



## Jornades de Foment de la Investigació

# **DETERIOROS MOTORES PRODUCIDOS POR LOS ANTIPSICÓTICOS TÍPICOS EN MUESTRAS DE RATONES ADULTOS JÓVENES Y VIEJOS: EFECTO TERAPEÚTICO DE LOS ANTAGONISTAS DE ADENOSINA CAFEÍNA, TEOFILINA Y MSX-3.**

### **Autors**

Laura LOPEZ  
Paola FUENTES  
Marta PARDO,  
Gemma CABALLER  
John D. SALAMONE  
Mercè CORREA.

**Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

Laura Lopez-Cruz,  
Paola Fuentes-Claramonte,  
Marta Pardo,  
Gemma Caballer,  
John D. Salamone,  
Mercè Correa.

*Area psicobiologia. Universitat Jaume I. Spain*

*Behavioral Neuroscience Division. University of Connecticut. USA.*

**Agradecimientos:**

Proyecto financiado por Conselleria de Sanitat. Generalitat Valenciana. (AP-041/08).

**Resumen**

Uno de los efectos colaterales de la administración de neurolépticos para el tratamiento de los síntomas de la esquizofrenia es la afectación motora. Los antagonistas dopaminérgicos como el haloperidol, ampliamente utilizados con este fin, han demostrado suprimir la locomoción en roedores. En el presente estudio evaluamos un amplio rango de dosis de haloperidol en dos muestras de ratones de diferentes edades: adultos jóvenes y viejos. Las dosis moderadas de haloperidol (0.025-0.1 mg/kg) suprimieron la locomoción en mayor medida en los animales viejos que en los animales jóvenes. Este efecto es debido a las compensaciones del sistema dopaminérgico estriatal que convierten a los animales viejos en más sensibles al deterioro motor. Sin embargo, las dosis altas de haloperidol (0.25-1.0 mg/kg) no produjeron diferencias significativas entre ambos grupos de edad dado que deterioraron la conducta motora de manera drástica en ambas muestras. La administración de antagonistas de los receptores de adenosina (colocalizados con los receptores de dopamina en el estriado) teofilina y MSX-3 revertió hasta alcanzar niveles normales la conducta motora de los animales jóvenes tratados con dosis moderadas de haloperidol (0.1 mg/kg). Sin embargo, la supresión motora de dosis más altas de haloperidol (0.5 mg/kg) no se vió paliada por el antagonista no selectivo de adenosina; cafeína. Los antagonistas de adenosina pueden tener efectos terapéuticos en el deterioro motor de dosis moderadas de antipsicóticos.

## **Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

### **INTRODUCCION**

#### **Efectos conductuales de los antagonistas de dopamina.**

La pérdida del neurotransmisor Dopamina (DA) a lo largo de la vida es un proceso normal de envejecimiento que está a la base del enlentecimiento motor normal y patológico si sus niveles llegan a ser muy bajos. En ese caso aparecen síndromes como el Parkinson. La enfermedad de Parkinson es un desorden motor que se caracteriza por la lentitud de movimientos, el temblor de las manos o mandíbula y la rigidez del tronco o de las extremidades. Su origen está en la degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la Sustancia Negra compacta (SNc), principalmente.

Por otro lado, los antagonistas de dopamina han sido utilizados tradicionalmente para el tratamiento de los síntomas alucinatorios en la esquizofrenia. Sin embargo, uno de los efectos colaterales de la administración de estos fármacos antagonistas dopaminérgicos es el deterioro motor, ya que aparecen síntomas motores como los del Parkinson.

#### **Receptores de dopamina y de adenosina.**

Diversas líneas de estudio indican que el neurotransmisor adenosina también juega un papel central en la regulación de los ganglios basales, especialmente en la región del Estriado, área que recibe la innervación dopaminérgica de la SNc. La adenosina actúa sobre diferentes tipos de receptores que tienen una distribución heterogénea en el cerebro.

