

BUSPIRONA AUMENTA A DENSIDADE DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS D₂- SÍMILE EM CORPO ESTRIADO DE RATOS

Vera Targino Moreira Lima², Danielle Silveira Macêdo³, Carlos Renato Alves Nogueira¹,
Silvânia Maria Mendes Vasconcelos³, Glauce Socorro de Barros Viana⁴,
Francisca Cléa Florenço de Sousa⁴

RESUMO - Buspirona (busp) é um derivado piperazínico com propriedades ansiolíticas que atua como agonista parcial nos receptores serotoninérgicos (5-HT_{1A}) e que tem afinidade por receptores dopaminérgicos D₂-símile (RD₂). O objetivo desse estudo foi verificar os efeitos da busp nos RD₂ em corpo estriado de ratos. Ratas Wistar, fêmeas (150-200 g) foram tratadas com busp (5 e 10 mg/kg, v.o.) 1 ou 2 vezes por dia durante 7 dias. Controles receberam salina. A densidade dos receptores D₂ foi determinada através de ensaios de *binding* em CE de rato usando [³H]-espiroperidol como radioligante. Nenhuma alteração nos valores de B_{max} e K_d foi observada depois da administração de buspirona uma vez ao dia. Contudo, foi verificado aumento de 55% na densidade dos receptores D₂ após a administração de buspirona 2 vezes por dia sem nenhuma alteração nos valores de K_d. Os resultados mostraram que a busp interage não somente com o sistema serotoninérgico mas também com o sistema dopaminérgico.

PALAVRAS-CHAVE: receptores dopaminérgicos, buspirona, corpo estriado.

Buspirone increases D₂-like dopaminergic receptor density in rat striatum

ABSTRACT - Buspirone (busp) a piperazinyll derivative with anxiolytic properties is a partial agonist on 5-HT_{1A} with affinity for D₂-like dopaminergic receptors (RD₂). The objective of this study was to verify the effects of busp on RD₂. Female Wistar rats 150-200 g were treated with busp (5 and 10 mg/kg, p.o.) 1 or 2 times daily for 7 days. Controls (C) received saline. The density of RD₂ (fmol/mg protein) was determined through binding assays in striatum (ST) using [³H]-spiroperidol as radioligand. No alteration in B_{max} or K_d values were seen after busp administration once a day. However, a RD₂ upregulation of 55 % increase was observed after busp 2 times a day with no change in K_d values. The results showed that busp interact not only with serotonergic, but also with dopaminergic system.

KEY WORDS: dopaminergic receptor, buspirone, striatum.

A buspirona, derivado piperazínico com propriedades ansiolíticas^{1,2}, foi aprovada pela *U.S. Food and Drug Administration* em 1986³. Diferentemente dos benzodiazepínicos que possuem propriedades anti-convulsivantes e miorrelaxantes, a buspirona é considerada droga ansioseletiva por ser desprovida destas ações. Outra importante diferença entre a buspirona e os benzodiazepínicos é a ausência de depressão significativa no sistema nervoso central, em pacientes recebendo doses terapêuticas de buspirona, mesmo na presença de álcool⁴.

A buspirona possui alta afinidade pelos recepto-

res serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{1A}, nos quais pode atuar como agonista parcial⁵. A ação ansiolítica da buspirona parece resultar primariamente da ativação dos autoreceptores 5-HT_{1A} na rafe⁶. A buspirona também se liga aos receptores dopaminérgicos D₂, embora menos avidamente que aos locais de ligação nos receptores 5-HT_{1A}^{2,7}.

O objetivo deste estudo é observar eventuais efeitos do tratamento com buspirona, nas doses de 5 e 10 mg/kg, v.o. administrada 1 ou 2 vezes ao dia sobre o número e afinidade de receptores dopaminérgicos D₂-símile em corpo estriado de rato.

Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza CE, Brazil: ¹Aluno de iniciação científica; ²Mestre em Farmacologia; ³Professor Substituto e Doutorando em Farmacologia; ⁴Professor Adjunto.

