

11205

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA  
Instituto Nacional de Cardiología

5  
2ej

ALTERNATIVA CARDIOPROTECTORA CON LA CLOROPROMAZINA EN LAS ALTERACIONES ESTRUCTURALES DE LA MEMBRANA EN MITOCONDRIAS DE CORAZON. RESPUESTA A LA INTOXICACION POR PLOMO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGIA  
PRESENTA EL DOCTOR

RAFAEL IGNACIO CASTAÑO HINCAPIE

Director del Curso: Dr. Ignacio Chávez Rivera  
Subdirector de Enseñanza: Dr. Faulse Attié  
Director de Tesis: Dr. Edmundo Chávez Cossío



INSTITUTO NACIONAL DE  
CARDIOLOGIA  
IGNACIO CHAVEZ

México, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

NOTA DE ACEPTACION

-----

-----



-----  
Dr. Edmundo Chávez Cossio.  
Asesor de Tesis



-----  
Dr. Fausto Altie.  
Subdirector de Enseñanza

Ciudad y Fecha.

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	Pág. 1
2. MATERIALES Y METODOS	4
3. RESULTADOS	6
4. DISCUSION	9
BIBLIOGRAFIA	19

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Efecto de la CPZ sobre la inhibición inducida por $Pb^{2+}$ de la oxidación de succinato.	14
FIGURA 2. El efecto de la CPZ sobre la liberación de $Ca^{2+}$ inducido por $Pb^{2+}$ .	15
FIGURA 3. El efecto del incremento de la CPZ sobre la concentración de $Ca^{2+}$ en mitocondrias tratadas con $Pb^{2+}$ .	16
FIGURA 4. Efecto de la CPZ sobre la acción del $Pb^{2+}$ en el potencial de membrana.	17
FIGURA 5. El efecto protector de la CPZ sobre el hinchamiento mitocondrial inducido por $Pb^{2+}$ .	18

## RESUMEN

Experimentalmente se indujo daño en mitocondrias de corazón de rata con la administración de diferentes concentraciones de  $Pb^{2+}$ , semejando las alteraciones encontradas en la isquemia miocárdica, con aumento en la permeabilidad al  $Ca^{2+}$ . Se valoró su efecto en la respiración mitocondrial (oxidación de succinato), liberación de  $Ca^{2+}$ , potencial de membrana e hinchamiento mitocondrial. Al adicionar  $Pb^{2+}$ , la clorpromazina disminuyó el consumo de Oxígeno, inhibió la entrada de  $Ca^{2+}$  y reestableció la capacidad de la mitocondria para acumular este ión, relacionado a su vez con la efectividad de generar un potencial transmembranal adecuado y retardar la velocidad de desenergización. Igualmente la clorpromazina preservó de una manera efectiva los cambios en el volumen inducidos por la adición de  $Pb^{2+}$ .

Existen varios interrogantes del mecanismo por el cual actúan las fenotiazinas y otras drogas similares, en

trabajos previos se ha planteado su acción en la estabilización de los grupos tioles, inhibición de las fosfolipasas y en especial la fosfolipasa A2 dependiente de  $Ca^{2+}$ , impidiendo la degradación acelerada de fosfolípidos, en especial de la fosfatidil-etanolamina y la fosfatidil-colina. Luego, la inserción de CP2 entre las capas lipídicas de la membrana interna podría inducir modificaciones estructurales que se traducirían en una disminución en la permeabilidad inespecífica a cationes, la estabilización celular, previniendo la isquemia y con efectos antiarrítmicos, similares a los del Tipo I.

### 1. INTRODUCCION

A pesar de los adelantos en la ciencia médica, la cardiopatía isquémica representa un serio problema mundial de salud pública. No obstante el desarrollo de técnicas intervencionistas utilizadas para su diagnóstico y tratamiento, es una causa de mortalidad importante.

