

# STUDII EXPERIMENTALE PRIVIND POSIBILE INTERACȚIUNI CU CONSECINȚE PSIHOCOMPORTAMENTALE ÎNTRU DIAZEPAM ȘI VERAPAMIL

A. Zugravu\*, Maria Cristina Constantinescu\*, M. Isvoranu\*, **V. Stroescu**, I. Fulga\*

## REZUMAT

S-a urmărit evaluarea unor posibile efecte sedativ-anxiolitice ale verapamilului și de asemenea a unor interacțiuni medicamentoase, cu consecințe psihocomportamentale, între acest blocant calcic și diazepam. Acestea ar putea avea semnificație practică pentru pacienții cu afecțiuni cardio-vasculare tratați cu verapamil și care, primesc concomitent un tratament cu benzodiazepine.

Pentru aceasta cele două substanțe au fost injectate intraperitoneal (i.p.) separat sau asociate, la șoareci care ulterior au fost testați folosind metode de evaluare la animal a efectelor sedative sau anxiolitice ale medicamentelor. Pentru evaluarea efectului sedativ a fost folosit testul de explorare simplă, iar pentru aprecierea acțiunii anxiolitice testul "black and white box".

Rezultatele obținute au indicat că verapamilul, administrat singur, are un efect anxiolitic slab, iar asociat diazepamului potențează atât efectul sedativ cât și pe cel anxiolitic al acestor benzodiazepine.

**Cuvinte cheie:** diazepam, verapamil, interacțiuni medicamentoase.

În studiul de față s-a urmărit evaluarea unor posibile interacțiuni medicamentoase cu consecințe psihocomportamentale între diazepam și verapamil.

Abordarea acestei problematice ne-a fost sugerată de faptul că numeroși pacienți sunt tratați, în afecțiuni cardiovasculare, concomitent, cu blocante ale canalelor de calciu și sedativ-anxiolitice de tipul benzodiazepinelor.

## Material și metodă

Studiul a fost realizat pe șoareci adulți albișori, masculi, în greutate de 18-22 g provenind din aceeași tulpină.

Ca substanțe de cercetat s-au utilizat: *verapamil*, sub forma preparatului Isoptin produs de Knoll A.G., Germania, în doză de 5 mg/kg și *diazepam*, sub forma preparatului Valium produs de Hoffman La Roche, Elveția, în doză de 0,5 mg/kg. Concentrațiile soluțiilor au fost astfel stabilite încât să permită injectarea intraperitoneală (i.p.) a dozelor menționate în 0,1 ml soluție apoasă per 10 g șoarece.

Pentru evaluarea acțiunii sedative a substanțelor de cercetat a fost folosit testul de explorare simplă, iar pentru evaluarea acțiunii anxiolitice testul "Black and white box". În cazul ambelor teste au fost folosite câte patru loturi de câte 6 animale: un lot martor, un lot tratat cu verapamil, un lot tratat cu diazepam și un lot care a primit asociația verapamil-

## ABSTRACT

### Experimental studies concerning possible interactions with psychocomportmental consequences between diazepam and verapamil

The present study evaluates the possible sedative-anxiolytic effect of verapamil and the possibilities of any drug interaction with psychocomportmental consequences, between this calcium channel blocker and diazepam. These might be significant for the cardiovascular patients under treatment with verapamil and which, for different reasons, are concomitantly treated with benzodiazepines.

For this, both substances were intraperitoneally injected (i.p.) separately or together associated in mice, which were then tested to evaluate the sedative and anxiolytic effect of drugs. An exploratory test was used to evaluate sedative effect and the "black and white box" test to appreciate the anxiolytic effect.

The results we obtained showed that verapamil, by itself, has a weak anxiolytic effect, but in association with diazepam - it increase both, the sedative and anxiolytic effects of this benzodiazepine.

**Keywords:** diazepam, verapamil, drug interactions.

diazepam.

Animalelor din lotul martor li s-a administrat un volum de 0,1 ml apă distilată per 10 g șoarece.

Analiza matematică și prelucrarea statistică (testul t-student) a tuturor rezultatelor s-a realizat folosind programul EXCEL versiunea 7, în sistemul Windows 98.

## Rezultate

În ce privește testul de explorare simplă, test aplicat la 2 ore și 30 minute după injectarea ultimului animal, rezultatele indică o scădere a capacității de explorare a animalelor, apreciată prin numărul pătratelor traversate în 5 minute, pentru lotul tratat cu asociația medicamentoasă, comparativ cu lotul martor sau cu loturile care au primit numai verapamil sau diazepam (Tabelul I și Fig. 1).

