

00381
00381
1980
3

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA ACCION DE LA
D-ANFETAMINA SOBRE EL METABOLISMO DEL FOS-
FATO DE PIRIDOXAL. SU RELACION CON EL ME-
TABOLISMO DE LAS AMINAS BIOGENICAS.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS (BIOLOGIA) PRESENTA:

BERTHA GLORIA ORTEGA CORONA

MEXICO, D.F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

xcs 1070-1000

1980



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.

I N D I C E

- I. INTRODUCCION
 - I.1 Breves datos históricos de los estimulantes
 - I.2 Antecedentes
 - I.-2.a. Químicos
 - I.-2.b. Farmacológicos
 - I.-2.c. Terapéuticos
 - I.-2.d. Aspectos metabólicos de la psicosis por anfetamina
 - I.3 Aspectos clínicos de la administración de anfetamina
 - I.-3.a. Automedicación
 - I.-3.b. Adicción y tolerancia
 - I.-3.c. Alteración del tipo de vida
 - I.-3.d. Psicosis anfetamínica
 - I.4 Aspectos Neuroquímicos Relacionados
 - I.-4.a. Metabolismo del fosfato de piridoxal
 - I.-4.b. Metabolismo de las aminas biogénicas
 - I.5 Hipótesis de trabajo
 - I.6 Modelo Experimental
- II. MATERIALES Y METODOS
 - II.1 Animales
 - II.2 Experimentos in vitro con d-anfetamina
 - II.3 Administración aguda de d-anfetamina
 - II.4 Administración crónica de d-anfetamina y algunos derivados como la: 2,5 dimetoxi, 4 metil-anfetamina y la 2,3,4 trimetoxianfetamina.
 - II.5 Análisis de la cinasa del piridoxal
 - II.-5.a. Preparación del tejido
 - II.-5.b. Cuantificación de la cinasa del piridoxal
 - II.6 Cuantificación del fosfato de piridoxal

- II.7 Análisis de la adenosín trifosfatasa
 - II.-7.a. Preparación del tejido
 - II.-7.b. Cuantificación de la adenosín trifosfatasa
- II.8 Cuantificación de la monoamino-oxidasa
 - II.-8.a. Método espectrofotométrico para medir la actividad de monoamino-oxidasa
 - II.-8.b. Método radiométrico para medir la actividad de monoamino-oxidasa
- II.9 Cuantificación de la acetilcolinesterasa
- II.10 Cuantificación de la serotonina
- II.11 Cuantificación de las proteínas

RESULTADOS

III. Cambios Conductuales

- III.1 Estereotipia
- III.2 Desorganización social
- III.3 Actividad Motriz

IV. CAMBIOS METABOLICOS

- IV.1 Efecto "in vitro" de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal
- IV.2 Efecto de la administración aguda y de la crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal del cerebro de ratón
- IV.3 Efecto de la administración de la d-anfetamina, la 2,5 dimetoxi; 4 metil-anfetamina ó la 2,3,4 trimetoxi anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal
- IV.4 Efecto de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal y los niveles de fosfato de piridoxal en 3 regiones del cerebro de ratón.
- IV.5 Efecto de la mitomicina sobre la actividad de la cinasa del - -

- piridoxal en tres diferentes regiones del cerebro de ratón
- IV.-6 Efecto de la duración del tratamiento con la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en el cerebro de ratón
- IV.-7 Efecto de la administración aguda o la crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la adenosín trifosfatasa en el cerebro de ratón
- IV.-8 Efecto de la administración de la d-anfetamina, la 2,5-dimetoxi, 4-metilanfetamina ó la 2,3,4 trimetoxianfetamina sobre la actividad de la adenosintrifosfatasa
- IV.-9 Efecto de la administración aguda o la crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en el cerebro de ratón
- IV.-10 Efecto de la administración crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en diferentes regiones del cerebro de ratón. Dopamina - H³
- IV.-11 Efecto de la administración crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en tres diferentes regiones del cerebro de ratón. Triptamina - C¹⁴
- IV.-12 Efecto de la administración crónica de la d-anfetamina sobre los niveles de la norepinefrina en el cerebro de ratón
- IV.-13 Efecto de la administración crónica de la d-anfetamina sobre los niveles de la serotonina en 3 diferentes regiones del cerebro de ratón

V. Discusión

VI. Resumen

VII. Referencias

ABREVIATURAS

Sistema Nervioso Central	SNC
Electroencefalograma	EEG
Norepinefrina	NE
Catecolaminas	CA
Serotonina	5-HT
Dopamina	DA
Monoamino-oxidasa	MAO
Adenosín trifosfatasa	ATPasa
Dihidroxi fenilalanina	DOFA
Catecol - oxígeno - metiltransferasa	COMT
Acido vanillil - mendélico	AVM
Normetanefrina	NMN
3- metoxi - 4 - hidroxí - fenilglicol	MHPG
Acido homovanílico	AHV
Líquido cefalorraquídeo	LCR
2 - 5 - dimetoxi, 4 metil anfetamina	DOM
2 - 3,4 trimetoxi anfetamina	TMA
Fosfato de piridoxal	FP
Fosfocinasa del piridoxal	FCP
Intraperitoneal	I.P.
Aminas biogénicas	a. b.
Descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos	DAA
Adenosín monofosfato cíclico	C-AMP
Acido gamma - amino-butírico	GABA
Monoaminas	MA

CLAVES DE LAS ENZIMAS ESTUDIADAS

Fosfoquinasa del piridoxal

ATP: piridoxal - 5' - fosfo-
transferasa; EC 2.7.1.35

Monoamino - oxidasa

Monoamino: D₂ oxido reducta-
sa (desaminando); EC 1,4,3,4.

Acetil colinesterasa

Acetil colina acil - hidrola-
sa; EC 3.1.1.8

Adenosin trifosfatasa
Mg dependiente

ATP fosfohidrolasa EC. -
3.6.1.4.

P r ó l o g o

La Neuroquímica es una ciencia que a pesar de ser relativamente joven ha cobrado una notable importancia, en unión de la Psiquiatría ha conducido a una mejor comprensión de la Patología Mental, así como al tratamiento de estos desórdenes, también ha permitido identificar algunas alteraciones de origen metabólico (lesiones metabólicas).

Estos logros han sido obtenidos mediante el estudio del sistema nervioso central (SNC) desde diferentes puntos de vista los cuales pueden resumirse en: a) a través de estudios genéticos, b) - con las técnicas de Psiquiatría experimental, incluyendo la producción de psicosis "modelo", c) la búsqueda de sustancias o metabolitos anormales en el tejido cerebral o en líquidos biológicos y d) el examen del metabolismo cerebral bajo diversas -- condiciones experimentales.

Dentro de las enfermedades mentales de origen metabólico merece especial atención, la ESQUIZOFRENIA, enfermedad mental que aqueja al 1% de la población mundial.

Este trabajo se desarrolló con la intención de contribuir, aún cuando en pequeña escala, a la respuesta de la pregunta que ha quedado sin contestación, a través de todos estos años: ¿Cuál es la causa de la ESQUIZOFRENIA? Con este objeto hemos empleado un "modelo experimental" bien conocido: la "psicosis anfetamínica", que produce una psicosis indistinguible de la ESQUIZOFRENIA PARANOIDE.

I.- INTRODUCCION

I.1 Breves datos históricos de los estimulantes

Los estimulantes naturales han sido empleados desde tiempos remotos por la especie humana y frecuentemente incluyen -- plantas relacionadas con las xantinas (familia a la que pertenece el café) que es usada por una gran mayoría de la población. La Khat de los arabes (Catha edulis) ha sido empleada en el este de Africa, particularmente en forma de infusión, como estimulante, con el propósito de suprimir el hambre y la fatiga, así como para producir euforia, estos efectos son muy semejantes a los efectos reportados para la anfetamina (1).

En 1887 Edelsano (1) sintetizó por primer vez la 2-fenil-1-isopropil amina, conocida como anfetamina. Años más tarde Bitter obtuvo de la Catha edulis un alcaloide al que denominó "Cathina", y que posteriormente se identificó como un derivado de la anfetamina; la hidroxianfetamina (2).

Muchos autores, consideran sin embargo que fueron Berger y Dale en 1910 (3) quienes obtuvieron por primera vez la anfetamina. Ogata (4) en 1919 obtuvo en el laboratorio el derivado N-metilado de la anfetamina --la metanfetamina--, y sus propiedades farmacológicas se conocieron hasta 1930 -- cuando Piness, Miller y Alles (5) describieron su efecto presor. Alles, años más tarde observó que la anfetamina -- también tenía efectos respiratorios y analépticos (6,7).

En 1935 Prinzmetal y Blomberg (8) señalaron el efecto esti

mulante de esta droga sobre el sistema nervioso central (SNC); - este trabajo hizo que se generalizase rápidamente el uso de la - anfetamina, y como muchas otras drogas tuvo un auge enorme hasta alcanzar proporciones de "panacea", seguida de un período de - - escepticismo y finalmente una valoración objetiva y adecuada.

En 1938 Young y Scoville (9) diagnosticaron 3 casos de psico-- sis paranoide en enfermos tratados con anfetamina.

Poco antes de la 2a. Guerra Mundial se aisló y sintetizó, otra - sustancia del grupo a la que se denominó previtina (metil-anfeta mina) que se empleó en Argentina con el nombre de "Estimulex", - demostrándose que esta sustancia tenía efectos centrales más - - acentuados que la anfetamina. Durante la 2a. Guerra Mundial, -- por instrucciones del médico alemán, Ranke la metil-anfetamina - se distribuyó entre los aviadores y a la tropa motorizada quie-- nes llegaron a conocer a la droga simplemente como "stuka" (ta-- bleta) (2); mientras que en el ejército aliado se empleaba la - anfetamina y se le conocía como comprimido de "energía". (10). Poco despues se empezó a usar entre la población civil, espe--- cialmente en deportistas y en animales dedicados a competencia.

I.-2. Antecedentes

I.-2.a. Químicos

I.-2.b. Farmacológicos

I.-2.c. Terapéuticos

I.-2.d. Aspectos metabólicos de la psicosis por anfetamina -

I.-2.a. Químicos

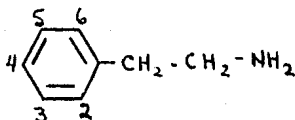
Las anfetaminas en general se clasifican como sustancias simpaticomiméticas que tienen como compuesto básico a la feniletilamina. La feniletilamina se caracteriza por un núcleo aromático (anillo bencénico) y una cadena lateral alifática (etilamina) (Fig. 1).

La sustitución o adición de radicales en diferentes posiciones de esta estructura básica se acompañan de modificaciones en la actividad. La relación entre la estructura y actividad de estos compuestos ha sido estudiada desde los trabajos de Barger y Dale (3).

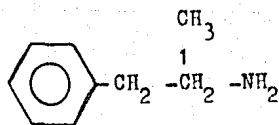
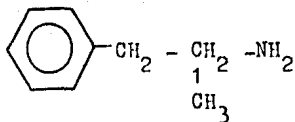
La anfetamina es una molécula ópticamente activa, existen las formas D y L. Estos isómeros producen diferentes efectos farmacológicos. Es interesante hacer notar que con respecto a los efectos sobre el SNC, la forma dextrorrotatoria es de 4 a 10 veces más potente que la forma levorrotatoria, lo que contrasta en relación a sus efectos periféricos (cardiovasculares) en el que el isómero L es más potente que el D.

Además de las anfetaminas mencionadas con anterioridad se han desarrollado otros compuestos con actividad básica excitatoria (11, 12, 13, 14, 15) (Fig. 1).

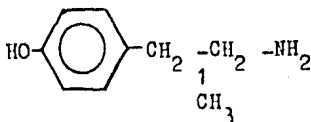
Fig. 1 Estructura química de la anfetamina y algunos de sus derivados



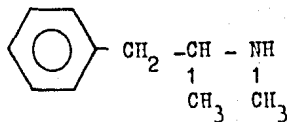
I.- Fenil etilamina



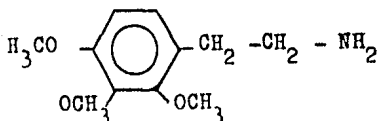
II.- D-Anfetamina



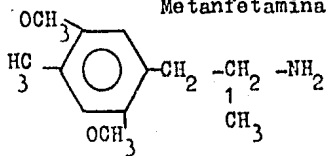
III.- L-Anfetamina



IV.- Hidroxianfetamina



V.- Metanfetamina



VI.- 2,3,4 Trimetoxianfetamina

VII.- 2,5 dimetoxi, 4 -
metilanfetamina -
DOM o STP

I.-2.b. Farmacológicos.

La anfetamina es una de las aminas psicotomiciméticas más potentes que estimulan el SNC. Es un agente efectivo para estimular el centro respiratorio, disminuyendo el grado de depresión central causada por algunas drogas, es decir, los efectos sobre el SNC son variables: disminuye la sensación de fatiga, eleva el estado de ánimo, produce un aumento en la iniciativa, en la confianza en si mismo, así como en su habilidad para concentrarse; produce exaltación y euforia, aumenta la actividad motriz, así como la facilidad de palabra (2, 8, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25).

Se ha afirmado insistentemente que la anfetamina mejora la capacidad intelectual y de concentración, sin embargo hay -

suficientes pruebas en contra. En el estudio llevado a cabo por Smith y Beecher (26) se demostró que la capacidad de auto corrección del número de problemas resueltos en forma adecuada disminuyó notablemente en los sujetos a los que se les administró amfetamina, comparado con el grupo control, al que se le había administrado placebo; de ahí que la sensación de mayor habilidad e incremento de la capacidad mental sea subjetiva (17).

En general, la amfetamina acelera y desincroniza el electroencefalograma (EEG); reduce la amplitud y duración de las ondas delta presentes en el sueño después de un insomnio prolongado y narcolepsia.

En monos a los que se les ha provocado un estado convulsivo por electroshock se les contrarresta este efecto por administración de amfetamina.

En algunos niños con "petit mal", con disritmias, o en niños con desórdenes del comportamiento y EEG anormal se ha demostrado que mejoran con la administración de amfetaminas. La amfetamina facilita la transmisión mono y polisináptica en la médula espinal. En común con la efedrina, aumenta la actividad excitatoria, produce movimientos rígidos y actividades posturales y acelera la recuperación de respuestas en animales espinales, descerebrados o decorticados.

Aún cuando los mecanismos de los efectos sobre el SNC no se han esclarecido, el efecto estimulante parece depender de la liberación local de norepinefrina (NE) en el cerebro. Se ha demostrado que el sistema reticular mesencefálico se

activa por la aplicación local de la anfetamina, imitando los efectos de la NE, este efecto puede suprimirse o evitarse con reserpina, fármaco que produce una depleción de las catecolaminas (CA) y de la serotonina (5HT), o por la administración de α -metilparatirosina que produce una disminución de las CA pero no de 5HT y por agentes que depletan la NE cerebral pero no la dopamina (DA) (Boakes et al 1972) (27). Además, sabemos que grandes dosis de anfetamina aumentan notablemente el consumo de oxígeno, dosis moderadas producen una ligera disminución o un aumento moderado; en cambio el aumento producido -- por dosis elevadas es semejante al producido por NE pero más sostenido.

La anfetamina y sus análogos han sido usados ampliamente en el tratamiento de la obesidad. La pérdida de peso en los obesos tratados con anfetaminas es casi completamente debida a la reducción de la ingestión de alimentos y sólo en una pequeña proporción a un aumento en el metabolismo corporal.

El sitio de acción es central, específicamente en el hipotálamo lateral, donde se encuentra el centro del hambre. La inyección de anfetamina directamente a esta área suprime la ingestión de alimento (1973) (28). En el perro los efectos son muy marcados y pueden llegar a producir la inanición. Si la anfetamina se suministra una hora antes de la comida, ésta es rehusada aún si se ofrece por los siguientes 45 minutos. En el hombre el efecto es menos dramático con rápido desarrollo de tolerancia al fármaco.

En el ratón los efectos tóxicos varían con la dosis y las circunstancias, entre las que destaca el agrupamiento. En efec-

to, la dosis letal y los efectos tóxicos se presentan con mayor facilidad en animales agrupados que en los aislados (23, 29, 30, 31, 32, 33). Recientemente, Thiesseu ha publicado una revisión en relación a estos aspectos (34). En individuos que han ingerido en forma aguda o crónica dosis elevadas de anfetamina puede presentarse psicosis tóxica (35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46).

I.-2.c. Terapéuticos.

En un principio las anfetaminas fueron utilizadas como un inhalante para reducir la congestión nasal. Más tarde se usaron como un broncodilatador, estimulante de las vías respiratorias y en la actualidad también como un poderoso estimulante del SNC (18).

Aún cuando algunos clínicos señalaron la posibilidad de que se desarrollará tolerancia, dependencia y psicosis tóxica, el uso clínico de la anfetamina se extendió rápidamente. Se emplearon para controlar la obesidad (47, 48), la depresión, la epilepsia, la enfermedad de Parkinson, la depresión del SNC causada por barbitúricos y otros sedantes hipnóticos, la narcolepsia (48) y en niños hiperkinéticos (49, 50). Estudios recientes indican que hay, en realidad, muy pocos casos en los que debe usarse la anfetamina en el tratamiento de los padecimientos antes señalados.

Actualmente sólo en los niños hiperkinéticos se justifica el uso de estos fármacos (49, 50, 51, 52).

I.-2.d. Aspectos metabólicos de la psicosis por anfetamina. En los organismos no existe como metabolito normal la anfetamina, sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que la amina pueda formarse durante algún proceso patológico mental. Algunos autores (53) han encontrado la 3, 4 dimetoxifeniletilamina, elevada en la orina de algunos esquizofrénicos. Bell (36) ha postulado que el sustrato químico es el mismo en la esquizofrenia y en la psicosis modelo desencadenada por la anfetamina. Otros investigadores han sugerido que la causa de algunas psicosis es la formación de algunos compuestos alucinógenos a partir de sustancias normales como la bufotenina de la 5HT (54), la mezoalina de la NE (55), etc.

La anfetamina es una sustancia que se absorbe fácilmente a través de las mucosas gastrointestinales y respiratorias así como cuando se administra por vía parenteral. Debido a su penetrabilidad se difunde rápidamente atravesando la barrera hematoencefálica sin dificultad y es posible su detección en la sangre a las pocas horas de administrada (38, 56).