Existen patrones raciales, socioculturales y diversos que favorecen el desarrollo de la cardiopatía aterosclerosa, considerada como el principal desencadenador del evento isquémico. Otras causas de enfermedad isquémica sin compromiso ateromatoso de vasos epicárdicos, ocupan un bajo porcentaje y obedecen en su gran mayoría a otras patologías de base.

Existen diversas maneras de preservar el miocardio ante un evento isquémico, como la cirugía temprana (1), la angioplastia (2), la trombolisis (3,4,5,6), los antioxidantes (7) y el uso de medicamentos tales como

-----  
Algunos de los resultados aquí presentados fueron publicados en Comp. Biochem. Physiol. 1991.



los vasodilatadores (8), los betabloqueadores (9) y los anticoagulantes, entre otros (4). Sin embargo, existen otras formas de preservarlo, haciendo que el miocardio sometido a una noxa isquémica resista durante un mayor periodo de tiempo. Es así, como los derivados de las fenotiazinas y en especial la clorpromazina han aportado una manera más de tratamiento en la cardiopatía isquémica (10,11,12,).

La clorpromazina (CPZ) es una droga derivada de las fenotiazinas que posee una amplia actividad biológica, incluyendo efectos sedantes, antieméticos y propiedades vasodilatadoras periféricas (13). La acción protectora de la CPZ, en una gran variedad de noxas celulares ha sido muy bien documentada, como ejemplo está el amplio efecto protector de las membranas celulares en hígado de rata durante los episodios de anoxia aguda (14). Dentro de este contexto Born y Foster (10) sugirieron que las fenotiazinas podrían tener un efecto benéfico durante el infarto del miocardio, protegiendo las mitocondrias en contra de los efectos delétereos de la hipoxia. In Vivo, el pretratamiento con CPZ, un potente inhibidor de las fosfolipasas, disminuyó la extensión del daño celular redujo la hidrólisis de fosfolípidos, la permeabilidad al  $Ca^{2+}$  y conservó la integridad de la membrana (13).

Es conocido que el plomo ( $Pb^{2+}$ ) tiene efectos tóxicos celulares, en especial sobre el metabolismo y la viabilidad celular, alterando la distribución y la permeabilidad al  $Ca^{2+}$  intracelular y mitocondrial (15). Es así, como el  $Pb^{2+}$  simula los efectos inducidos por la isquemia alterando la biodisponibilidad del  $Ca^{2+}$ , llevando gradualmente a la muerte celular.

Es conocido que el  $Pb^{2+}$  agregado in vitro a los sistemas biológicos inhibe el transporte de  $Ca^{2+}$  en mitocondrias aisladas de cerebro y corazón, y en células de cerebro e hígado (16). La acumulación de  $Ca^{2+}$  mitocondrial dependiente de energía es inhibida marcadamente por el  $Pb^{2+}$ , siendo el corazón el principal órgano dañado por los efectos plumbotóxicos (16).

En este trabajo investigamos la capacidad de la CPZ para proteger a las mitocondrias de corazón sometidas a una intoxicación por  $Pb^{2+}$  utilizando concentraciones diferentes de la droga. Se valoró su efecto en la respiración mitocondrial (oxidación de succinato), liberación de  $Ca^{2+}$ , potencial de membrana e hinchamiento mitocondrial.

## 2. MATERIALES Y METODOS

Se obtuvieron corazones de rata, los cuales fueron homogeneizados en sacarosa 0,25 M, 1mM de EDTA en una proporción de 20 Vol/gr de tejido. El homogenado se centrifugó a 800 g/10 min., se tomó el sobrenadante y se centrifugó a 8000 g por 10 minutos. Se descartó el sobrenadante, dejando en el precipitado la fracción mitocondrial, la que se suspendió en su volumen original para su lavado y se centrifugó nuevamente 10 minutos a 8000 g. El precipitado con la fracción mitocondrial se resuspendió en sacarosa 0,25 M y se determinó la proteína por el método de Lowry (17). La respiración mitocondrial fué valorada polarográficamente con un electrodo de tipo Clark. El transporte de  $Ca^{2+}$  fue medido espectrofotométricamente a 685-675 nm, con el uso de Arsenazo III (18). Alternativamente el transporte de  $Ca^{2+}$  fue investigado con el uso de  $^{45}Ca^{2+}$  (act. esp 1000 cpm/nmol). Los cambios en el potencial transmembranal fueron evaluados por un espectroscopio de doble longitud de onda a 533-511 nm (19). El hinchamiento mitocondrial