Los principales receptores de adenosina en el SNC son los A1 y los A2A. Ambos tipos se concentran en gran cantidad en el Estriado. Los receptores A1 están en las mismas neuronas que los receptores de dopamina D1. Ambos producen efectos opuestos en la neurona. Aunque varios tipos de células estriatales contienen receptores A2A, estos tienden a coexpresarse con los receptores de dopamina D2. La activación de los receptores A2A tiene efectos opuestos a la activación de los D2. El subtipo A2A es especialmente interesante dada su localización casi selectiva en el Estriado, lo que favorece que los fármacos selectivos de A2A no afecten otras funciones cerebrales y puedan tener utilidad como drogas antiparkinsonianas.

#### **Efectos conductuales de los antagonistas de adenosina.**

La cafeína, la teofilina y la teobromina son sustancias naturales que actúan como psicoestimulantes motores. Son antagonistas no selectivos de los receptores de adenosina; actúan tanto sobre los A1 como los A2A.

## **Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

Se ha observado que la cafeína reduce los síntomas parkinsonianos en humanos y en animales. Los antagonistas selectivos de los receptores A2A también han demostrado ser efectivos para el tratamiento de síntomas de Parkinson en modelos animales y están siendo evaluados para el tratamiento en humanos.

El estudio farmacológico de la interacción A2A/D2 en los síntomas del Parkinson es una nueva aproximación terapéutica a dicha enfermedad que ha demostrado efectos positivos como lo indican el reducido número de estudios conductuales realizados hasta la fecha sobre diversos parámetros motores. Dichos estudios demuestran que los antagonistas de los receptores A2A pueden ayudar a prevenir la degeneración de las neuronas dopaminérgicas (origen del Parkinson). Además, cuando éste se ha producido, pueden reducir los síntomas parkinsonianos. Un buen fármaco será aquel que actúe en la mayor parte de los síntomas del Parkinson y con los menores efectos no deseados.

En conjunto este estudio pretende ampliar, el conocimiento de la interacción entre el sistema de receptores dopaminérgicos D2 y el sistema de receptores de adenosina A2A para ampliar el conocimiento del sustrato neurofarmacológico que conduzca al desarrollo de fármacos más selectivos, que actúen eliminando un mayor número de síntomas y con menos efectos secundarios para el tratamiento de los síntomas motores del Parkinson.

### **MATERIALES Y METODOS:**

#### **Sujetos**

Ratones macho de la cepa CD1 (Harlan Ibérica, S.L.) de 5 (jóvenes) o 14 semanas (viejos) de edad. En el estabulario serán alojados en grupos de cuatro animales por jaula con ciclos de 12 horas de luz y 12 de oscuridad en condiciones de humedad y temperatura constantes (22 + 2° C). Los animales dispondrán de agua y comida *ad libitum*. Permanecerán en las mencionadas condiciones al menos durante 7 días desde su llegada a nuestro laboratorio para su aclimatación al estabulario antes del inicio de la fase experimental.

#### *Drogas:*

Haloperidol (Sigma-Aldrich, España), disueltos en ácido tartárico al 0.3%. Teofilina y Cafeína (Sigma-Aldrich, España), disueltas en solución salina 0.9%. MSX-3 ((E)-phosphoric acid mono-[3-[8-[2-(3-methoxyphenyl)vinyl]-7-methyl-2,6-dioxo-1-prop-2-ynyl-1,2,6,7-tetrahydropurin-3-yl]propyl] ester) sintetizado y cedido por Pharmazeutisches Institut (Universität Bonn; Bonn, Germany; Drs. Müller y Hockemeyer), será disuelto en salina al 0.9%. El pH de la solución con MSX-3 y de la solución control se ajustará a 7.1-7.4 añadiendo 1.0 N NaOH.

## Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.

### *Procedimientos conductuales:*

Locomoción horizontal. La actividad locomotora se observará en un Campo Abierto durante 15 minutos en un cilindro de plexiglás transparente de 25 x 30 cm dividido en 4 cuadrantes de iguales dimensiones. Se considerará una cuenta de actividad vertical cada vez que el animal cruce de un cuadrante a otro con las 4 patas.