Astfel, *verapamilul*, administrat singur, a produs față de lotul martor o ușoară creștere a capacității de explorare, de la 81,3 +/- 9,9 careuri traversate în 5 minute, la lotul martor, la 93,7 +/- 10,7 pentru lotul care a primit verapamil, fără ca modificarea să fie semnificativă statistic ( $p = 0,06$ ).

*Diazepamul*, în dozele utilizate, a determinat o scădere a capacității de explorare, de la 81,3 +/- 9,9 la lotul martor la 76,7 +/- 13,8 la lotul tratat cu diazepam, modificare ce nu este însă semnificativă statistic ( $p = 0,5$ ).

\*As. Dr. Aurelian Zugravu, As. Dr. Maria Cristina Constantinescu, As. Dr. Mihai Isvoranu, **Prof. Dr. Valentin Stroescu**, Prof. Dr. Ion Fulga - Catedra de Farmacologie, Facultatea de Medicină, UMF "Carol Davila" București

În schimb, *asociația verapamil-diazepam* a determinat o scădere a capacității de explorare a șoarecilor de la  $81,3 \pm 9,9$  careuri traversate în 5 minute la lotul martor, la  $50,5 \pm 9,6$  careuri traversate în 5 minute. Această modificare este înalt semnificativă statistic față de martor ( $p = 0,00027$ ), precum și față de loturile tratate doar cu verapamil sau cu diazepam.

În cazul testului "Black and white box" test aplicat la o oră și 30 minute după injectarea ultimului animal, evaluarea efectului anxiolitic al substanțelor de cercetat s-a realizat prin determinarea latenței de pătrundere a șoarecilor în compartimentul întunecat al dispozitivului, măsurată pe durata a maxim 3 minute.

Astfel, în cazul acestui test (Tabelul II și Fig. 2), *verapamilul*, administrat singur, a produs o ușoară creștere a latenței de pătrundere în compartimentul întunecat de la  $53,3 \pm 12,8$  secunde, la lotul martor, la  $59,2 \pm 10,9$  secunde pentru lotul care a primit verapamil, modificare nesemnificativă statistic ( $p = 0,42$ ).

*Diazepamul* a determinat ca și verapamilul, o creștere a latenței de pătrundere în compartimentul întunecat de la  $53,3 \pm 12,8$  la lotul martor, la  $60,2 \pm 10,0$  la lotul tratat cu diazepam, modificare ce nu este însă semnificativă statistic ( $p = 0,3$ ).

Spre deosebire de loturile tratate cu verapamil sau diazepam, administrate singure, *asociația verapamil-diazepam* a determinat o creștere marcată a latenței de intrare a șoarecilor în compartimentul întunecat de la  $53,3 \pm 12,8$  secunde la lotul martor, la  $95,5 \pm 15,5$  secunde, ceea ce reprezintă practic o dublare a latenței de pătrundere.

Această modificare este înalt semnificativă statistic față de martor ( $p = 0,00044$ ). Diferența este, de asemenea, înalt semnificativă statistic și față de loturile tratate doar cu verapamil sau cu diazepam (în ambele situații  $p = 0,00087$ ).

## Discuții

Din datele obținute în acest experiment rezultă că *verapamilul* administrat singur nu are efect sedativ în comparație cu lotul martor. *Diazepamul*, administrat singur într-o doză subactivă ca sedativ, a produs o scădere semnificativă a capacității de explorare.

*Asociația verapamil-diazepam* a avut însă un intens efect sedativ, în acest experiment, ceea ce sugerează posibilitatea unor interacțiuni medicamentoase între blocantul calcic fenilalchilaminic și compusul benzodiazepinic. În aceste condiții, datorită faptului că cele două substanțe administrate separat produceau efecte contrare de mică intensitate, nu se poate vorbi de o sumare a efectului sedativ. Aceste date indică mai degrabă că verapamilul produce o potențare a efectului sedativ al diazepamului.

În ceea ce privește testul "black and white box", ținând cont de faptul că latența cu care șoarecii se refugiază în compartimentul întunecat este sugestivă pentru aprecierea gradului de anxietate și că substanțele anxiolitice prelungesc timpul de explorare al compartimentului luminat și "expus pericolelor", putem aprecia următoarele:

*Verapamilul*, administrat singur, are un slab efect anxiolitic comparativ cu lotul martor.