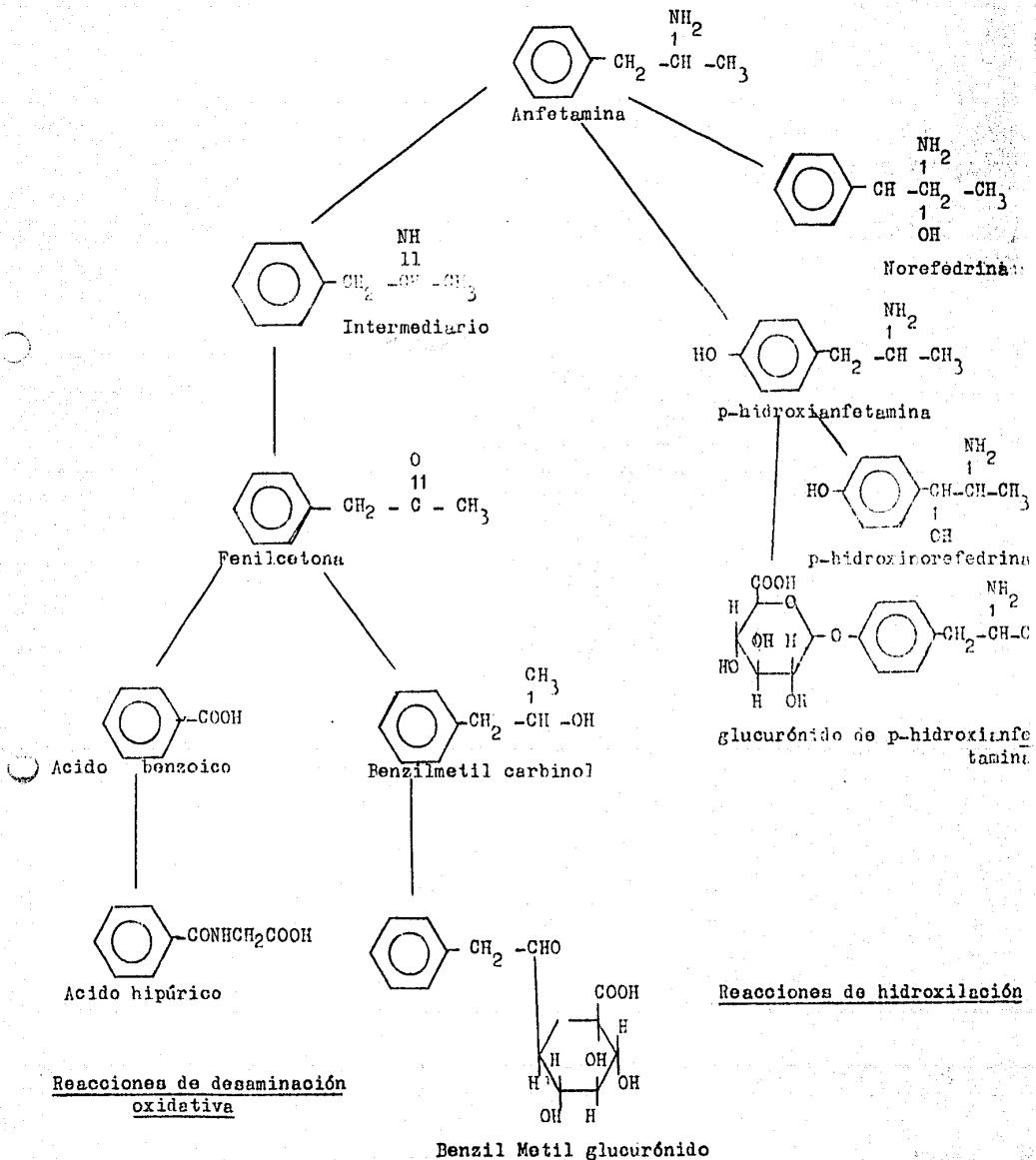
La anfetamina tiene un destino metabólico muy complejo, los experimentos iniciales sobre el destino metabólico de la anfetamina involucraron la administración de la droga a perros, y la búsqueda de catabolitos urinarios. En la orina se encontró que una tercera parte de la anfetamina se excretó sin cambio, mientras que una gran proporción se extrajo con éter en forma de material fenólico, que reaccionó con 1 - nitroso - 2 naftol, demostrándose que este metabolito era p-hidroxianfetamina. La hidrólisis de la orina con ácido clorhídrico

aumentó la recuperación de p-hidroxi-anfetamina, indicando -- que también se encontraba en forma conjugada. Cuando se administró a perros p-hidroxi-anfetamina, alrededor del 70% se excretó en forma conjugada o libre. La administración de anfe-taminas a conejos o cobayos dió como resultado el metabolismo casi completo de la droga, encontrándose en una pequeña pro--porción o nada de p-hidroxi-anfetamina. Estudios "in vitro"-con hígado de conejos demostraron que existe una vía alternante para el metabolismo de la anfetamina. Esta vía involucra una desaminación oxidativa para formar fenilcetona (56), tra**ba**jos posteriores de Dring y Col. en 1970 (57) demostraron que la desaminación oxidativa también ocurre "in vivo". Estos autores observaron que la fenilcetona se metabolizó por reducción y oxidación a 1-fenilpropanol y ácido benzoico; que se excretó en forma de ácido hipúrico. Estas observaciones indican que la anfetamina es metabolizada por dos vías alternantes: hidroxilación y desaminación oxidativa.

FIGURA 2

METABOLISMO DE LAS ANFETAMINAS.

REACCIONES DE HIDROXILACION Y DESAMINACION OXIDATIVA DE LA ANFETAMINA



Otro de los aspectos metabólicos interesantes de mencionar es el relacionado con el hecho de que en 1939 se demostró que la anfetamina inhibía la monoamino-oxidasa (MAO) cerebral "in vitro", sugiriendo que las aminas cerebrales se encontraban elevadas (59, 60) y señalando que este fármaco era resistente a la oxidación por esta enzima, lo que puede explicar en parte la excreción prolongada de la misma observada por algunos autores (61, 62, 63, 64, 65).

Por otra parte, los trabajos de Beckett demuestran que la anfetamina no se elimina de una manera constante, ya que, la eliminación diurna es mejor que la nocturna (61, 62, 66, 67, - 68); sin embargo, la inhibición producida por la anfetamina no se había podido corroborar "in vivo" (69, 70, 71) sino - hasta muy recientemente (69a, 70a, 71a).

Debe por lo tanto tenerse en cuenta que este efecto por sí só lo no puede explicar las múltiples acciones centrales de este fármaco.

Se ha demostrado también, que el radical metilo de la molécula de la anfetamina es el responsable de que esta no sea atacada por la MAO, y si se agrega que el fármaco tampoco es atacado por otras enzimas que metilan o inactivan la NE (54, 74, 75), puede suponerse entonces que la anfetamina ejerce sus acciones directamente.

Otra posibilidad que se ha sugerido es que la anfetamina puede ejercer su acción directa liberando una amina local (72, - 73).

I.-3. Aspectos clínicos de la administración de anfetaminas.

I.-3.a Auto medicación

I.-3.b Adicción y tolerancia

I.-3.c Alteración del tipo de vida

I.-3.d Psicosis anfetamínica

I.-3.a. Automedicación.

Después del uso irracional de las anfetaminas empezaron a aparecer los primeros efectos estimulantes sobre el SNC y no sólo esto, sino efectos colaterales indeseables que aparecieron con las dosis elevadas: como euforia, sobrevaloración de sí mismo, etc. La gran popularidad alcanzada por las anfetaminas puede en parte reflejar el deseo de demostrar una intensa actividad, eficiencia, persistencia, un deseo continuo de sobresalir, romper records, y moverse a una gran velocidad (- 18).

El uso no clínico de la anfetamina produce un daño significativo que no se observa cuando la droga es administrada bajo condiciones controladas. El primer problema aparece cuando el individuo trata de regular su propia dosis, no sabe si ingirió la dosis adecuada para obtener los efectos deseados, lo que hace que el individuo eleve la dosis y cae en el peligro de tomar una dosis excesiva. De cualquier forma cuando un individuo se excede en su dosis óptima pierde los efectos que él buscaba y termina convirtiéndose en un toxicómano.

La toxicomania puede producir los efectos contrarios a los esperados, es decir; en lugar de euforia, depresión; en vez de eficacia, ineficacia; de compulsividad, pasividad, etc..

Un segundo riesgo que se presenta con la automedicación es la probabilidad de que la droga que se ha ingerido contenga impurezas, que pueden resultar más dañinas que la anfetamina misma (76).

I.-3.b. Toxicomanía y habituación.

Se ha demostrado que varios tipos de anfetaminas producen toxicomanía en ciertos individuos. Algunos autores han enfatizado que la causa primaria de la toxicomanía a las anfetaminas es de carácter psicológico aún cuando los efectos farmacológicos de la droga desempeñen una función muy importante en el proceso de la toxicomanía (77). En muchos individuos la anfetamina produce una sensación de euforia que puede ir en aumento, especialmente si la droga se administra por vía intravenosa en dosis de 20mg. ó más. La búsqueda continua de estos efectos eufóricos, conducen a un patrón de abuso continuo de la droga hasta producir una dependencia (medicamentosa). Sin embargo, se ha observado que hay muy pocos signos de una verdadera dependencia física, en los dependientes a las anfetaminas. Tampoco se ha podido demostrar un verdadero síndrome de abstinencia como el observado en los adictos a opiáceos. El "síndrome de abstinencia" que se ha observado en la depresión post-anfetamínica todavía es cuestionable, pero, la ausencia de una severa dependencia física tampoco puede ser interpretada como una negación de que no ocurre una verdadera habituación a las anfetaminas.

Por otra parte, se ha señalado que la tolerancia se desarrolla paralela a los efectos anorexigénicos de la anfetamina y

es frecuente ver la necesidad del aumento de dosis para mantener un mejor estado de ánimo en pacientes hospitalizados. La tolerancia en dependientes requiere de una dosis de 1700mg diarios sin efectos aparentes de enfermedad.

El desarrollo a la tolerancia depende de la idiosincrasia de cada individuo, por ejemplo, en casos de narcolepsia los pacientes se han tratado por años sin requerir un aumento en la dosis efectiva inicial.

I.-3.c. Alteración del tipo de vida.

Las anfetaminas producen una multitud de efectos adicionales a sus efectos farmacológicos directamente observables. Estos otros efectos son primariamente de naturaleza psico-sociológica y se evidencian por cambios en la conducta. Son los productos de interacción entre la personalidad individual, el medio ambiente y las acciones farmacológicas del fármaco, ya que estos efectos varían ampliamente en calidad e intensidad de persona a persona.

A causa de su acción estimulante sobre los sistemas noradrenérgicos del cerebro, las anfetaminas frecuentemente intensifican las emociones. Cuando se presenta un cambio de emoción el dependiente frecuentemente parece ir de un extremo a otro del sentimiento intenso que tiene. Esta intensificación de la emoción es también capaz de causar al dependiente una sobree reacción a una situación dada. La ira puede ser una de las emociones que más se acentúa con las anfetaminas. Se ha observado un aumento en la violencia en los dependientes a las anfetaminas, los que se encuentran irritables a la menor

provocación (1).

En un estudio realizado en 60 casos de asesinatos en Japón en 1954 (época cuando el abuso de anfetaminas era un problema mundial); 31 de los asesinos convictos tuvieron alguna relación con el abuso de las anfetaminas (1).

La intoxicación por anfetaminas puede producir un comportamiento de observación obsesiva, es decir, una conducta compulsiva de examinar cualquier objeto, incluyéndose a si mismo, o por ej., frotarse o morderse la piel hasta causarse lesiones severas, debidas a la continua manipulación.

Otros efectos que suelen referir los intoxicados por anfetaminas es el de encontrarse suspendidos en el aire o el de repetir una tarea durante horas y al final sin una idea real del tiempo transcurrido. Esta conducta frecuentemente transporta al individuo al "éxtasis"; actuando negligentemente, en sus hábitos higiénicos (presentación, comida, etc.) (79).

Por último, se han reportado diferentes efectos de las anfetaminas sobre la actividad sexual, mientras algunos han reportado aumento en la libido (1), otros autores proponen que las anfetaminas actúan como anestésicos de los órganos genitales; inhibiendo el orgasmo completamente (78).

I.-3.d. Psicosis anfetamínica.

La psicosis anfetamínica es un estado conductual inducido por los efectos tóxicos de las anfetaminas. Esta psicosis tóxica semeja al cuadro clásico de la esquizofrenia paranoide, resultando indiferenciable de la verdadera enfermedad.

La psicosis anfetamínica conlleva alucinaciones auditivas y visuales, distorsión del espacio y el tiempo, ansiedad, acti-

tudes paranoicas; ya que, esta psicosis es por definici3n una reacci3n t3xica, su duraci3n es de pocos d3as y generalmente desaparece despu3s de una semana de la suspensi3n del f3rmaco (46, 40). Se ha demostrado que los estados psic3ticos ocurren con dosis muy variadas (15 mg. diarios durante dos meses, hasta 650 mg. diarios durante 6 a3os) e independientemente de -- que los individuos hayan desarrollado o no "dependencia" a este f3rmaco. Young y Scoville (9) reportan que la psicosis producida por anfetamina se desencadenaba por el uso cr3nico del f3rmaco y no por ingestiones aisladas de la misma. Posteriormente otros autores confirmaron que la psicosis paranoide de tipo esquizofr3nico est3 asociada al uso prolongado de las anfetaminas.

La mayor3a de los casos conocidos pertenecen a poblaciones de sujetos normales que empezaron a ingerir anfetaminas por diversas razones: como evitar la fatiga, suprimir el apetito, etc..

Randrup y Munkwad (81, 82), Ellinwood (83, 84) y otros -- (36, 38, 45, 85) han descrito la similitud existente entre -- el fen3meno paranoide en el hombre y una serie de conductas -- que aparecen en otras especies animales con la administraci3n cr3nica de d-anfetamina (86, 87, 88, 89).

I.4 Aspectos Neuroquímicos Relacionados

I.4.a. METABOLISMO DEL FOSFATO DE PIRIDOXAL

La relación de estructura a función de compuestos fisiológicamente importantes es un problema cerebral tanto para bioquímicos como para farmacólogos y generalmente es pobre el conocimiento acerca de ella. Este problema surgió muy pronto en la historia de la vitamina B₆, debido a las siguientes observaciones: a) la piridoxina resulta prácticamente inactiva en el crecimiento de bacterias en ácido láctico, pero se convirtió en una sustancia muy eficaz después de tratamientos químicos apropiados (111, 112) y b) animales alimentados con piridoxina excretaron compuestos mucho más activos que la piridoxina, lo que permitió el descubrimiento del piridoxal y la piridoxamina (111, 112). Estos 3 compuestos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, se sabe que funcionan como precursores del fosfato de piridoxal y del fosfato de piridoxamina, que sirven como coenzimas esenciales para un gran número de reacciones, relacionadas con la biosíntesis y la degradación de aminoácidos "in vivo". Especies en las que la piridoxina o la piridoxamina muestran poca o ninguna actividad fallan en convertir estas sustancias en la coenzima activa (113, 114, 115).

Podemos relacionar la estructura - actividad de estos compuestos de la siguiente manera: a) El piridoxal o el fosfato de piridoxal están directamente involucrados en la catálisis de los mismos, b) Se requieren modificaciones en su estructura para permitir a la coenzima que interaccione con las apoenzimas y forme las holoenzimas activas y c) El que la vita-

mina B₆ pueda presentar cambios estructurales y aún conserve actividad vitamínica.

Las tres formas en las que la vitamina B₆ se presenta - piridoxina, piridoxamina y piridoxal - son fosforiladas "in vivo" por la fosfocinasa del piridoxal, enzima dependiente de ATP - (116, 117). Sin embargo, el piridoxal es el sustrato preferido para las cinasas de mamíferos (117).

La vía principal para la formación de fosfato de piridoxal es la fosforilación de piridoxina a fosfato de piridoxina, un intermediario importante (118) y la oxidación de fosfato de piridoxina por la oxidasa del fosfato de piridoxina (119).

La piridoxamina es fosforilada de una manera similar al fosfato de piridoxamina (117, 119, 120), oxidándose rápidamente a fosfato de piridoxal por la misma enzima que oxida al fosfato de piridoxina (117). En el cerebro de mamíferos solamente se acumulan fosfato de piridoxal y fosfato de piridoxamina; las concentraciones de piridoxina, fosfato de piridoxina, piridoxal y piridoxamina son insignificantes (121). En el caso de que los niveles de piridoxina y piridoxamina se encuentren elevados, -condición no fisiológica-, serán oxidados a piridoxal y se metabolizarán como ya se indicó en párrafos anteriores.

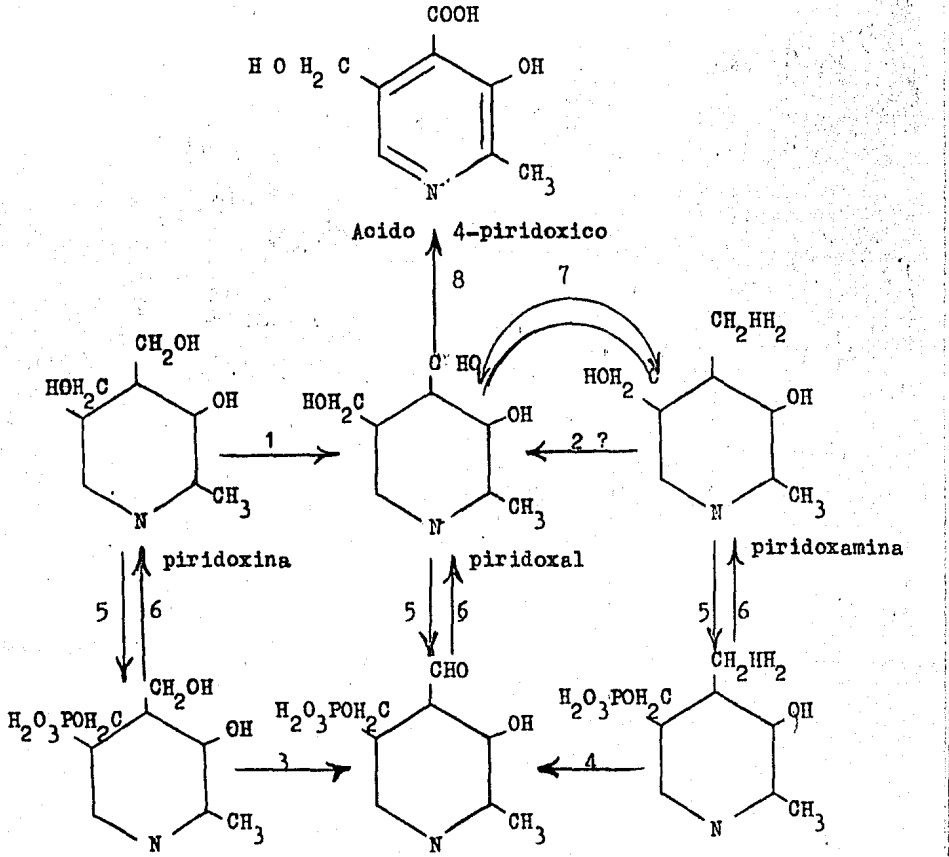
Las coenzimas fosforiladas son degradadas por fosfatasas (-- 122, 123) y el piridoxal resultante se convierte en ácido 4-piridóxico por la aldehído oxidasa (124). Recientemente - Contractor ⁴¹ y Shane, 1970 (125), han demostrado que el fosfato de piridoxal puede ser oxidado directamente de ácido ---

ácido 4-piridóxico.

FIG. 3

METABOLISMO DEL FOSFATO DE PIRIDOXAL

Esquema de las transformaciones metabólicas de la vitamina B₆ establecido en tejidos de animales (Wada y Snell, 1961) ()



Enzimas que participan en el metabolismo del fosfato de piridoxal

- 1.- Oxidasa de la piridoxina
- 2.- Oxidasa del fosfato de piridoxina (?)
- 3 y 4.- Oxidasa del fosfato de piridoxina
- 5.- Cinasa del piridoxal o fosfoquinasa del piridoxal

- 6.- Fosfatasa
- 7.- Transaminasa de la piridoxamina
- 8.- Aldehido oxidasa.

I.4.b. METABOLISMO DE LAS AMINAS BIOGENICAS

Las CA: NE Y DA, así como la indolamina, 5HT, son posibles neurotransmisores en ciertos tractos neuronales en el cerebro. Ocupan un lugar muy importante en la neurobiología, - ya que, son los únicos neurotransmisores cuya localización en tractos particulares del cerebro han sido establecidos, así - como su relación con la conducta tanto en animales como en el humano.