El haloperidol se inyectará 50 minutos antes del test y los antagonistas de adenosina 30 minutos antes del test.

### **RESULTADOS.**

#### **Experimento 1: Efecto del haloperidol (antagonista de los receptores de dopamina D2) en la locomoción de ratones jóvenes y viejos**

El análisis estadísticos empleado para los primeros experimentos fue un ANOVA de dos factores (edad de los animales x dosis de haloperidol).

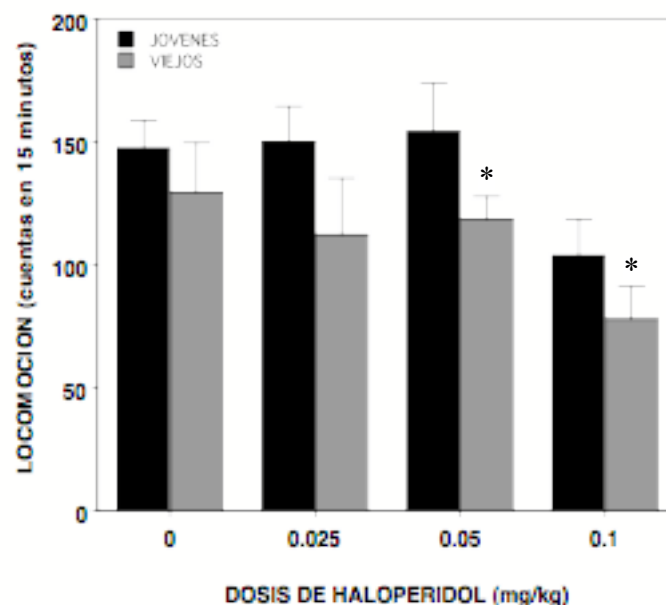


Fig. 1.1. Efecto de dosis bajas y moderadas de haloperidol en la locomoción de ratones adultos jóvenes y viejos. Media + ES del número de cruces en 15 minutos. \* $p < 0,05$  significativamente diferente del grupo vehículo para el mismo grupo de edad.

**Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

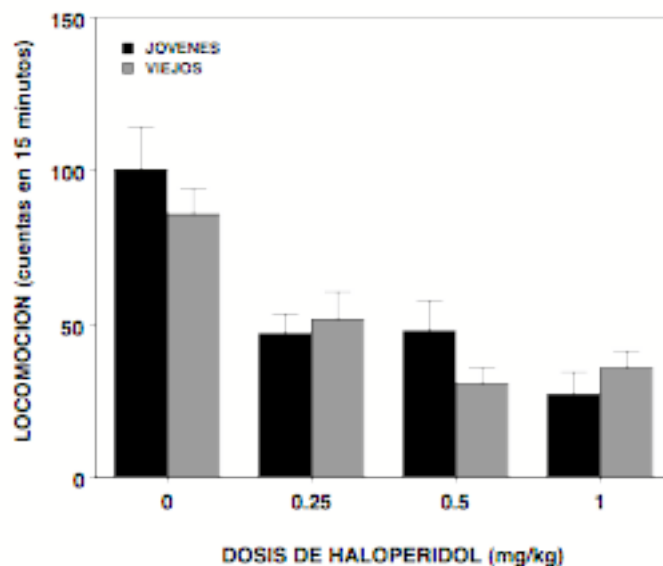


Fig. 1.2. Efecto de dosis altas de haloperidol en la locomoción de ratones adultos jóvenes y viejos. Media  $\pm$  E.S. del número de cruces en 15 minutos.

**Experimento 2: Efecto de antagonistas de los receptores de adenosina A2A y de antagonistas no selectivos A1 / A2A en la supresión de la locomoción producida por el antagonismo de los receptores de dopamina D2 en ratones adultos jóvenes.**

El análisis estadístico empleado para la segunda serie de experimentos fue un ANOVA de un factor (dosis de antagonista de adenosina). Los datos de los animales tratados sólo con en el antagonista de adenosina fueron analizados separadamente de los datos de los animales que recibieron haloperidol más una dosis de antagonista de adenosina.

**Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

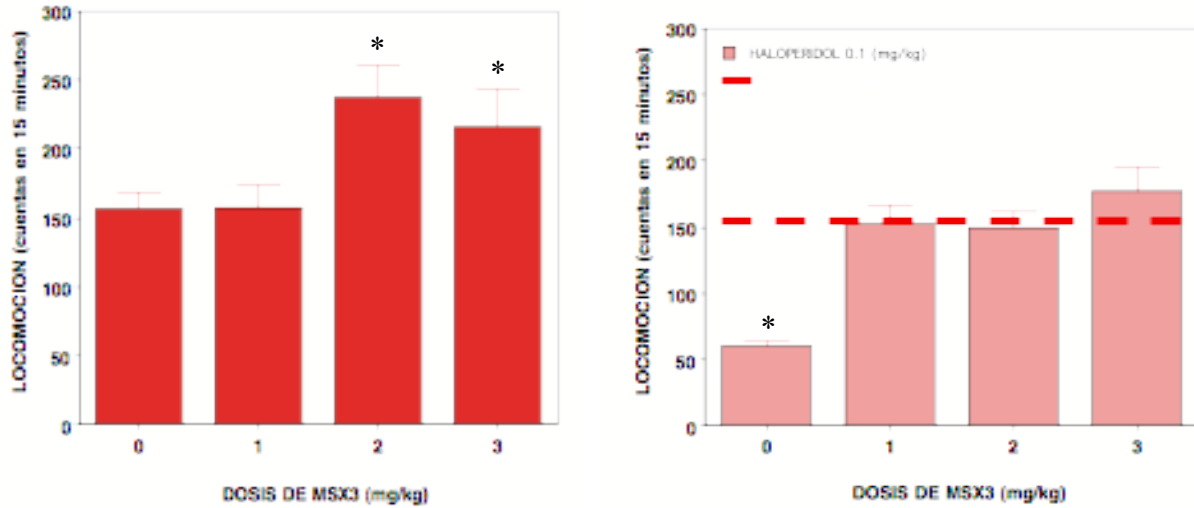


Fig. 2.1 Efecto del antagonista de los receptores de adenosina A2A (MSX-3) en la locomoción espontánea y suprimida por una dosis moderada de haloperidol. Media  $\pm$  ES del número de cruces en 15 minutos. \*  $p < 0,05$ , diferente de control.

