

11241
2 of 20

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios Superiores



T E S I S A

EXCRECION URINARIA DE 3-METOXI 4HIDROXI
FENILGLICOL (MHPG) EN VOLUNTARIOS SANOS
PRECLONIDINA Y POSTCLONIDINA.

DR. RAFAEL JESUS SALIN PASCUAL

ASCESOR:

DR. JUAN RAMON DE LA FUENTE RAMIREZ
DEPARTAMENTO DE PSIQUIATRIA Y SALUD MENTAL

J. de la Fuente

MEXICO, D. F.

1982

FALLA DE ORIGEN



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 esta 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.

CONTENIDO .-

1.- INTRODUCCION	1
2.- MATERIAL Y METODO	10
3.- RESULTADOS	16
4.- COMENTARIOS.	18
5.- BIBLIOGRAFIA	21.

EXCRECIÓN URINARIA DE MHPG EN VOLUNTARIOS SANOS
PRE Y POSTCLONIDINA.

INTRODUCCION .-

En 1950 un grupo de pacientes mostró un cuadro clínicamente indistinguible al de la depresión mayor al ser tratados con Alcaloides de Rauwolfia (1). Casi al mismo tiempo se observó que a pacientes tuberculosos que habían sido tratados con iproniazida les mejoraba mucho su estado de ánimo, desarrollando una franca relación del afecto que no se explicaba únicamente por el mejoramiento de su enfermedad física. Otros trabajos demostraron posteriormente que la iproniazida actuaba como un inhibidor de la Monoaminooxidasa (MAO) (2) y que al administrarla se produce un incremento de catecolaminas y serotonina a nivel cerebral, mientras que los alcaloides de la -- Rauwolfia depletan el cerebro de estas aminas. (3)

Estos datos sugirieron la posibilidad de que un incremento en las aminas puede estar asociado con los estados de hipomanía o manía, mientras que una disminución de estas aminas puede estar asociado a la depresión. (4) Estos conceptos generales se fortalecieron con el uso de los antidepressivos tricíclicos y de la observación de que actúan en parte por bloqueo de la recaptura de norepinefrina y serotonina y que a fin de cuentas producen el efecto de mayor disponibilidad de las monoaminas mencionadas a nivel sináptico (5-6).

Por lo anterior expuesto se ha dado gran importancia a el metabolismo y a los productos de las aminas en cuanto a la neurobioquímica de los estados afectivos. Una de las sustancias más estudiadas y controvertida del catabolismo de la norepinefrina (NE) es el MHPG 3 metoxi 4-hidroxi fenilglicol. En 1968 se reportó que un grupo heterogeneo de pacientes deprimidos mostraban niveles ba-

ios significativos de MHPG. (7) En el cerebro del hombre y de algunos otros animales el MHPG es el mayor metabolito de la Norepinefrina (8-9). Aunque a nivel sanguíneo puede conjugarse o convertirse en el Ácido Vanililmandélico (VMA) La Brosse calculó que cerca de dos tercios de la inyección total de MHPG - H^3 (tritiado) se recupera convertido en VMA y agua: en monos observó que la inyección de MHPG -deuteriado le daba como resultado la recuperación de solo 50% en forma de VMA (10).

Existe controversia en cuanto al porcentaje de MHPG que representa en la orina a la Norepinefrina de producción central. Estos datos van de un 50% a un 20% (11). Este último porcentaje se obtuvo de un trabajo de Blombery y cols (1980) en donde se utilizó MHPG deuteriado, sacando las siguientes observaciones:

- (1) Al menos el 50% del MHPG libre que entra en la sangre de varios tejidos incluyendo el cerebro se metaboliza a VMA y probablemente a otras sustancias.
- (2) El MHPG conjugado y VMA se forman en el hígado y otros tejidos de otras fuentes además del MHPG circulante de origen a partir de la Norepinefrina (otras fuentes como Dihidroxifenil glicol o Normetanefrina).
- (3) Solo el 20% del MHPG urinario deriva del cerebro.
- (4) La excreción urinaria del MHPG no puede ser asumida como un índice válido del metabolismo de la Norepinefrina.

Por otra parte este tipo de estudios no invalidan la utilidad de los valores del MHPG para fines de clasificación de subtipos de depresión o para la validación de la respuesta terapéutica. A este respecto se ha postulado que la excreción de MHPG puede estar baja en algunos pacientes deprimidos en los cuales la Norepinefrina esta baja. Estos pacientes parecen corresponder a las formas clínicas de "inhibición" (Depresión Mayor, subtipo Retardada - RDC Spitzer - Endicott - Robins) (1978)

Mientras que en otro grupo de pacientes deprimidos el MHPG puede estar normal o alto, en cuyo caso se postuló que la depresión esta relacionada con la deficiencia del neurotransmisor Serotonina, y se extrapoló diciendo que la forma clínica relacionada era la "Agitada". (Depresión Mayor, Subtipo Agitada: RDC Spitzer, Endicott, Robin. (1978) Al mismo tiempo se postuló que los antidepresivos tricíclicos que contienen aminas secundarias, como la Desimipramina, selectivamente bloquean la recaptura de Norepinefrina y que por lo tanto podrían mejorar más eficazmente a las forma "Inhibidas"; mientras que un compuesto tricíclico que contenga aminas terciarias como la Amitriptilina es más efectivo bloqueador de la serotonina y esta indicado en las formas "Agitadas"(12-13-14). Así es posible que midiendo la cantidad de excreción de MHPG pueda caracterizarse bioquímicamente un tipo de Depresión y predecir que tipo de tratamiento puede ser específico para cada paciente. Evidencias preliminares de tres laboratorios apoyan esta suposición (14-15).

Uno de los pasos previos al estudio del MHPG en deprimidos es el estudio de este metabolito en Voluntarios Sanos. El Dr. Leo Hollister, Davis y Overall (1978) publicaron un trabajo al respecto (16). Ellos estudian 17 voluntarios cuyas edades oscilaron entre 14 y 55 años; siendo válidas las colecciones de orina de 24 hrs cuando en las muestras excedían al gramo de creatinina en las 24 hrs. A cada sujeto se le elaboró un seguimiento de actividades durante los días de colección, haciendo énfasis en la ansiedad, tipos de alimentos, bebidas y actividades. Se colectaron tres muestras de orina en una primera fase, cada una de 24 hrs. También se colectó otra serie de muestras de 24 hrs en los siguientes días una de las cuales consistió en muestra por micción. Los resultados observados fueron que la cantidad de MHPG expresado en microgramos en 24 hrs tuvo una variación de 136 ug/24 hr a 4252 ug/24h Siendo la variación de las 3 muestras de 9.1% a 76.9%.

No se encontró diferencia estadística significativa entre hombres y mujeres. En cuanto a la variación circadiana -- encontraron que al hacer el análisis entre las muestras de cada micción y convertir la excreción de MHPG a microgramos por minuto, existió una mayor cantidad de eliminación de MHPG urinario a las 18.00 hrs. No encontraron una correlación significativa estadística entre comidas, actividad física o estado de ánimo prevalente durante la colección de la muestra y el coeficiente de variación entre las diferentes muestras fue de 13.2%. Concluyen los autores que este coeficiente de variación aumenta con el número de semanas en que se hace la recolección de muestras y que puede llegar hasta 245% y que las variaciones de un mismo individuo van de un 25% a un 291 % con un promedio de 86%. Tanta variabilidad, piensan los autores es debido una serie de factores técnicos, del sujeto y aun factores no bien aclarados, por lo que sugieren continuar esta línea de investigación.

No solo se cuestiona la validez del MHPG como indicador de la actividad Norepinefrínica central, sino -- que se cuestiona también que la acción antidepressiva de los tricíclicos, se haga exclusivamente por el mecanismo de recaptura de las monoaminas. Una serie de reportes recientes han llevado a pensar que hay otros mecanismo involucrados en la acción de los antidepressivos y que no es solo mediante el aumento de la disponibilidad de Norepinefrina y Serotonina en la hendidura sináptica que mejora un paciente deprimido. (16)

Pero un par de casos concretos en los cuales los mecanismos de aumento de la disponibilidad del neurotransmisor no es el mecanismo de su acción antidepressiva son el Iprindole y la Mianserina. En el caso del Iprindole se ha observado que este compuesto tiene una capacidad muy débil para inhibir la recaptura de Norepinefrina y Serotonina, lo cual queda evidente con una serie de prue-

bas farmacológicas clásicas. El Iprindole es un antagonista débil de la hipotermia y de la ptosis inducida por Reserpina en ratones (17). No produce desplazamiento de la Serotonina de las plaquetas y tampoco bloquea la respuesta presora de la Tiramina en humanos (18). No suprime los movimientos oculares rápidos (REM) durante el sueño en los gatos (19). La Mianserina por otra parte también tiene efectos muy débiles sobre la recaptura de Serotonina y Norepinefrina. En las pruebas usadas en los animales para probar sus efectos, no demostró tener efectos consistentes en alguna de las funciones antes mencionadas para el Iprindole. (20) En el hombre no afecta el REM ni los niveles totales de Serotonina en la sangre (20). Se observó también que el Iprindole administrado por largo tiempo no produce un efecto importante sobre el recambio de las aminas mientras que la Mianserina sí lo produce, incrementando el recambio de la Norepinefrina cuando se administra por largo tiempo. (19) Aunque las alteraciones neurobioquímicas de la depresión se han explicado hipotéticamente hacia alteraciones en la Norepinefrina y la Serotonina, hay evidencias recientes de que la Dopamina puede jugar un papel importante en las alteraciones bioquímicas del deprimido (21) El Iprindole tiene propiedades farmacológicas que hacen suponer que ejerce influencia sobre la recaptura de la Dopamina bloqueándola (19). Lo anterior podría explicar la acción antidepressiva de esta droga en términos de su efecto sobre Dopamina. En resumen parece que ambas drogas poseen efectos escasos sobre las aminas y que cuando tienen modificaciones, estas son con niveles más altos del fármaco que los utilizados con los tricíclicos convencionales (22).

También se ha observado que otras sustancias que son potentes inhibidores de la recaptura como las Anfetaminas, Femoxetina y Cocaína no son útiles en el tratamiento de la Depresión (23). Además de que el tiempo necesario para que se observe una respuesta clínica de mejoría en el tratamiento de la Depresión habitualmente es mayor de 10

días, mientras que los datos observados en preparaciones "in vitro" son distintos. Aquí se observa el bloqueo de la recaptura en un lapso de minutos a horas con una dosis única(24).

Por lo anterior se han buscado otros enfoques a la neurobioquímica de la Depresión. Uno de estos es la línea de investigación sobre la sensibilidad de los receptores pre y postsinápticos de las terminaciones aminérgicas. (25) Charney, Menkes y Heninger(1981) evaluarán el efecto del tratamiento prolongado con antidepresivos sobre las aminas biogénicas y sobre varios índices de funcionamiento de los receptores pre y postsinápticos. Encontrando que si bien hay variaciones en los diferentes antidepresivos en cuanto a recambio de aminas, la mayoría de los antidepresivos utilizados incluyendo IMAO y TEC -- tienden a producir cambios en el número y sensibilidad de los receptores post-sinápticos (25).

Este enfoque sostiene que la alteración bioquímica en algunos enfermos deprimidos parece estar en la sensibilidad de los receptores postsinápticos, los cuales estarían hiposensibles y/o en menor número. Al mismo tiempo coexistiría una falta de retroalimentación a la neurona presináptica, que no corregiría las cantidades de ligando(neurotransmisor) y este tendría el mismo recambio.

Finalmente hay otras observaciones que involucran a los receptores presinápticos en las alteraciones bioquímicas de algunas Depresiones. En trabajos recientes se ha demostrado que tratamientos prolongados con antidepresivos tricíclicos producen una disminución de la sensibilidad de los receptores alfa-2 adrenérgicos(26-27) Hay un gran número de evidencias de que este tipo de receptores localizados en la presinápsis, regulan la liberación de Norepinefrina a través de mecanismos de retro.

alimentación negativos (28). La activación de estos receptores por agonistas adrenérgicos alfa-2 como la Clonidina produce una disminución de la liberación y recambio de la Norepinefrina. (29). Por el contrario los antagonistas de los receptores adrenérgicos alfa-2 como la Yonimbina y Piperoxane aumentan la liberación y recambio de la Norepinefrina, que clínicamente produce cuadros de Ansiedad (29). Por lo tanto es posible valorar la sensibilidad de este tipo de receptores por medio de sus agonistas y antagonistas observando como se modifica el recambio del neurotransmisor en cuestión, por la medición de sus productos catabólicos en los líquidos biológicos. En el caso del presente trabajo, este será uno de los principales objetivos. Otra estrategia que se utiliza para medir la sensibilidad de un receptor es la de cuantificar el AMPc. En el caso de los receptores alfa-2 adrenérgicos no se ha demostrado hasta el momento que esten acoplados a un "Segundo Mensajero" por lo cual se emplea el método enunciado, utilizando agonistas-antagonistas. La Clonidina es una droga antihipertensiva potente, aunque tiene efectos sobre los receptores alfa-1, estos son parciales, teniendo una marcada predilección sobre los receptores adrenérgicos alfa-2, en donde actúan como Agonistas. Su efecto hipotensor, se piensa que sea por su acción a nivel periférica, aunque también se ha postulado cierto efecto a nivel central. Este último se desconoce con exactitud, sugiriéndose que pueda ser a nivel de los centros cardiovasculares en el piso del cuarto ventrículo.

La Clonidina tiene muchos efectos sobre el Sistema Nervioso Central, algunos de estos son similares a la Clorpromazina. Se observa sedación marcada, disminución de la actividad motora espontánea, no aparece el condicionamiento, aumento del tiempo total de sueño, baja en la temperatura corporal y se le han descrito propiedades antipsicóticas (30).