BIOSINTESIS DE CATECOLAMINAS.-

Mientras los estudios histoquímicos han delimitado los tractos que contienen las aminas biogénicas (a. b.), la investigación de su metabolismo y recambio y los efectos de las drogas han contribuido a un mejor entendimiento de su función (126)

La tirosina, es el aminoácido, precursor de la DA y NE. El paso limitante en la biosíntesis de estas dos CA es la hidroxilación de la tirosina para forma dihidroxifenilalamina - (DOPA) por la acción de la hidroxilasa de la tirosina. La actividad de esta enzima puede detectarse únicamente por técnicas radiométricas. Requiere de biópterina como cofactor, - la biópterina es un compuesto de la pteridina que aumenta la actividad de algunas otras enzimas hidroxilantes (127).

Se ha podido demostrar que parte de la actividad de la tirosina hidroxilasa se encuentra localizada en los cuerpos neuronales, y la mayor proporción está confinada a las terminaciones nerviosas catecolaminérgicas. La enzima que se encuentra en las terminaciones nerviosas es en gran parte citoplásmica, - así es que, por lo menos el paso inicial de las síntesis de

CA probablemente no se lleva a cabo dentro de la vesícula sináptica.

FORMACION DE DOPAMINA Y NOREPINEFRINA.-

La (DOPA) es descarboxilada a DA por una enzima la descarboxilasa de la DOPA, esta misma enzima puede descarboxilar también al 5-hidroxitriptofano, el aminoácido precursor de la serotonina, también como otros aminoácidos aromáticos; por lo que se le ha llamado "descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos". Como la hidroxilasa de la tirosina, la descarboxilasa de la DOPA parece ser que se encuentra en la fracción soluble de las terminaciones catecolaminérgicas del cerebro. La actividad de esta enzima no es limitante en la síntesis de las CA y por consiguiente no es un factor regulador de su formación. Parece ser que existe un gran exceso de descarboxilasa en los aminoácidos aromáticos en el cerebro, así que las drogas que la inhiben hasta en un 95% fallan en depletar los niveles de CA.

La hidroxilación de dopamina en el carbón β para formar NE es mediada por la acción de la enzima dopamina β -hidroxilasa. Esta enzima requiere de cobre para su funcionamiento óptimo. La actividad de esta enzima es difícil de analizar en preparaciones de tejido crudo, por la presencia de sustancias inhibitoras no identificadas. En la médula adrenal, la dopamina- β hidroxilasa participa en la síntesis de la epinefrina y se ha localizado en los gránulos de almacenamiento de la misma. La enzima no es liberada por la glándula al mismo tiempo que la epinefrina, y esto ha servido como evidencia -

de que la secreción de la epinefrina involucra la exocitosis, un proceso por el cual el gránulo o vesícula de almacenamiento se funde con la membrana celular, descarga su contenido y regresa al interior de la célula. Se esperaría que sólo los constituyentes solubles se liberarían de las vesículas durante la exocitosis y que las sustancias químicas de la pared de la vesícula se quedarán dentro. Aún cuando no hay evidencia directa es de suponer que el proceso de liberación de las CA en el cerebro podía ser similar a lo que ocurre en la glándula adrenal (128).

La dopamina- β -hidroxilasa casi no se detecta en algunas áreas del cerebro, tales como el núcleo caudado, en que la dopamina es la CA predominante y en donde las concentraciones de NE es casi despreciable.

CATABOLISMO DE LAS CATECOLAMINAS.-

Dos enzimas son las responsables principalmente de la degradación de las CA. Una de ellas es la MAO, la cual desamina oxidativamente la DA y la NE a los correspondientes aldehídos. Estos a su vez pueden convertirse por la aldehído deshidrogenasa a los ácidos análogos, o ser reducidos a su forma alcohólica.

Las CA pueden ser metiladas por la acción de la catecol-O-metiltransferasa (COMT), que transfiere el grupo metilo de la S-adenosil metionina al hidroxilo de las CA en posición (3) meta (129). La COMT puede también metilar al hidroxilo de la posición para, pero sólo en muy baja proporción. La COMT actuará sobre cualquier compuesto catecol. incluyendo --

los aldehidos o ácidos formados por la acción de la MAO.

Cuando la NE es metilada por la COMT, el producto se denomina normetanefrina y no hay nombre para el derivado metilado correspondiente a la DA, al que simplemente se le llama 3-O-metildopamina.

Como la COMT, la MAO, es poco específica y actuará sobre cualquier monoamina, incluyendo normetanefrina y 3-O-metil-dopamina; convirtiéndolos en su aldehido respectivo y entonces a ácidos y alcoholes. La formación del ácido es mediada por la aldehido oxidasa y el alcohol o ácido O-metilados resultante de las acciones combinadas de la COMT y la MAO.

La cuantificación de los niveles de alcoholes o ácidos O-metilados en tejidos o líquidos biológicos darán una idea de qué enzima actuó primero. Para averiguarlo, se deben medir las aminas-O-metiladas o los ácidos catecoles. Determinar si la liberación de CA fué primero actuada por la MAO o por la COMT, conduce a una información muy útil acerca de la función neuronal.

En el sistema nervioso periférico, el grado de oxidación del aldehido da como producto final de la degradación de la NE a un ácido, llamado ácido Vanillil-mandélico (AVM). El AVM es el producto principal de NE en la periferia, por lo que resulta detectable rápidamente en la orina. La cuantificación de sus niveles sirve como un índice de la función nerviosa simpática, así como para diagnosticar tumores que producen NE ó E, tales como neuroblastomas o feocromocitomas.

En el cerebro predomina la vía reductiva del aldehido forma-

do por la acción de la MAO sobre la NE o la normetanefrina (NMN), por lo que tanto el metabolito principal en el cerebro es un alcohol denominado 3-metoxi -4 -hidroxifenilglicol -- (MHPG). El M H P G formado en cerebro se encuentra en forma conjugada, unido a un sulfato, razón por la que puede difundir del cerebro a la circulación general y su cuantificación en orina podría pensarse que es directamente un reflejo de la actividad de las neuronas noradrenérgicas del cerebro. Sin embargo, aunque el MHPG, se produce en una pequeña proporción en la periferia, se ha demostrado que sólo un 20% de este metabolito cuantificado en la orina proviene del cerebro. Si el aldehído formado de dopamina ó 3-O-metil dopamina es oxidado o reducido no se sabe con certeza. Las evidencias sugieren que es oxidado a ácido 4-hidroxi-3 metoxifenilacético más comunmente conocido como ácido homovanílico (AHV). Sus niveles se miden frecuentemente en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo (L C R) y se toman como un reflejo de la actividad de neuronas dopaminérgicas, especialmente aquellos con terminaciones nerviosas en el núcleo caudado y en el putamen; por ej., se ha demostrado que en pacientes con la enfermedad de Parkinson los niveles de AHV cuantificadas en LCR son marcadamente bajos.

La localización subcelular de la MAO y la COMT en cerebro puede proporcionar información importante acerca de como funcionan estas enzimas "in vivo". La MAO se encuentra presente en la membrana externa de la mitocondria en casi todos los tejidos del cuerpo y en el cerebro en la glía y en las neuronas. Sin embargo, la MAO que está involucrada en la desaminación -

de NE y DA está localizada en la mitocondria dentro de las terminaciones nerviosas catecolaminérgicas donde desamina los CA que son recapturados y se encuentran en las vesículas sinápticas. En consecuencia, los niveles de ácidos catecoles, que se originan cuando la MAO es la primera enzima que actúa sobre estos compuestos refleja las CA que son recapturadas por las vesículas sinápticas; por lo tanto estas CA no pueden alcanzar el espacio sináptico o actuar sobre los receptores post-sinápticos.

Hay algunas isozimas (proteínas distintas que catalizan la misma reacción química) de MAO en el cerebro. En el núcleo caudado, el área del cerebro más rica en DA, una de las isozimas de MAO es extraordinariamente activa en desaminar la DA; con mucho menos capacidad para desaminar otras monoaminas. Esto sugiere que diferentes clases de neuronas aminérgicas pueden tener su propia isozima que las destruya.

La COMT también se encuentra en una gran variedad de tejidos. La mitad de la COMT que tiene primero acceso a las CA en el cerebro, sin embargo, parece estar localizada principalmente fuera de la terminación nerviosa, catecolaminérgica. Por lo tanto, los niveles de NMN ó 3-C-metil DA reflejan las CA que son liberados por las terminaciones nerviosas al espacio sináptico en contacto con los receptores post-sinápticos antes de ser metabolizados por la COMT (129, 130).

METABOLISMO DE LAS AMINAS BIOGENICAS : NE y 5HT

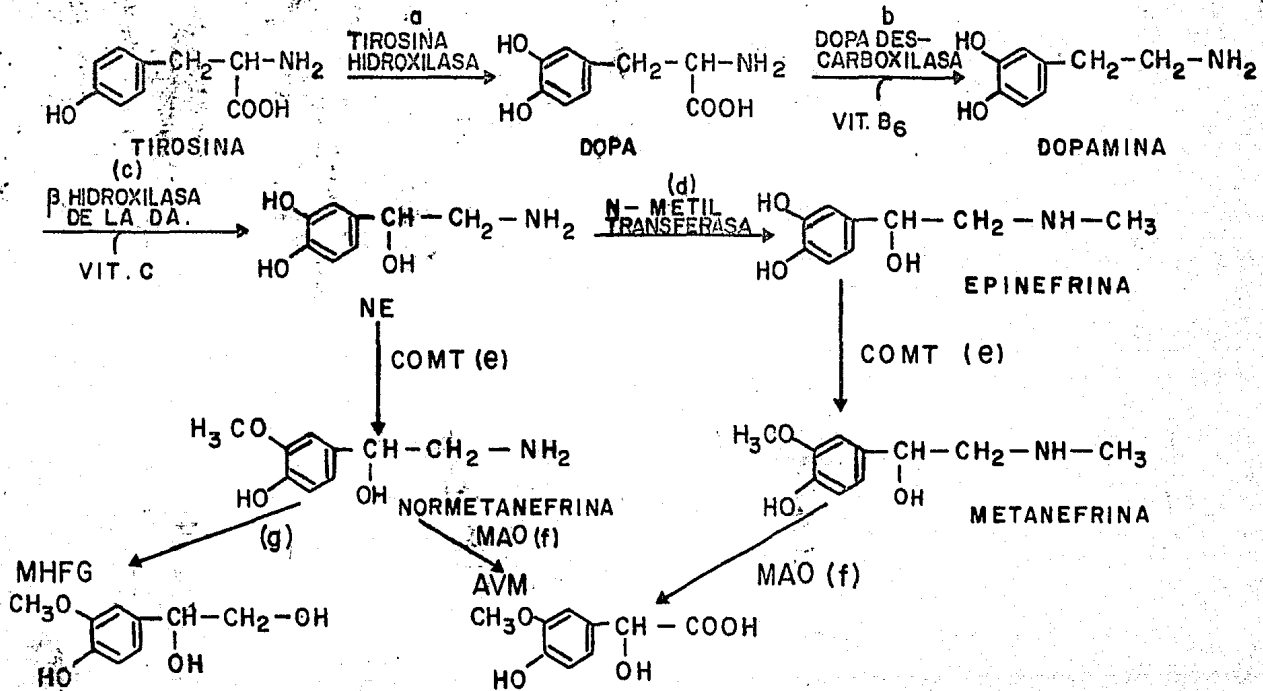


FIG. 4

BIOSINTESIS Y DEGRADACION DE LAS CATECOLAMINAS

Enzimas involucradas en la biosíntesis de las C A.

- 1.- Hidroxilasa de la tirosina
- 2.- Descarboxilasa de la DOPA
Descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos
- 3.- Dopamina β -hidroxilasa

METABOLISMO DE LA SEROTONINA

El triptófano, un aminoácido de la dieta, es el precursor de la serotonina, es hidroxilado por la hidroxilasa del triptófano para formar 5-hidroxitriptófano. Esta enzima no ha sido tan estudiada como la hidroxilasa de la tirosina (131), y no se ha aclarado todavía, si esta enzima es inducible cuando la actividad de las terminaciones serotoninérgicas son alteradas. Existen algunas condiciones bajo las cuales la conversión de triptófano a serotonina se lleva a cabo en el animal-intacto, pero si interviene la enzima en este proceso se ignora. El LSD disminuye la velocidad de recambio de la serotonina (5HT) debido a que el triptófano no se transforma en la amina con la velocidad normal (132); se piensa que el LSD mimifica a la 5HT en sus receptores post-sinápticos, por lo tanto, las neuronas post-sinápticas transmiten un mensaje "demandada serotonina" a la neurona presináptica, cuya velocidad de síntesis disminuye, regulando de esta manera la síntesis de 5HT por un proceso de retroalimentación (133).

El 5-hidroxitriptófano es descarboxilado a 5-hidroxitriptamina (5HT) o serotonina; por la descarboxilasa del 5-hidroxitriptófano, también denominada como descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos. La serotonina es degradada por una sola enzima, la monoamino-oxidasa (MAO).

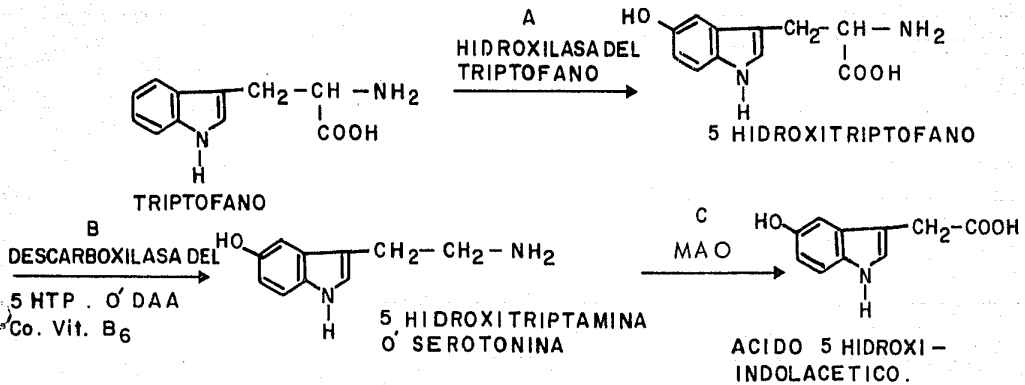
No se ha demostrado en forma concluyente que la 5HT sea un neurotransmisor en sistema nervioso central o en nervios periféricos, de tal forma que no hay una manera sencilla para determinar que mecanismo ocurre para su inactivación. Como en la NE la 5HT puede ser acumulada por neuronas serotoninérgicas.

gicas mediante un sistema de transporte altamente específico a nivel de la membrana neuronal.

La idea de que la acción de los neurotransmisores se termina con su recaptura parece ser el mecanismo general para finalizar con su acción; y que la degradación enzimática como acontece con la acetilcolina, puede ser la excepción a la regla.

FIG. 5

BIOSINTESIS Y DEGRADACION DE LA SEROTONINA



I.5 HIPOTESIS DE TRABAJO . -

Se ha demostrado que existen marcadas diferencias entre la - psicosis anfetamínica y la producida por otro tipo de drogas tales como LSD y mezcalina. También se ha señalado que la - intoxicación crónica y la aguda a d-anfetamina causan altera- ciones de conducta por lo que podría considerarse como una - "psicosis modelo". En humanos el que la dependencia a anfe- tamina produzca una psicosis indiferenciable a la esquizofre- nia paranoide y que desaparezca la sintomatología clínica - un mes después de haber suprimido la anfetamina del organis- mo ha sugerido que el desarrollo de la psicosis (9, 90, 91)- podría depender de la acción indirecta del fármaco, provocan- do alteraciones en el metabolismo cerebral. Stein, 1964, -- (92) y Weissman y Col., 1966, (93), postularon que los efec- tos conductuales producidos por d-anfetamina se debían a la- liberación de neurotransmisores en el cerebro, elevando las- aminas biogénicas y haciéndolas interaccionar con los recep- tores post-sinápticos. Anteriormente Utena y Col. en 1959,- (94) demostraron que algunas enzimas cerebrales; hexocinasa y mono-amino-oxidasa se modificaron después de la administra- ción crónica de meta-anfetamina. Schildkraut en 1971 (95) - reportó que la hidroxilasa de la tirosina se elevaba después de ser administrada la d-anfetamina. Munkvad, Randrup, etc. (81, 82, 96, 97, 98, 99) han descrito las modificaciones con- ductuales que se observan en los animales de laboratorio des- pués de la administración de este fármaco como son: lamido,- olfateo, estornudo, etc., así como el hecho de que la condu-

ta estereotipada podía ser inhibida por sustancias tales como la metil-p-tirosina y otros que inhiben la síntesis de las catecolaminas, esta idea ha sido apoyada por otros investigadores que han intentado correlacionar los cambios conductuales como hiperactividad, incoordinación psicomotora, movimientos estereotipados etc., con alteraciones en el metabolismo de las aminas biogénicas (74,96,100,101,102,103,104,105).

Algunas evidencias sugieren que posiblemente no sólo participan las aminas biogénicas en el modo de acción de las anfetaminas sino que halla otros caminos metabólicos que puedan estar involucrados.

Diversos autores han demostrado que algunos agentes neurofarmacológicos como: reserpina, iproniazida y otros, que alteran la concentración de aminas cerebrales, también modifican los niveles de fosfato de piridoxal (106, 107), o la actividad de la fosfoquinasa del piridoxal (106, 107). Por otra parte, también se ha demostrado que los niveles de fosfato de piridoxal (108, 109) en cerebro afectan la actividad de la fosfoquinasa del piridoxal. Ya que, los datos señalados sugieren que los niveles de aminas biogénicas y fosfato de piridoxal ejercen un control de la función del metabolismo de la vitamina B₆ en el cerebro, resulta de interés estudiar otros agentes neurofarmacológicos tales como la amfetamina y algunos derivados de la misma sobre el metabolismo del fosfato del piridoxal y su relación con el metabolismo de las aminas biogénicas. Trataremos de analizar, por un lado, si las alteraciones conductuales producidas por la administración crónica de

d-anfetamina son un fenómeno mediado por algunas (5) de las aminas biogénicas, o por algún mecanismo relacionado con su metabolismo. Y por otro estudiaremos la actividad de la cianasa del piridoxal, enzima responsable de la formación del fosfato del piridoxal, coenzima indispensable para un gran número de reacciones, tales como, las descarboxilaciones, transaminaciones, etc., que son reacciones involucradas en la síntesis de las aminas biogénicas y de otros metabolitos. Además se cuantificarán los niveles de fosfato de piridoxal en el tejido cerebral de ratones tratados aguda o crónicamente con d-anfetamina y algunos derivados de la misma. También se estudiará la adenosín trifosfatasa (ATPasa) cerebral ya que, recientemente se ha demostrado que posiblemente participa en los procesos de neurotransmisión y se ha sugerido que es posible que sirva como un acarreador del cotransporte de Na^+ y NE a través de la membrana, por lo que resulta de interés conocer de que manera se afectará la actividad de la ATPasa después de la administración de d-anfetamina y algunos derivados de la misma.

Además de analizaré la actividad de la acetilcolinesterasa (ACHE) en nuestras condiciones experimentales, debido a la controversia que existe en relación con ella.

Por último, se analizará la actividad de la MAO en el cerebro de ratón después de la administración aguda y crónica de d-anfetamina, ya que, se ha demostrado que se inhibe su actividad tanto in vitro como in vivo y trataremos de correlacionar esta actividad con los niveles de NE y 5HTP.