fué estimado por cambios en la densidad óptica a 540 nm. Las proteínas fueron determinadas por el método de Lowry et al. (17). La cloropromazina fué entregada por el Q. José Guardiola de los laboratorios Rhone-Poulenc Pharma de México.

### 3. RESULTADOS

El efecto de la CPZ sobre la oxidación de succinato es mostrado en la Fig. 1. Como se observa, el consumo de oxígeno fue progresivamente deprimido de 83 a 68 nA O/min/mg cuando concentraciones cada vez mayores de Pb2+ fueron agregadas.

La adición de CPZ a las mitocondrias tratadas previamente con plomo no produjo protección, pero si un ligero aumento en el efecto inhibitorio del Pb2+.

Al adicionar 20 uM Pb2+, la CPZ disminuyó el consumo de oxígeno de 68 a 42 nA O/min/mg. Estos resultados podrían estar de acuerdo con el efecto inhibitorio reportado de la CPZ sobre la oxidación de succinato (20).

El efecto protector de la CPZ sobre la inhibición de la entrada de Ca2+ se ilustra en la Fig. 2. De acuerdo con los reportes previos (15,16), la adición de 10 uM Pb2+ a la mezcla inhibe casi completamente la acumulación de Ca2+ en las mitocondrias de corazón. Sin embargo, la adición de 50 uM de CPZ a las mitocondrias tratadas con 10 uM de Pb2+ reestableció la capacidad de estos organelos para

acumular  $\text{Ca}^{2+}$ . De manera interesante, la cloropromazina por sí misma incrementó la acumulación de  $\text{Ca}^{2+}$  en las mitocondrias control.

Con el fin de cuantificar el efecto protector de la CPZ sobre la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  inducida por  $\text{Pb}^{2+}$ , se realizó un experimento usando  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ . La Fig. 3 indica que conforme es incrementada la concentración de CPZ, la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  inducida por  $10 \mu\text{M}$  de  $\text{Pb}^{2+}$  fue inhibida. Esto demuestra la máxima protección obtenida con  $20 \mu\text{M}$  de CPZ.

Esta bien documentado que la habilidad de las mitocondrias para acumular altas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  se relaciona con su capacidad para generar un potencial transmembranal (21,22). Fue explorado el efecto de la CPZ en el abatimiento del potencial de membrana con la adición de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$ . En la Fig. 4-A se demuestra la eficiencia de las mitocondrias control(C) para construir un potencial de membrana, debido a la oxidación de succinato

Se obtuvo un nivel alto en el potencial de membrana, el cual empezó gradualmente a caer debido al  $\text{Ca}^{2+}$  liberado, al menos que  $50 \mu\text{M}$  de CPZ fueron agregados. Cuando la CPZ fue agregada al medio de incubación, las mitocondrias rápidamente alcanzaron un alto nivel en el

potencial de membrana. La Fig. 4-B describe que cuando 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Pb}^{2+}$  fue agregado a la mezcla en adición al  $\text{Ca}^{2+}$ , la mitocondria forma un potencial de membrana transitorio pero vuelve rápidamente a desenergizarse. En estas condiciones, la CPZ a 50  $\mu\text{M}$  induce un aumento en el nivel del potencial de membrana y retarda la velocidad de desenergización.