La Clonidina ha tenido otros usos en Psiquiatría: En el manejo del Síndrome de Supresión por Metadona, se piensa que en esta alteración como en algunos otros Síndromes de Supresión, exista una sobreactividad Norepinefrínica, por lo tanto con la Clonidina se busca que se restablezca el recambio normal de neurotransmisor mencionado(31-32). También se le ha utilizado como ansiolítico, partiendo de la hipótesis de trabajo de que en la Ansiedad la transmisión Noradrenergica juega un papel importante en su génesis. Los resultados a este respecto han sido muy pobres y principalmente se ha logrado mejoría sobre los síntomas "Psíquicos" de la Ansiedad y poco efecto sobre los síntomas "Somáticos". (33)

Existe un Síndrome poco frecuente, que se presenta en niños y adolescentes, pero que continua por toda la vida y que se caracteriza por la presencia de movimientos recurrentes, involuntarios y repetitivos, rápidos y carentes de propósito; Tics múltiples vocales. En ocasiones (30 %) se acompaña de coprolalia involuntaria. Este Síndrome se conoce con el nombre del médico francés que en 1885 reportó 9 casos, incluyendo el de la Marquesa de Dampierre. Gilles de la Tourette. Es interesante el hecho de que recientemente se han venido publicando trabajos en los cuales la Clonidina mejora la sintomatología de estos pacientes(34). Siendo que el fármaco de elección es el Haloperidol, y de que en 1970 Snyder () postuló la hipótesis de una hiperactividad dopaminérgica en el cuerpo estriado, con mecanismos bioquímicos responsables de este padecimiento. Podríamos pensar entonces que la Clonidina produce también modificaciones en el sistema Dopaminérgico y que por lo tanto esto explicaría algunas de las similitudes con la acción farmacológica de la Clorpromazina, un potente bloqueador de el receptor Dopaminérgico. Esta hipótesis necesitará de más estudios al respecto.

Uno de los empleos más importantes de la Clonidina en el campo de la investigación Psiquiátrica ha sido el estudio del metabolismo de las catecolaminas, estando como ejemplo el estudio de Checley y col (1981) en el cual se utilizó a la Clonidina para producir modificaciones en la Hormona del Crecimiento (GH) en pacientes con Depresión Endógena, con buenos resultados (35).

El objetivo del presente trabajo es observar la excreción de MHPG en orina de Voluntarios Sanos y las variaciones que este metabolito tiene, después de la administración de Clonidina en nuestro medio. Esto implicó que se estructurara toda una infraestructura, que se adquirieran equipos y que estos se calibraran y estandarizaran y de que las técnicas pre-existentes se modificaran a las condiciones de nuestro medio. Lo anterior se menciona porque fue una tarea ardua y prolongada. En general, este es un reporte preliminar de una serie de trabajos sobre la misma línea de investigación, en los cuales se utilizarán, posteriormente, pacientes deprimidos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se reclutaron los Voluntarios entre Médicos residentes y personal de laboratorio del Instituto Nacional de la Nutrición "Dr Salvador Zubirán" y del Hospital Psiquiátrico "Fray Bernardino Alvarez". De un total de 29 personas que ingresaron al estudio solo lo concluyeron 14. Estos se dividieron en 10 hombres y 4 mujeres. Con un promedio de edad de los primeros de 26.6 años (edades entre 26 y 28 años) y de 25.5 años para las segundas (edades entre 22 y 28 años). El resto de datos demográficos y somatométricos se muestran en la tabla I. Se les sometió a exploración física y psiquiátrica, descartando a los que presentaran padecimientos hepáticos, renales, metabólicos endócrinos y psiquiátricos. A cada voluntario se le dió una hoja de "Procedimientos para la colección de orina" (que se anexa) en la cual se detallan los procedimientos para la colección de sus muestras y se dan indicaciones de restricción dietética, suprimiendo café y bebidas alcohólicas 48 hrs antes del estudio. Se descartó a las personas que usaran medicamentos que contienen sustancias simpatomiméticas, como vaso constrictores nasales o medicamentos antigripales, y se pidió que se infomara, en el caso de las mujeres, del uso de anovulatorios orales. El principal parámetro para considerar una muestra útil, fue la creatinina. Esta se determinó mediante colorimetría. Se ajustaron las muestras al rango establecido en el laboratorio de cromatografía de la "Clínica de Tiroides" del I.N.N. en cuanto a creatinina que es de 0.65 a 2.0 g/24 hrs. descartandose las muestras que estuvieran fuera de estos valores (36).

Los voluntarios se presentaron al laboratorio en ayuno, con una muestra de orina de 24 hrs, "pre-clonidina". Antes de la administración del fármaco, se les determinó la tensión arterial y esta se continuo monitorizando cada 20 minutos durante dos horas en cada sujeto, con objeto de detectar posibles hipotensiones graves que

Edad	Sexo	Peso Kg.	Estatura cm.	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Día	Mes	Año	Paciente No.	Apellido.
<input type="text"/>				

PROCEDIMIENTOS PARA LA COLECCION DE ORINA

DE 24 HORAS.

Para que el examen de laboratorio que vamos a practicarle sea válido, es importante que considere cuidadosamente - los siguientes puntos:

1. Tiene que coleccionar en el frasco que le hemos proporcionado toda la orina excretada durante un lapso de 24 horas.
2. El procedimiento se inicia al despertarse en la mañana. - Procure orinar a estas horas para vaciar su vejiga de la orina que se formó durante la noche, de manera que esta primera orina del día no se colecte en el frasco.
3. A partir de ese momento y por las siguientes 24 horas, colecte toda la orina en el frasco, cuidando que esté siempre cerrado y solamente se abra en el momento de orinar, y que la colección sea completa cada vez.
4. La colección termina a la mañana siguiente, incluyendo ahora sí la primera orina del día que será la última de la colección.
5. El frasco que se le proporcionará puede o no contener - algún polvo blanco. Este es un preservador necesario pa ra que su examen sea adecuado. Simplemente ignórela.
6. Es conveniente vaciar la vejiga antes de defecar durante el día de la colección para evitar que se pierda con el tránsito intestinal.
7. Desde el día anterior a la colección de orina y durante ese día tendrá algunas restricciones necesarias para que su examen sea válido:
 - no tomar más de 2 tazas de café o té
 - no tomar más de 1 coca cola o refresco similar
 - no ingerir ningún tipo de bebidas que contengan alcohol.
8. Entregue el frasco en el lugar y la hora señaladas por su médico y avísele si por algún motivo no pudo observar estas instrucciones.
9. Si usted toma anticonceptivos infórmelo a su médico.

no se presentaron en ninguno de los voluntarios. La dosis de Clonidina administrada fue de 5 ug/m^2 de superficie corporal y la vía de administración fue oral. Los efectos farmacológicos más frecuentemente presentados fueron: hipotensión, somnolencia, resequead de boca y náusea. Se les permitió permanecer en posición supina y algunos permanecieron dormidos durante las dos horas siguientes a la ingesta del fármaco. Ese mismo día se les dio, nuevamente, instrucciones para la colección de orina de 24 hr "post-clonidina". Haciendo énfasis en que siguieran con las indicaciones de la hoja de "Procedimientos para colección de orina" y de que se presentaran nuevamente al día siguiente en el laboratorio para entregar sus muestras.

TABLA 1 DATOS DEMOGRAFICOS Y SOMATOMETRICOS
DE 14 VOLUNTARIOS SANOS.

No	Voluntario	Edad.	Peso.	Estatura	Superficie
	sexo.	(años)	(kg)	(mts.)	corporal(m^2)
17	masc.	28	68	1.72	1.80
20	masc.	27	72	1.79	1.90
23	masc.	27	62	1.72	1.73
24	masc.	26	64	1.74	1.77
25	masc.	27	74	1.75	1.89
26	masc.	27	73.5	1.75	1.88
28	masc.	26	68	1.73	1.81
30	masc.	26	84	1.80	2.08
31	masc.	26	64	1.61	1.67
32	inasc.	26	70	1.68	1.79
16	fem.	22	47	1.57	1.44
18	fem.	27	57	1.61	1.59
21	fem.	25	42	1.50	1.33
22	fem,	28	52	1.50	1.45

Para la determinación del MHPG urinario se utilizó el método cromatográfico descrito por Dekirmenjian y col (37). El principio del mismo consiste en la utilización de derivados fluorados para la determinación de MHPG por cromatografía de Gas - Líquido. En el método empleado se usó anhídrido heptofluoro butírico (AHFB) que facilita la formación de los derivados fluorados.

En el método se hicieron variaciones con el objeto de adaptarlo a las condiciones de estudio y trabajo de nuestro medio. Se dividió el estudio en las siguientes etapas:

1. Estudio de las condiciones óptimas para la formación del derivado.
2. Optimización de la hidrólisis de los conjugados de MHPG urinario y de las condiciones de extracción.
3. Optimización de las condiciones cromatográficas.
4. Estudio de la variación del método y forma de la cuantificación.
5. Establecimiento de los valores de referencia en orina de 24 hrs. de individuos normales.

1. Estudio de las condiciones óptimas para la formación de derivados.

Considerando la reacción esperada y en base a la técnica que se explicará posteriormente, se realizaron experimentos en los que se varió la concentración de AHFB (Anhídrido hepto fluoro butírico) vease cuadro No 1.

2.- Optimización de la hidrolisis de los conjugados de MHPG urinarios y de las condiciones de extracción.

Este paso fué dividido en dos etapas:

- a) Estudio sobre la hidrolisis de los conjugados de MHPG:
- I) Hidrolisis de MHPG endógeno con Ketolasa a varias concentraciones manteniendo constantes el tiempo de incubación (vease cuadro No 2)
 - II) Hidrolisis del MHPG endógeno con Glusulasa a varias concentraciones (ver cuadro No 3).

CUADRO No 1

Numero de ensayos - 3

Tubo	St MHPG	agua	EDTA	Buffer pH 6	AHFB
No	ml	ml	ml	ml	ul
1	0.3	2.8	0.5	1	75
2	0.3	2.8	0.5	1	75
3	0.3	2.8	0.5	1	100
4	0.3	2.8	0.5	1	100
5	0.3	2.8	0.5	1	125
6	0.3	2.8	0.5	1	125

En la grafica No 1 se muestran los resultados tipo obtenidos en estas experiencias. Se ha graficado por un lado los ul de AHFB empleados VS altura del pico - cromatográfico.

Partiendo de los resultados obtenidos la cantidad de anhídrido heptafluorobutírico elegida fué 100 ul

GRAFICA No. 1

Altura (cm.)
10

VARIACION DE ANHIDRIDO HEPTAFLUOROBUTIRICO

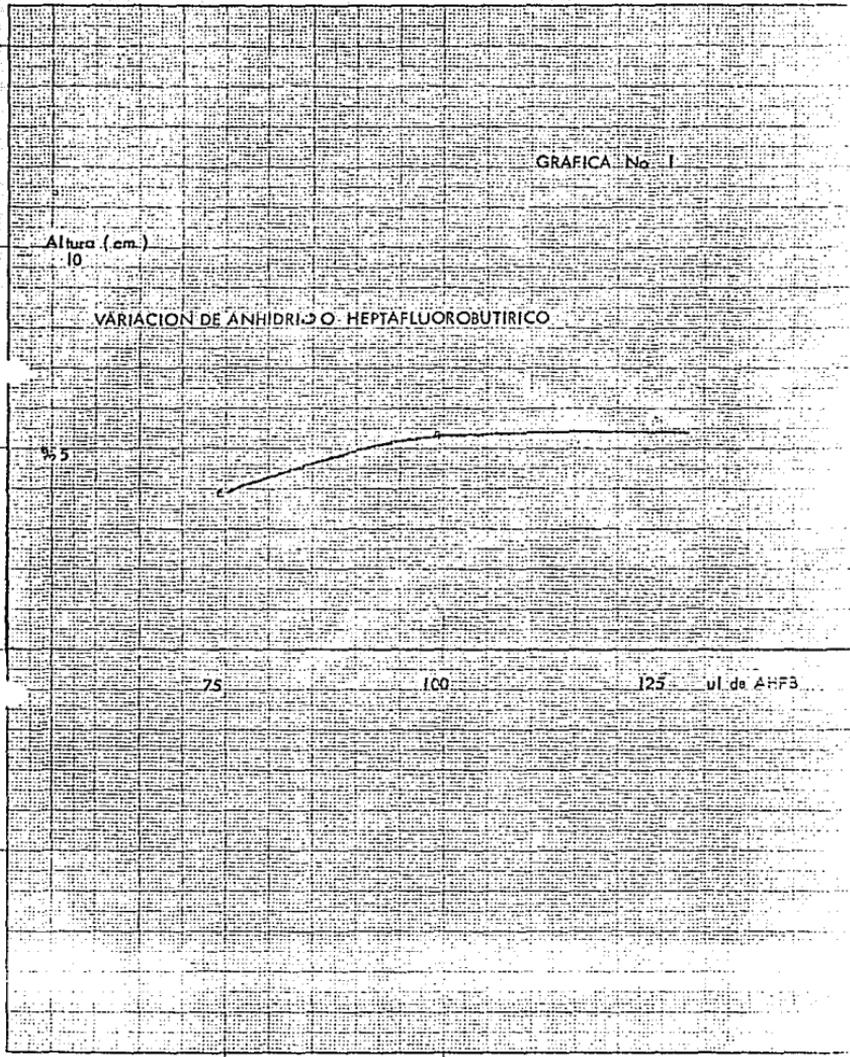
95

75

100

125

vl. de AHFB



CUADRO 2

Número de ensayos 3

K E T O D A S A

Tubo	Orina ml	Tiempo de Incubación horas	Enzima ml	Altura del Píco Crom. cm	Media X
1	3	18	0.05	-	-
2	3	18	0.05	-	-
3	3	18	0.1	0.4	0.43
4	3	18	0.1	0.46	
5	3	18	0.25	0.12	0.11
6	3	18	0.25	0.10	
7	3	18	0.5	0.8	0.8
8	3	18	0.5	0.1	
9	3	18	0.5	1.24	1.22
10	3	18	0.5	1.2	
11	3	18	0.75	1.48	1.47
12	3	18	0.75	1.46	
13	3	18	1.0	1.7	1.7
14	3	18	1.0	1.7	

Altura (cm)

GRAFICA No 2

VARIACION DE GLUSULASA

0.1

0.2

ml de enzima

Altura (cm)