I.- 6 MODELO EXPERIMENTAL: P S I C O S I S A N F E T A M I N I C A .

Se empleó como "modelo experimental" de la esquizofrenia el "modelo" de "Psicosis Anfetamínica".

La psicosis anfetamínica ha sido utilizada como un modelo para estudiar la posible etiología de la esquizofrenia paranoide.

El argumento más sencillo en su favor es el de que numerosos pacientes con psicosis anfetamínica han sido erróneamente diagnosticados como esquizofrénicos paranoides. Otro argumento en apoyo es la semejanza con la que son tratadas las psicosis anfetamínica y la esquizofrenia paranoide, ya que, en ambas la terapia usada son las fenotiazinas. Por otra parte se ha asumido que probablemente la semejanza entre la estructura química de la anfetamina y las catecolaminas, sea la responsable de que la anfetamina ejerza sus principales efectos sobre la conducta a través de sus interacciones con las catecolaminas cerebrales.

Asimismo, se ha demostrado que este "modelo" sólo se desarrolla durante la administración crónica de la anfetamina. En el ser humano se producen cambios de las conductas motora y anímica, cambios que constituyen el síndrome clínico conocido como "Psicosis Anfetamínica" (9, 36, 38, 46, 77, 80).

La conducta estereotipada, así como las conductas motoras aberrantes son semejantes en el ser humano y en los animales de experimentación; de ahí que se ha sugerido que estas conductas inducidas por la administración crónica de anfetamina en animales de experimentación pueden emplearse como un "modelo de psicosis"; específicamente para el estudio de la psicosis anfetamínica que ha sido considerada como un modelo que intenta descubrir lo relacionado con la E S Q U I Z O F R E N I A (103, 133, 134).

II. MATERIALES Y METODOS

II.-1 Animales

Los experimentos se llevaron a cabo con 550 ratones machos de la cepa CD-1, Charles River, jóvenes adultos de 25-28 g de peso. Los animales se mantuvieron en jaulas especiales (24 X 38 X 19 cm) divididas en 8 áreas, en un laboratorio a prueba de ruidos, con temperatura constante $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y un ciclo alternante luz-oscuridad 12:12 hs. El alimento (Purina Laboratory Chow) y el agua se administraron "ad libitum".

II.-2 Experimentos "in vitro" con d-anfetamina.

Se llevaron a cabo experimentos en los que se añadió al medio de incubación dosis equimoleculares de d-anfetamina a las empleadas en los experimentos agudos y crónicos.

II.-3 Administración aguda de d-anfetamina.

En estos experimentos se administraron 1, 2, 5 y 10 mg/Kg de d-anfetamina o solución salina fisiológica a ratones por vía intraperitoneal. El volumen administrado fue de 0.2 ml/30 g de ratón. En este caso los animales se sacrificaron 45 minutos después de la administración de la droga.

II.-4 Administración crónica de d-anfetamina, DOM (2,5 dimetoxi-4-metil-anfetamina) y TMA (2,3,4 trimetoxianfetamina).

El sulfato de d-anfetamina, sus derivados DOM y TMA, así como solución salina fisiológica se administraron por vía intraperitoneal (I.P.) durante 60 días consecutivos. El volumen administrado fue de 0.2 ml/30 g de ratón.

Las dosis de d-anfetamina fueron de 1, 2 y 10, mg/Kg/día y las dosis de DOM y TMA, diez veces menos que las dosis de anfetamina, con la que se compararon: (2 mg/Kg/día).

II.-5 Análisis de la cinasa del piridoxal.

II.-5.a. Preparación del tejido.- Los animales se sacrificaron --

de semicarbazida 0.2 M y 2 ml de un homogeneizado de cerebro. El volumen final de reacción se ajustó a 3.5 ml con agua. Las reacciones se mantuvieron durante 5 min. en un baño de agua hirviendo e inmediatamente a baño de hielo, añadiéndoles 2 ml de HClO_4 al 12%. Se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y se transfirieron a celdas de 1.5 ml, inmediatamente antes de leerse la fluorescencia se añadieron 1.5 ml de Na_3PO_4 . La fluorescencia se leyó a 460 nm de emisión y 380 nm de excitación en un fluorómetro Perkin-Elmer Mod. MPF - 2 A. Se emplearon 2 tipos de blanco, uno de agua y otro en el que se reemplazó la semicarbazida por HCl. Todo el procedimiento se llevó a cabo con luz tenue. Se introdujó con cada grupo de muestras una curva patrón de fosfato de piridoxal.

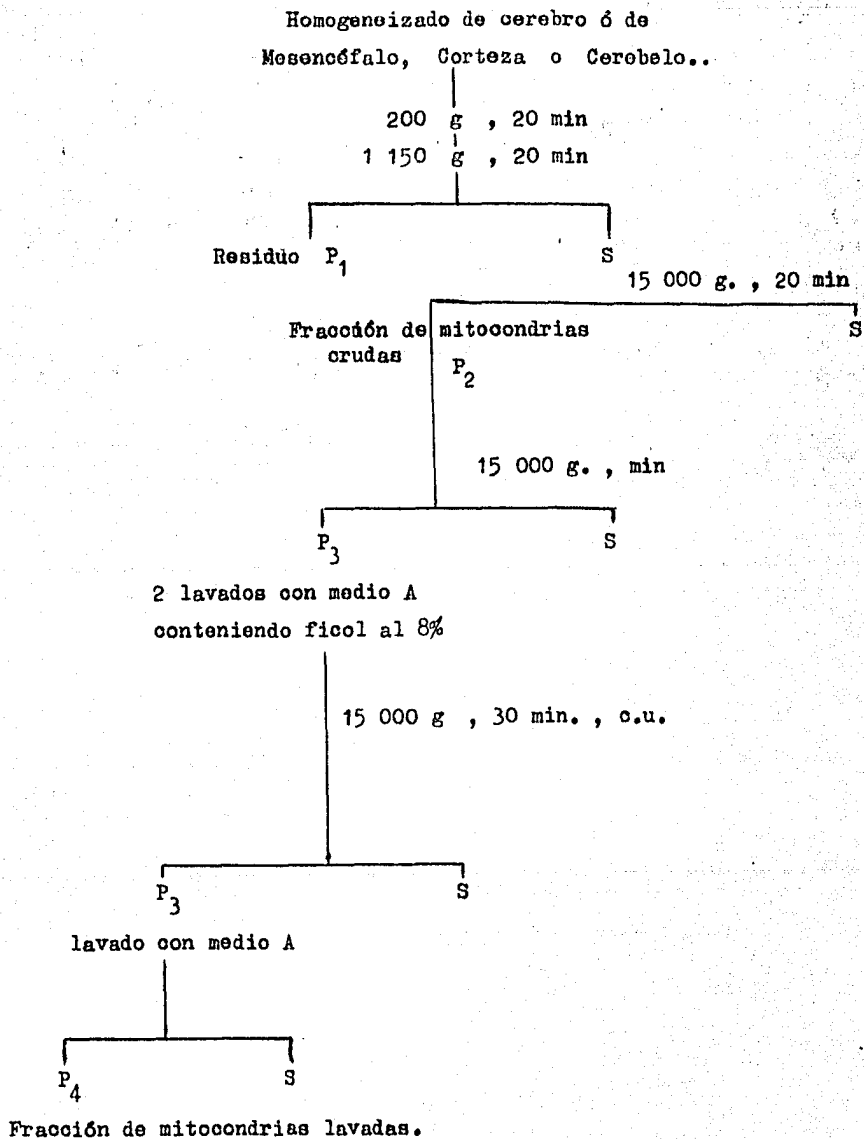
II.7 Análisis de la adenosín - trifosfatasa (ATPasa).

II. a.- Preparación del tejido.- Los animales se sacrificaron por decapitación, disecándose de inmediato el cerebro o las regiones del mismo, colocándoles en un homogeneizador Potter - Elvehjem. El tejido se pesó, procediéndose de inmediato a la obtención de la fracción mitocondrial.

Se prepararon las fracciones mitocondriales de acuerdo con el método de Basford (138) modificado por Achee et al (139), el tejido se homogeneizó en un medio conteniendo sacarosa 0.4 M, 0.01 EDTA y 0.2% de heparina (al que se denominó "Medio A"), en una proporción de 1:20 (P/V). La heparina se añadió con el propósito de minimizar la aglutinación de las mitocondrias con otras partículas subcelulares. El homogeneizado se sometió a centrifugación diferencial. El homogeneizado se centrifuga a 600 g X 20 minutos e inmediatamente después a 1 150 g X 20 minutos, el residuo (P_1) se descarta y el sobrenadante (S) se centrifuga a 15 000 g X 20 minutos, el residuo (paquete de mitocondrias crudas) (P_2) se resuspende en "medio

ESQUEMA DE LA CENTRIFUGACION DIFERENCIAL PARA LA OBTENCION
DE "MITOCONDRIAS LAVADAS".

FIGURA 7





Micrografía de la fracción lavada de mitocondrias
de cerebro de ratón (X 85 000).

"A" conteniendo ficol al 8% en una proporción de 6 ml/g de tejido -- original, a 15 000 g X 30 minutos, el P₃ se resuspende en "Medio A" con ficol al 8%, y se centrifuga nuevamente a 15 000 X 30 minutos, -- S se descarta. El P₃ obtenido de estos dos lavados, se lava con "me dio A" en una proporción de 4 ml/g de tejido original, centrifugándo se a 15 000 g X 15 minutos, obteniéndose de esta manera P₄ o fracción de "mitocondrias lavadas".

II. 7.b. Cuantificación de la ATPasa.

La actividad de la ATPasa se determinó en la fracción mitocondrial -- obtenida por el método antes descrito. La técnica que se empleó pa -- ra determinar la actividad de la ATPasa fue descrita por Järnefelt -- (140) con algunas modificaciones que se enumeran a continuación: 1) Volumen final de la reacción 1.5 ml en lugar de 1.0 ml. Las concen -- traciones finales de incubación fueron: 2) Buffer TRIS-HCL pH 7.0 -- (en lugar de 7.5) 20 mM, Na-ATP ₅ nM y MgCl₂ 5 nM; se añadió a la -- mezcla 0.1 ml de la suspensión de la enzima. Las muestras se incuba -- ron a 37°C, 30min. (en lugar de 30° a 10 min.). Los blancos se in -- cubaron sin ATP. Las reacciones se pararon con 200 ul de TCA al 30% (en lugar de 1.0 ml de TCA al 25%). La protefna desnaturalizada se -- sedimentó por centrifugación a 3000 g X 10 minutos. Se tomó una ali -- cuota del sobrenadante y se cuantificó el fosfato inorgánico formado por el método de Fiske y Subbarow (141) modificado por Summer (142). Se determinó espectrofotométricamente a 600 nm. Las muestras se co -- rrieron por triplicado y los blancos por duplicado. El valor del -- blanco se restó de la absorbancia obtenida para cada muestra (proma -- dio del triplicado).

II.8.a. Método espectrofotométrico para medir la actividad de la MAO.

La actividad de la MAO se determinó empleando el método descrito por Weissbach (143) y modificado por Harada (144) y Catravas (145).

Estos métodos se basan en el mismo principio, es decir, en la transformación de la quinuramina en su producto de reacción, la 4-hidroxiquinolina. La mezcla de reacción contenía: 2.6 ml de buffer de fosfatos pH 7.4, 0.5 M, en ese volumen la concentración del sustrato fue de 0.3 μ M (quinuramina) y 100 μ l de la enzima (como fuente de la enzima se empleó la fracción mitocondrial, obtenida como ya se describió antes). El blanco que se empleó fue con la enzima hervida. Las muestras se corrieron por triplicado y los blancos por duplicado. Las reacciones se incubaron a 37°C durante 30 minutos y se pararon por adición de NaOH 0.5 N y ZnSO₄ al 10%. Las reacciones se centrifugaron a 10'000 X g X 10 min. La absorbancia se leyó a 360 nm. El blanco se restó de la absorbancia obtenida para cada muestra.

II.8.b. Método radiométrico para medir la actividad de la MAO.

El análisis radiométrico de la actividad de la MAO se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita por Wurtman and Axelrod (1963) (146) para el análisis de la triptamina - ¹⁴C. Un ensayo típico fue el siguiente: 50 - 100 μ g de enzima, buffer de PO₄ 50 mM, pH-7.4 y 0.1 mM de triptamina - ¹⁴C; se incubaron en un volumen de 0.5 ml durante 20 minutos a 37°C. Las reacciones se pararon por adición de 0.5 ml de HCl 2. N. La mezcla se extrajo con 8 ml de tolueno y se contó en 10 ml de liquifluor. El blanco que se in--

rodujo fue con la enzima hervida.

II.-9 Quantificación de la acetilcolinesterasa (ACHE).

La actividad de la ACHE se determinó según el método de Ellman y colaboradores (147). La mezcla de la reacción contenía: 3.0 ml de buffer de fosfatos 0.1 M, pH 8.0; 20 ul de yoduro de acetilcolina 0.075 M (empleado como sustrato) 100 ul de ácido ditiobisnitrobenzoico (DTNB) en buffer de fosfatos pH 7.0, 0.1 M al que se añadieron 15 mg de bicarbonato de sodio, y 50 ul de enzima (se usó como fuente de la enzima, la fracción mitocondrial "lavada", obtenida como se describió en párrafos anteriores). El blanco que se empleó no contenía la enzima. La absorbancia se leyó a 412 nm en un espectrofotómetro.

La ventana del espectrofotómetro se abrió para ajustar a cero. Se calculó el cambio de absorbancia por minuto. Las muestras se corrieron en todos los casos por triplicado.

II.-10 Quantificación de serotonina.

Se empleó el método de Snyder (149) que consiste en: homogeneizar 1 g de tejido en 8 ml de HClO_4 , centrifugar a 2 200 rpm durante 10 min. Tomar una alícuota de 2 ml de sobrenadante y llevarla a pH 10-11 con NaOH 3N, añadir 0.5 ml de buffer de boratos 0.1 M pH 10, 6 ml de butanol y cloruro de sodio hasta sobresaturación. Agitar durante 10 min., centrifugar 1 000 rpm por 5 minutos. Una alícuota de 4 ml de butanol se transfirió a un tubo que contenía 10 ml de heptano y 2.4 ml de buffer de fosfatos 0.05 M, pH 7.0. Se agitaron durante 10 minutos y se centrifugaron a 1 000 rpm por 5 minutos. Se eliminó la fase orgánica y al buffer se le añadió

ron 100 ul de ninhidrina 0.1 M. Se pusieron en baño a 70°C durante una hora. Se enfriaron y leyeron a 385 nm de emisión y 490 nm de excitación en un fluorometro Aminco-Bowman, mod. 110. Para cada determinación se introdujo un blanco de ácido perclórico y una curva estandar de serotonina.

II.12.- Cuantificación de proteínas.

Las proteínas se determinaron por el método descrito por Lowry y colaboradores (15) empleando albúmina de suero de bovino (fracción V) como estandar.

A alícuotas de 0.4 ml conteniendo entre 5 - 100 mg de proteína, se le añadieron 200 ul del reactivo "C" (el reactivo "C" se obtiene mezclando 50 ml de reactivo A y 1 ml de reactivo B. Reactivo-A se preparara una solución de Na_2CO_3 al 2% en NaOH 0.1 N y reactivo "B" se prepara a partir de $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en tartrato doble de sodio y potasio al 1%) y 10 min. después se añadieron 200 ul de reactivo de fenol (Folin - Ciocalteu), agitándose vigorosamente. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, 30 minutos después se leyeron en un espectrofotómetro Cary 118-A, a 500 nm.

III.- R E S U L T A D O S

III.-1 Cambios conductuales

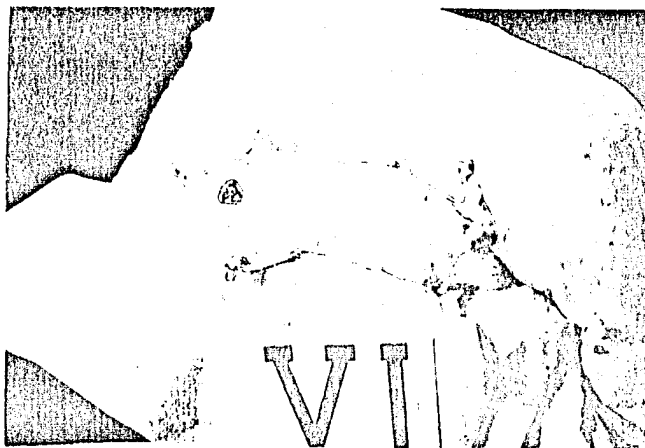
Se llevaron a cabo observaciones diarias de la conducta de los ratones, la cual se midió subjetiva y objetivamente. Se fueron anotando la aparición de alteraciones conductuales, así como el número de animales presentes en cada una de las áreas en que se habían dividido las jaulas.

Tanto la administración aguda como la crónica de anfetamina producen cambios conductuales que se deben en particular al tiempo y a la dosis. Los cambios estereotipados involucran movimientos repetidos de continuo o posiciones posturales completamente anormales. Esta conducta aparece a los 45 minutos y tiene una duración máxima de 2 horas, después de la administración de la droga.

Los movimientos estereotipados que se observaron fueron: hiperactividad, movimientos incontrolados, sudoración, mordisqueo, agresividad, mofateo, rasquido y fatiga. Después del decavo día de la administración diaria de dosis de 5 y 10 mg. de d-anfetamina, además de las alteraciones de conducta ya señaladas, se observaron anomalías de la conducta que consistieron en lesiones torácicas autoinflingidas (fig. fotos 1 y 2), movimientos circulares "extraños" canibalismo, etc. Esta conducta persistió y se agravó durante los días vigésimo al trigésimo quinto de la administración diaria de d-anfetamina.

III.2 Desorganización social.

Como no encontramos en la literatura ningún método que nos permitiera estimar la distribución territorial de animales en una



Inicio de la lesión torácica causada por la administración
crónica de d-anfetamina (doceavo día de la administración-
de la droga) Dosis de 10 mg/Kg/día



Lesión torácica que causó la muerte a los 35 días de administración de la d-anfetamina.

Dosis de 10 mg/Kg/día.

jaula, se desarrolló un método empírico (151), partiendo de la premisa de que un máximo de dispersión de los animales en un área, se obtiene cuando la suma de sus interdistancias es máxima. El área se dividió en cuadrados cuya distancia es el largo de 2 animales, por lo tanto un animal dentro del área de un cuadrado se le considera ubicado en el centro del mismo. La unidad de medida es el lado del cuadrado, por lo tanto a dos animales en un mismo cuadrado se les asigna una interdistancia cero y la dispersión del animal (i) con respecto al animal (j) es la distancia (d) del centro del cuadrado donde se ubica el animal (i) con respecto al centro del cuadrado del animal (j) - d i j -. La dispersión del área es la sumatoria:

$$D = \frac{1}{n^2} \sum_{i, j} d_{i j}$$

$$D = \frac{1}{n^2} \sum_{i, j} d_{i j}$$

por lo tanto el índice de dispersión está dado por:

$$I D = n_1 (n_2 + n_3 + 2 n_4 + 2 n_5 + 5 n_6 + 5 n_7 + 7 n_8 + \dots)$$

De donde:

$$D = \frac{1}{2} \sum_{i, j} d_{i j}$$

INDICE DE DISPERSION

X (1)	1 (2)	5 (7)
i (3)	$\sqrt{2}$ (4)	
2 (5)	$\sqrt{5}$ (6)	
$\sqrt{7}$ (8)		

$$I D = n_1 (n_2 + n_3 \sqrt{2 n_4} + 2 n_5 + \sqrt{5 n_6} + \sqrt{5 n_7} + \sqrt{7 n_8})$$

De donde: $D = \frac{1}{2} \sum_{i,j} d_{ij}$

UNICEF DE DESARROLLO DE LA COMUNIDAD DE LA ANFITANINA.