Es conocido que el  $\text{Pb}^{2+}$  produce un efecto delétere en la membrana interna mitocondrial, que resulta en un hinchamiento de los orgánulos (23). Se exploró la eficiencia de la CPZ en proteger las mitocondrias de tal efecto. La Fig. 5 demuestra que la adición de 50  $\mu\text{M}$  de CPZ preservó de una manera efectiva los cambios en el volumen inducidos por la adición de 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Pb}^{2+}$ .

#### 4. DISCUSION

En un trabajo previo, publicado por Chávez et al. se discutió como el  $Pb^{2+}$  induce liberación del  $Ca^{2+}$  mitocondrial por bloqueo de los grupos SH (15). El presente estudio, establece que la Cloropromazina a una concentración de 50  $\mu M$  evita el daño mitocondrial provocado por 10  $\mu M$  de  $Pb^{2+}$ . Dado que la CPZ no ha sido reconocida como un agente protector que reaccione con los grupos tioles, su efecto benéfico debe ser atribuido a otro mecanismo. La CPZ ha demostrado previamente su efecto protector sobre los hepatocitos en el daño isquémico por inhibición de las fosfolipasas celulares (13). El mecanismo aparente por el cual muchos grupos sulfhidrilos inducen liberación de  $Ca^{2+}$  es a través de la activación de fosfolipasa A2 (24) dependiente de  $Ca^{2+}$ . Sin embargo, es probable que el mecanismo propuesto por el cual la CPZ previene del daño mitocondrial inducido por el  $Pb^{2+}$ , podría ser a través de una acción inhibitoria de la Fosfolipasa A2.

El mecanismo exacto de la CPZ para prevenir daño celular



es desconocido, así como diferentes sitios potenciales han sido sugeridos. El efecto de la CPZ está asociado a la disminución de los iones de  $Ca^{2+}$  mitocondrial y celular. La pérdida de la habilidad de las biomembranas para regular el calcio intracelular ha sido considerada como la función crítica alterada durante el daño irreversible (25).

Un estudio presentado por Chien et al. (13) demostró la degradación importante de fosfolípidos de membrana en asociación con isquemia prolongada en hepatocitos, que llegó a ser del 40 al 50 % transcurridos 3 horas del evento y como las células miocárdicas reaccionan de una manera similar a las células hepáticas con la degradación acelerada de fosfolípidos, en especial de la fosfatidiletanolamina y la fosfatidil-colina. Esta disfunción membranar puede ser prevenida con la CPZ.

No obstante, nosotros no podemos excluir que la CPZ es una droga hidrofóbica y ha sido establecido que moléculas lipofílicas como los anestésicos locales, a través de su absorción dentro de la matriz lipídica estabilizan las membranas en contra de muchos efectos delétereos (26,27). Luego, la inserción de CPZ entre las capas lipídicas de la membrana interna podría inducir las modificaciones estructurales, que se traduciría en una disminución en la permeabilidad inespecífica a cationes. Este mecanismo anterior podría explicar como la CPZ puede

prevenir la activación plaquetaria in vitro, estabilizando las células rojas e inhibiendo el factor por el cual activan las plaquetas para su efecto trombogénico como es el ADP liberado por los eritrocitos, los cuales están expuestos a una excesiva tensión hemodinámica en el sitio de la hemorragia ocurrida por una fisuración de una placa aterosclerótica, por lo tanto, un efecto antihemolítico podría contrarrestar el efecto activador de plaquetas (10). Esto ha llevado a pensar que otras drogas que poseen este efecto de la CPZ podrían disminuir la incidencia de trombosis arterial coronaria, cuando ésta es inducida por circunstancias de anormalidad sobre las células rojas, tales como la hemorragia a través de una placa ateromatosa.

Las fenotiazinas tienen múltiples efectos sobre la función y estructura de membrana y está bien establecido que producen un bloqueo de los flujos del ión  $Ca^{2+}$  en el sistema nervioso, médula renal y preparaciones musculares. Esta acción es revertida por altas concentraciones de calcio (14,27).