Recebido 3 de Abril de 2001, recebido na forma final 22 Agosto 2001. Aceito 18 Setembro 2001.

Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Laboratório de Neurofarmacologia, UFC - Rua Cel. Nunes de Melo 1127 - 60431-270 Fortaleza CE - Brasil. FAX: 85 288 8333. E-mail: clea@ufc.br

MÉTODOS

Ratas Wistar fêmeas (n=6-10), pesando entre 180 e 200 g, provenientes do biotério da Universidade Federal do Ceará, foram tratadas diariamente durante 7 dias com bupirona (5 e 10 mg/kg, v.o.). Esse tratamento foi realizado apenas uma vez ao dia em um dos grupos (8 h da manhã) e, em outro grupo, duas vezes ao dia (8 e 17 h). Os animais controle também foram divididos em dois grupos que receberam solução salina uma ou duas vezes ao dia. Os animais foram decapitados 24 h após a última administração; imediatamente o corpo estriado foi dissecado sobre gelo para preparação de homogenato a 10%.

A densidade de RD₂ foi determinada através de ensaios de *binding* de acordo com o método de Kessler et al.⁸, utilizando o ligante [3H]-espiroperidol (109 Ci/mmol) um antagonista dopaminérgico (RD₂) que tem também afinidade, embora em menor grau, pelos receptores serotoninérgicos de acordo com o método de Kessler et al.⁸ e Meltzer et al.⁹. Para isso, os homogenatos (60-120 µg de proteína) foram incubados em tampão de Tris-HCl (50 µM, pH 7,4), na presença de 10 µM de mianserina (Organon, Brasil) e 5 µM de dopamina para bloquear receptores serotoninérgicos e dopaminérgicos, respectivamente. Em seguida, o ligante [3H]-espiroperidol foi adicionado em concentrações que variavam de 0,102 a 7,14 nM. O volume final do ensaio foi de 0,2 ml. A reação foi incubada em banho maria a 37 °C por 60 min e a reação foi terminada por filtração através de aparelho Whatman GF/B. Os papéis de filtro foram secos em estufa a 60 °C por 2h e posteriormente colocados em tubos de vidro contendo 3 ml de tolueno (Vetec, RJ, Brasil). A radioatividade foi medida em aparelho de cintilação Beckman LS 100, com eficácia de 61,6%. A ligação específica foi calculada como a diferença entre a ligação total e a ligação não específica (feita na presença de 5 µM dopamina). Os resultados foram expressos em femtomoles/mg de proteína. A ligação máxima (Bmax) e a constante de dissociação (Kd) foram calculadas por programa de computador (Instat). A proteína foi determinada através do método de Lowry et al.¹⁰, utilizando soro albumina bovina como padrão.

Para análise estatística foi utilizada análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey como teste *post hoc*. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para $p < 0,05$.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra que a bupirona administrada uma vez ao dia, em ambas as doses (5 e 10 mg/kg) não alterou significativamente os valores de Bmax [F(8) = 1,030; $p = 0,4126$] e Kd [F(8) = 1,054; $p = 0,4052$] do *binding* do [3H]-espiroperidol.

Quando os animais foram tratados duas vezes ao dia (Tabela 2), a bupirona produziu aumento na densidade máxima dos RD₂ [F(9) = 9,474; $p = 0,0102$] na dose de 5 (57 %) e 10 mg/kg (52 %), quando comparada ao grupo controle. Não houve, entretanto,

Tabela 1. Efeitos da administração de bupirona uma vez ao dia sobre a densidade máxima de receptores (Bmax) e valores de Kd dos receptores dopaminérgicos D₂-símile em corpo estriado de ratos

Grupos	Bmax	Kd
Controle	280,4 ± 4,04 (3)	2,06 ± 0,02 (3)
Busp 5 mg/kg	282,3 ± 25,4 (3)	1,92 ± 0,43 (3)
Busp 10 mg/kg	252,2 ± 12,9 (3)	1,42 ± 0,37 (3)

Os valores representam média ± EPM do número de experimentos em parênteses. Os animais (6-10 por grupo) foram tratados diariamente uma vez ao dia com bupirona (5 ou 10 mg/kg, vo) durante 7 dias e sacrificados 24 h após a última administração.