	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	ANF	
	2 mg	4 mg	10 mg	1 mg	5 mg	10 mg	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg	5 mg	2 mg	10 mg	
OIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	4.80	9.60	0.00	10.73	9.39	9.60	8.88	10.00	3.37	1.80	1.80	4.20	0.00	8.40
2	5.17	0.00	5.37	1.80	9.15	0.00	0.00	6.30	4.20	0.00	9.39	1.80	0.00	0.00
3	7.15	6.44	9.71	9.39	11.79	9.13	8.94	6.97	5.37	12.09	6.40	13.31	12.14	3.60
4	4.20	7.15	3.20	0.00	4.02	0.00	8.94	0.00	13.91	8.40	4.20	4.20	12.15	0.00
5	4.80	5.46	5.62	0.00	13.65	0.00	1.77	11.01	11.42	10.84	14.62	8.01	6.00	0.00
6	4.20	3.60	13.14	3.60	3.48	6.30	5.90	4.20	7.41	4.80	4.20	3.20	6.00	6.40
7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	4.00	0.00	10.16	3.20	9.64	11.95	10.64	8.40	3.37	7.89	5.62	3.60	6.53	8.01
9	3.11	9.92	4.80	0.00	11.65	11.96	12.40	9.75	4.06	9.12	6.69	11.54	10.59	4.80
10	4.00	2.51	9.93	4.02	6.27	9.60	5.22	8.40	3.20	0.00	0.00	4.02	0.00	0.00
11	33.30	3.97	8.76	10.40	11.73	9.71	3.11	4.20	3.95	6.49	13.86	3.60	6.40	0.00
12	0.00	5.47	3.97	7.81	8.94	0.00	5.38	4.20	8.73	7.15	5.24	5.46	1.80	12.02
13	7.95	7.77	8.47	0.00	7.93	6.13	0.00	7.32	10.15	5.24	5.62	5.46	5.24	3.60
14	11.08	3.97	1.66	3.20	5.34	12.15	0.00	13.84	8.40	3.20	7.89	3.20	3.20	6.00
15	4.44	4.00	1.50	1.80	6.27	6.97	0.00	8.30	10.99	7.89	9.13	3.20	6.00	7.82
16	6.33	3.11	0.00	0.00	8.28	5.17	0.00	3.20	11.35	8.37	5.00	4.02	12.07	7.62
17	4.44	4.62	0.00	6.82	4.31	7.41	0.00	3.20	11.46	0.00	5.75	9.41	1.80	3.20
18	3.97	5.53	0.00	9.87	3.23	7.40	11.95	10.16	11.57	4.20	7.10	2.54	13.62	0.00
19	3.11	0.00	0.00	0.00	9.03	12.07	0.00	1.80	10.89	4.20	7.60	8.22	12.96	3.20
20	3.11	4.62	0.00	0.00	0.00	3.60	0.00	5.57	3.60	3.20	3.60	4.20	1.80	0.00
21	7.06	3.42	3.00	0.00	8.94	1.80	0.00	9.74	9.46	9.97	1.80	10.73	1.80	0.00
22	4.62	3.11	0.00	0.00	1.77	3.20	0.00	3.60	8.00	8.00	5.62	3.20	8.40	4.02
23	4.00	0.00	0.00	4.02	10.85	3.20	0.00	11.47	7.34	4.06	4.02	10.91	10.28	9.60
24	1.77	1.77	0.00	0.00	3.97	3.60	0.00	3.20	1.80	3.60	4.20	1.80	3.20	0.00
25	1.77	3.11	0.00	2.54	8.94	4.02	1.80	0.00	3.20	4.20	2.54	3.20	3.20	0.00
26	0.00	1.77	0.00	0.00	3.11	3.60	0.00	0.00	3.20	5.24	5.24	4.02	12.07	0.00
27	0.00	0.00	0.00	0.00	3.97	4.02	0.00	0.00	0.00	3.20	6.49	0.00	6.73	0.00
28	6.95	5.53	0.00	0.00	3.97	0.00	0.00	1.80	7.34	6.97	0.00	0.00	4.02	1.80
29	1.77	3.00	0.00	0.00	3.94	3.48	0.00	0.00	4.02	0.00	1.80	1.80	9.46	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00	12.16	6.97	0.00	0.00	1.80	0.00	7.22	0.00	8.39	0.00
31	3.11	0.00	0.00	0.00	9.93	0.00	0.00	1.80	5.62	5.00	1.80	4.02	6.40	0.00
2	1.77	5.53	0.00	0.00	4.99	4.35	0.00	5.46	4.76	3.48	0.00	0.00	13.52	0.00
3	3.97	1.77	0.00	3.48	8.38	8.40	0.00	2.98	5.20	5.46	9.88	9.41	3.91	4.02
34	7.53	3.97	0.00	3.20	7.85	0.00	0.00	11.71	10.46	1.80	4.80	7.15	5.24	0.00
35	4.00	1.77	0.00	1.80	8.28	1.80	0.00	0.00	11.95	11.96	1.80	1.80	0.00	6.00
36	4.00	5.77	0.00	0.00	9.53	0.00	0.00	9.60	3.95	5.24	5.57	0.00	0.00	10.48
37	4.44	3.97	0.00	4.02	6.70	0.00	0.00	7.40	5.49	11.71	4.20	5.62	13.10	0.00
38	4.62	4.62	0.00	0.00	11.19	5.74	0.00	0.00	3.20	4.06	8.83	5.24	8.55	4.02
39	1.77	8.00	0.00	0.00	8.59	6.40	0.00	0.00	3.13	3.20	1.80	1.80	11.79	0.00
40	9.98	3.97	0.00	0.00	9.20	6.89	0.00	3.48	7.78	10.36	6.86	10.73	5.57	9.13
41	5.77	8.88	0.00	4.02	8.94	9.90	0.00	0.00	7.78	4.20	4.80	3.20	4.20	4.20
42	0.00	0.00	0.00	0.00	3.91	0.00	0.00	11.39	5.80	6.40	4.02	0.00	9.79	10.00
43	0.00	0.00	0.00	0.00	7.74	3.20	0.00	0.00	4.06	4.06	0.00	0.00	1.80	0.00
44	1.77	3.97	0.00	9.60	7.66	1.80	0.00	5.74	3.20	9.97	1.80	12.58	10.95	10.61
45	1.77	8.73	0.00	3.00	6.38	4.80	0.00	10.00	4.80	5.24	0.00	4.02	8.95	8.98
46	3.11	6.22	0.00	4.02	7.06	5.00	0.00	9.60	6.40	9.37	0.00	9.39	12.13	0.00
47	3.97	0.00	0.00	1.77	8.32	4.20	0.00	3.60	1.80	6.89	7.60	0.00	13.73	7.56
48	3.11	8.00	0.00	0.00	7.66	0.00	0.00	3.60	7.78	6.40	4.20	3.20	4.02	0.00
49	3.42	3.97	0.00	1.80	8.00	0.00	0.00	7.10	6.82	3.20	1.80	1.80	3.11	6.82
50	5.47	0.00	0.00	0.00	0.00	4.80	0.00	0.00	3.60	4.02	5.62	0.00	3.91	0.00
51	3.97	0.00	0.00	0.00	1.66	5.57	0.00	8.46	5.40	6.97	4.02	6.97	3.91	3.60
52	3.11	8.44	0.00	1.80	7.66	4.80	0.00	9.60	0.00	3.20	6.82	4.20	6.00	0.00
53	3.11	0.00	0.00	4.06	4.04	10.74	0.00	1.80	6.49	6.73	6.40	9.36	3.00	8.40

T A B L A 2

PRUEBA DE "t"

Aplicada al Índice de dispersión de los diferentes grupos de ratones tratados con d-anfetamina.

Grupo	" t "
Anfetamina 1 mg	$p < 0.005$
Anfetamina 2 mg	$p < 0.005$
Anfetamina 5 mg	$p < 0.025$
Anfetamina 10 mg	$p < 0.050$
NaCl	$p < 0.250$

i y j son los animales localizados en cada una de las 8 áreas estipuladas (No. señalado en la fig. entre paréntesis) y d es la -- distancia entre ellos. Se formuló un programa FORTRAN para una - computadora IBM Mod. 1130, con el se calculó el índice de dispersión y al mismo tiempo se obtuvo la significancia estadística (-- prueba de "t" de student).

El método se aplicó con el propósito de medir la desorganización social entre los grupos tratados con d-anfetamina y sus grupos -- testigo.

En la tabla 1 puede observarse el índice de dispersión de ratones tratados con 4 diferentes dosis de d-anfetamina y sus grupos testigo.

La dispersión se midió 6 1/2 horas después de la administración - de la droga con el objeto de poder diferenciar el efecto agudo de la d-anfetamina, que como es bien sabido se presenta aproximadamente a los 45 minutos después de ser administrada y tiene una du ración máxima de 2 horas dependiente de la dosis. El índice de - la dispersión se registró diariamente durante los 60 días de admi nistración consecutiva de la d-anfetamina.

En la tabla 2 puede observarse la prueba de "t" aplicada a los di ferentes grupos tratados con d-anfetamina. En todos los casos en los que se administró la droga, la dispersión resultó altamente - significativa (en la mayoría de los casos $p < 0.005$), comparada - con los grupos testigo (en la mayoría de los casos $p < 0.25$).

Cuando los datos se grafican (gráfica 1) por medio del mismo pro- grama puede observarse que en los animales tratados se produce -- una gran dispersión comparada con aquella observada en los grupos testigo. Al graficar (gráfica 2) las tendencias ajustadas de los porcentajes de dispersión durante los 60 días de administración -

GRÁFICA -
MEDIDA DE DISPERSION EN RATONES

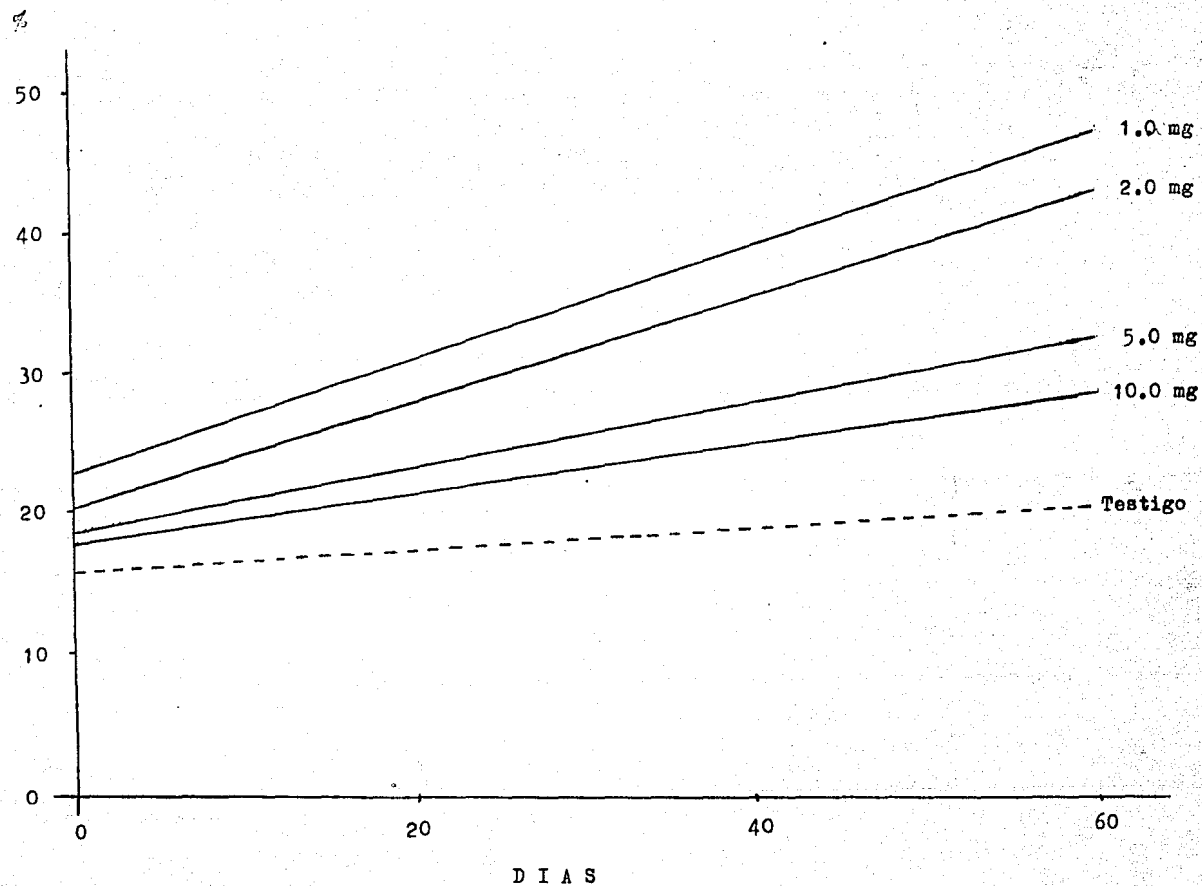
TESTIGO

DIA	0
15	*
	*
	*
	1 *
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
30	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
	*
45	1 *
	*
	1 *
	*
	*
	*

6 1/2 hrs despues de la administración de solución fisiológica
46 días de observación

GRAFICA 2

TENDENCIAS AJUSTADAS DE LOS PORCENTAJES DE DISPERSION



de la droga, puede observarse que a través del tiempo el índice de dispersión se incrementa inversamente a las dosis empleadas de d-anfetamina significativamente, $p < 0.001$ en una dosis de 1.0 y 2.0 mg y $p < 0.01$ con dosis de 5 y 10 mg.

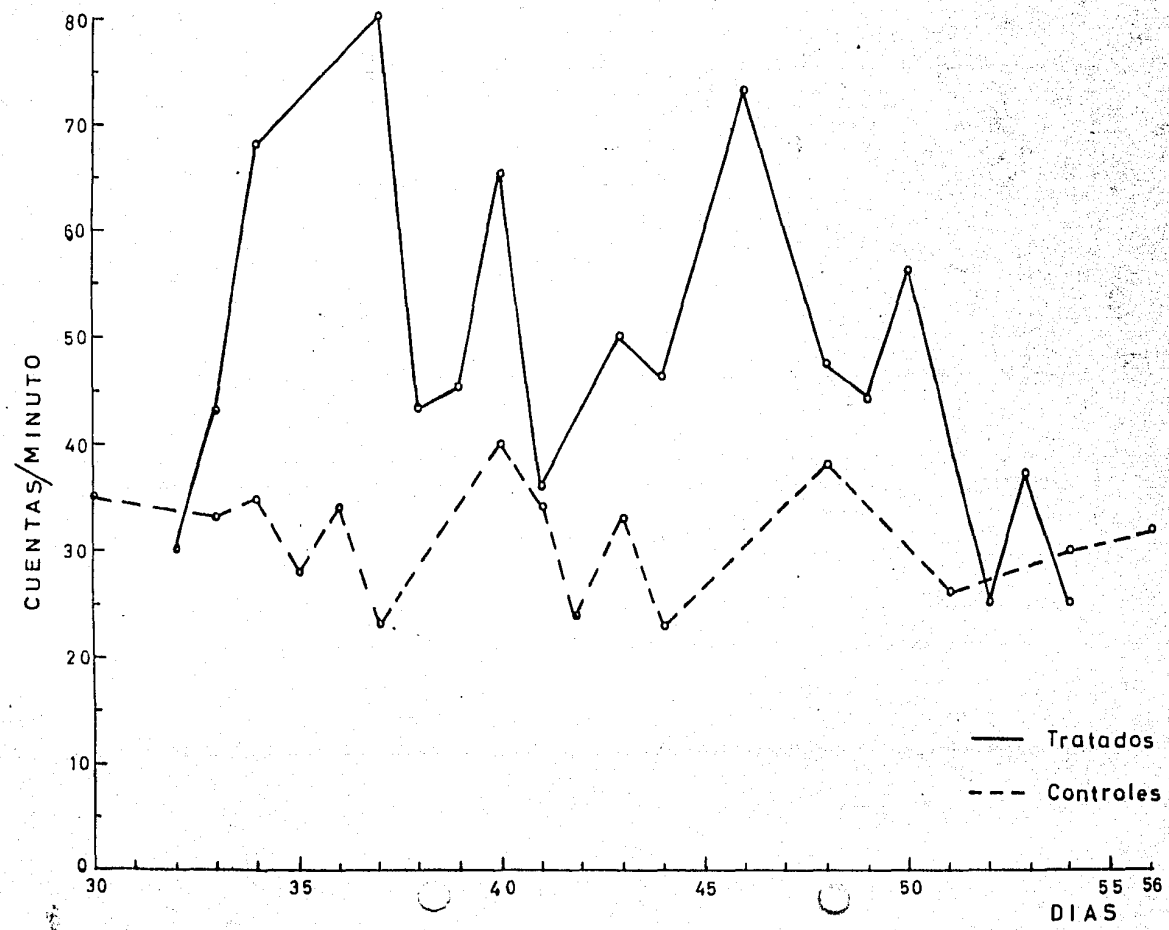
III.-3. Cinemómetro. Actividad motriz.

Se empleó un cinemómetro para medir la actividad motriz que presentan los ratones después de la administración de la d-anfetamina. El registro se llevó a cabo tomando el número de cuentas por minuto registrado en un contador automático.

El registro de la actividad motriz se inició 30 días después de la administración de la droga con el objeto de comparar el patrón establecido crónicamente entre el grupo testigo y el tratado.

En la gráfica No. 3 puede observarse el grupo testigo comparado únicamente contra el grupo de ratones tratados con 10 mg/Kg/día de d-anfetamina que fue el que manifestó la mayor actividad motriz contrastando con la menor dispersión. Las observaciones se llevaron a cabo durante 1 mes.

ACTIVIDAD MOTRIZ



III.-4. CAMBIOS BIOQUIMICOS

Efecto de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal "in vitro".

Al añadir a un medio de incubación concentraciones equimoleculares de d-anfetamina a las administradas intraperitonealmente 1m/Kg/día ($4 \times 10^{-6}M$) ó ($8 \times 10^{-6}M$), para medir la actividad de la cinasa del piridoxal no se observaron cambios en la actividad enzimática que resultaran estadísticamente significativos (tabla 3).

III.-5 Efecto de la administración aguda o crónica de la d-anfetamina (1, 2, 5 y 10 mg/Kg) en los tratados en forma aguda y (1, 2, 5 y 10 mg/Kg/día), en los tratados crónicamente.

Se administraron estas dosis con el objeto de comparar el efecto de la droga despues del tratamiento agudo o crónico sobre la actividad de la cinasa del piridoxal. Puede observarse que sólo en el caso de los animales tratados crónicamente (tabala 4) la actividad de la enzima se incrementa en forma estadísticamente significativa (p 0.001) con las cuatro dosis empleadas. Cabe señalar que con la dosis de 1 mg/Kg/día fue con la que mayor aumento se obtuvo en la actividad de la cinasa del piridoxal 418 n molas/mg de proteína vs. 270 n molas/mg de proteína del grupo testigo.

III.-6 Efecto de la administración de d-anfetamina, 2, 5 dimetoxi, 4 - metil anfetamina (DOM o STP) ó 2, 3, 4 trimetoxi anfetamina (TMA) sobre la actividad de la cinasa del piridoxal.