Obviamente, la reducción del calcio en el tejido podría ser simplemente el efecto protector de la droga. Por otro lado, si la droga tiene un efecto bloqueador de la entrada de calcio dentro de las células, un nivel reducido podría alargar la viabilidad de las mismas (23), es así como en

la Fig. 4-A al administrar CPZ en presencia de calcio luego de establecido un potencial de membrana, éste se reestablece a valores superiores.

En un estudio previo, Chien et al. (14) demostraron cómo el efecto de la CPZ no parece ser el enlentecimiento o retardo en el proceso que lleva finalmente a la muerte celular, ya que hubo evidencia de una disminución en la necrosis celular hepática a las 48 horas de ischemia intencionada seguido de reperfusión 3 horas más tarde, tiempo en el cual ha desaparecido la evidencia clínica del pretratamiento con CPZ.

La clorpromazina y otras fenotiazinas tienen propiedades antiarrítmicas similares a la quinidina, deprimiendo el potencial de acción, la velocidad máxima de ascenso de la fase 0 del potencial de acción, disminución en la duración y amplitud de la fase 2 y prolongación de la fase 3, indicando una disminución en la respuesta de membrana (29). Ha sido reportado (30), que los medicamentos psicotrópicos tienen efectos adversos sobre el sistema cardiovascular, tales como la inducción de cambios anormales en el ECG y el desarrollo de arritmias, que están relacionados con alteraciones morfológicas en las mitocondrias y podrían derivar en algún tipo de arritmia y fibrilación ventricular por la prolongación del período vulnerable de los ventrículos como mecanismo electrofisiológico, también

atribuido a los demás medicamentos con propiedades antiarrítmicas (11).

Finalmente, la alterada distribución del  $Ca^{2+}$  celular es uno de los efectos plumbotóxicos y de la isquemia conocidos (16). La activación o inhibición de la proteinquinasa podría depender de alguna estructura de la bicapa lipídica y en presencia de varias drogas que interactúan con los fosfolípidos se puede conferir una profunda modificación en la interacción específica de proteínas y lípidos hidrofóbicos, llevando en último término al efecto cardioprotector intensamente buscado (31).

Efecto de CPZ sobre la inhibición inducida por  $Pb^{2+}$  de la oxidación de succinato

---

### ADICIONES

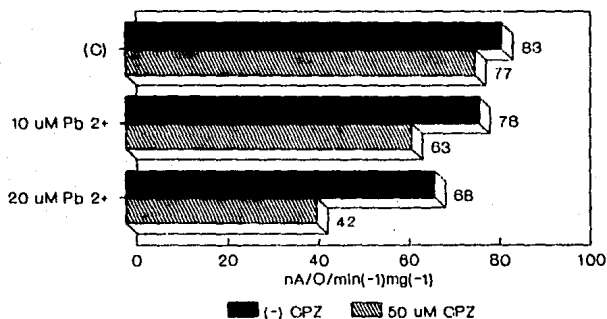


FIGURA 1

2 mg de proteína de mitocondria fueron incubados en 3.5 ml de un medio conteniendo 250 mM de sacarosa; 10 mM de succinato; 10 mM de HEPES, y 10 ug de rotenona. El medio fue ajustado a pH 7,3 con KOH. Las concentraciones indicadas de  $Pb^{2+}$  y CPZ fueron agregadas. La temperatura fue de 25°C.