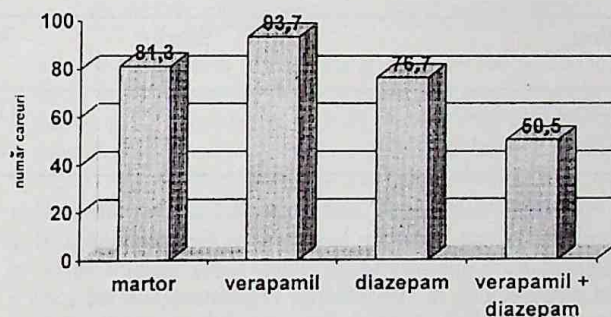
De asemenea, *diazepamul*, în experimentele noastre, a determinat o creștere nesemnificativă a latenței de pătrundere în compartimentul întunecat, deci un efect anxiolitic slab, deoarece a fost utilizat în aceste experimente într-o doză subactivă.

**Tabelul I** Evaluarea efectelor verapamilului, diazepamului și ale asociației acestora în testul de explorare simplă.

Lot	Număr careuri parcurse (valori medii)
martor	$81,3 \pm 9,9$
verapamil	$93,7 \pm 10,7$
diazepam	$76,7 \pm 13,8$
verapamil + diazepam	$50,5 \pm 9,6$

Numărul de careuri traversate în 5 minute de către șoareci în testul de explorare simplă pentru loturile injectate cu verapamil, diazepam și asociația acestora. Diferențele semnificative statistic sunt marcate cu \* pentru  $p < 0,05$  și \*\* pentru  $p < 0,001$

## Testul de explorare simplă



**Fig. nr. 1.** Activitatea motorie globală a șoarecilor exprimată ca număr mediu de careuri traversate în 5 minute de către șoareci în testul de explorare simplă pentru loturile injectate cu verapamil, diazepam și asociația acestora.

**Tabelul II** Evaluarea efectelor verapamilului, diazepamului și ale asociației acestora în testul "Black and white box".

Lot	Latența de pătrundere în compartimentul întunecat (valori medii)
martor	$53,3 \pm 12,8$
verapamil	$59,2 \pm 10,9$
diazepam	$60,2 \pm 10,0$
verapamil + diazepam	$95,5 \pm 15,5$

Latența de pătrundere în compartimentul întunecat în testul de anxietate "black and white box" la șoareci pentru loturile injectate cu verapamil, diazepam și asociația acestora. Valorile sunt exprimate ca medii (secunde) +/- SD. Diferențele semnificative statistic sunt marcate cu \*\* pentru  $p < 0,001$

## Testul "Black and White Box"

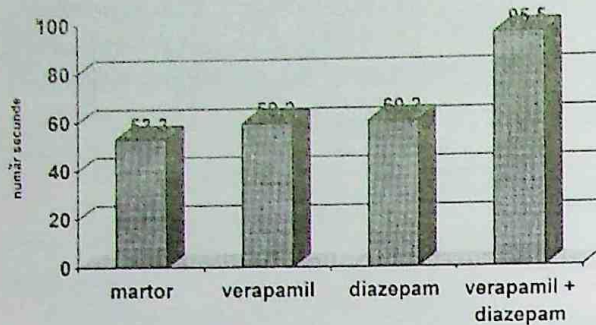


Fig. nr. 2. Latența de pătrundere în compartimentul întunecat în testul "black and white box" exprimată ca valori medii (secunde) pentru loturile injectate cu verapamil, diazepam și asociația acestora.

## Comparație între testele de explorare simplă și "black and white box"

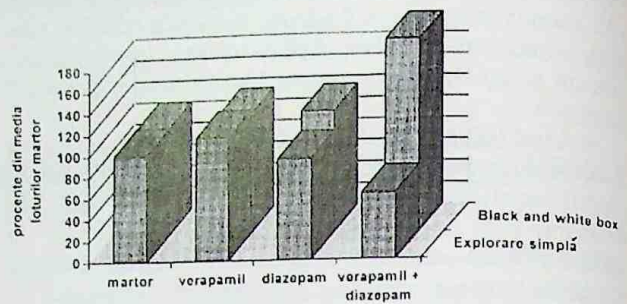


Fig. nr. 3. Comparație între rezultatele testului de explorare simplă și testul "Black and white box", exprimate ca valori procentuale din media lotului martor. Se observă o potențare a efectului sedativ cât și a efectului anxiolitic al diazepamului prin asocierea acestuia cu verapamil.