Tabela 2. Efeitos da administração de bupirona duas vezes ao dia sobre a densidade (Bmax) e valores de Kd dos receptores dopaminérgicos D₂-símile em corpo estriado de ratos.

Grupos	Bmax	Kd
Controle	377,6 ± 14,6 (4)	5,15 ± 0,23 (4)
Busp 5 mg/kg	593,4 ± 64,5 (3)*	5,02 ± 0,35 (3)
Busp 10 mg/kg	574,5 ± 41,7 (3)*	7,19 ± 1,08 (3)

Os valores representam média + EPM do número de experimentos em parênteses. Os animais (6-10 por grupo) foram tratados diariamente, duas vezes ao dia, com bupirona (5 ou 10 mg/kg, vo) durante 7 dias e sacrificados 24 h após a última administração. * $p < 0,05$, controle vs. bupirona (ANOVA e teste de Tukey *post hoc*)

alteração nos valores de Kd [F(9) = 3,870; $p = 0,0738$] em nenhuma das doses estudadas.

DISCUSSÃO

Estudos anteriores demonstraram que a bupirona é extensivamente metabolizada, com menos de 1% da dose excretada de forma inalterada^{2,11}. A sua eliminação é de 1,7 L/h/kg e a vida média ($t_{1/2}$) em torno de 2,5 horas¹². No presente estudo observamos que não houve alteração na densidade dos receptores dopaminérgicos D₂-símile quando os animais foram tratados uma vez ao dia. Isto ocorreu provavelmente devido ao extenso metabolismo da droga, acompanhado de sua rápida eliminação do organismo. No entanto, quando os animais foram tratados 2 vezes ao dia, houve aumento na densidade destes receptores ou seja, ocorreu uma *up-regulation*, sugerindo provavelmente atividade antagonista da bupirona em receptores D₂-símile. Estes dados corroboram resultados anteriores obtidos em experimentos de *binding*, estudos comportamentais e ensaios neuroquímicos nos quais a bupirona mostrou propriedades tanto agonista quanto antagonista dopaminérgicas¹³. Similarmente, Wo-

od et al.¹⁴ dosando os metabólitos da DA, evidenciaram que a buspirona produz potente elevação dose-dependente destes metabólitos, porém de curta duração.

Existem dados que sugerem que a buspirona não promove supersensibilidade dopaminérgica. Estudos realizados por Young et al.¹⁵ mostraram que a densidade dos receptores D₂ não foi alterada após cinco dias de suspensão do tratamento com a buspirona. Entretanto, nesse trabalho, os autores trataram os animais por 28 dias e os sacrificaram 5 dias após o último tratamento, diferindo do nosso, em que os animais foram tratados por 7 dias e sacrificados 24 h após a última administração da droga. Estes dados discordantes sugerem que a buspirona pode apresentar efeitos diferentes nos receptores dopaminérgicos dependendo da duração do tratamento e do período de suspensão da droga.

Queiroz e Fraussa¹⁶, após administração aguda de buspirona, mostraram diminuição da estereotipia induzida pela apomorfina, sugerindo ter a buspirona capacidade de bloquear os receptores dopaminérgicos pós-sinápticos, mostrando portanto antagonismo. Em experimentos realizados no campo aberto com ratos, neste mesmo trabalho observou-se, após administração aguda de buspirona, diminuição tanto na locomoção como na frequência de *rearing*. Entretanto, após o tratamento a longo prazo (30 dias), não foi observada nenhuma alteração desses parâmetros. Estes efeitos poderiam em parte ser explicados devido ao bloqueio preferencial da buspirona pelos receptores dopaminérgicos pré-sinápticos¹⁷, sugerindo que, durante o tratamento a longo prazo, a atividade antagonista da buspirona sobre os receptores dopaminérgicos pré-sinápticos levaria a liberação de grande quantidade de dopamina, a qual atenuaria o fraco bloqueio dos receptores pós-sinápticos, não desenvolvendo, portanto, a supersensibilidade dopaminérgica. Esses resultados foram corroborados por Protais et al.¹⁸, segundo os quais o pré-tratamento com buspirona antagonizou o *sniffing* induzido pela apomorfina, desde que *sniffing* resulta preferencialmente da estimulação dos receptores D₂¹⁹.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a buspirona, uma droga serotoninérgica, causou *up-regulation* dos receptores dopaminérgicos D₂-símile, indicativa de atividade antagonista D₂. Esses dados sugerem a ocorrência de interação entre os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico.