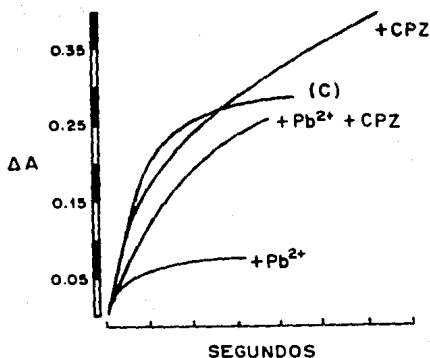


FIGURA 2

El efecto de la CPZ sobre la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial el cual fue inducido por  $\text{Pb}^{2+}$ . 2  $\mu\text{g}$  de proteína mitocondrial (M) fue agregado a un medio similar al descrito en la FIGURA 1. El medio contenía además 50  $\mu\text{M}$   $\text{CaCl}_2$ ; 200  $\mu\text{M}$  ADP; 5  $\mu\text{g}$  de oligomicina; 50  $\mu\text{M}$  de Arsenazo III, y donde se indica 50  $\mu\text{M}$  de clorpromazina (CPZ) y 10  $\mu\text{M}$  de  $\text{Pb}^{2+}$ . El volumen final fue de 3 ml. La temperatura a 25  $^{\circ}\text{C}$ .

El efecto del incremento de la de CPZ sobre la concentración de  $Ca^{2+}$  en mitocondrias tratadas con  $Pb^{2+}$ .

### ADICIONES

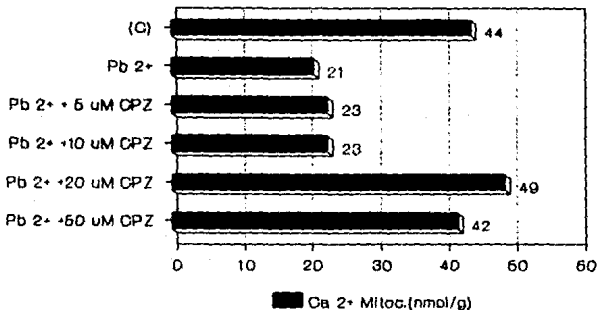


FIGURA 3

2 mg de proteína de mitocondria fueron incubados esencialmente como se describe en la FIGURA 1, excepto que el Arsenazo III no fue agregado y el  $^{45}CaCl_2$  fue utilizado. Después de 3 minutos de tiempo de incubación las alícuotas de 0.2 ml fueron retiradas y filtradas a través de filtros Millipor de 0.45  $\mu m$  de tamaño del poro. La radioactividad retenida en los filtros fue medida en un espectrómetro de centelleo de líquido. Donde se indicó 10  $\mu M$  de  $Pb^{2+}$ , éste fue agregado.

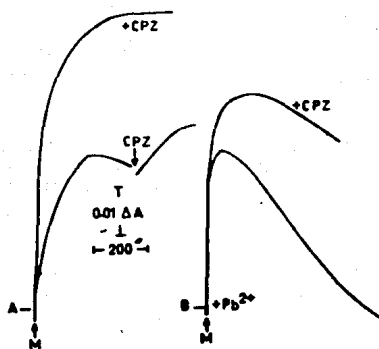


FIGURA 4

Efecto de la CPZ sobre la acción del  $Pb^{2+}$  en el potencial de membrana. 2  $\mu g$  de proteína (M) fueron incubados en condiciones similares a las descritas para la FIGURA 1, excepto que el medio contenía 10  $\mu M$  de safranina en vez de Arsenazo III. Donde está indicado, 10  $\mu M$  de  $Pb^{2+}$  y 50  $\mu M$  de CPZ fueron agregados.



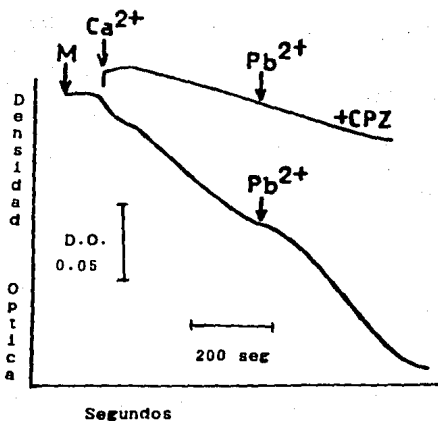


FIGURA 5

El efecto protector de la CPZ sobre el hinchamiento mitocondrial inducido por Pb<sup>2+</sup>. La mitocondria (M), 2 mg de proteína fueron incubados de manera similar a la FIGURA 1, excepto que el Arsenazo III no fue agregado. Donde está indicado 50 uM CaCl<sub>2</sub>; 50 uM CPZ y 10 uM de Pb<sup>2+</sup> fueron agregados.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