VARIACION DE KETODASA

GLUSULASA

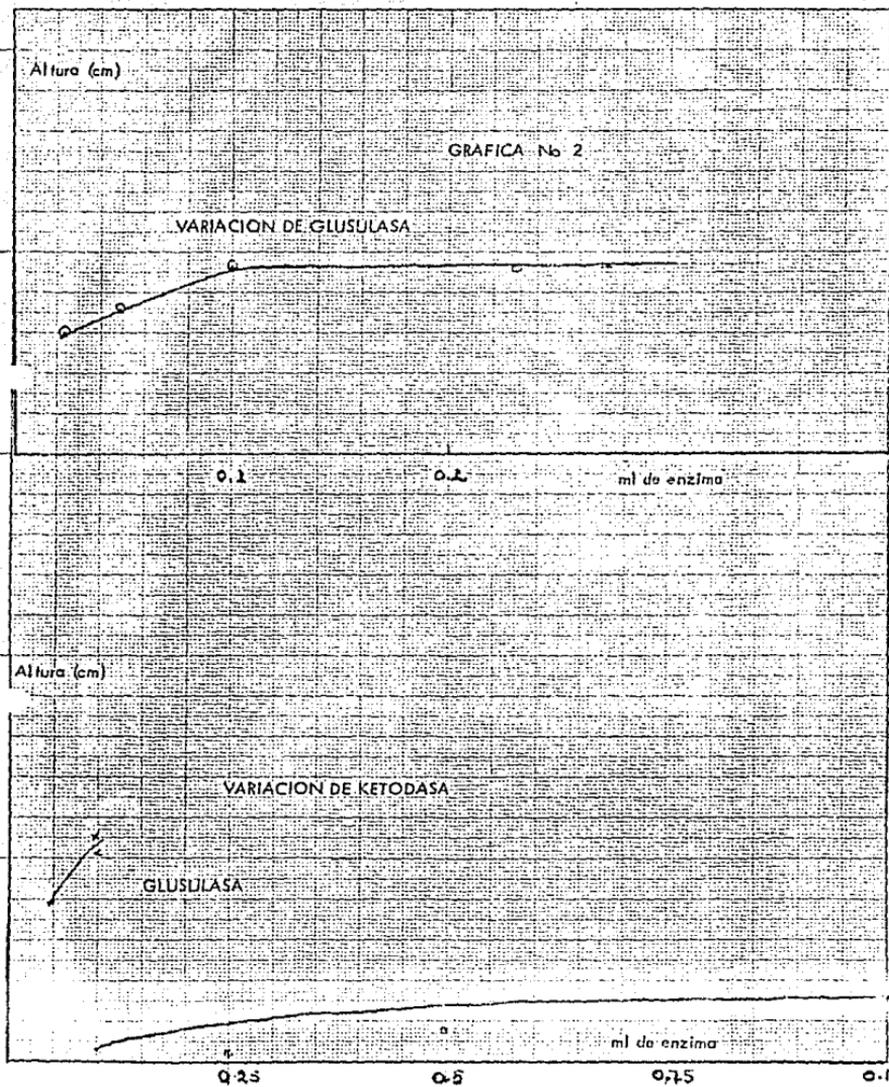
ml de enzima

0.25

0.5

0.75

1.0



CUADRO 3

Número de ensayos 3

G L U S U L A S A				
Tubo No	Orina ml	Tiempo de Incubación horas	Enzima ml	Altura del Pico Cromatográfico cm
1	3	18	0.025	3
2	3	18	0.050	3.6
3	3	18	0.075	4.2
4	3	18	0.1	4.6
5	3	18	0.225	4.4

En base a los experimentos anteriores:

La enzima escogida fué glusulasa

La cantidad de enzima fué 0.1 ml .

GRAFICA No 3

Altura (cm)

20

15

10

5

5

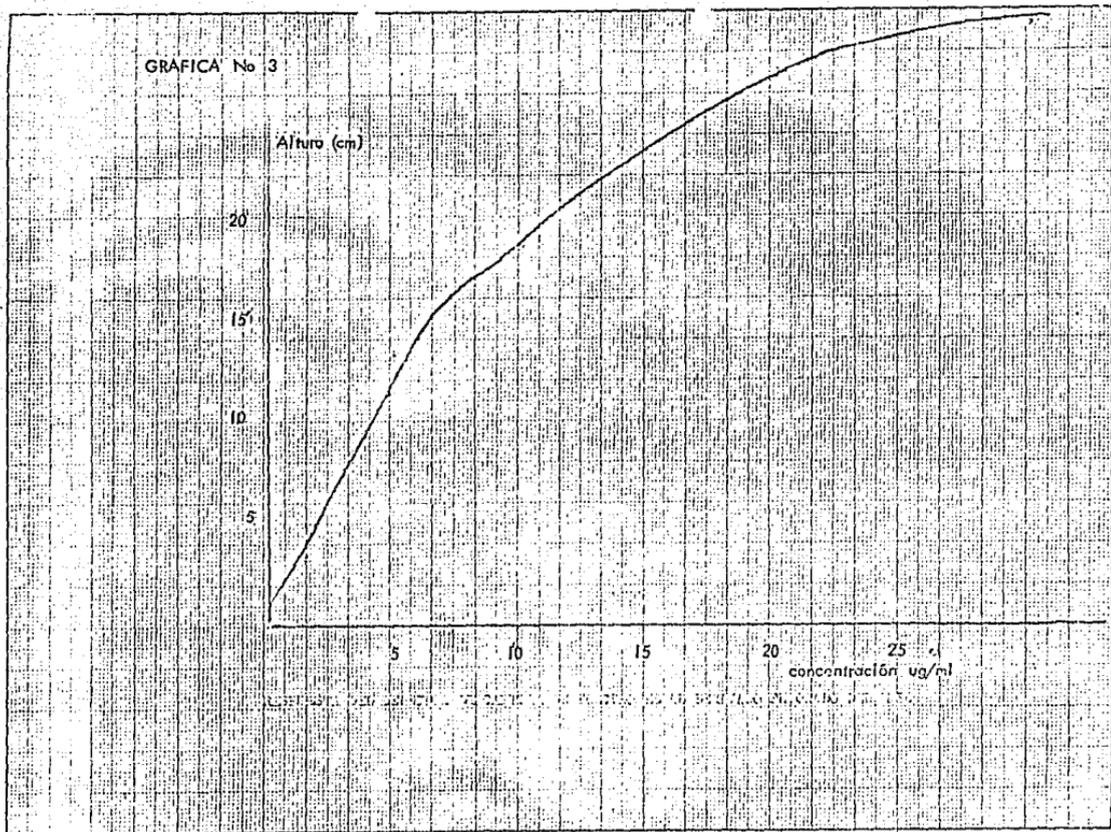
10

15

20

25

concentración $\mu\text{g/ml}$



b) Eficiencia de la extracción.

Con un estándar de MHPG de concentración conocida se ensayaron diferentes cantidades de disolvente así como diferente número de extracciones. De esta manera se encontró que usando 6 ml de disolvente y efectuando 3 extracciones era suficiente para extraer el MHPG, ya que al hacerle una cuarta extracción a la fase acuosa residual y analizándola por cromatografía no se encontró ninguna señal. Una vez con estos experimentos a la técnica se le adicionó un paso de lavado posterior a la derivación para evitar problemas de contaminación en el detector, así como un paso de secado con el fin de evitar que el agua bloqueara la derivación.

Después de las modificaciones expuestas, la técnica empleada para el estudio fué la siguiente:

TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS DE MHPG EN ORINA

Tomar los reactivos de acuerdo al cuadro siguiente en tubos de 25 x 150 con tapón de rosca.

Tubo No	Orina ml	Buffer(acetatos, EDTA 1M, pH6)ml	EDTA al 2%	Glusulasa	MHPG 0.1mg/ml	Agua ml
1	3	1	0.5	0.1	-	0.2
2	3	1	0.5	0.1	0.1	0.1
3	3	1	0.5	0.1	0.2	-

Dejar en baño de agua a 37°C entre 18 y 24 hrs. Enfriar al chorro de agua, hacer 3 extracciones con 6 ml de AcOEt c/u: agitando 10 min. a la velocidad máxima del agitador mecánico para cada extracción. A la fase orgánica que ha sido recolectada en tubos de 25 x 190, se le agrega un ml. de KHCO_3 0.05 M, se agita 5 min a una velocidad de 5 en el rotador. Pasar la fase orgánica a otro tubo del mismo tamaño y agregarle aproximadamente 1 g de sulfato de sodio

anhidro, agitar en el vortex, vaciar a un tubo de 25 x 150; agregar un mil de AcOEt al tubo con sulfato de sodio anhidro, agitar en el vortex y juntar con la fase orgánica. Evaporar a 40°C en baño de agua y con corriente de N_2 . Enfriar los tubos, agregarles 0.5 ml de AcOEt y 100 μl de AMFB, agitarlos 1 min en el vortex y dejarlos reposar una hora., ponerlos a evaporar 1h y media en baño de agua y corriente de N_2 . Enfriar los tubos agregarles 2 ml de AcOEt y agitar 1 min en el vortex, vaciar la fase orgánica a otro tubo del mismo tamaño, agregarle aproximadamente 0.5 de sulfato de sodio anhidro, vaciar la fase orgánica a otro tubo del mismo tamaño; añadir 1 ml de AcOEt al tubo con sulfato de sodio, agitar en el vortex y juntar en la fase orgánica. Poner a evaporar en baño de agua a 40°C y corriente de N_2 . Enfriar los tubos y disolverlos en 4 ml (medidos con pipeta volumétrica) de AcOEt agitar 1 min en el vortex e inyectar 1 μl en el cromatógrafo con las siguientes condiciones: T de la columna 150°C . T del inyector 190°C . T del detector 200°C . Flujo N_2 60 ml/min. Vel carta 0.5 cm/min. Atenuación 2^{11} o 2^{12} . Sensibilidad de pendiente 1.2.

3. OPTIMIZACION DE LAS CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS.

Los resultados que se muestran en la gráfica 3 son los logrados con la optimización, obsérvese que a partir de 0 a 10 $\mu\text{g/ml}$ la respuesta del detector es lineal.

4. ESTUDIO DE LA VARIACION DEL METODO.

Para encontrar la variación del método se procesó 10 veces un estandar de MHPG con una concentración de 5 microgramos/ml encontrándose un coeficiente de variación de 12.36 %. En base a lo anterior y con el fin de evitar al máximo las interferencias en la cuantificación se hizo una calibración en condiciones estrictamente idénticas a las de la determinación o sea por el método de las adiciones patrón.

5. ESTABLECIMIENTO DE LOS VALORES DE REFERENCIA EN
ORINAS DE 24 HRS DE INDIVIDUOS NORMALES.

Esta fase del proyecto se realizó a partir de mayo de 1980 y hasta Septiembre de 1981 se tenían los siguientes normales de referencia:

Control No	Volumen	Creatinina	MHPG
mujeres	(ml)	(g/24 h)	(mg/24h)
1	420 ml,	-	3.400
2	830 ml	-	2.290
5	890 ml	0.65	1.480
11	955 ml	0.88	1.741
13	1310ml	1.09	2.418
16	820ml	0.67	2.217
Hombres.			
3	710 ml	-	2.530
4	930 ml	-	1.420
7	1230 ml	1.41	2.487
8	1370 ml	1.58	2.399
9	920 ml	1.29	2.297
10	730 ml	1.22	1.561
12	1210 ml	1.99	2.324
15	1260 ml	1.54	2.049

Cabe decir que se realizó una comparación entre los resultados obtenidos por este laboratorio con los resultados obtenidos por el Dr. T. Meyer del laboratorio de Toxicología de la Clínica Mayo, Rochester, Minn., habiéndose encontrado una buena correlación en 10 muestras tomadas al azar.

RESULTADOS.-

Los valores del MHPG observados en el estudio de sujetos normales tuvieron variaciones considerables. Se utilizaron cuatro formas de expresión de los resultados del MHPG:

- 1) MHPG en miligramos por 24 hrs.
- 2) MHPG en miligramos por gramos de creatinina.
- 3) MHPG en miligramos por metro cuadrado de superficie corporal.
- 4) MHPG microgramos por mililitro.

El análisis de los resultados demuestra que las variaciones de los datos son principalmente de tipo individual. Para MHPG mg/24 hr encontramos que el valor mínimo fue 1.71 y el máximo 3.006 preclonidina con un promedio de 2.097 ± 0.205 . Para MHPG mgr/gr creatinina los resultados fueron: Valor Máximo 4.089 y valor mínimo 0.807 preclonidina, con un promedio de 1.724 ± 0.446 . Para el MHPG mgr/ m² superficie corporal los resultados fueron: Valor máximo 2.305 y el mínimo 1.651 preclonidina con un valor promedio de 1.242 ± 0.215 . y finalmente para MHPG ugr/ml el valor máximo fue de 4.945 y el mínimo de 1.419 preclonidina con un promedio de 2.663 ± 0.441 . (Ver tablas No 4,5,6,7 y 8)

En los resultados postclonidina se observa una franca reducción de los valores previos a la administración del fármaco, aunque nuevamente existen variaciones interindividuales importantes, lo cual es posible observar en las tablas de resultados (Ver taolas 9,10,11 y 12)

La expresión del MHPG en ug/ml se observó como el de mejor utilidad, dado que puede diferenciar mas claramente los grupos de sujetos y que se presta a un manejo más uniforme en la graficación de los resultados. Fue con este tipo de expresión en el que se hace más notoria la diferencia de excreción de MHPG en mujeres, las cuales mostraron en forma consistente, en las cuatro formas de representación mayores niveles de MHPG y no solo eso, sino que tambien se observa que sus niveles de MHPG bajan más

en la medición postclonidina. Para ejemplificar lo anterior tenemos los valores de MHPG expresados en $\mu\text{g/ml}$: En el análisis del total de voluntarios encontramos que la cantidad promedio preclonidina fue 2.663 ± 0.441 y postclonidina 1.979 ± 0.277 con un porcentaje de reducción entre los dos valores de 25.7%. Para el grupo de mujeres (N:4) el MHPG $\mu\text{g/ml}$ preclonidina fue de 3.518 ± 1.218 y postclonidina 1.888 ± 0.457 con un porcentaje de reducción de 46.2%. Finalmente en el grupo de Hombres (N:10) el MHPG $\mu\text{g/ml}$ preclonidina fue de 2.315 ± 0.383 y en la postclonidina 2.115 ± 0.463 con una reducción solo del 8.64%.

