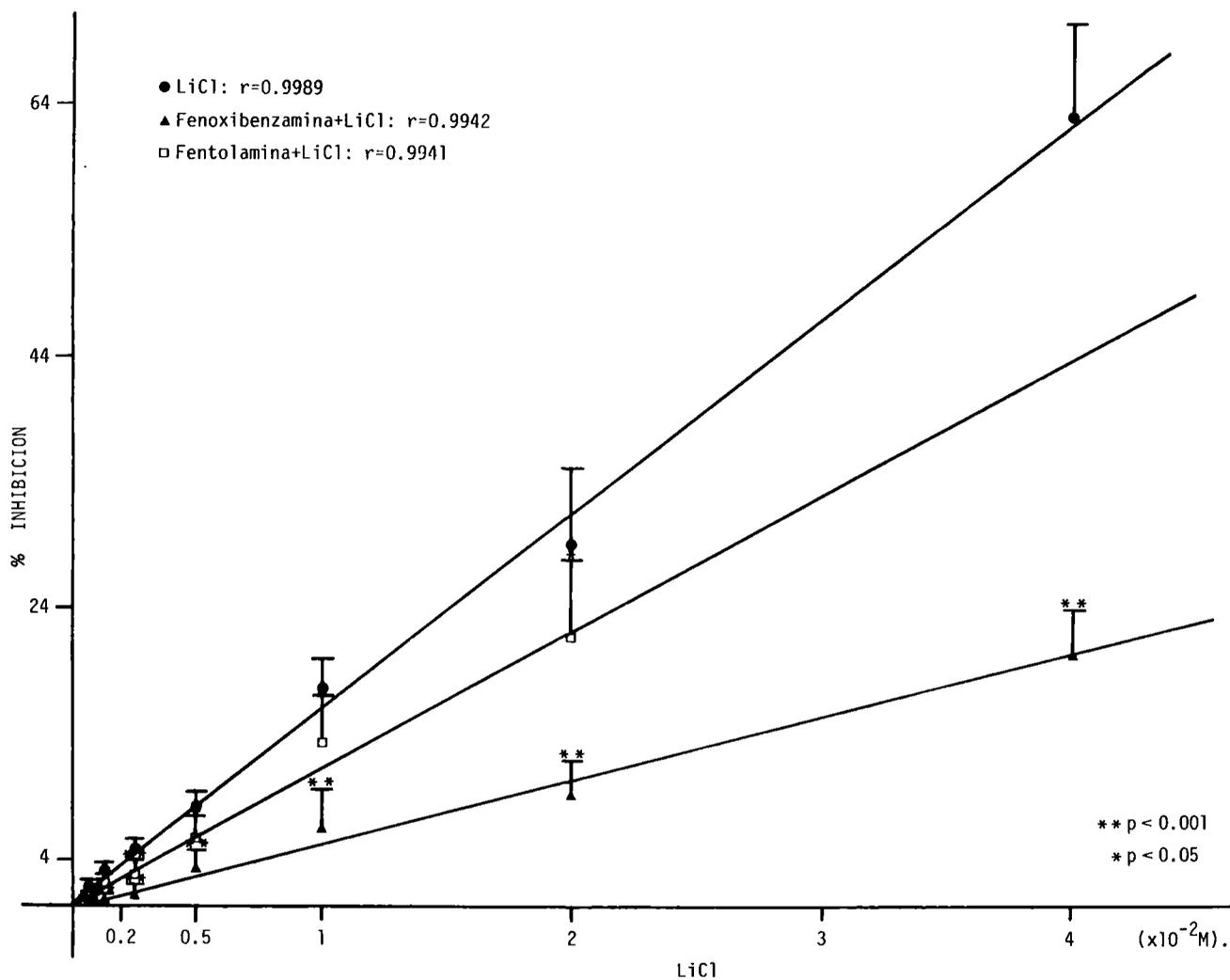


Fig. 13. Curvas dosis-respuesta obtenidas, en preparaciones de plexo mientérico estimulado electricamente, con fentolamina $1 \times 10^{-6} M$ y fenoxibenzamina $4 \times 10^{-7} M$ en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de litio. Se incluye a efectos de comparación una curva correspondiente al cloruro de litio solo.

Efectos del litio sobre los receptores histaminérgicos

Han sido descritas en distintos trabajos y en diferentes órganos, ver INTRODUCCION, interacciones del litio con la histamina y la serotonina; es por ello que estudiamos, en preparaciones de plexo mientérico-músculo longitudinal de íleon de cobayo estimulado electricamente, los efectos de diferentes concentraciones de este ion sobre dichas sustancias.

En primer lugar comprobamos que efecto producía la histamina sobre las contracciones inducidas electricamente en esta preparación, observando que en lugar de inhibirlas, como había sucedido con las sustancias probadas hasta ahora, lo que hacía era potenciarlas. La concentración de histamina utilizada fue de $1 \times 10^{-7} M$, según Zavecz y Yellin (1982).

Una vez demostrada la acción potenciadora de la histamina, estudiamos que efectos producían sobre ella diferentes concentraciones de cloruro de litio, 0 a $2 \times 10^{-2} M$, observando, (Tabla 13 y Fig. 14), que esta sal inhibe, de forma estadísticamente significativa, la acción de la histamina a partir de $0.5 \times 10^{-2} M$. Comprobamos así mismo que con concentraciones de cloruro de litio $1 \times 10^{-2} M$ y $2 \times 10^{-2} M$, el efecto potenciador de la histamina se encuentra inhibido en un 100%. (Gráfica 8).

Después de demostrar la inhibición del cloruro de litio sobre la acción de la histamina, ensayamos diferentes concentraciones de esta sal, $0.065 \times 10^{-2} M$ a $2 \times 10^{-2} M$, en presencia de un bloqueante histaminérgico, mepiramina $1 \times 10^{-7} M$, según Sakai (1979) y Zavecz y Yellin (1982). Para ello primero se incubaba la mepiramina durante 1 min y luego se añadían las diferentes concentraciones de cloruro de litio. Como se observa en la Tabla 14 y Fig. 16, la mepiramina no produce ningún tipo de efecto estadísticamente significativo sobre la

inhibición por litio de las contracciones inducidas electricamente en esta preparación.

A efectos de comprobar la actividad de la mepiramina como antagonista de la histamina, ensayamos la acción de la mepiramina $1 \times 10^{-7} M$ sobre la histamina $1 \times 10^{-7} M$, observando que este antagonista histaminérgico, después de 1 min de incubación, inhibe totalmente la potenciación producida por la histamina en esta preparación.