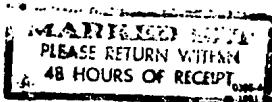
19

#### BIBLIOGRAFIA

1. CONSTANTINI C. CORDAY E. LANG T. MEERBAU S. Revascularization after 3 hours of coronary arterial occlusion: Effects on regional cardiac metabolic function and infarct size. *Am J Cardiol.* 1975; 36: 368-384.
2. MEYER J. MERX W. SCHMITZ. Percutaneous transluminal coronary angioplasty immediately after intracoronary streptolysis of transmural myocardial infarction. *Circulation.* 1982; 6:905-913.
3. BRAUNWALD E. KNATTERUD G.L. PASSAMMANI E.P. ROBERTSON T.L. Announcement of critical change in thrombolysis in myocardial infarction trial. *J Am Coll Cardiol.* 1987; 9:467.
4. GUNNAR et al ACC/AHA TASK FORCE REPORT. *JACC.* 1990;16: 249-292.
5. SOBEL B.E. Coronary thrombolysis and the new biology. *J Am Coll Cardiol.* 1989;14:850-860.
6. BRAUNWALD E. Thrombolytic reperfusion of acute myocardial infarction: Resolved and unresolved issues. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:65A-92A.
7. BOLLI R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("Stunned myocardium"). *J Am Coll Cardiol.* 1988; 12:239-49.
8. BADGER R.S. BROWN B.G. GALLERY C.A. BOLSON E.L. DOGGE HT. Dilatación arterial coronaria y respuestas hemodinámicas luego de terapia con dinitrato de isosorbide en pacientes con enfermedad arterial coronaria. *Am J Cardiol.* 1985; 56:390-395.
9. BOYLE D.M. BARBER J.M. MCELLMOYLE E.L. Effect of very early intervention with metoprolol on myocardial infarct size. *Br Heart J.* 1993; 49:229-232

10. BORN G.V. Possible role for chlorpromazine in protection against myocardial infarction. *Lancet*. 1973; 1: 822.
11. ARLOCK P. GULBERG B. OLSSON. Cardiac Electrophysiology of four neuroleptics: Melperone, Haloperidol, Thioridazine and chlorpromazine. *R Arch Pharmacol*. 1978; 304:27-36.
12. CASTANO R. CULEBRAS C. CHAVEZ E. Protective role of chlorpromazine on lead-induced damage to heart mitochondria. *Comp Biochem Physiol*. 1991; CBPC-392.
13. CHIEN K.R. ABRAMS J. SERRANI A. MATIN. J. FARBER. J.L. Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible ischemic liver cell injury. *J Biol Chem*. 1978; 253:4809-4817.
14. CHIEN K.R. ABRAMS J. PFAU R.G. FARBER J.L. Prevention of chlorpromazine of ischemic liver cell death. *Am J Pathol*. 1977; 88:539-558.
15. CHAVEZ E. JAY D. BRAVO C. The mechanism of lead induced mitochondrial  $Ca^{2+}$  efflux. *J Bioenerg Biomembr*. 1987; 19:285-295.
16. KAPOOR S.C. VAN ROSSUM D.V. Effects of  $Pb^{2+}$  added in vitro on  $Ca^{2+}$  movements in isolated mitochondria and slices of rat kidney cortex. *Biochem Pharm*. 1984; 33:1771-1778.
17. LOWRY D.H. ROSEBROUGH N.J. FARR A.L. RANDALL R. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 14:425-449.
18. KENDRICK N.C. Purification of arsenazo III, a  $Ca^{2+}$ -sensitive dye. *Anal Biochem*. 1976; 76:487-501.
19. AKERMAN K.E. and WIKSTROM H.F.K. Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential. *FEBS Lett*. 1976; 68:191-197.
20. SUGIYAMA S. OZAWA T. *J Heart J*. 20:657-665. 1979
21. CHAVEZ E. JAY D. Control of mitochondria  $Ca^{2+}$  efflux by ADP-stimulated glutamic dehydrogenase *J Bioenerg Biomembr* 1987; 19:571-580.