La excreción de MHPG no se relaciona a la excreción de creatinina o a los volúmenes urinarios. En ambas correlaciones tenemos grandes variaciones. Para la correlación con creatinina tenemos que las variaciones fueron de 4.089 a 1.494 (con un promedio de 2.805 ± 1.309) y para la correlación de MHPG volumen los datos variaron de 4.945 a 2.704 (con un promedio de 3.518 ± 1.218).

En la gráfica 17 se observa una franca distribución bimodal de los resultados, correspondiendo el primer pico a los voluntarios masculinos y el segundo a los femeninos, en la gráfica siguiente (Gráfica 18) postclonidina, se observa también una distribución bimodal, pero el segundo pico ha bajado más y esto corresponde a la respuesta exagerada que tuvieron el grupo femenino a la clonidina. Estos modos de distribución no se detectan en el resto de las figuras representadas. (Ver resto de histogramas :19,20,21,22 23 y 24)

En las gráficas 4 a 16, se muestran en forma comparativa los valores preclonidina y postclonidina de MHPG en las diversas unidades utilizadas y en mujeres, hombres y el grupo total de voluntarios. Es marcada la pendiente de descenso en la mayoría de las líneas y se hace más objetivo en donde se trazó la línea Media (\bar{X}) en las gráficas de totales (Gráficas 13,14,15 y 16).

EXCRECIÓN URINARIA DE MHPG SUJETOS MASCULINOS

PRECLONIDINA Y POSTCLONIDINA

Cuadro 4

No. sujeto	Volumen (ml)	Creat. (mg/24hr)	MHPG (mg/24h)	MHPG (mg/kg Creat)	MHPG ₂₄ (mg/m ² ·30)	MHPG (ug/ml)
17	a) 660	1.35	1.852	1.357	1.018	2.775
	b) 1150	1.28	1.524	1.191	0.847	1.325
20	a) 1020	1.76	2.714	1.542	1.423	2.660
	b) 1220	1.85	2.424	1.316	1.281	1.995
23	a) 1030	1.59	2.768	1.741	1.600	2.687
	b) 825	1.47	2.613	1.777	1.510	3.167
24	a) 780	1.57	2.689	1.713	1.519	3.447
	b) 920	1.67	2.269	1.359	1.282	2.466
25	a) 1010	1.7	2.958	1.728	1.554	2.909
	b) 650	1.04	1.915	1.842	1.013	2.946
26	a) 695	1.38	1.275	0.807	0.678	1.834
	b) 595	1.24	1.077	0.869	0.573	1.810
28	a) 1120	1.93	1.848	0.957	1.021	1.650
	b) 910	1.39	1.353	0.973	0.748	1.487
30	a) 1020	1.52	1.897	1.298	0.912	1.860
	b) 860	1.88	1.271	0.676	0.611	1.478
31	a) 735	1.59	1.407	0.885	0.843	1.914
	b) 570	0.89	1.215	1.365	0.728	2.152
32	a) 825	1.34	1.171	0.896	0.654	1.419
	b) 850	1.64	1.130	--	0.631	1.329

a) Preclonidina
b) Postclonidina.

EXCRECION URINARIA DE MHPG EN SUJETOS FEMENINOS

PRECLONIDINA Y POSTCLONIDINA

Cuadro 5

No sujetos	Volumen (ml)	Creat. g/24hr	MHPG mg/24hr	MHPG mg/g Cr	MHPG ₂ mg/m ² SC	MHPG ug/ml
16	a) 820	0.67	2.217	3.238	1.540	2.704
	b) 900	0.98	1.923	1.962	1.335	2.137
18	a) 610	0.920	2.209	2.402	1.389	3.621
	b) 710	1.10	1.606	1.46	1.010	2.262
21	a) 620	0.75	3.006	4.089	2.305	4.945
	b) 1010	0.91	1.366	1.941	1.328	1.748
22	a) 480	0.90	1.395	1.494	0.927	2.802
	b) 850	0.88	1.194	1.357	0.823	1.405
a) Preclonidina b) Postclonidina.						

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
CON EL TOTAL DE VOLUNTARIOS SANOS (N 14)

Cuadro 6

Analisis	Volumen (ml)	Creat g/24 hr	MHPG mg/24	MHPG mg/gCr	MHPG mg/m ² SC	MHPG ug/ml
Sumatoria	a) 11425	18.97	29.366	24.147	17.388	57.287
	b) 12020	18.22	22.88	18.088	13.72	27.707
Media X	a) 816.071	1.355	2.097	1.724	1.242	2.663
	b) 858.57	1.301	1.634	1.39	0.98	1.979
Desviación Estandar	a) 196.06	0.395	0.645	0.943	0.456	0.932
	b) 189.375	0.355	0.509	0.407	0.315	0.586
Varianza	a) 38492.99	0.156	0.416	0.889	0.869	0.869
	b) 35863.186	0.126	0.259	0.166	0.099	0.344
Intervalo de Confianza.	a) 816.071 ±1.771	1.355 ±1.86	2.097 ±0.305	1.724 ±0.446	1.242 ±0.215	2.663 ±0.441
	b) 858.57 ±89.70	1.301 ±0.168	1.634 ±0.240	1.391 ±0.198	0.98 ±0.149	1.979 ±0.277
Valor Max.	a) 1120	1.93	3.006	4.089	2.305	4.945
	b) 1220	1.88	2.613	1.962	1.335	3.167
Valor Min.	a) 610	0.67	1.171	0.807	0.654	1.419
	b) 570	0.88	1.077	0.676	0.573	1.325
Rango.	a) 510	1.26	1.835	3.282	1.651	3.526
	b) 650	1.00	1.536	1.286	0.762	1.842

a) Preclonidina

b) Postclonidina.

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
CON DIEZ VOLUNTARIOS MASCULINOS.

Cuadro 7

Analisis	Volumen (ml)	Creat. g/24hr	MHPG mg/24h	MHPG mg/g Cr	MHPG ² mg/m ² SC	MHPG ug/ml
Sumatoria	a) 8895	15.73	20.089	12.924	11.227	23.155
	b) 8550	14.35	16.791	11.368	9.224	21.155
Media \bar{X}	a) 889.5	1.573	2.008	1.292	1.122	2.315
	b) 855	1.435	1.679	1.263	0.922	2.115
Desviación Estándar	a) 167.322	0.189	0.618	0.380	0.369	0.662
	b) 215.844	0.33	0.578	0.389	0.331	0.800
Varianza	a) 27996.94	0.0359	0.382	0.145	0.136	0.438
	b) 46588.88	0.109	0.334	0.151	0.109	0.641
Intervalo de Confianza	a) 889.6 ± 96.987	1.573 ± 0.109	2.008 ± 0.358	1.292 ± 0.220	0.122 ± 0.213	2.315 ± 0.383
	b) 855 ± 125.113	1.435 ± 0.191	1.679 ± 0.335	1.263 ± 0.241	0.922 ± 0.191	2.115 ± 0.463
valor Max:	a) 1120	1.93	2.768	1.741	1.600	3.447
	b) 1220	1.85	2.613	1.842	1.510	3.167
valor Minin:	a) 660	1.34	1.171	0.807	0.654	1.419
	b) 570	0.89	1.077	0.676	0.573	1.325
Rango	a) 460	0.59	1.597	0.934	0.946	2.028
	b) 650	0.96	1.536	1.166	0.937	1.892

a) Preclonidina
b) Postclonidina.

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
CON CUATRO VOLUNTARIAS FEMENINA.

Cuadro 8

Analisis	Volumen (ml)	Creat. r/24hr	MHPG mgr/24hr	MHPG mg/g Cr	MHPG mg/m ² Sc	MHPG ug/ml
Sumatoria	a) 2530	3.24	8.827	11.223	6.161	14.072
	b) 3470	3.87	6.089	6.72	4.496	7.552
Media (X)	a) 632.5	0.81	2.206	2.805	1.540	3.518
	b) 867.5	0.967	1.522	1.68	1.124	1.883
Desviación Estandar	a) 140.32	0.120	0.657	1.113	0.572	1.036
	b) 124.46	0.097	0.316	0.316	0.251	0.389
Varianza \bar{x}^2	a) 19691.66	0.0144	0.432	1.239	0.327	1.074
	b) 15491.66	0.009	0.099	0.100	0.063	0.151
Intervalo de Confianza	a) 632.5 \pm 165.093	0.81 \pm 0.141	2.206 \pm 0.077	2.805 \pm 1.309	1.540 \pm 0.672	3.518 \pm 1.218
	b) 867.5 \pm 146.433	0.967 \pm 0.114	1.522 \pm 0.371	1.68 \pm 0.371	1.124 \pm 0.295	1.888 \pm 0.457
Valor MAX.	a) 820	0.920	3.006	4.089	2.305	4.945
	b) 1010	1.10	1.923	1.962	1.335	2.208
Valor Min:	a) 480	0.67	1.395	1.494	0.927	2.704
	b) 710	0.88	1.194	1.357	0.823	1.405
Rango	a) 340	0.25	1.611	2.595	1.378	2.241
	b) 300	0.22	0.729	0.605	0.512	0.857

a) Preclonidina

b) Postclonidina.

MHPG

mg/24 hrs

COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
EN LOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS.

Cuadro 9

	Media	σ	σ^2	I.C.	V. Max.	V. Min.	Rango	% de Reduc
Mujeres (N 4)	a) 2.206	0.657	0.432	2.206 ± 0.077	3.006	1.395	1.64	31.01%
	b) 1.522	0.316	0.099	1.522	1.923	1.194	0.79	
Hombres (N 10)	a) 2.008	0.618	0.382	± 0.571 2.008 ± 0.358	2.768	1.71	1.597	16.39%
	b) 1.679	0.578	0.334	1.679 ± 0.335	2.613	1.077	1.536	
No Total Voluntarios (N 14)	a) 2.097	0.645	0.889	2.097 ± 0.305	3.006	1.171	1.835	22.00%
	b) 1.634	0.509	0.259	± 1.634 ± 0.240	2.613	1.077	1.536	

MHPG mg/gr de Creatinina

COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN
LOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS.

Cuadro 10

	Media	σ	σ^2	I.C	V. Max.	Vmin	Rango	%
Mujeres. (N 4)	2.805	1.113	1.239	2.805	4.089	1.494	2.595	40.11%
				± 1.309				
Hombres (n 10)	1.68	0.316	0.100	1.680	1.962	1.357	0.605	2.25%
				± 0.371				
No Total de vol. (N 14)	1.292	0.380	0.145	1.292	1.741	0.807	0.934	19.38%
				± 0.220				
	1.263	0.389	0.151	1.263	1.842	0.676	1.166	
				± 0.247				
	1.724	0.943	0.889	1.724	4.089	0.807	3.282	
				± 0.446				
	1.390	0.407	0.166	1.391	1.962	0.676	1.286	
				± 0.198				

a) Preclonidina

b) Postclonidina

MHPG mg/ m² Superficie Corporal.

COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
EN LOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS. Cuadro 11

	Media \bar{x}	σ	σ^2	I.C.	V.Max.	V. min.	Rango	% de Reduc
Mujeres (N 4)	a) 1.540	0.572	0.327	1.540 ± 0.672	2.305	0.927	1.378	27.02
	b) 1.124	0.251	0.063	1.124 ± 0.295	1.335	0.823	0.512	
Hombres (N 10)	a) 1.122	0.369	0.136	0.122 ± 0.213	1.600	0.654	0.946	17.83%
	b) 0.922	0.331	0.109	0.922 ± 0.191	1.510	0.573	0.973	
Total de Voluntarios.	a) 1.242	0.456	0.869	1.242 ± 0.215	2.305	0.654	1.651	21.1%
	b) 0.98	0.315	0.099	0.98 ± 0.149	1.335	0.573	0.762	

MHPG mg/ m² Superficie Corporal.

COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

EN LOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS. Cuadro 11

	Media \bar{x}	σ	σ^2	I.C. \pm	V.Max.	V. min.	Rango	% de Reduc
Mujeres (N 4)	a) 1.540	0.572	0.327	1.540 \pm 0.672	2.305	0.927	1.378	27.02
	b) 1.124	0.251	0.063	1.124 \pm 0.295	1.335	0.823	0.512	
Hombres (N 10)	a) 1.122	0.369	0.136	0.122 \pm 0.213	1.600	0.654	0.946	17.83%
	b) 0.922	0.331	0.109	0.922 \pm 0.191	1.510	0.573	0.973	
Total de Voluntarios.	a) 1.242	0.456	0.869	1.242 \pm 0.215	2.305	0.654	1.651	21.1%
	b) 0.98	0.315	0.099	0.98 \pm 0.149	1.335	0.573	0.762	

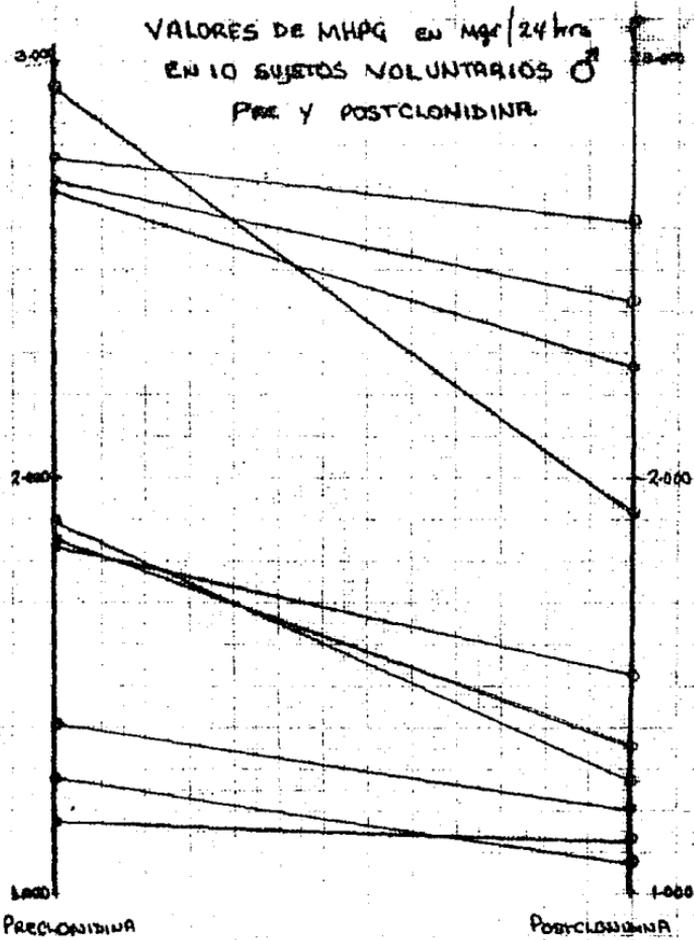
MHPG ug/ml COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS
EN LOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS

Cuadro 12

	Media \bar{x}	σ	σ^2	I.C.	V. Max.	V. min	Rango	% de reduc.
Mujeres (N 4)								
a)	3.518	1.036	1.074	3.518 ± 1.218	4.945	2.704	2.241	46.2%
b)	1.888	0.389	0.151	1.888 ± 0.457	2.202	1.405	0.857	
Hombres. (N 10)								
a)	2.315	0.662	0.438	2.315 ± 0.383	3.447	1.419	2.028	8.64%
b)	2.115	0.800	0.641	2.115	3.167	1.325	1.892	
Total de Vol .								
a)	2.663	0.932	0.869	± 0.463 2.663 ± 0.441	4.945	1.419	3.526	25.7%
b)	1.979	0.596	0.344	1.979 ± 0.277	3.167	1.325	1.842	

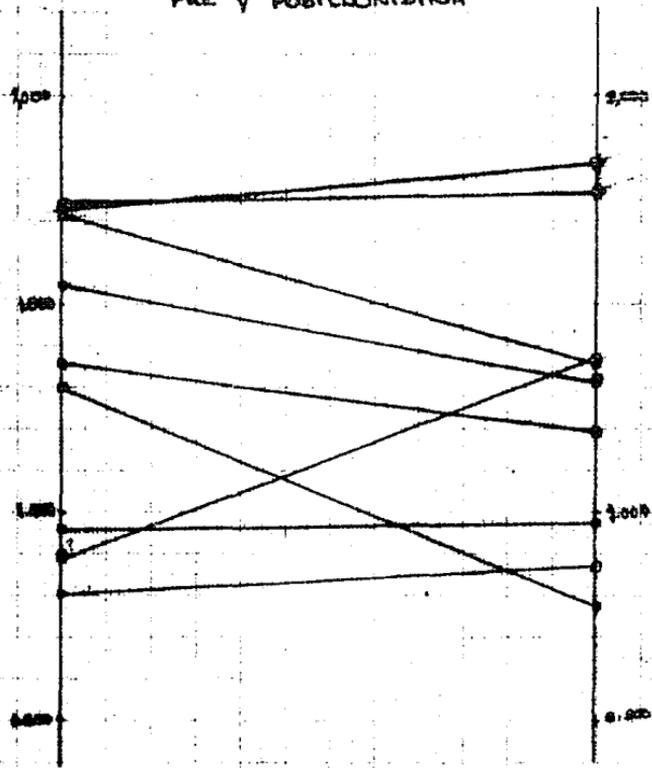
a) Preclonidina
b) Postclonidina.

VALORES DE MHPG EN Mgr/24hrs
EN 10 SUJETOS VOLUNTARIOS ♂
PRE Y POSTCLONIDINA



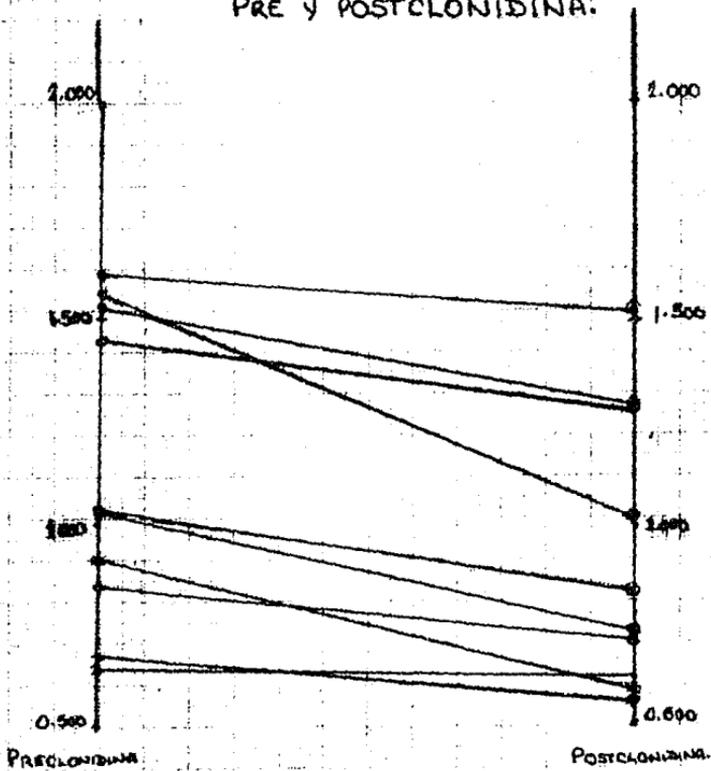
GRAFICA 4

VALORES DE MUPQ EN mgr/gr CREATININA
 EN 10 SUJETOS VOLUNTARIOS
 PRE Y POSTCLONIDINA



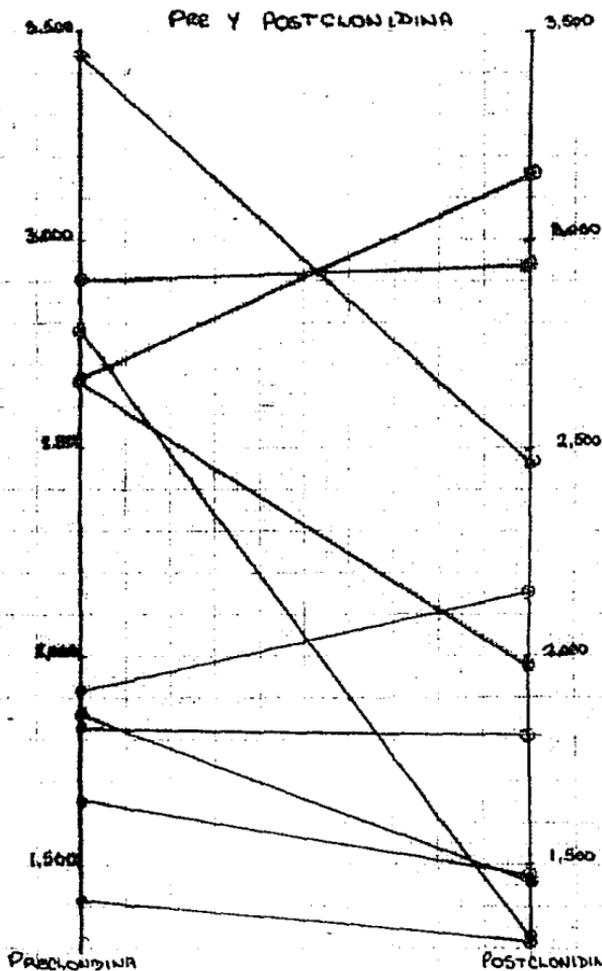
POSTCLONIDINA
 GRAFICA 5

VALORES DE MHPG EN $\text{mgr}/\text{m}^2 \text{ s. corp.}$
EN 10 SUJETOS VOLUNTARIOS ♂
PRE Y POSTCLONIDINA.



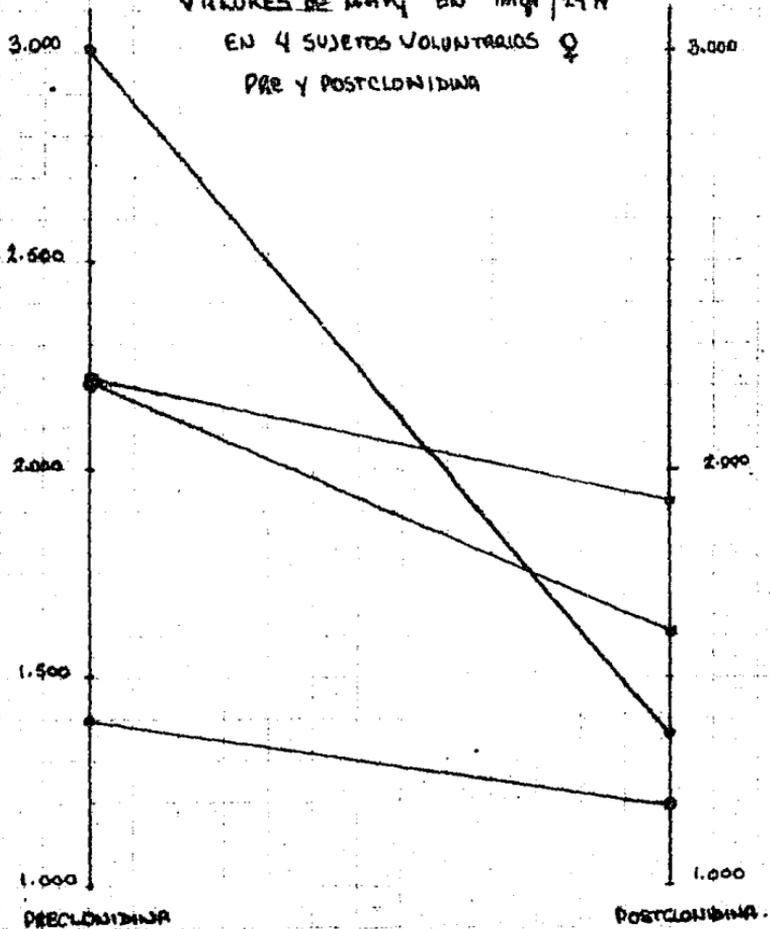
GRAFICA 7

VALORES DE MHPQ EN $\mu\text{gr/ml}$
 EN 10 SUJETOS VOLUNTARIOS σ



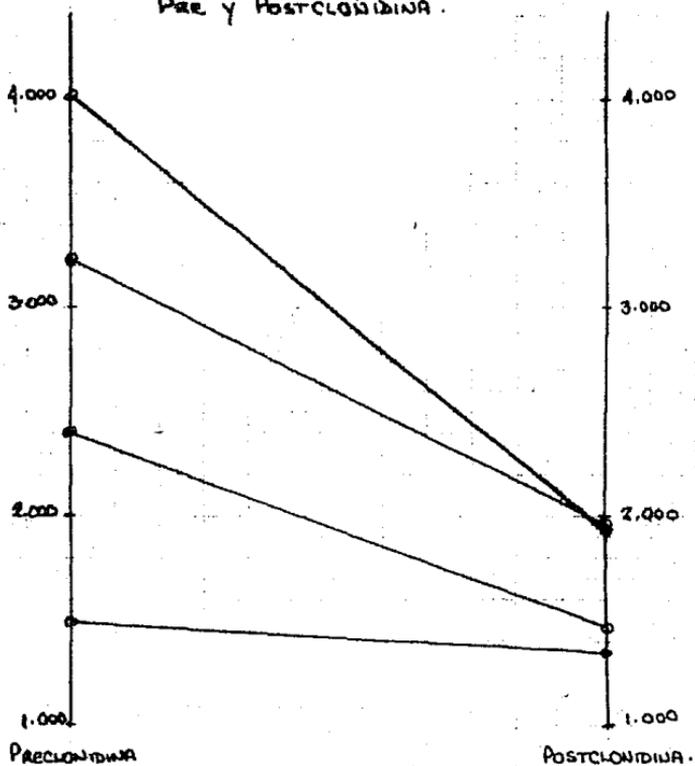
GRAFICA 8

VALORES DE MHPG EN mgr/24h
EN 4 SUJETOS VOLUNTARIOS ♀
PRE Y POSTCLONIDINA



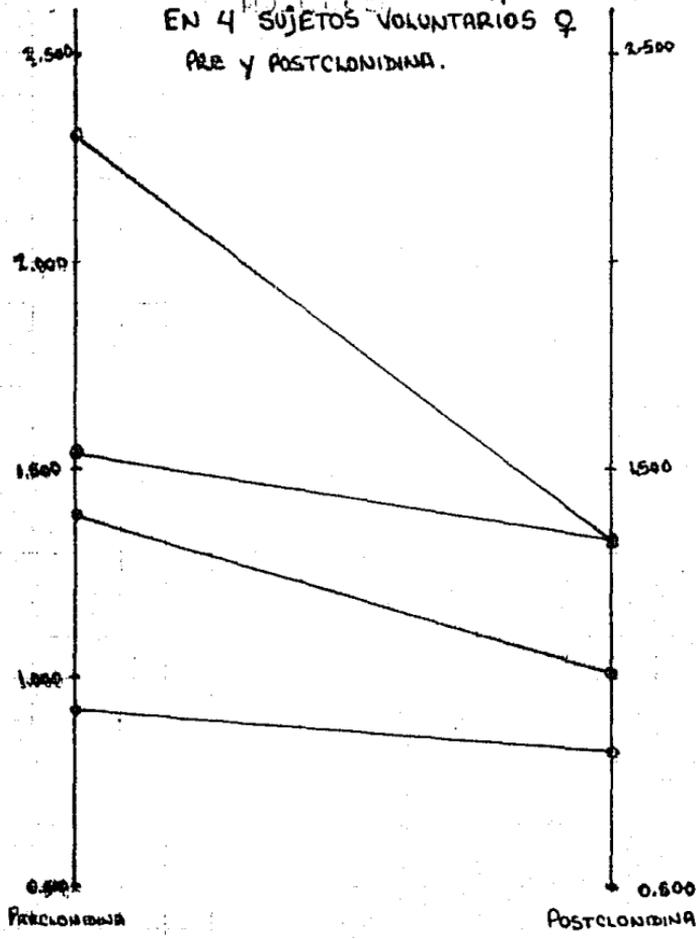
GRAFICA 9

VALORES DE MHPG EN mg/g. CREATININA
EN 4 SUJETOS VOLUNTARIOS ♀
PRE Y POSTCLONDINA.