Teniendo en cuenta los datos obtenidos con la administración crónica de d-anfetamina surgió el interés de investigar si la administración de otros derivados de la d-anfetamina tenían tambien efecto sobre la actividad de la cinasa del piridoxal. Se administraron a diferentes grupos de animales 2 mg/Kg/día de d-anfetamina y a otros una dosis 10 veces menor, es decir, de 0.2 mg/Kg/día de -

DOM y a otro grupo de TMA. En la tabla 5 se observa que la actividad de la cinasa del piridoxal se elevó alrededor de un 50% del valor del grupo testigo contra el que se compararon con las 3 drogas estudiadas. Los valores resultaron estadísticamente significativos $p < 0.001$.

III.-7 Efecto de la duración del tratamiento con d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en cerebro de ratón. Como se observó que la dosis que mayor elevación produjo sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en cerebro de ratón fue la de 1mg/Kg/día, se llevaron a cabo una serie de experimentos en relación al efecto que podría producir el tiempo de administración del fármaco sobre la actividad de la enzima. Se sacrificaron grupos de animales cada 8 días y se analizó en ellos la actividad de la enzima. Los datos (gráfica 4) muestran que existe una actividad cíclica en ambos grupos testigo y tratado, sin embargo, puede observarse que en el grupo tratado, la actividad enzimática es de 80 n molas/mg de proteína y el del testigo de 172 n molas/mg de proteína al 8avo. día de administración de la droga ($p < 0.001$); la actividad enzimática se incrementa progresivamente y alcanza un pico de actividad máximo alrededor del día 30 de la administración del fármaco, alcanzando un valor de 332 n molas/mg de proteína vs. 236 n molas/mg de proteína del grupo control. Decece la actividad de la enzima paulatinamente alrededor del día 45 - 53 de la administración de la droga, para incrementarse nuevamente y al día 60 de la administración de la d-anfetamina alcanzar su valor máximo 360 n molas/mg de proteína vs. 225 n molas/mg de proteína del grupo testigo ($p < 0.001$).

III.-8 Efecto de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal y los niveles de fosfato de piridoxal en tres diferen

tes regiones del cerebro de ratón.

En los experimentos anteriores se demostró que la actividad de la cinasa del piridoxal se elevó en los animales tratados crónicamente tanto con diferentes dosis de d-anfetamina como con algunos derivados de la misma, llevamos a cabo experimentos con 1mg/Kg/día y se obtuvieron diferentes regiones del cerebro. En la tabla 6 puede observarse que la actividad de la cinasa del piridoxal se eleva únicamente en el mesencéfalo (336 vs 257 n molas/mg de proteína) en forma estadísticamente significativa, $p < 0.001$ y no hubo cambios ni en corteza, ni en el cerebelo. Paralelamente se determinaron los niveles de fosfato de piridoxal en las mismas regiones del cerebro. Como se indica en la tabla 6 solamente en el mesencéfalo se observaron cambios en los niveles de fosfato de piridoxal 0.91-ug/g de tejido en el grupo tratado comparados con su grupo testigo 1.57 ug/g. Tanto en cerebelo como en corteza no se observaron cambios en los niveles del cofactor.

III.9 Efecto de la mitomicina C sobre la actividad de la cinasa del piridoxal.

En la tabla 7 pueden observarse los resultados obtenidos. La actividad de la enzima se inhibió en aquellos animales tratados con mitomicina C en mesencéfalo, corteza y cerebelo en un 56.4, 47.1 y 55.1% respectivamente, cuando se compararon con su grupo testigo. La inhibición de la enzima fue aún más grande en los animales tratados con anfetamina y mitomicina en lastres regiones: 63.6% en mesencéfalo, 79.6% en corteza y 77.0% en cerebelo. Mientras que en los animales tratados con anfetamina se observó nuevamente que la actividad de la cinasa del piridoxal se incrementó solamente en el mesencéfalo.

III.-10 Efecto de la administración aguda o crónica de la d-anfe

tamina sobre la ATPasa.

En la tabla 8 se muestra el efecto del tratamiento agudo o crónico sobre la actividad de la ATPasa en una preparación de mitocondrias "lavadas" de cerebro de ratón. Los resultados muestran que la droga sólo tuvo efecto sobre la actividad de la enzima cuando se administró crónicamente, elevándose entre un 49 a 66% en relación con el valor del grupo testigo, y una relación inversa a la dosis administrada. Al aplicarse la prueba de "t" de student., se obtuvieron valores estadísticamente significativos ($p < 0.001$).

III.-11 Efecto de la administración de d-anfetamina, DOM y TMA sobre la actividad de la ATPasa.

Los resultados indican (tabla 9) que la actividad enzimática se elevó en los animales tratados con d-anfetamina, DOM y TMA de una manera muy semejante 3.80, 4.0 y 4.65 vs. 2.41 u molas de Pi liberado/mg de proteína.

III.-12 Efecto de la administración de d-anfetamina sobre la actividad de la ACHE.

Los resultados demuestran (tabla 10) que la droga administrada en forma aguda no modifica la actividad de la enzima; en cambio en la misma tabla puede observarse que la administración crónica, si afecta la actividad enzimática, incrementándola en forma estadísticamente significativa, únicamente con dosis altas 5 y 10 mg/Kg/día (28 y 44% respectivamente); cabe mencionar que con dosis bajas de 1 y 2 mg/Kg/día tiende a incrementarse dicha actividad observándose un incremento de 16 y 18% respectivamente.

III.-13 Efecto de la administración aguda o crónica de d-anfetamina sobre la actividad de la mono-amino-oxidasa.

Como en experimentos anteriores, se trató a diferentes grupos de ratones con diferentes dosis de d-anfetamina (1, 2, 5 y 10 mg/Kg/-

día). La actividad de la MAO se determinó en fracciones de mitocondrias crudas. En la tabla 11, puede observarse que la enzima se inhibió tanto en animales tratados en forma aguda como en forma crónica. Es interesante hacer notar que la actividad enzimática se inhibió presentando una relación inversa a la dosis administrada. Con 1mg/Kg/(día) la inhibición en ambos grupos (agudo y/o crónico) fue alrededor de 60%, con 2 mg del 50%, con 5 mg del 40% y con 10 mg más o menos de 25 - 30%.

III.-14 Efecto de la administración de d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en diferentes regiones del cerebro de ratón. DOPAMINA - H^3

En vista de que se había observado una inhibición de la actividad de la monoamino-oxidasa en mitocondrias crudas de cerebro de ratón se llevaron a cabo algunos experimentos en los que trataron animales con d-anfetamina y se obtuvieron el mesencéfalo, corteza y cerebelo a partir de los cuales se obtuvieron mitocondrias "lavadas" en las que se analizó por medio radiométrico la actividad de MAO en presencia de DOPAMINA H^3 ó de triptamina - C^{14} .

En la tabla 12 puede observarse que la actividad de la enzima, cuando se empleó H^3 - dopamina como sustrato, se inhibió en las 3-regiones estudiadas sólo en aquellos animales tratados con 1 mg/Kg/día de d-anfetamina en un 33.5, 38.8 y 32.59% respectivamente en mesencéfalo, corteza y cerebelo. También se observa que la actividad de la MAO se inhibió menos con dosis mayores (2 ó 5 mg/Kg/día).

III.-15 Efecto de la administración de d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en diferentes regiones del cerebro de ratón. TRIPTAMINA - C^{14} .

En la tabla 13 se indican los resultados obtenidos con TRIPTAMINA - C^{14} . Se observa una inhibición de la actividad de la monoamino-

oxidasa en las tres regiones estudiadas: mesencéfalo, corteza y -- cerebelo, así como una relación directa de la inhibición - dosis - respuesta -; por ej. en el mesencéfalo la inhibición fue de 21.2, - 30.2 y 35.6% con 1, 2 ó 5 mg/Kg/día de d-anfetamina respectivamente y es estadísticamente significativa.

III.- 16 Efecto de la administración de d-anfetamina sobre los - niveles de serotonina en tres regiones del cerebro de ratón. Teniendo en cuenta los datos obtenidos sobre la actividad de la -- MAO, se determinaron los niveles de serotonina en las mismas condi ciones de los experimentos anteriores. Puede observarse en la ta- bla 14 que los niveles de serotonina se incrementaron en mesencéfa- lo y en cerebelo con las tres dosis de anfetamina empleadas. Es - interesante mencionar que el aumento sufrido por la serotonina en - mesencéfalo 23.4, 33.3 y 45.7% es semejante al porcentaje que se - observó sobre la inhibición de la monoamino-oxidasa, cabe señalar- que en cerebelo la situación fue muy semejante. En corteza no se- observó cambio sobre los niveles de serotonina despues de la admini- nistración de 1m/Kg/día de d-anfetamina, aún cuando con dosis de - 2 y 5 mg/Kg/día si se elevaron éstos en un 16.9 y 31.6%.

T A B L A 3

Efecto "in vitro" de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal

concentración de d-anfetamina	Actividad enzimática
4×10^{-6} M	175 ± 10 (5)
8×10^{-6} M	175 ± 11 (5)
T E S T I G O	223 ± 16 (5)

Los datos se expresan como promedio \pm E S M

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

La actividad de la cinasa del piridoxal se expresa en n molas -
por mg de proteína.

T A B L A 4

Efecto de la administración aguda o crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en cerebro de ratón.

DOSIS DE d-anfetamina mg / Kg ó mg / Kg / día	A G U D A	C R O N I C A
1	242 ± 10 (8)	+418 ± 26 (8)
2	215 ± 10 (8)	+380 ± 9 (8)
5	215 ± 10 (8)	+389 ± 11 (8)
10	224 ± 17 (8)	+399 ± 18 (8)
T E S T I G O	261 ± 8 (8)	270 ± 20 (8)

En los experimentos agudos los animales se decapitaron 45 minutos después de la administración de la droga por vía I.P.

Los animales empleados en los experimentos crónicos se les administró la droga por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Los datos se expresan como promedio ± E S M

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

La actividad de la cinasa del piridoxal se expresa en n molas por-mg de protefina.

+ Prueba de "t" p < 0.001.

T A B L A 5

Efecto de la administración de d-anfetamina , 2,5 dimetoxi, 4 metil-anfetamina (D O M) 6 2,3,4 , trimetoxianfetamina (T M A) sobre la actividad de la Cinasa del-piridoxal.

D R O G A	d-anfetamina 2 mg/Kg/día	D O M 0.2 mg/Kg/día	T M A 0.2 mg/Kg/día	T E S T I G O
A C T I V I D A D E N Z I M A T I C A	410 ± 17 (8)	448 ± 14 (8)	391 ± 16 (8)	220 ± 5.0 (12)
	*p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	

Los animales se trataron durante 60 días consecutivos con la sidferentes drogas que se administraron por vía intra peritoneal.

Los datos se expresan como promedio = E. S. M.

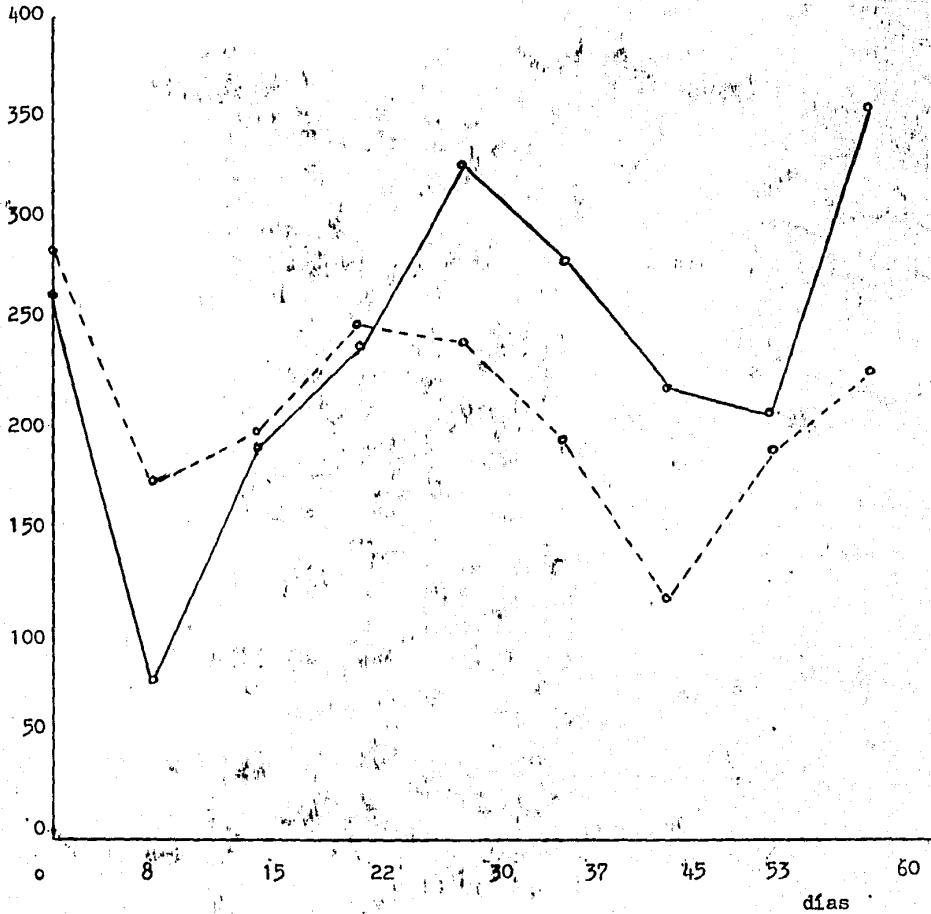
Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

La actividad de la cinasa del piridoxal se expresa en n molas por mg de proteína.

Prueba de "t".

GRAFICA 4

Efecto de la duración del tratamiento con d-anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en cerebro de ratón.



— Grupo tratado

- - - Grupo Testigo

0 = Agudo

Dosis de d-anfetamina 1 mg/Kg/día

Cada punto representa el promedio de 6 datos

T A B L A 6

Efecto de la d - anfetamina sobre la actividad de la cinasa del piridoxal y los niveles de fosfato de piridoxal en tres diferentes regiones del cerebro de ratón.

R. e g i ó n	TRATADO	TESTIGO	TRATADO	TESTIGO
	actividad enzimática n molas/mg de proteína		Fosfato de piridoxal ug/g de tejido original	
Mesencéfalo	⁺ 366 ± 21 (6)	257 ± 9 (6)	⁺ 0.91 ± 0.05 (6)	1.57 ± 0.04 (6)
Corteza	349 ± 23 (6)	360 ± 23 (6)	0.42 ± 0.01 (6)	0.48 ± 0.01 (6)
Cerebelo	489 ± 19 (6)	479 ± 15 (6)	0.80 ± 0.03 (6)	0.81 ± 0.04 (6)

Los animales fueron tratados con 1 mg/Kg/día de d-anfetamina, durante 60 días consecutivos, administrada por vía I.P.

Los datos se expresan como promedio ± error estandar (E S M)

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

+ Prueba de "t" p < 0.001

T A B L A 7

Efecto de la mitomicina C sobre la actividad de la cinasa del piridoxal en ratones -
tratados crónicamente con d - anfetamina.

REGION ACTIVIDAD DE LA CINASA DEL PIRIDOXAL
n molas / mg de proteina.

	Anfetamina 1 mg/Kg/día		Mitomicina C 50 ug		Anfetamina + Mitomicina C		TESTIGO
	% Inc.	% Inh.	% Inh.	% Inh.			
Mesencéfalo	355 ± 6 (8)	29.09	120 ± 8 (8)	56.36%	100 ± 9 (8)	63.64	275 ± 4 (8)
Corteza	330 ± 3 (8)		180 ± 5 (8)	47.06%	100 ± 10 (8)	70.59	340 ± 5 (8)
Cerebelo	465 ± 10 (8)		205 ± 4 (8)	55.14%	105 ± 2 (8)	77.02	457 ± 3 (8)

Los animales fueron tratados con 1 mg/Kg/día de anfetamina, durante 60 días consecuti-
vamente, administrada por vía I.P. La mitomicina C se administró 3 horas antes del sacri-
ficio de los animales en una dosis total de 50 ug.

Los datos se expresan como promedio \pm E S M.

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

+ p < 0.001 (Prueba "t" de student) ++ p < 0.001 (Prueba "t" de student).

T A B L A 8

Efecto de la administración aguda o crónica de la d-anfetamina sobre la adenosintrifosfatasa en cerebro de ratón.

Dosis		
d - anfetamina	A G U D A	C R O N I C A
mg / Kg		
6		
mg / Kg / día		
1	2.52 ± 0.03 (8)	+4.02 ± 0.14 (8)
2	2.51 ± 0.18 (8)	+3.81 ± 0.06 (8)
5	2.57 ± 0.04 (8)	+3.92 ± 0.10 (8)
10	2.73 ± 0.18 (8)	+3.62 ± 0.23 (8)
T E S T I G O	2.51 ± 0.18 (8)	2.42 ± 0.19 (8)

En los experimentos agudos los animales se decapitaron 45 minutos despues de la administración de la droga por vía I.P.

Los animales empleados para los experimentos crónicos se les administró la droga por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Los datos se expresan como promedio ± E S M.

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

La actividad de la ATPasa se expresa en u molas Pi/0.30 min./mg de proteína

+ Prueba de "t" p < 0.001.

T A B L A 9

Efecto de la administración de d - anfetamina, 2, 5 dimetoxi, 4 metil anfetamina, (D O M) 6 2, 3, 4, trimetoxi anfetamina (T M A) sobre la actividad - de la adenosintrifosfatasa (ATPasa).

D R O G A	d - anfetamina	D O M	T M A	T E S T I G O
	2 mg/Kg/día	0.2 mg/Kg/día	0.2 mg/Kg/día	
Actividad	3.80 ± 0.09 (6)	4.00 ± 0.28 (6)	4.65 ± 0.06 (6)	2.41 ± 0.18 (6)
	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	

Los animales fueron tratados durante 60 días con las diferentes drogas administradas por vía I. P.

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones

La actividad de la ATPasa se expresa en μ molas de Pi liberado / mg de proteínas.

+ Prueba de "t" p < 0.001.

T A B L A 10

Efecto de la administración aguda o crónica sobre la actividad de la acetilcolinesterasa en cerebro de ratón.

Dosis de d-anfetamina	A G U D A	C R O N I C A
mg / Kg		
6		
mg / Kg / día		
1	3.29 ± 0.06 (8)	2.90 ± 0.07 (8)
2	3.49 ± 0.02 (8)	2.94 ± 0.09 (8)
5	3.59 ± 0.11 (8)	⁺ 3.22 ± 0.11 (8)
10	3.65 ± 0.05 (8)	⁺⁺ 3.60 ± 0.07 (8)
T E S T I G O	3.90 ± 0.03 (8)	2.50 ± 0.05 (8)

En los experimentos agudos los animales se decapitaron 45 minutos después de la administración de la droga por vía I.P.

Los animales empleados en los experimentos crónicos se les administró la droga por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Los datos se expresan como promedio \pm error estandar (E S M)

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

La actividad enzimática se expresa en u molas / mg de proteína.

+ + Prueba de " χ^2 " p < 0.001

+ Prueba de " χ^2 " p < 0.01

Efecto de la administración aguda o crónica de la d-anfetamina sobre la actividad de la Monoamino oxidasa en cerebro de ratón.