Tabelul III

## Comparație între rezultatele testului de explorare simplă și "Black and White Box".

Test	Martor	Verapamil	Diazepam	verapamil + diazepam
	%	%	%	%
Explorare simplă	100	115,2 (+15,2)	94,3 (-5,7)	62,1 (-37,9)
"Black and white box"	100	110,9 (+10,9)	112,8 (+12,8)	179,1 (+79,1)

Asociația verapamil-diazepam a avut însă un intens efect anxiolitic. Aceste rezultate sugerează și ele posibilitatea unor interacțiuni medicamentoase între acest blocant calciu și diazepam. Ca și în precedentul experiment, se remarcă o diferență foarte mare între efectul anxiolitic produs de asociația verapamil-diazepam și suma intensității efectelor anxiolitice ale fiecărui compus în parte, deci nu se poate vorbi de un efect aditiv, datele prezentate sugerând o potențare a efectului anxiolitic al diazepamului de către verapamil.

O prezentare comparativă a datelor obținute în cele două teste comportamentale, explorare simplă și "black and white box" este redată în tabelul III și fig. nr. 3. Datele sunt prezentate ca valori procentuale ale mediilor fiecărui lot față de media lotului martor.

Aceste rezultate sugerează posibila implicare a ionilor de calciu și a canalelor calciului de tip L, în modularea anxietății, probabil prin intermediul circuitelor neuronale GABA-ergice.

## Concluzii

Analiza acestor date sugerează că:

- verapamilul, în condițiile experimentale utilizate, are slabe efecte anxiolitice, nesemnificativ statistic.
- verapamilul potențează atât efectul sedativ cât și pe cel anxiolitic al diazepamului.

## BIBLIOGRAFIE

1. Coman O.A.: Interacțiuni medicamentoase, Editura Medicală, București, 1998, pag. 6 - 10, 171-172, 174, 184, 254, 256-257, 259, 261-263

2. Fulga I.: Considerații privind metodologia evaluării

preclinice a medicației psihotrope. Spitalul, Decembrie 1995, vol. I, nr. 1, pag. 68 - 72

3. Kozlovskii V.L., Prakh'e I.V.: The effect of calcium channel blockers on animal behavior in tests to study their anxiolytic activity. *Eksp Klin Farmacol. (RUSSIA)*, Jan-Feb, 1995, 58 (1), pag. 18 - 20

4. Matsumoto Y., Kataoka Y., Watanabe Y., Miyazaki A., Taniyama K.: Antianxiety actions of Ca<sup>2+</sup> channel antagonists with Vogel-type conflict test in rats. *Eur. J. Pharmacol (NETHERLANDS)*, Oct. 13 1994, 264 (1), pag. 107 - 10.

5. Nacif-Coelho C., Correa-Sales C., Chang L.L., Maze M.: Perturbation of ion channel conductance alters the hypnotic response to the alpha 2-adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus coeruleus of the rat. *Anesthesiology (UNITED STATES)*, Dec. 1994, 81(6), pag. 1527 - 34.

6. Ohno-Shosaku T., Hirata K., Sawada S., Yamamoto C.: Contributions of multiple calcium channel types to GABAergic transmission in rat cultured hippocampal neurons. *Neurosci Lett (IRELAND)*, Nov 7, 1994, 181 (1-2), pag. 145 - 8

7. Petkov V.D., Belcheva S., Konstantinova E., Vaglenova J., Petkov V.V.: Behavioral effects of the Ca<sup>2+</sup>/5-HT antagonists dotarizine. *Acta Physiol Pharmacol Bulg. (BULGARIA)*, 1994, 20 (1), pag. 9 - 17

8. Pucilowski O.: Psychopharmacological properties of calcium channel inhibitors. *Psychopharmacology (Berl.) (GERMANY)*, 1992, 109 (1-2), pag. 12 - 29

9. Stroescu V.: Bazele farmacologice ale practicii medicale, ediția a VI-a, Editura Medicală, 1998, pag. 191 - 223, 931 - 1059

10. Zgravu A.: Cercetări privind interacțiunile blocantelor canalelor de calciu cu medicamente psihotrope. Teză de doctorat - 1999.