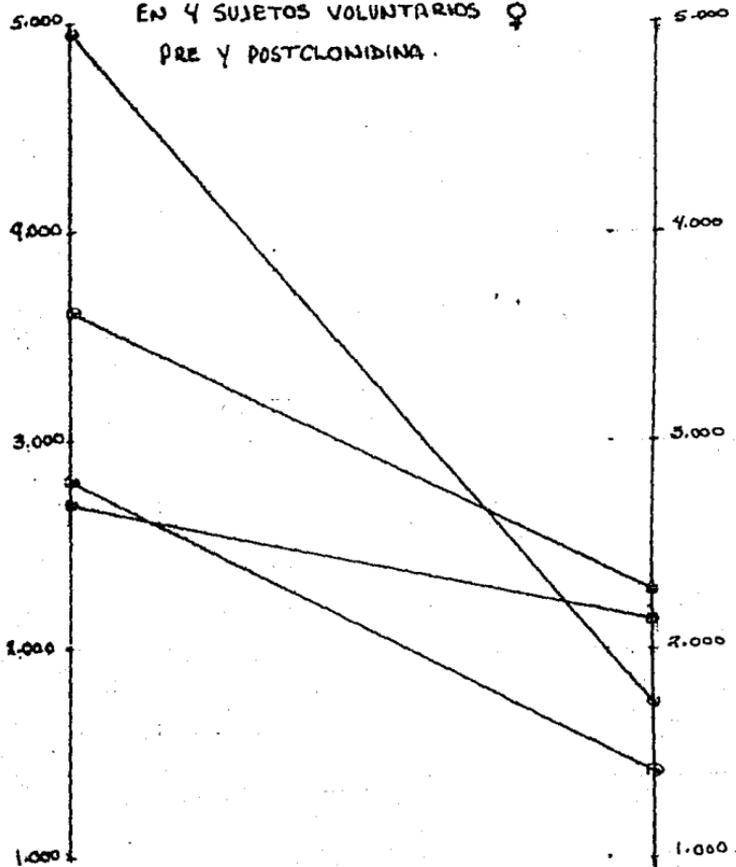
GRAFICA 10

VALORES DE MHPG EN mg/m^2 CORPORAL
EN 4 SUJETOS VOLUNTARIOS ♀
PRE Y POSTCLONIDINA.

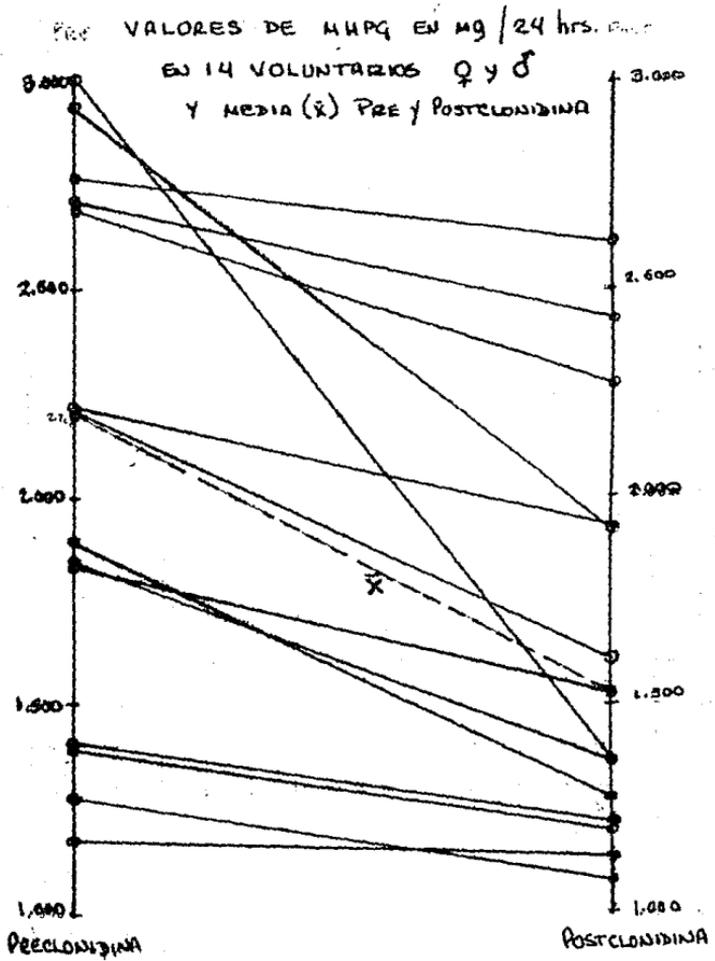


GRAFICA 11

VALORES DE MHPG EN $\mu\text{g/ml}$
EN 4 SUJETOS VOLUNTARIOS ♀
PRE Y POSTCLONIDINA.



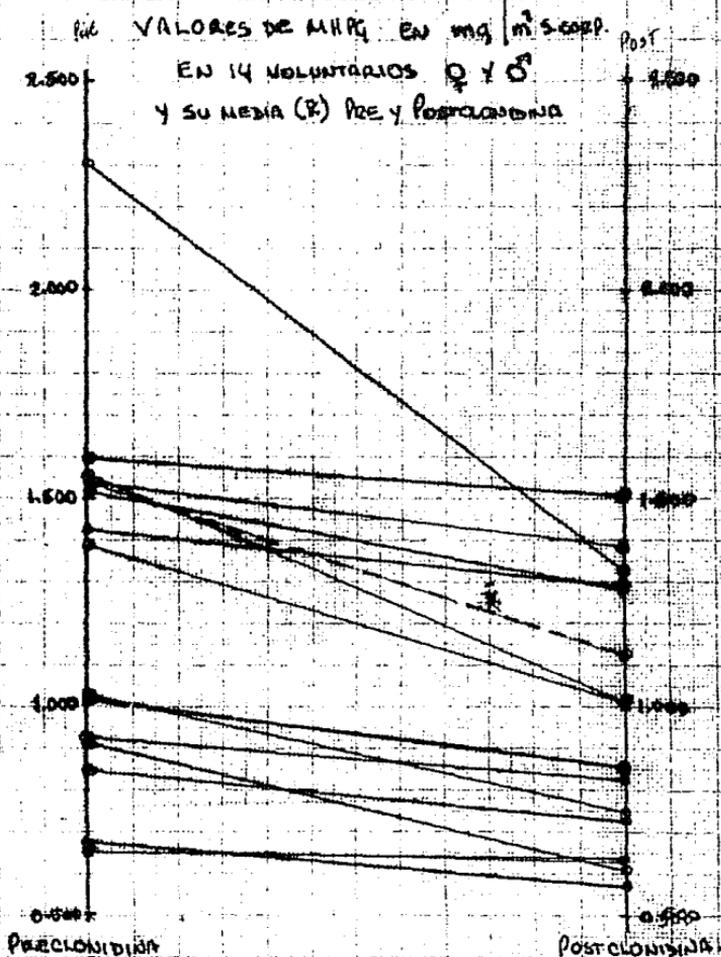
GRAFICA 12



210 / 50 hrs.

GRAFICA 13

GENERAL



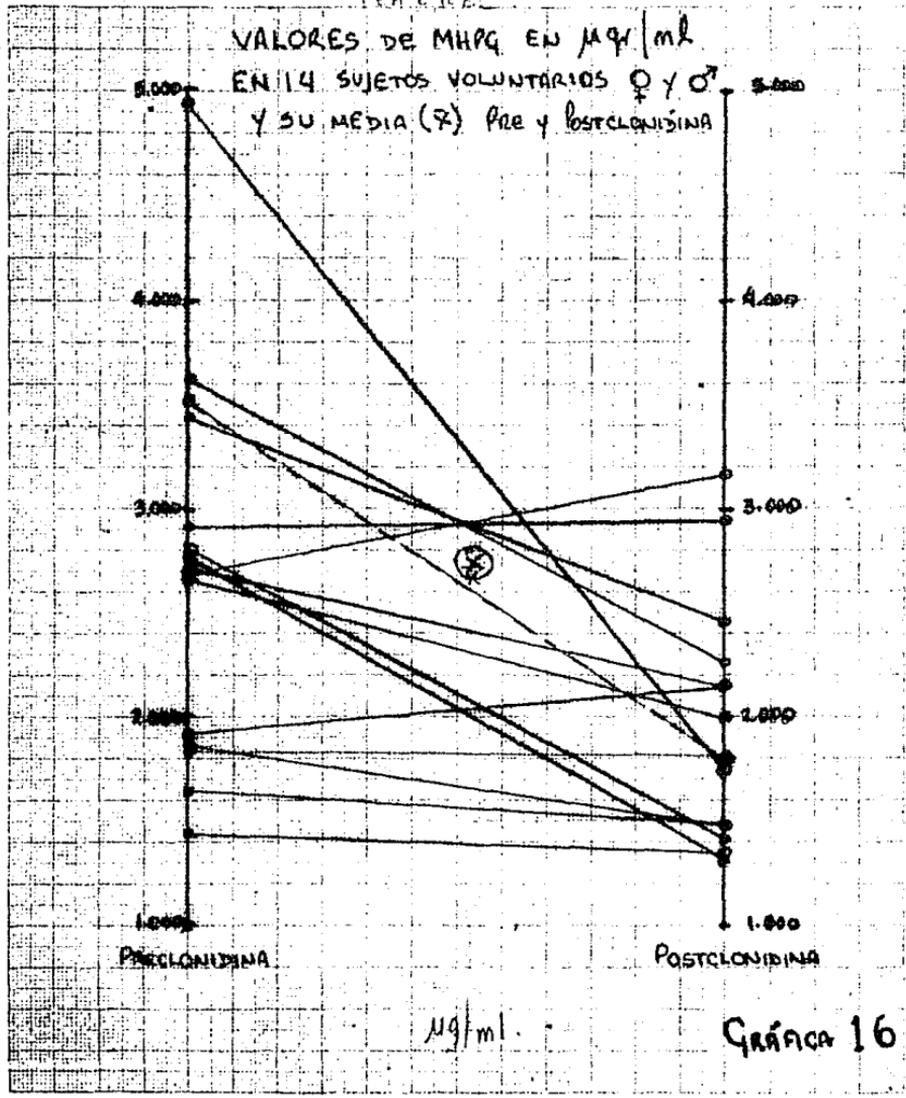
$\text{mg}/\text{m}^3 \text{corp.}$

GRAFICA 15

84

9-EN-6-14-2

VALORES DE MHPG EN $\mu\text{g}/\text{ml}$
EN 14 SUJETOS VOLUNTARIOS ♀ Y ♂
Y SU MEDIA (\bar{x}) ANTE Y POSTCLONIDINA

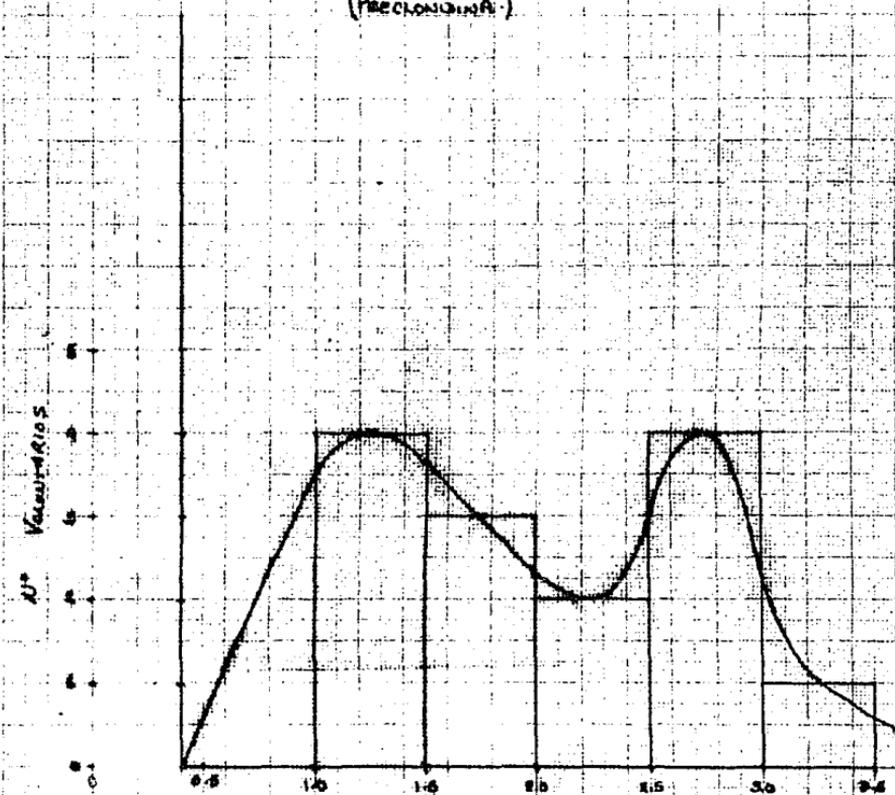


$\mu\text{g}/\text{ml}$.