Dosis de d-anfetamina mg / Kg δ mg / Kg / día	A G U D A	C R O N I C A
1	$^{+}1.83 \pm 0.05$ (8)	$^{+}1.86 \pm 0.07$ (8)
2	$^{+}2.68 \pm 0.13$ (8)	$^{+}2.32 \pm 0.14$ (8)
5	$^{+}3.12 \pm 0.006$ (8)	$^{+}3.53 \pm 0.03$ (8)
10	$^{+}3.42 \pm 0.08$ (8)	$^{+}3.01 \pm 0.01$ (8)
T E S T I G O	4.45 ± 0.02 (8)	4.70 ± 0.09 (8)

En los experimentos agudos los animales se decapitaron 45 minutos después de la administración de la droga por vía I.P.

Los animales empleados en los experimentos crónicos se les administró la droga por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Los datos se expresan como promedio \pm E S M .

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

La actividad de la M A O se expresa en n molas / mg de proteína.

Prueba de t de student $p < 0.001$

T A B L A 12

Efecto de la administración crónica de d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en diferentes regiones del cerebro de ratón. D O P A M I - N A - H³

R E G I O N			
DOSIS de d - anfetamina mg / Kg / día	Mesencéfalo	Corteza	Cerebelo
1	1315 ± 71 (10)	268 ± 17 (10)	3005 ± 109 (10)
2	1626 ± 55 (10)	413 ± 19 (10)	3415 ± 124 (10)
5	1827 ± 179 (10)	419 ± 8 (10)	3846 ± 362 (10)
T E S T I G O	1978 ± 96 (10)	438 ± 15 (10)	4458 ± 253 (10)

Los animales fueron tratados con d-anfetamina administrada por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Se empleó como sustrato para medir la actividad de la monoamino-oxidasa, dopamina - H³.

Los datos se expresan como promedio ± E S M^o.

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

La actividad enzimática se expresa como actividad específica (D P M / mg de proteína).

T A B L A 13

Efecto de la administración crónica de d-anfetamina sobre la actividad de la monoamino-oxidasa en tres diferentes regiones del cerebro de ratón.

TRIPRAMINA - C¹⁴.

Dosis de d-anfetamina mg / Kg / día	R E G I O N		
	Mesencéfalo	Corteza	Cerebelo
1	580 ± 86 (10)	195 ± 5 (10)	1460 ± 49 (10)
2	514 ± 18 (10)	128 ± 3 (10)	1189 ± 47 (10)
5	474 ± 16 (10)	96 ± 2 (10)	775 ± 49 (10)
T E S T I G O	736 ± 14 (10)	218 ± 7 (10)	1529 ± 18 (10)

Los animales fueron tratados con d-anfetamina administrada por vía l.^l. durante 60 días consecutivos.

Se empleó como sustrato para medir la actividad de la MAO, triptamina-C¹⁴.

Los datos se expresan como promedio ± E S M .

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

La actividad enzimática se expresa como actividad específica (DPM/mg de proteína).

T A B L A 14

Efecto de la administración de d-anfetamina sobre los niveles de serotonina en tres diferentes regiones del cerebro de ratón.

Dosis de d-anfetamina Mg / Kg / día	R E G I O N		
	Mesencéfalo	Corteza	Cerebelo
1	200 ± 8.6 (6)	279 ± 8.4 (6)	164 ± 2.1 (6)
2	216 ± 6.5 (6)	294 ± 2.3 (6)	170 ± 2.9 (6)
5	236 ± 4.6 (6)	347 ± 6.0 (6)	225 ± 2.0 (6)
T E S T I G O	162 ± 2.8 (6)	232 ± 33 (6)	171 ± 2.8 (6)

Los animales fueron tratados con d-anfetamina administrada por vía I.P. durante 60 días consecutivos.

Se expresan los datos como promedio ± E S M

Entre paréntesis se señala el número de determinaciones.

Los niveles de serotonina se expresan en mg/g de tejido húmedo.

D I S C U S I O N

IV.1 DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE:

- 1.a. LA CONDUCTA
- 1.b. LA CINASA DEL PIRIDOXAL
- 1.c. LA ADENOSINTRIFOSFATASA
- 1.d. LA ACETILCOLINESTERASA
- 1.e. LA MONOAMINO OXIDASA Y LA SEROTONINA

IV.-1.a. DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE - LA CONDUCTA

En el presente estudio hemos logrado producir alteraciones -- conductuales severas con dosis de 5 6 10 mg / Kg / día de d-anfetamina, semejantes a las descritas por diversos autores - (81, 82, 97, 98, 152, 153, 154) como son: estornudo continuo y vigoroso, lamido, mordedura de jaula, olfateo insistente, - etc. Además de estas alteraciones conductuales logramos re-- producir las que Carranza y Colaboradores (89) habían demos-- trado en ratones después del doceavo día de administración de 10 mg / Kg / día de d-anfetamina. Las anormalidades de con-- ducta con esta dosis consistieron además de los antes mencio-- nados en lesiones torácicas autoinfringidas, autismo, movi--- mientos circulares "extraños", canibalismo y desorganización-- social; esta conducta se agravó durante los días vigésimo al-- trigésimo quinto de la administración diaria de la d-anfetami-- na.

Desde el punto de vista bioquímico, diversos autores (82, - 155, 156), han demostrado que la conducta estereotipada es

absolutamente dependiente del sistema dopaminérgico, para ello han utilizado drogas antipsicóticas que bloquean los receptores dopaminérgicos en el cerebro (157) y abolen la conducta estereotipada inducida por anfetaminas.

Por otra parte, se ha sugerido que los movimientos circulares o rotacionales aberrantes pueden ser inducidos por la elevación de los niveles de ácido gamma-aminobutírico en la zona reticular de la sustancia nigra (158) y se ha demostrado que bajo la influencia de la anfetamina las rotaciones son ipsilaterales y en su ausencia contralaterales. Es probable que estos efectos sean mediados vía modulación nigro-estriado, es decir, por neuronas gabaaminérgicas, que ascienden de la sustancia nigra al estriado.

Además de los trastornos conductuales señalados, pudimos producir una alteración conductual que podía ser valorada objetivamente, administrando ininterrumpidamente durante 60 días, dosis de 1, 2, 5 ó 10 mg / Kg / día de d-anfetamina que hemos denominado "desorganización o dispersión social" (151). Posiblemente de los hallazgos más interesantes a este respecto fue que con las dosis empleadas obtuvimos un aumento estadísticamente significativo de la dispersión social, particularmente con la dosis de 1 mg / Kg / día ($p < 0.001$) y menor con las dosis más altas. Este hecho es difícil de interpretarlo, sin embargo, quizá se deba al retardo motor que producen dosis del orden de 5 y 10 mg / Kg / día.

En relación al mecanismo o mecanismos de acción bioquímicos que pueden estar involucrados en este tipo de conducta es difícil precisarlos por ahora, sin embargo, se ha sugerido que-

posiblemente se encuentre involucrado el metabolismo de las catecolaminas y en particular el de la norepinefrina (159). Otro parámetro conductual que empleamos en este estudio fue el de la locomoción, ya que, se ha observado que la d-anfetamina produce una hiperactividad bajo ciertas circunstancias, particularmente cuando se usan dosis bajas. En este estudio hay una gran controversia con los datos de la literatura, -- probablemente debida entre otros factores a la falta de un aparato preciso para medir esta actividad y tener restringidos los movimientos estereotipados. El cinemómetro que se empleó es un aparato de registro automático que nos permitió diferenciar la locomoción de la estereotipia. Con dosis bajas pudimos observar que la locomoción disminuyó durante el tratamiento crónico con d-anfetamina (dosis de 1 ó 2 mg / Kg / día), algunos autores han hecho referencia a estos cambios como tolerancia a la droga, incluso arguyen que un término más apropiado podía ser el de sensibilización (160), ya que, los cambios de conducta locomotora se han observado, generalmente, con dosis bajas y la estereotipia con dosis altas; -- sin embargo, estos hallazgos sugieren que el tratamiento crónico con anfetamina resulta en una supersensibilidad con dosis consecutivas de anfetamina (153, 154).

Los mecanismos fundamentales de esta supersensibilidad al -- tratamiento crónico con anfetaminas requiere de más estudio; sin embargo, se ha sugerido que tanto la actividad locomotriz y la estereotipia son inicialmente el resultado de la liberación de dopamina (156, 161, 162) refutando que sea la libo--

ración de norepinefrina más importante en la acción de d-anfetamina (163). Sin embargo debe enfatizarse que los mecanismos fundamentales de los cambios de conducta durante el tratamiento crónico con d-anfetamina son muy numerosos y pueden variar entre las diferentes especies animales.

IV.-1.b. DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE LA CINASA DEL PIRIDOXAL.

Es interesante señalar algunas propiedades generales de las enzimas relacionadas con la vitamina B₆ que son aplicables a numerosos sistemas enzimáticos y pueden desempeñar un importante papel en la variedad de alteraciones y enfermedades relacionadas con esta vitamina. Una de estas propiedades es el concepto de que algunas enzimas relacionadas con la vitamina B₆ no están saturadas por su coenzima, es decir, por el fosfato de piridoxal por lo tanto pueden ser activadas en algunas condiciones que permitan saturar a las enzimas; este hecho se ha demostrado para la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos, que se encuentra insaturada en presencia de concentraciones normales de F₃P₂, y logra saturarse elevando las concentraciones de F₃P₂ o por algunas condiciones capaces de saturar a la enzima (164).

Otro importante mecanismo de control de muchas enzimas dependientes de la vitamina B₆ se refiere a algunos sistemas de retroalimentación. La actividad de la P₂CP y una enzima importante en el mantenimiento de las concentraciones de FP₂, se encuentra relacionada en forma inversa a la concentración -

de varias aminas biogénicas (a. b.), en particular DA, NE y 5HT. Cuando la concentración de estas aminas es elevada la actividad de la FCP está disminuida y cuando la concentración de estas aminas es baja la actividad de la FCP está aumentada (165).

El mecanismo exacto que participa en el proceso antes señalado se desconoce su papel en el control de la síntesis de aminas biogénicas daría como resultado una disminución de la actividad de la FCP.

También se ha demostrado una relación inversa entre la concentración de FE y la actividad de la cinasa del piridoxal, cuando la concentración de la FCP empieza a elevarse y cuando la concentración de FP se eleva la FCP disminuye (166). Una vez señaladas estas consideraciones generales haremos referencia a los datos obtenidos en este estudio.

Los datos muestran que la d-anfetamina no tuvo efecto sobre la actividad de la cinasa del piridoxal "in vitro" o cuando se administró en forma aguda; en cambio, cuando la droga se administró crónicamente la actividad de la FCP se elevó estadísticamente ($p < 0.001$) y este mismo cambio se observó con DOM y TMA.

Teniendo en cuenta los hallazgos obtenidos en los experimentos crónicos se decidió en los siguientes experimentos emplear sólo la dosis de 1mg/Kg/día, dosis con la que se obtuvo la mayor elevación de la FCP.

En los siguientes experimentos se obtuvo la actividad de la FCP a través de los 60 días de administración crónica, se pu

do demostrar que la actividad de la FCP muestra una actividad cíclica con un pico máximo de alrededor de 30 días; sin embargo aún cuando la actividad de la FCP es muy parecida entre los días 30 y 60 podemos decir que la actividad máxima se obtuvo a los 60 días de administración de la droga.

En base a los datos obtenidos en los experimentos anteriores el propósito fue tratar de conocer el probable mecanismo por el cual la fosfoquinasasa del piridoxal se encontraba incrementada sólo en los animales tratados en forma crónica y si alguna región del cerebro se encontraba involucrada en particular en el mecanismo de acción de la d-anfetamina.

Pudimos observar que en los animales tratados en forma crónica con d-anfetamina los niveles de FP disminuyeron y los de FCP se elevaron ($p < 0.001$, en ambos casos) únicamente en el mesencéfalo, en tanto que no se observó ninguna modificación ni sobre la actividad de la FCP ni sobre los niveles de FP en corteza o en cerebelo.

Se ha demostrado, que las anfetaminas depletan los niveles de aminas biogénicas, DA, NE y 5HT; es posible que lo que ocurra es que halla una disminución en la unión de las aminas biogénicas y el FP, ya que, se ha señalado que la concentración de d-anfetamina, es probable, por lo tanto que pueda producirse una inducción de la fosfoquinasasa del piridoxal. Tratando de demostrar si era o no una inducción enzimática se llevaron a cabo una serie de experimentos en los que a un grupo de animales tratados crónicamente con anfetamina se les administraron 50 ug/Kg de mitomicina C 2 horas antes del sacrificio, lo ---

que produjo una inhibición de la FCP del 70% aproximadamente, en las 3 regiones estudiadas. Los resultados presentes se interpretaron en el sentido de que la elevación en la actividad de la FCP que ocurre después del tratamiento con d-anfetamina estimuló al RNA_m o al RNA_r implicando una posible inducción enzimática.

Sin embargo, también debe tomarse en cuenta que puede deberse a un efecto alostérico, ya que debemos recordar que las enzimas alostéricas muestran una gran variación en los niveles de actividad inducida por sus metabolitos y se ha postulado que los cambios conformacionales de una enzima pueden ser producidos por la unión de una sustancia a un sitio alostérico que resulta más afín para un sustrato específico en el sitio catalítico de la enzima; y este puede ser el caso del tratamiento crónico con la d-anfetamina. Por otra parte se ha postulado que el FP o el producto de descarboxilación alteren la actividad de la FCP (164) y es un hecho bien conocido que el producto de descarboxilación, la DA se encuentra depletado por la anfetamina.

Aún cuando existen pocas dudas de que los niveles disponibles de FP regulan la actividad de la FCP y una alteración en la actividad de la FCP inducida por anfetamina podría ser sólo un efecto secundario no puede dejar de tenerse en cuenta lo siguiente: a) la función del FP e indirectamente de la FCP sobre el control de la síntesis y degradación de las aminas biogénicas (165, 166) y b) la naturaleza del mecanismo que participa en el control de la FCP. El primero ha si-

do demostrado, sin embargo, el segundo es bastante especulati
vo y requiere de más estudios.

IV.-1.o. DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE- LA ADENOSIN TRIFOSFATASA.

Muchos investigadores han proporcionado evidencia suficiente-
de los efectos centrales de las anfetaminas, demostrando que-
estas drogas aumentan particularmente la actividad locomotora
y la conducta estereotipada y que estos procesos son mediados
a través de las catecolaminas cerebrales (167,168), por lo-
que se esperaría que los cambios bioquímicos causados por las
anfetaminas serían más pronunciados en aquellas áreas donde -
las catecolaminas tienen una función de neurotransmisor.

Existen evidencias de que las anfetaminas actúan produciendo-
la liberación de las catecolaminas de las terminaciones presi-
nápticas y posteriormente bloqueando su recaptura (74), sin
embargo, cabe preguntarse ¿cual es el mecanismo por el que -
este proceso se lleva a cabo?

Nuestros hallazgos y los de otros autores (169) nos permi-
ten sugerir que posiblemente la acción primaria de las anfe-
taminas sea elevar la actividad de las ATPasas (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}
dependientes), ya que, la administración aguda y/o crónica de
las anfetaminas produjo un aumento estadísticamente significa-
tivo de la actividad de las ATPasas (74), aún cuando en - -
nuestro caso únicamente encontramos esta elevación en los ani-
males tratados crónicamente, es probable que estas diferencias

se deban a que en nuestro caso empleamos para medir dicha actividad una preparación cruda de mitocondrias y además del cerebro total. Si la hipótesis de unir actividad enzimática -- con el mecanismo de acción de drogas es correcta se podría enperar que una droga que reduce la recaptura de las aminas biogénicas disminuiría la actividad de la enzima, en este caso -- de la ATPasa --, particularmente en aquellas regiones del cerebro donde las catecolaminas actúan como neurotransmisores, -- sin embargo, este no parece ser el caso; por lo que podemos -- concluir diciendo que las amfetaminas afectan la actividad de la ATPasa en el cerebro de ratones, pero que la actividad encontrada es contraria a lo que se predijo, por lo que por el momento resulta difícil inferir que los cambios en la actividad de la ATPasa reflejen directamente la actividad de la recaptura de las aminas biogénicas (169).

Recientemente, Rutledge (1978) (170), ha sugerido que aún -- cuando no se conoce el mecanismo preciso de la liberación de NE, ésta es transportada dentro de las terminaciones nervio--sas por un proceso que requiere primordialmente de sodio, más aún se ha pensado que la NE y el sodio son cotransportados -- por un acarreador de membrana, de una manera análoga al transporte de sodio y glucosa en el intestino. Hay evidencia reciente de que la amfetamina también entra a la terminación -- nerviosa por un mecanismo de acarreo dependiente de Na^+ y hemos de recordar que las concentraciones de sodio en el inte--rior de la membrana se mantiene normalmente en niveles bajos--de la ATPasa- Na^+ , K^+ que está acoplada a la salida de sodio de

la terminación nerviosa y el transporte de potasio de la misma, el ATP se requiere dentro de la neurona para que este proceso se lleve a cabo. Teniendo en cuenta este modelo se podría resumir diciendo que aún cuando la evidencia es indirecta, la liberación de catecolaminas e indolaminas inducida por amfetamina es un proceso regulado por la concentración de sodio intraneuronal (170) y por consecuencia de la actividad de la ATPasa $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{Mg}^{++}$ dependiente.

IV.-1.d. DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE LA ACETIL COLINESTERASA.

Existen evidencias indirectas de que la amfetamina estimula vías colinérgicas centrales, como son el hecho de que esta droga antagoniza los efectos amnésicos de la escopolamina, también se ha observado contrarresta muchos de los efectos de la atropina en perros y en monos.

Por otra parte, efectos más directos de la droga han sido demostrados por Pepeu y Bartolini (1967 y 1968) en gatos y Hemsworth y Neal (1968) en ratas en las que su administración produjo un aumento en la salida de acetil colina de la corteza cerebral (171). Sin embargo, datos referentes al efecto de la amfetamina sobre la acetilcolinesterasa son escasos, de hecho Utena (94) demostró que la administración de metanfetamina no modificó la actividad de la acetilcolinesterasa en homogenizado de corteza cerebral despues de la administración crónica de la droga. Nuestros hallazgos al respecto muestran que la actividad de la acetilcolinesterasa no se mo-

dificó después de la administración aguda de la droga, pero en aquellos animales tratados crónicamente la actividad enzimática de una preparación cruda de mitocondrias de cerebro de ratón se elevó considerablemente con dosis de 5 ó de 10 mg/ Kg /día, ($p < 0.01$ y < 0.001 respectivamente), - cabe señalar que con dosis menores de 1 ó 2 mg /Kg /día de d-anfetamina la actividad enzimática se elevó pero en pequeña proporción (alrededor del 15%). Es posible que la actividad de la acetilcolinesterasa se encuentre elevada - debido a que la salida de acetilcolina se ha encontrado aumentada, es decir, la AChE actúa destruyendo el exceso de del neurotransmisor. Por otra parte, se ha demostrado que existe una interacción entre anfetamina y sistemas colinérgicos en el SNC, sin embargo no es fácil explicarla; pero se ha sugerido que pueda existir un balance de sistemas dopaminérgicos - colinérgicos (172), ya que los efectos de la anfetamina se ven incrementados por anticolinérgicos y antagonizados por colinérgicos; también, apoyando este punto de vista se ha sugerido que la dopamina es el neurotransmisor relacionado con la estereotipia producida por anfetamina (97), por tanto resulta congruente suponer que exista ese balance entre sistemas dopaminérgicos y colinérgicos (172).