REFERÊNCIAS

- Garattini S. Neurochemical profile of buspirone. In Tunnicliff G, Eison A, Taylor D (eds.). Buspirone mechanism and clinical aspects. San Diego: Academic Press, 1989:47-63.
- Garattini S, Caccia S, Mennini T. Notes on buspirone's mechanism of action. J Clin Psychiatry 1982;43:19-22.
- Tunnicliff G. Molecular basis of buspirone's anxiolytic action. Pharmacol Toxicol 1991;69:149-156.
- Tunnicliff G, Eison AS. Clinical pharmacology of buspirone action. In Tunnicliff G, Eison AS, Taylor DP (eds). Buspirone: mechanisms and clinical aspects. San Diego: Academic Press, 1991:19-34.
- Tunnicliff G, Brokaw JJ, Hausz JA, Matheson GK, White GW. Influence of repeated treatment with buspirone on central 5-hydroxytryptamine and dopamine synthesis. Neuropharmacology 1992;31:991-995.
- Meller E, Goldstein M, Bohmker K. Receptor reserve for 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of serotonin synthesis: possible relationship to anxiolytic properties of 5-hydroxytryptamine_{1A} agonist. Molec Pharmacol 1990;37:231-237.
- Riblet LA, Taylor DP, Eison MS, Stanton HC. Pharmacology and neurochemistry of buspirone. J Clin Psychiatry 1982;43:11-16.
- Kessler RM, Ansari MS, Schmidt DE, et al. High affinity dopamine D₂ receptors. Life Sci 1991;49:617-628.
- Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D₁- and D₂- and serotonin pki values. J Pharmacol Exp Ther 1989;251:238-246.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193:265-275.
- Mahmood I, Sahajwalla C. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of buspirone, an anxiolytic drug. Clin Pharmacokinet 1999; 36:227-287.
- Mayol RF, Adamson DS, Gammans RE, et al. Pharmacokinetics and disposition of 14C-buspirona HCl after intravenous and oral dosing in man. Clin Pharmacol Ther 1985;37:210-215.
- Temple DL, Yevich JP, New JS. Buspirone: chemical profile of a new class of anxiolytic agents. J Clin Psychiatry 1982;43:4-10.
- Wood PL, Nair NPV, Lal S, Etienne P. Buspirone: a potential atypical neuroleptic. Life Sci 1983;33:269-273.
- Young KA, Zavodny R, Hicks PB. Subchronic buspirone, mesulergine, and ICS 205-930 lack effects on D₁ and D₂ dopamine binding in the rat striatum during chronic haloperidol treatment. J Neural Transm 1991;86:223-228.
- Queiroz CMT, Frussa-Filho R. Effects of buspirone on dopaminergic supersensitivity. Life Sci 1997;61:371-382.
- McMillen BA, Matthews RT, Sanghera MK, Shepard PD, German DC. Dopamine receptor antagonism by the novel anti-anxiety drug, buspirone. J Neurosci 1983;3:733-738.
- Protais P, Lesourd M, Comoy E. Similar pharmacological properties of 8-OH-DPAT and alnespirone (S 20499) at dopamine receptors: comparison with buspirone. Eur J Pharmacol 1998;352:179-187.
- Vasse M, Chagraoui A, Protais P. Climbing and stereotyped behaviours in mice require the stimulation of D1 dopamine receptors. Eur J Pharmacol 1988;148:221-229.