GRÁFICA 16

P 11

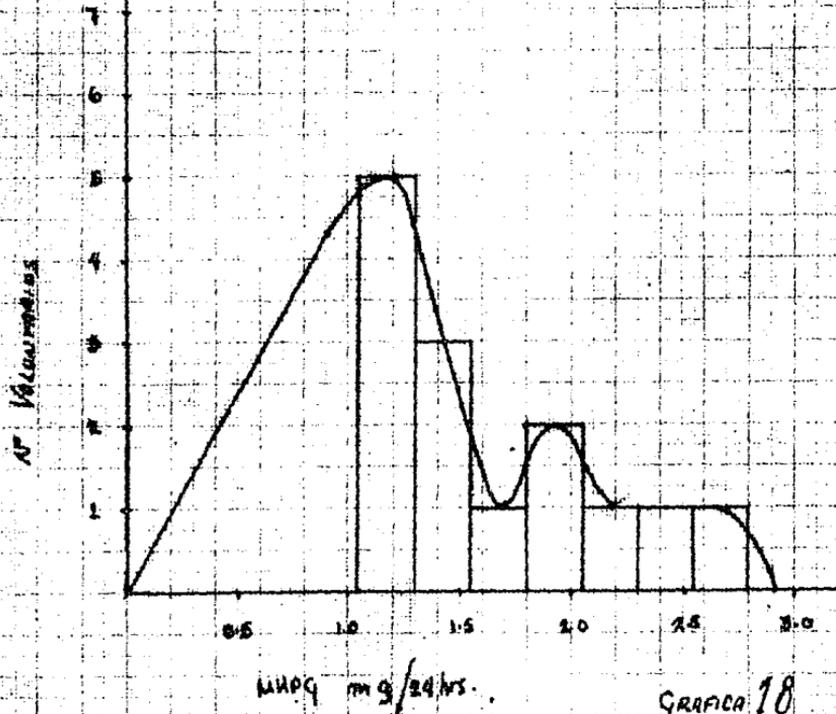
RELACION ENTRE EL TOTAL DE
VOLUNTARIOS Y EXCRECION DE MHPG mg/24h
(PRELONIDINA)



MHPG mg/24h

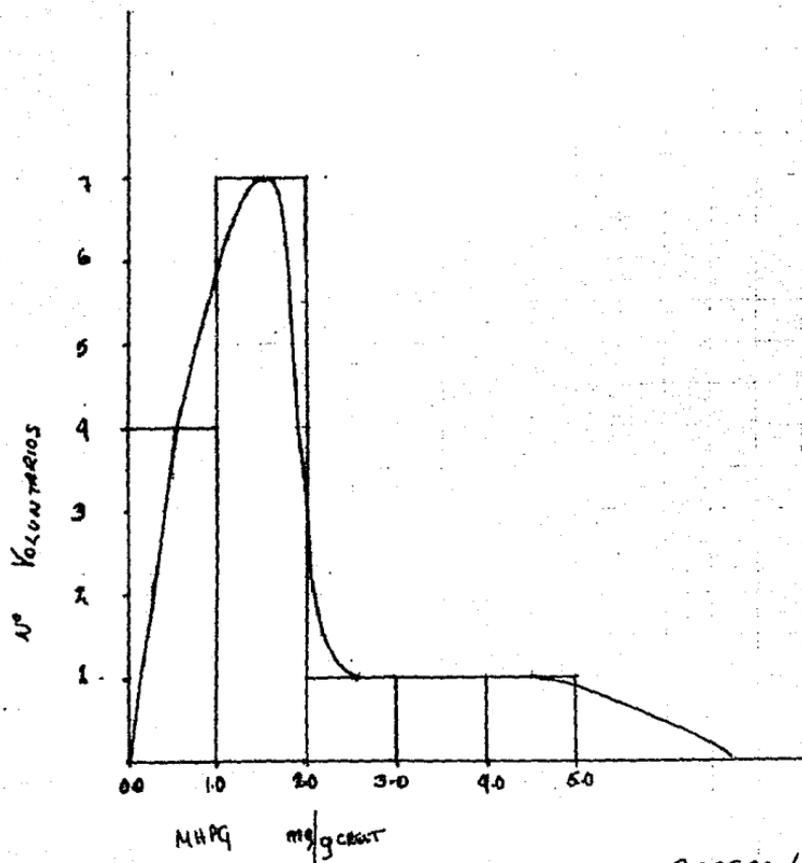
GRAFICA 17

RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y AMPG EN mg/24 hrs. (POST-CLONIDINA)



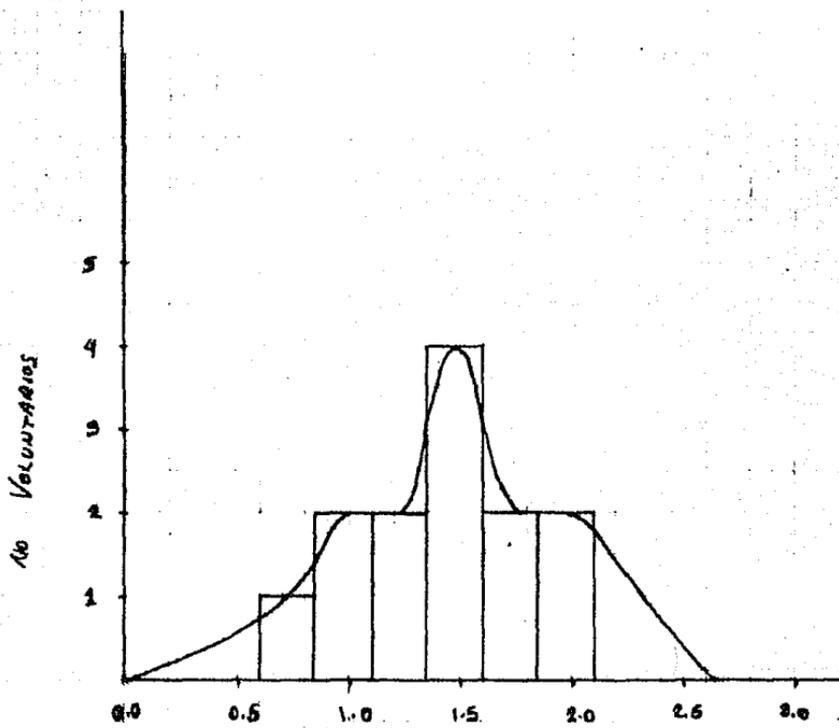
GRAFICA 18

RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y MHPG mg/g CEPATINA (AZECLONIDINA)



GRAFICA 19

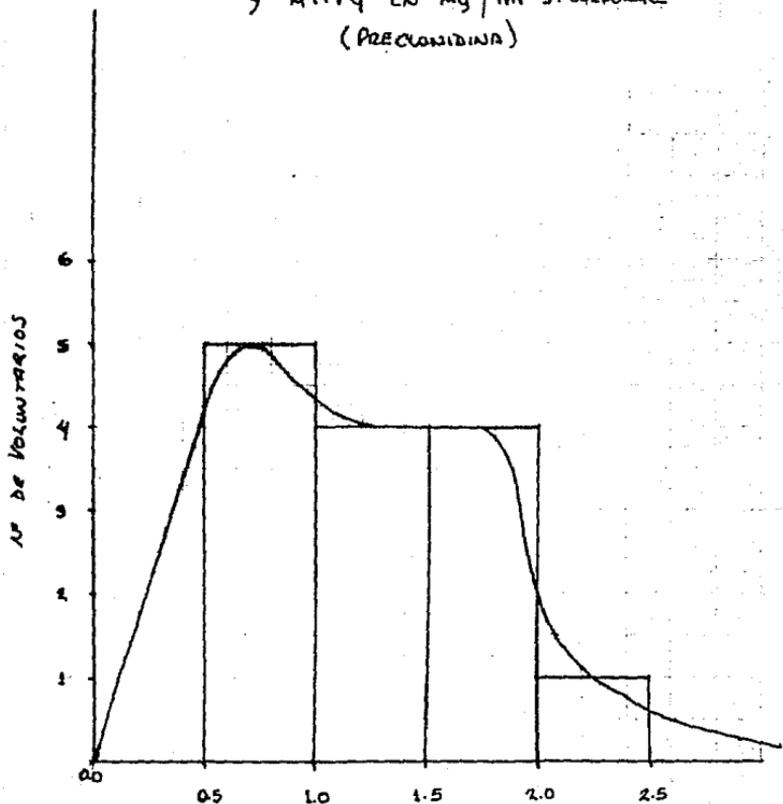
RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y MHPG mg/g CEFALINA (POST CLONIDINA)



MHPG mg/g CEFALINA.

GRAFICA 20

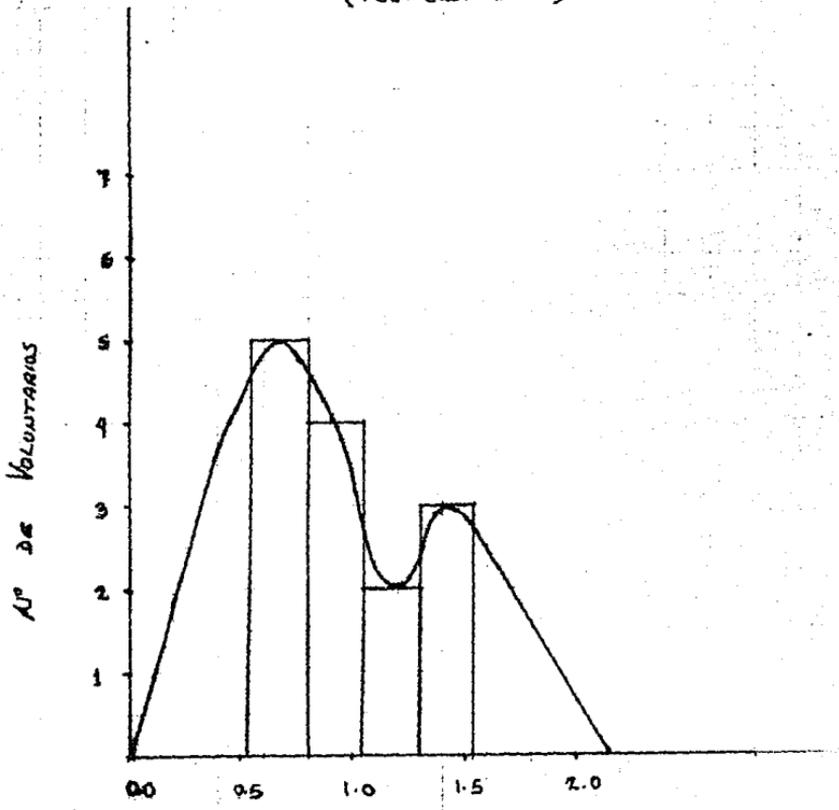
RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y MHPG EN $\text{mg}/\text{m}^2 \text{ S. CORPORAL}$
(PRECLONIDINA)



MHPG $\text{mg}/\text{m}^2 \text{ S. CORPORAL}$

GRAFICA 21

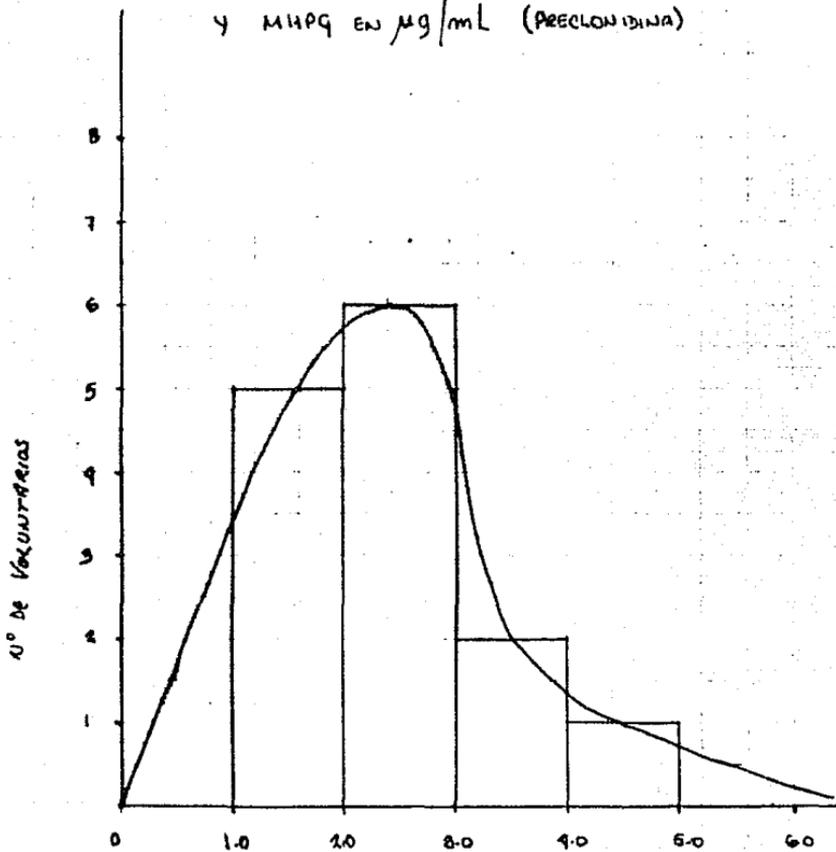
RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
 Y MHPG EN mg/m^2 S. CORPORAL.
 (POST CLONIDINA)



MHPG en mg/m^2 corporal.

GRAFICO 22.

RELACION DE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y MHPG EN $\mu\text{g/ml}$ (PRECLONIDINA)

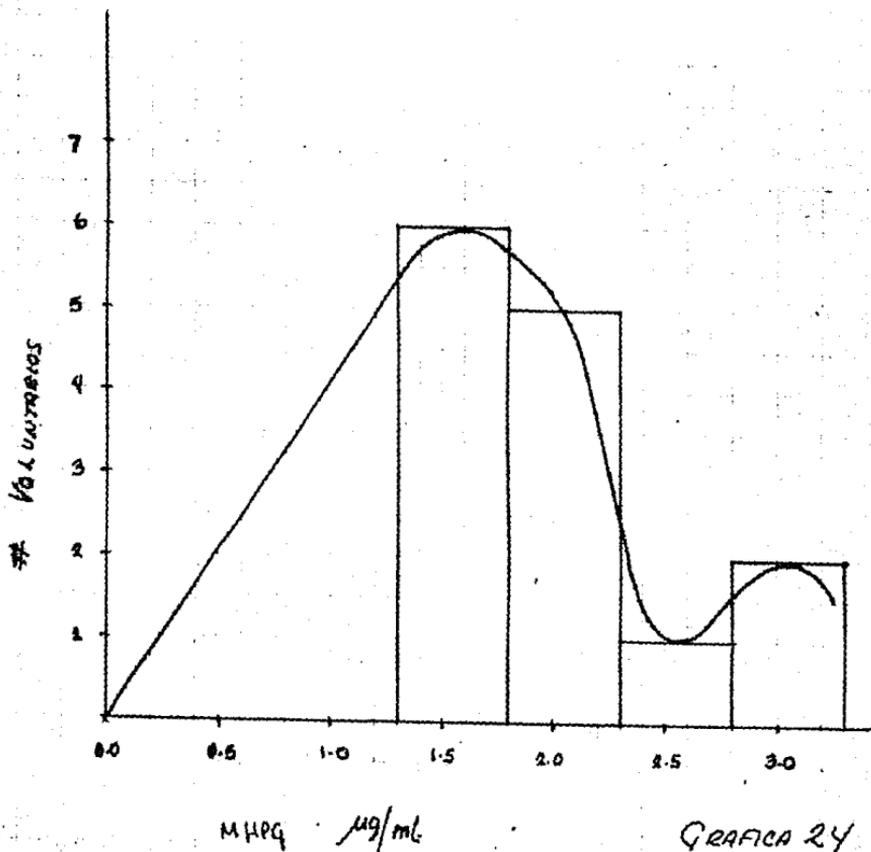


ES ADIAPD

MHPG $\mu\text{g/ml}$

GRAFICA 23.