22. TONINELLO A. SILIPRANDI D. AILIPRANDI N. On the mechanism by which  $Mg^{2+}$  and adenine nucleotides restore membrane potential in rat liver mitochondria deenergized by  $Ca^{2+}$  and phosphate. *Biochem Biophys Res Commun.* 111:792-797. 1983.
23. SCOTT K.M. HWANG K.M. JURKOWITZ M. BRIERLEY G.P. Ion transport by heart mitochondria. XIII-The effects of lead on mitochondrial reactions. *Archs Biochem Biophys.* 1971; 147:557-567.
24. BEATRICE M.C. PALMER J.W. PFEIFFER D.R. The relationship between mitochondrial membrane permeability, membrane potential, and the retention of  $Ca^{2+}$  by mitochondria. *J Biol Chem.* 1980; 255:8663-8671.
25. FARBER J.L. CHIEN K.R. MITTNACHT S. The pathogenesis of irreversible cell injury in ischemia. *Am J Pathol.* 1981; 102:271-281.
26. AZZI A. SCARPA A. Inhibition of  $K^{+}$  transport in liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta.* 1967;1087-1088.
27. JUDAH J.D. MC LEAN A.E.M. AHMED K. CRISTIE G.S. Ion transport by heart mitochondria. Retention and loss of energy coupling in aged heart mitochondria. *Biochem Biophys Acta.* 1985; 94:441-451
28. CHIEN K.R. PFAU R. FARBER J. Ischemic Myocardial cell injury. *Am J Pathol.* 1979; 97:505-530.
29. FOWLER N. MCCALL D. CHOU T. HOLMES J. Electrocardiographic changes and cardiac arrhythmias in patients receiving psychotropic drugs. *Am J Cardiol.* 1976; 37: 223-230
30. KITAZAWA M. SUGIYAMA S. OZAWA T. MIYAZAKI Y. Mechanism of chlorpromazine-induced arrhythmia. Arrhythmia and mitochondria dysfunction. *J Electrocardiology.* 1981; 14, (3):219-224.
31. TERUTOSHI M. YOSHIMI T. RYOJI M. BINEU Y. Inhibitory action of chlorpromazine, dibucaine and other phospholipid-interacting drugs on calcium-activated phospholipid dependent protein-kinase. *J Biolog Chemist.* 1980; 255:8378-8380.



## PROTECTIVE ROLE OF CHLORPROMAZINE ON LEAD-INDUCED DAMAGE TO HEART MITOCHONDRIA

RAFAEL CASTAÑO, CARLOS CULEBRAS, CECILIA ZAZUETA and EDMUNDO CHÁVEZ\*

Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez, México, D.F. 14080  
(Telephone: 573-29-11)

(Received 6 August 1990)

**Abstract**—1. The protective effect of chlorpromazine (CPZ) on the toxic effects of lead in mitochondrial functions was studied.

2. The findings indicate that CPZ at a concentration of 50  $\mu$ M protects heart mitochondria against lead-induced  $Ca^{2+}$  uptake inhibition.

3. In addition, CPZ inhibits the drop of the transmembrane potential, as well as mitochondrial swelling as induced by 10  $\mu$ M  $Pb^{2+}$ .

4. It is proposed that the protective effect of chlorpromazine can be due to its stabilizing action on biological membranes.