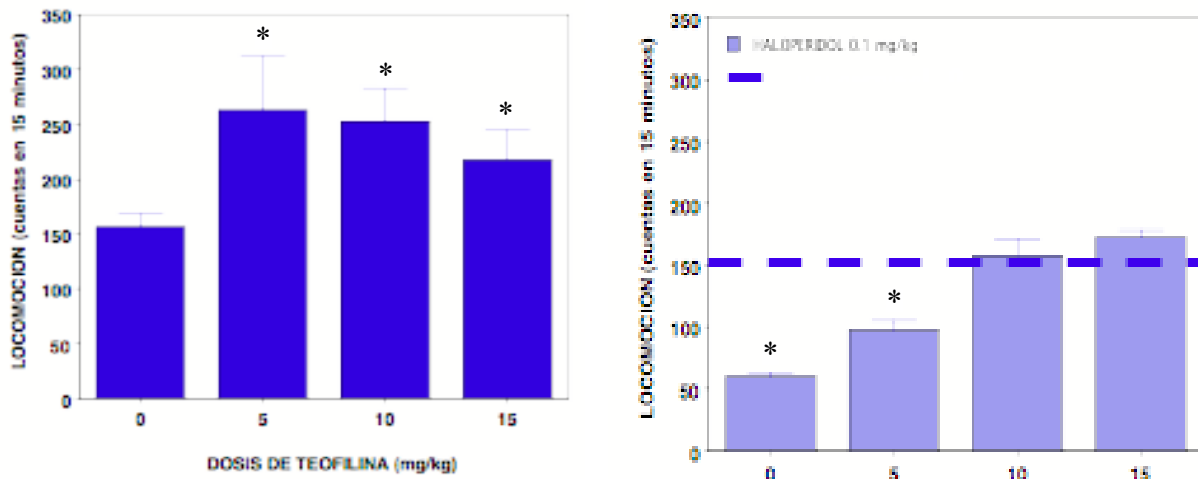


Fig. 2.2. Efecto del antagonista no selectivo de los receptores de adenosina A1/A2A (teofilina) en la locomoción espontánea y suprimida por una dosis moderada de haloperidol. Media  $\pm$  ES del número de cruces en 15 minutos. \*  $p < 0,05$  diferente de control.

**Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

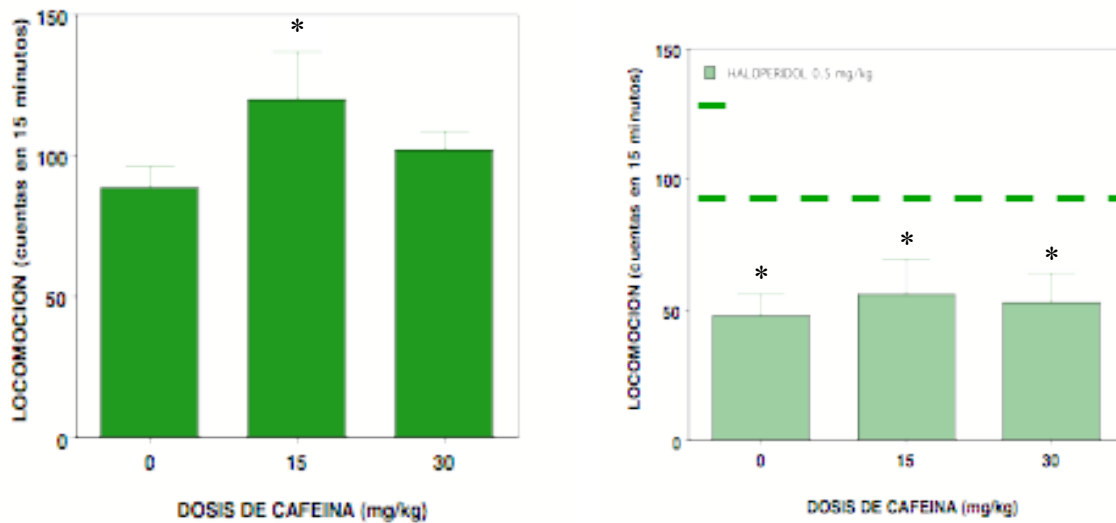


Fig. 2.3. Efecto del antagonista no selectivo de los receptores de adenosina A1/A2A (cafeína) en la locomoción espontánea y suprimida por una dosis alta de haloperidol. Media + ES del número de cruces en 15 minutos. \*  $p < 0.05$ , diferente de control.

## CONCLUSIONES

De la presente serie de experimentos podemos concluir que las dosis moderadas del antagonista dopaminérgico haloperidol tienen un mayor impacto sobre la locomoción en animales viejos. Los animales viejos son más sensibles al deterioro motor producido por el antagonista dopaminérgico posiblemente debido a que su efecto se añade a la pérdida de dopamina estriatal que se producen con la edad. Sin embargo, no se observan diferencias en el deterioro motor a dosis altas entre animales viejos y jóvenes. Posiblemente debido a un efecto “suelo” del haloperidol a estas dosis.

Los antagonistas no selectivos de adenosina (teofilina y cafeína) tienen un efecto estimulante por si mismos y revierten el deterioro motor producido por el haloperidol a dosis moderadas (0.1 mg/kg), pero no a dosis altas (0.5 mg/kg). El antagonista de los receptores de adenosina A2A MSX-3, revierte totalmente los efectos de dosis moderadas de haloperidol a dosis que no resultan estimulantes por si mismas.

Los antagonistas de adenosina, pueden tener un uso terapéutico para compensar el deterioro motor producido por los antipsicóticos a dosis moderadas. Quizá se requiera el uso de antagonistas selectivos de los A2A para optimizar los efectos.