RELACION ENTRE TOTAL DE VOLUNTARIOS
Y MHPG EN $\mu\text{g/ml}$ (POSTCLONIDINA)



GRAFICA 24

COMENTARIO.-

Este trabajo es un reporte preliminar de una serie de trabajos que se efectuaron con pacientes deprimidos. Los resultados obtenidos en este estudio, son alentadores y han servido entre otras cosas, para probar la efectividad del trabajo en grupo entre investigadores básicos y Clínicos en el campo de la Psiquiatría.

El coeficiente de variación que se observó fue de 12.36%, el cual es considerado como adecuado. Hollister y Cols. (16) reportan para su estudio con voluntarios sanos un coeficiente de variación de 13.2%.

Con otros grupos de Investigadores, observamos que no existe un valor basal de MHPG, (16,6,8). Se sugiere que en futuros estudios se tomen múltiples líneas basales y que cuando se trabaje con pacientes, deberá de tratarse de que el grupo control este apareado por edad, sexo y peso, de ser posible, para que puedan ser más confiables los resultados. Todo lo anterior, tomando en cuenta que la excreción de MHPG no es un valor constante y que tiene grandes variaciones aun dentro de un mismo individuo, como se ha mencionado en la introducción, esta puede ser de 25% a 219% con un promedio de 80% para los coeficientes de variación(16). Ocurriendo estas variaciones sin que se registren cambios en el afecto dominante en el sujeto. En este trabajo encontramos que una de las voluntarias (No 21) que obtuvo un valor de 4.945 ug/ml no presentó datos de hipomanía o de ansiedad y que otro de los voluntarios con el valor más bajo de los datos(No 32) con un MHPG de 1.419 ug/ml, no cursaba con datos clínicos de depresión. Lo anterior es porqué existen otros factores de tipo neurobioquímico y ambientales que se interrelacionan para dar como resultado los cuadros clínicos mencionados. No es, con un solo dato aislado, aunque este sea neurobioquímico, que se va a efectuar un diagnóstico.

Las fuentes de artefacto en este trabajo provienen de

diversos eventos no controlados. Uno de estos es la ansiedad presentada por los sujetos durante la colección de las muestras. En un estudio con MHPG, llevado a cabo con pilotos(40) se observó que este se modificaba, elevándose, cuando iban a volar. Otros eventos como la actividad física(39) y factores dietéticos(38) pueden hacer variar los resultados, aunque hay contradicción al respecto. Sin embargo deberá de tomarse en cuenta que, para los siguientes trabajos, será importante llevar un control de estas variables para estudiarlas en -- nuestro medio mexicano. Es poco lo que se ha estudiado también en relación de MHPG y el hábito tabáquico que en ocasiones es menospreciado por el investigador.

Por otra parte se observó que la excreción urinaria de MHPG(en los cuatro tipos de unidades en que se expresaron) fue mayor en las mujeres(ver cuadros). Este dato no es consistente con otros reportes, en donde manejando poblaciones de voluntarios, no se observa diferencia entre hombres y mujeres en cuanto a la excreción de MHPG(16). En otros dos grupos(41 y 42) trabajando con pacientes deprimidos, los valores reportados fueron más bajos para las mujeres. Estos autores desconocen el porqué sucede esto. Sin embargo hacen la observación de que las pacientes que presentaban estos datos, se observaban más enfermas que el grupo de los hombres(42). Es curioso hacer notar, que en este último trabajo citado, aunque las mujeres presentaban niveles bajos de MHPG y de veían más enfermas, 5 de los sujetos masculinos presentaron serios intentos suicidas(Mass y Cols 1968) Tampoco en el presente trabajo, podemos explicar el porqué de que los valores de preclonidina en mujeres fueran significativamente mayores que en el grupo de hombres.

Los resultados de disminución del MHPG postclonidina en los sujetos voluntarios, son consistentes con los reportados por la mayoría de los laboratorios. (31,32,33,34,,25). Siendo notorio que al expresar los datos de MHPG en $\mu\text{g/ml}$ se observa que los datos de MHPG postclonidina no son tan bajos e inclusive se ven elevados(ver gráfica 8).

El uso de la Clonidina ofrece gran variedad de perspectivas en la investigación psiquiátrica, no solo en lo relacionado con el metabolismo de la MA, sino de otras aminas. Hay que recordar que se han comparado algunos efectos farmacológicos de esta droga con los de la Clorpromazina(30). Por lo cual deberá hacerse investigación en la línea de los productos de la Dopamina con la Clonidina. Con este medicamento se abre toda una perspectiva de investigación, de medicamentos que actúen sobre los receptores presinápticos y así modificar la salida de neurotransmisor, es decir "Apagando" la sinapsis. En el campo de la psicofarmacología se puede trabajar en la búsqueda de medicamentos similares con menos efectos de tipo hipotensor y sedativos, o aun más manipulando estos efectos por modificaciones estructurales a las respectivas moléculas.

B I B L I O G R A F I A .

1. JENSEN K. Depression in patients with Reserpine for arterial hypertension. Acta Psychiat. Neurol Scand. 34 195 -204 1959
- 2.-ZELLER EA. BARSKY J. FOUTS JR. Influence of Isonicotinic Acid Hydrazine (INH) and L-Isonicotinic 2-Isopropyl Hydrazina (IIH) on bacterial and mammalian enzymes. Experientia 8: 349 -350 1952
- 3.-SHORE PA. Release of Serotonin and Catecholamines by drugs. Pharmacol. Rev. 14: 531 - 550 1962.
- 4.- JACOBSEN E. The theoretical basis of the chemotherapy of Depression. Depression Proceedings of The Symposium Held at Cambridge 22-26 september 1959. Edited By Davies EB Cambridge, Cambridge University Press. 1964.
- 5.- GLOWINSKI J. AXELROD J. Inhibition of uptake of tritiated Noradrenaline in the intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. Nature 204: 1318-1319 1964.
- 6.- MAAS J.W. Biogenic Amines and Depression. Arch Gen. Psychiatry 32: 1357 - 1361 1975.
- 7.- MAAS J.W. Clinical and Biochemical Heterogeneity of Depressive Disorders. Annals of Internal Medicine 88: 556-563, 1978
- 8.- MAAS J.W. LANDIS DH In vivo studies of metabolism of Nor-epinefrin in central nervous system. J. Pharmacol Exp Ther. 157: 493 - 502 . 1967.
- 9.- SCHANBERG SM SCHILDKRAUT JJ. BRZESE G.A Metabolism of Normetanephrine-³H in rat brain: Identification of conjugated 3-methoxy -4-hydroxy phenylglycol as the major metabolite. Biochem Pharmacol. 17: 247-254, 1968.
- 10.- Le BROUZE A. GAETNER H.J. WIATR G. KUSS HJ. 4-methoxy 3-hydroxyphenylglycol as an internal standard for the determination of 3 methoxy-4-hydroxyphenylglycol in urine. J Clin Chem Clin Biochem 1980 Sept; 18(9) 579-583.
- 11.- BLOMBERG PA. KOPIN TJ. GORDON EK. Conversion of MHPG to Vanillylmandelic Acid. Arch Gen Psychiatry Vol 37: 1095 1098, 1980.
- 12.- SCHILDKRAUT JJ. ORSULAK P.J

- 12.- SCHILDKRAUT J.J. ORSULAR F.J. Recent Studies on the role of catecholamines in the pathophysiology and classification of depressive disorders. Usdin E. Hamburg D Parchas J. (Ed) Neuroregulators and Psychiatric Disorders. New York Oxford Press 1977 pp- 122-128.
- 13.- BECKMAN H. GOODWIN F.K. Antidepressant Response to tricyclic and urinary MHPG in Unipolar patients: Clinical response to Imipramine or Amitriptyline. Arch Gen Psychiatry 32: 17-21 1975.
- 14.- SCHILDKRAUT J.J. Norepinephrine metabolites as biochemical criteria for classifying depressive disorders and predicting response to treatment. Preliminary Findings. Am J Psychiat. 130: 695 -698, 1973.
- 15.- COBBIN D. REQUIN BLOW B. WILLIAMS ER Urinary MHPG levels and tricyclic antidepressant drug selection. Arch Gen Psychiatry 36: 1111 - 1115, 1979.
- 16.- HOLLISTER LE. KENNETH LD. OVERALL JE. ANDERSON T. Excretion of MHPG in Normal Subjects. Implications for biological Classification of Affective Disorders. Arch Gen Psy 35: 1410-1415, 1978.
- 17.- GLUCKMAN MI. BAUM T. The pharmacology of Iprindole a new antidepressant. Psychopharmacology 15: 169 - 185, 1969
- 18.- FANN WE. DAVIS J.M. JANOWSKY DS. Effect of Iprindole on amine uptake in man. Arch Gen Psychiatry 26: 158 -162 1973
- 19.- RANDRUP A. BRAESTRUP C. Uptake inhibition of biogenic amines by newer antidepressant drug. Relevance to the dopamine hypothesis of depression. Psychopharmacology 53: 309 314, 1977.
- 20.- PÉRET M. BEMAGEL H. Mianserin: A decade of Scientific development. Br J. Clin Pharmacol 5(Suppl): 5-9, 1978.
- 21.- HALARIS A. BELANDIUK K. FREDMAN DX. Antidepressant drugs affect dopamine uptake. Bioch Pharmacol 24: 1896 - 1898, 1975.
- 22.- ZIS AP. GOODWIN F.K. Novel amines hypothesis of depression : The case of Iprindole and Mianserine. Arch Gen Psych 36: 1097 - 1107, 1979.
- 23.- POST RM. KOPIN J. GOODWIN FK The effects of cocaine on depressed patients. Am J Psychiatry 131:511-517, 1974.

- 24.- INVERSEN LL. MACKAY AVP. Pharmacodynamics of antidepressants and antimanic drugs. Pykel ES (Edit) and Coppen A. Psychopharmacology of Affective Disorders. New York. Oxford University Press 1979 pp 60-90.
- 25.- CHARNEY D. MENKES D. HENINGER G. Receptor sensitivity and mechanism of action of antidepressant treatment. Arc Gen Psychiatry 38: 1160 - 1180, 1981.
- 26.- CREW FT. SMITH CB. Presynaptic alpha-receptor subsensitivity after long-term antidepressant treatment. Science 202: 322-324, 1978.
- 27.- TANG SW. HECHMESTE DM Interaction of antidepressants with Clonidine on rat brain total 3 methoxy 4-hydroxyphenylglycol. Can J Physiol Pharmacol. 57: 435-437. 1979.
- 28.- LANGER SZ. BRILEY MS RAISMAN R. Regulation of Neurotransmission through presynaptic receptors and other mechanisms; Possible Clinical relevance and Therapeutic potential Pepau G. Kuhar MJ. ENNAS J (Eds) Receptors for Neurotransmitters and Peptides New York Raven Press 1980 pp 203-212.
- 29.- SVENSSON TH. USDIN T. Feedback innervation of brain Noradrenaline neurons by tricyclic antidepressants. alpha receptors mediation Science 1978; 202: 1089-1091.
- 30.- GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS. Sixth Edition 1980 Macmillan.
- 31.- GOLD MARK. PORTASH. Effect of Methadone dosage on Clonidine detoxification efficacy. Am J Psychiat. 137 : 3 march 1980.
- 32.- STERNBERG DE. KLEBER HD. HENINGER GR. REDMOND DE The clinical use of Clonidine in abrupt withdrawal from Methadone. Arc Gen Psychiatry 38: 1273 - 1277 1981
- 33.- HOEHN-SARLE R. MERCHANT A. KEYSER ML. SMITH WK. Effects of Clonidine on anxiety disorders. Arch Gen Psychiatry 38: 1278 - 1282, 1981
- 34.- COHEN D. DETTOR J. GERALD YOUNG J. SHAYWHZ BA Clonidine ameliorates Gilles de la Tourette Syndrome Arch Gen Psychiatry 37: 1350 -1357, 1980.
- 35.- Snyder SH Taylor VM Coyle JT, : The role of brain dopamine behavioral regulation and the actions of psychotropic drugs. Am J Psychiatry 127: 199 - 205, 1970.

- 36.- VALVERDE C. MORENO J. NAVARRO M. Determinación y cuantificación de MHPG urinario por Cromatografía de Gas - Líquido (dato no publicado) 1980 - 1981.
- 37.- DEKIRMENJIAN H. MAAS J. An Improved Procedure of 3-Methoxy 4-hydroxyphenylethylene Glycol Determination by Gas - Liquid Chromatography. *Analit Bioch.* 35: 113-122(1970)
- 38.- MUSCETTOLA G. WEHR T. GOODWIN F.K. Effect of diet on Urinary MHPG excretion in depressed patients and normal control subjects. *Am J Psychiatry* 134: 914-916. 1977.
- 39.- HOLLISTER L.E. MOORE P. Factors affecting excretion of catecholamines in man, urine flow, pH and creatinine clearance. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1:193-202,1970.
- 40.- MAAS J.W. DEKIRMENJIAN H. AWCETT J. Catecholamine Metabolism, Depression and Stress. *Nature.* 230: 330-331,1971
- 41.- EDWARDS D.J. SPIKER DG. NEIL JF. MHPG EXCRETION IN DEPRESSION *Psychiatry Research* 2:295-305(1980). Elsevier North-Holland Biomedical Press pp 295 - 305.
- 42.- MAAS JW. FAWCETT J. DEKIRMENJIAN H. 3 Methoxy 4 Hydroxy Phenylglycol (MHPG) excretion in depressive states. *Arch Gen Psychiat* 19 : 9 : 129 - 134. 1968.
- 43.- SHARPLESS N.S. Determination of MHPG in urine and the effect of diet on its excretion. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology.* 18, 257,(1977).