## BIBLIOGRAFIA

- BISHNOI M, CHOPRA K, KULKARNI SK (2007) *Theophylline, adenosine receptor antagonist prevents behavioral, biochemical and neurochemical changes associated with an animal model of tardive dyskinesia. Pharmacol Rep.* 59:181-91.
- CHEN JF, XU K, PETZER JP, STAAL R, XU YH, BEILSTEIN M (2001) *Neuroprotection by caffeine and A(2A) adenosine receptor Inactivation in a model of Parkinson's disease. J Neurosci,* 21:RC143.
- CORREA M, WISNIECKI A, BETZ A, DOBSON DR, O'NEILL MF, O'NEILL MJ, SALAMONE JD (2004): *The adenosine A2A antagonist KFI7837 reverses the locomotor suppression and tremulous jaw movements induced by haloperidol in rats: possible relevance to parkinsonism. Behav Brain Res*148:47–54.
- FERRÉ S, FREDHOLM BB, MORELLI M, POPOLI P, FUXE K. (1997) *Adenosine-dopamine receptor-receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia. Trends Neurosci* 20:482-487.
- FERRÉ S, POPOLI P, GIMÉNEZ-LLORT L, RIMONDINI R, MÜLLER CE, STRÖMBERG I, ÖGREN SO, FUXE K (2001) *Adenosine/dopamine interaction: implications for the treatment of Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord* 7:235-241
- FERRÉ S (2008) *An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. J Neurochem.* 105:1067-79
- FINK JS, WEAVER DR, RIVKEES SA, PETERFREUND RA, POLLACK AE, ADLER EM, REPERT SM (1992) *Molecular cloning of the rat A2A adenosine receptor: selective co-expression with D2 dopamine receptors in rat striatum. Brain Res Mol Brain Res* 14:186–195.
- ISHIWARI K, MADSON LJ, FARRAR AM, MINGOTE SM, VALENTA JP, DIGIANVITTORIO MD, FRANK LE, CORREA M, HOCKEMEYER J, MÜLLER C, SALAMONE JD (2007) *Injections of the selective adenosine A2A antagonist MSX-3 into the nucleus accumbens core attenuate the locomotor suppression induced by haloperidol in rats. Behav Brain Res* 178:190-199.
- JENNER P (2003) *A2A antagonists as novel non-dopaminergic therapy for motor dysfunction in PD. Neurology* 61:S32-8
- JENNER P (2005) *Istradefylline, a novel adenosine A2A receptor antagonist, for the treatment of Parkinson's disease. Expert Opin Investig Drugs* 14:729-38
- MORELLI M, PINNA A (2001) *Interaction between dopamine and adenosine A2A receptors as a basis for the treatment of Parkinson's disease. Neurol Sci.* 22, 71-72.
- PINNA A, WARDAS J, SIMOLA N, MORELLI M (2005) *New therapies for the treatment of Parkinson's disease: adenosine A2A receptor antagonists. Life Sci* 77:3259-67
- SALAMONE JD, ISHIWARI K, BETZ AJ, FARRAR AM, MINGOTE SM, FONT L, HOCKEMEYER J, MÜLLER CE, CORREA M (2008) *Dopamine/adenosine interactions related to locomotion and tremor in animal models: possible relevance to parkinsonism. Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14 Suppl 2:S130-4.

**Deterioros motores producidos por los antipsicóticos típicos en muestras de ratones adultos jóvenes y viejos: Efecto terapéutico de los antagonistas de adenosina cafeína, teofilina y MSX-3.**

- SCHIFFMANN SN, LIBERT F, VASSART G, VANDERHAEGHEN JJ (1991b) *Distribution of adenosine A2 receptor mRNA in the human brain*. Neurosci. Lett 130:177-181.
- SVENNINGSSON P, LE MOINE C, FISONE G, FREDHOLM BB (1999) *Distribution, biochemistry and function of striatal adenosine A2A receptors*. Prog Neurobiol 59:355–396