IV.-1.e. DISCUSION DE LOS EFECTOS DE LA D-ANFETAMINA SOBRE LA MONOAMINO-OXIDASA Y LA SEROTONINA.

Se han ofrecido muchas hipótesis bioquímicas para explicar el efecto estimulante de la anfetamina.

Entre estas unas de las primeras teorías asumió que el efecto de la anfetamina sobre el SNC se producía por inhibición de la MAO, ya que, reducía la velocidad de formación de los aldehidos inhibidores o retardaba la destrucción de las CA, posteriormente, se propuso que la anfetamina actuaba directamente sobre los receptores noradrenérgicos en el cerebro mimificando su acción.

Además, se sugirió que la anfetamina podría producir sus efectos centrales por combinación con la serotonina o con sus receptores o con los de triptamina en el cerebro (173). Recientemente, la acción farmacológica de las anfetaminas ha sido atribuída por muchos investigadores a un aumento en los mecanismos noradrenérgicos en el SNC y el simpático (174). Estos fármacos muestran efectos agonistas directos sobre los receptores noradrenérgicos (175) y efectos indirectos debidos a la estimulación de la liberación de NE (176), a la inhibición de la recaptura de la NE (177), o a la inhibición de la MAO (74). Sin embargo, otro efecto que se ha señalado que producen las anfetamina, que no puede ser atribuído al efecto noradrenérgico, es aquel que produce los movimientos estereotipados que pueden ser inducidos en animales experimentales que se ha sugerido interfieren con los mecanismo dopaminérgicos (178). Por otra parte, se ha demostrado que un derivado de la anfetamina, la metanfetamina, aumenta la permeabilidad del K^+ (potasio) en el músculo opercular del cangrejo y este fenómeno no requiere de la participación de mecanismos noradrenérgicos o sinápticos para llevarse a cabo (179).

Esta multiplicidad de acciones de las anfetaminas sugiere que puede haber una acción general de estos fármacos que englobe muchos de los efectos descritos; sin embargo, existen pocas evidencias para considerar un mecanismo molecular común para todos ellos.

Uno de los mecanismos de acción de la anfetamina que se han propuesto, es que este fármaco inhibe a la MAO. Glowinski y col. (74) han señalado que la MAO se inhibió cuando se analizó in vitro, en homogeneizados de cerebro, demostrando que dicha inhibición afectaba a todas las áreas del mismo cerebro. Como era de esperarse después de la inhibición de la MAO, se encontraban elevados los niveles de normetanefrina, producto de desaminación de la NE, lo que permite suponer que exista una barrera entre el cerebro y la sangre, para esta amina (74). Además, la habilidad de la anfetamina para bloquear la recaptura de la NE da como resultado un aumento en los niveles de NE libre en los receptores, que puedan potenciar los efectos fisiológicos de las CA, lo que puede explicar algunas de las acciones clínicas de este fármaco. También se demostró que la anfetamina no es un sustrato para la MAO, pero puede actuar como un inhibidor competitivo de la misma (60), a pesar de ello se sabe que concentraciones del orden de 10^{-3} M produjeron solamente el 50% de inhibición de la MAO, in vitro. Por otra parte, también se ha demostrado que la inhibición de la MAO producida por la d-anfetamina fue dependiente del sustrato usado, la oxidación de la triptamina fue menos sensible a la inhibición que la

NE (74). Las evidencias actuales indican que la MAO está formada por 2 isozimas principales que se han denominado como MAO "A" y MAO "B" (18). Las especificaciones de estas 2 isozimas han sido estudiadas y se ha demostrado -- que para la isozima "A" los sustratos específicos son NE - y 5HT, para la tipo "B" la benzilamina y la feniletilamina y para ambos tipos la tiramina, la dopamina y la triptamina. De estos 2 tipos el que predomina en el cerebro es el tipo "A".

Mantla (181) ha demostrado que la anfetamina inhibe preferentemente a la MAO "A". Estudios recientes de Braes--trup y Col. (182) y Green y col. (183) han sugerido que la inhibición de la MAO producida por anfetamina, que se ha observado in vitro, también puede ocurrir in vivo. Nuestros hallazgos apoyan esta hipótesis, ya que, hemos encontrado que la MAO se inhibe después de la administración aguda o crónica de d-anfetamina y dicha inhibición muestra una relación inversa a la dosis administrada (60, 50, 40 y 30% con 1, 2, 5 ó 10 mg/Kg/día). La inhibición que hemos observado está de acuerdo con lo reportado en la literatura (183), es decir, alrededor de un 50%.

Es interesantes señalar que, la inhibición de la MAO observada es pequeña y puede deberse como lo han propuesto - - Planz y Col. (184) a la dilución que ocurre cuando el tejido es homogeneizado; lo que hará que también se diluya - el inhibidor dando como resultado una menor inhibición de la que en realidad existe en el tejido original.

Sin embargo, en la literatura hacen referencia a este porcentaje cuando emplean NE como sustrato, en nuestro caso esta inhibición la encontramos empleando DA como sustrato y utilizando diferentes regiones del cerebro. La inhibición que obtuvimos fue semejante en las tres regiones estudiadas y resulta interesante señalar que la mayor inhibición se obtuvo con la dosis menor; y viceversa, lo que nos permite suponer que la inhibición de la MAO producida por anfetamina no es el mecanismo de acción involucrado en la estereotipia, ya que, esta se produce cuando se administra la anfetamina en dosis elevadas. Por otra parte, Baird y Lewis (185), sugieren que la caída en los niveles de NE endógenos y el ligero aumento en los niveles de DA, en el cerebro de rata después del tratamiento con d-anfetamina podían deberse a una inhibición de la dopamina β -oxidasa y no de la MAO. En contraste, a los efectos producidos por la anfetamina y la desmetilimipramina sobre la acumulación de la NE - H^3 , se ha demostrado que estos fármacos no afectan la acumulación de DA - H^3 en el cerebro, lo que sugiere que la anfetamina puede selectivamente interferir con la recaptura de la NE sin afectar el transporte de la dopamina (74).

En relación con el efecto de la anfetamina administrada crónicamente y empleando triptamina - C^{14} como sustrato para medir la actividad de MAO, pudimos observar que la MAO se inhibió en las tres regiones estudiadas: mesencéfalo, corteza y cerebelo. La inhibición presentó una relación dosis - respuesta con las dosis empleadas, en tanto-

que los niveles de 5HT se elevaron en una proporción semejante a la inhibición; este hallazgo concuerda con lo reportado por Green y col. (183) ya que ellos demostraron una inhibición de MAO, elevación de los niveles de 5HT y una disminución concomitante en los niveles de 5HIAA - - (186). Estos cambios sugieren de un efecto específico de la anfetamina sobre el metabolismo de la 5HT.

Finalmente, aunque existe una relación directa entre la inhibición de la MAO y la elevación de los niveles de 5HT y la dosis administrada de anfetamina, no podemos sino sugerir que estos cambios metabólicos pueden estar relacionados con la ESQUIZOFRENIA en una proporción mayor a la que se ha asignado, sin embargo, se requieren más estudios para apoyar esta idea.

CONCLUSIONES

Ebadi ha demostrado que existe una interrelación entre las monoaminas (DA, NE y 5-HT), la FCP y el FP; esta interrelación no se ha observado con otras aminas por ej. con taurina la cual no muestra efectos sobre la FCP, por lo que resulta este efecto-específico de las aminas biogénicas. También se ha propuesto que la inhibición de la FCP producida por las aminas biogénicas se debe por lo menos a 3 diferentes modos de acción. 1) La DA y NE inhiben la FCP a través de sus interacciones con FP. 2) la 5HT es un inhibidor no competitivo y 3) GABA, tiramina e histamina son inhibidores un competitivos (187). Nosotros hemos encontrado que la anfetamina disminuye de los niveles de FP y sabemos -- que es un inhibidor competitivo de la MAO y eleva la FCP, e inhibe la MAO y eleva los niveles de 5HT y disminuye los niveles de NE. Ebadi, ha demostrado como se señaló anteriormente, que FCP se eleva cuando las MA disminuyen y viceversa. En los mecanismos propuestos por este mismo autor recientemente, es posible suponer que la anfetamina interfiere en la regulación del metabolismo de las MA a través de la CP, FP, MAO y otras enzimas que participan en su metabolismo; por lo que resulta extraordinariamente complejo hablar de un mecanismo molecular común. Sin embargo, es evidente, que las monoaminas y sus mecanismos reguladores se encuentran alterados por la o las acciones de la anfetamina; es decir que las neuronas dopaminérgicas, noradrenérgicas y serotoninérgicas participan y están interrelacionadas con las acciones moleculares de las anfetaminas.

Con los datos que hemos obtenido podemos considerar un modelo en el que las diferentes terminaciones nerviosas como son dopaminérgicas, noradrenérgicas y serotoninérgicas se encuentran entrelazadas metabólicamente en cuanto a la actividad de la cinasa del piridoxal, la DAA, y las enzimas que catabolizan a estas monoaminas como son en nuestro caso particular la MAO y creemos que también se encuentra participando la COMT, además cabe suponer que puesto que todo este sistema para que actúe requiere de energía resulta importante la participación de la ATPasa o de las ATPasas pero en este momento sólo podemos hablar de la ATPasa Mg^{++} dependiente lo que nos lleva a sugerir que posiblemente el mecanismo común de acción de la amfetamina se deba a la alteración en sus mecanismo de regulación de las MA.

Y volvemos a hacer mención de los trabajos de Ebadi (166, 167) en que ha demostrado que existe una interrelación entre MA y CP y FP; los datos que apoyan la idea antes expuesta; y esta correlación e interrelación no ocurre con otras aminas, por ejemplo la taurina y sus derivados no muestran efectos inhibitorios o estimuladores sobre la FCP; por añadidura se ha demostrado que este efecto (188) es específico de las a.b. y no inactiva a sus precursores. Además hay una buena correlación entre actividad de FCP y concentración de NE en hipotálamo (189, 190) y DA en el estriado (191) y de 5HT (192). Ebadi ha propuesto que la inhibición de FCP por a.b. se debe por lo menos a 3 modos diferentes de acción DOPA, DA y

NE inhibien la FCP a través de sus interacciones con FP, -
mientras que la 5HT es un inhibidor no competitivo y GABA-
tiramina e histamina son inhibidores uncompetitivos. (188)
Teniendo en cuenta todo esto, nosotros encontramos que en-
los animales tratados con anfetamina o algunos derivados -
la actividad de la FCP se elevó, en tanto que los niveles-
de NE disminuyeron mientras que los de 5HT se elevaron; es
posible que estos efectos se puedan correlacionar con el -
hecho de que si la FCP está elevada las MA disminuyen, sin
embargo, si consideramos que la NE interacciona con la FCP
a través del FP y que la 5HT es un inhibidor no competi-
vo es posible que esta sea la razón para encontrar que el-
modo de acción de la anfetamina es diferente para ambas MA
Evidentemente todo esto requiere de posteriores estudios -
para demostrar como se combina molecularmente cada molécula
de cada Ma con la anfetamina y a su vez con la FCP y el FP
y que otras enzimas puedan en un momento dado participar -
en esta acción.

R E S U M E N .-

El propósito del presente trabajo fue contribuir, a la respuesta de la pregunta que ha quedado sin contestación a través del tiempo ¿Cual es la causa de la ESQUIZOFRENIA?

Utilizamos un modelo experimental: el de la "Psicosis anfetaminica", que produce una psicosis indiferenciable de la ESQUIZOFRENIA PARANOIDE. Se emplearon ratones de la cepa CD-1 de Charles River, tratados con diferentes dosis de d-anfetamina, así como algunos derivados de la misma.

La administración de las drogas se hizo en forma aguda y crónica.

Se midieron cambios conductuales como: la estereotipia, la desorganización social y la actividad motriz. También, se midieron algunos parámetros bioquímicos relacionados directa o indirectamente con el metabolismo de las aminas biogénicas, como: la monoamino-oxidasa, la fosfocinasa del piridoxal, la adenosín-trifosfatasa, la acetilcolinesterasa, los niveles de fosfato de piridoxal y los de serotonina.

Se presentaron alteraciones conductuales entre las que podemos considerar, como: lesiones autoinflingidas que causaron la muerte de los animales alrededor del 35avo. día de administración de la droga. Una marcada desorganización social, con animales tratados crónicamente con dosis bajas de d-anfetamina (1 mg/Kg/día) y una actividad motriz aumentada en los animales tratados crónicamente con dosis altas (10 mg/Kg/día).

Se modificaron las actividades de la fosfocinasa del piridoxal, la adenosín-trifosfatasa y la acetilcolinesterasa.

Solo en aquellos animales tratados crónicamente, tanto con las diferentes dosis de d-anfetamina como con sus derivados. Se observó una relación inversa entre actividad de fosfocinasa del piridoxal y los niveles de fosfato

de fosfato de piridoxal. Pudimos demostrar que este fenómeno sólo se presenta en el mesencéfalo.

La monoamino-oxidasa se modificó tanto en animales tratados en forma aguda como crónicamente.

También se observó una relación inversa entre actividad de Monoamino-oxidasa y niveles de serotonina; mientras la monoamino-oxidasa se inhibe los niveles de serotonina se elevan, guardando una relación directa con las diferentes dosis de amfetamina usadas.

Pudimos demostrar que el mayor número de cambios tanto conductuales como bioquímicos se llevaron a cabo en animales tratados crónicamente con la dosis de 1mg/Kg/día de d-amfetamina.

Esto nos permite señalar que los parámetros estudiados están relacionados con el mecanismo de acción de las amfetaminas directa o indirectamente y que posiblemente también lo están con la etiología de la ESQUIZOFRENIA.

Es probable que el mecanismo común de acción de las amfetaminas y el disparo que desata la ESQUIZOFRENIA, se deba a que en ambos casos lo que ocurre es una alteración simultánea de los mecanismos de regulación de las monoaminas: dopamina, norepinefrina y serotonina. Además, podemos sugerir también que el proceso patológico de la ESQUIZOFRENIA y la "psicosis amfetamínica" son fenómenos o procesos crónicos.

Referencias

- 1) Bell, D. S. Addiction to stimulants Med. J. Austr. 1, 41-45, 1967.
- 2) Valzelli, L. In: Psychopharmacology an Introduction of Experimental and Clinical Principles. The Psychostimulants pp. 209-218, 1973
- 3) Barger, G., and H. H. Dale - Chemical structure and Sympathomimetic action of amines. J. Physiol (London) 41, 19 - 59, 1910.
- 4) Referido por Kramer, J. C. Some observations on and Review of the effects of high-dose use of amphetamines pp 253 - 261. In: Zarafonietis, C. J. D. (Ed) Drug Abuse. Proc. Int. Conf. 1970.
- 5) Piness, G., H. Miller, G. A. Alles, Clinical Observation of the mylami noethanol sulphate JAM A 94, 790 - 791, 1930
- 6) Alle, G. A. and M Prinzmetal. The comparative physiological - actions of d - l, beta phenyl isopropylamines. II Bronchial - effect H. Pharm. Exper. Ther. 48, 161 - 174, 1933
- 7) Alles, G. A. The comparative physiological actions of d - l phenyl isopropylamines. I.- Pressor effect and toxicity J. -- Pharm. Exper. Ther. 47, 339 - 354, 1933
- 8) Prinzmetal, M and W. Blomberg. The use of benzedrine in the - treatment of narcolepsy, JAMA 105, 2051 - 2054, 1935
- 9) Young, D. and W. B. Scoville. Paranoid psychoses in narcolepsy and possible danger of benzedrine treatment. Med. Clin. North- A.M. 2, 637 - 646, 1938
- 10) Da Cunha López, I., A. O. Moraes, Anfetaminismo, aspectos psiquiátricos o' medico - legais. Rev. Bras. Saude Ment. 8, 13- 26 1964

- 11) Shulgin, A. T., S. Bunnell and T. Sargent, The Psychotomimetic properties of 3, 4, 5 trimethoxy amphetamine Nature 189, - 1011, 1961.
- 12) Shulgin, A. T. Psychotromimetic Agents related to mescalina- Experientia 19, 127, 1963
- 13) Shulgin, A. T. 3 methoxy -4,5 - methylendioxy amphetamine- a new psychotomimetic agent Nature 201, 1120, 1964
- 14) Shulgin, A. T. Psychotomimetic amphetamines: methoxy 3,4 dia- loxyamphetamines. Experientia 20, 366 - 367, 1964
- 15) Shulgin, A. T. Possible implication of Myristicin as a psycho- tropic substance. Nature 210, 380 - 384, 1966
- 16) Bradley, P. B., B. J. Key The effect of drugs on arousal res- ponses produced by electrical stimulation at meticular forma- tion in the brain Electroenceph. clin. Neurophysiol 10, 97- 110, 1958
- 17) Cameron, J. S. et. al. Effects of amphetamine on moods, emo- tions and motivations. J. Physiol. Psychol. 61, 93 - 121, -- 1965
- 18) Edison, G. R. Amphetamines: A dangerous Illusion Annals of - Int. Med. 74, 605 - 610, 1971
- 19) Student Association for the study of hallucinogens, Inc. The- adverse effects of amphetamines. Stash Press., 1974
- 20) Goodman, L. S. and Gilman, A. The Pharmacological Basis of the- rapautics. New York: Macmillan Co., 1966, pp. 500 - 503.
- 21) Harris, S. C., A. C. Ivy, and L. M. Searle The mechanism of am- phetamine induced loss of weight a consideration of the theory of hunger and appetite JAMA 134, 1468 - 1475, 1947

- 22) Lapin, J. P., E. L. Shohelkunow, Amphetamine - induced changes in behavior of small laboratory animals, a simple test for evaluation on central effects of new drugs. En : Pharmacology of-
Conditioning, Learning and Retention. Mikhelson, U. Ya., Lon-
go, U. G., and Vitava, L. Ed. Pergamon Press, Macmillan, Co.. -
205 - 215, 1965
- 23) Lasagna, L. and W. P. McLean, Effect of tranquilizing drugs on
amphetamine toxicity in aggregated mice. Science 125, 1241 - -
1242, 1957
- 24) Stein, L. and O. S. Ray Brain stimulation reward thresholds --
self determined in the rat Psychopharmacol 1, 251 - 256, 1960
- 25) Weiss, B. and V. G. Laties, Enhancement of human performance-
by caffeine and the amphetamines. Pharm. Rev. 14, 1 - 35, 1962
- 26) Smith, G. M. and H. K. Beecker, Drug and judgment: Effects of-
amphetamine and secobarbital on self evaluation. Pharmacologist
6, 178, 1964
- 27) Boakes, R. J., Bradley, P. B. and Candy, J. M. A neuronal base-
sis for the alerting action of (+) amphetamine Brit J. Phar-
mac. 45, 391 - 403, 1972
- 28)
- 29) Baird, J. R. C. and J. J. Lewis the effects of cocaine, amphi-
tamine and some amphetamine - like compounds on the in vivo le-
vels of noradrenaline and dopamine in the rat brain Biochem --
Pharmacol 13. 1475 - 1482, 1964

- 30) Dewhurst, W. G. and E. Marley, The effects of -methyl derivatives of noradrenaline, phenylethylamine and tryptamine on - central nervous system of the chicken Brit J. Pharma. 25, 682 - 704, 1965.
- 31) Fink, G. B., R, E. Larson, Some determinants of amphetamine - toxicity in aggregated mice, J. Pharm. Exper. Ther. 137, 361 - 364, 1962.
- 32) Lal, H. and R. D. Chessick Biochemical mechanism of amphetamine toxicity in isolated and aggregated mice. Life Sci. 3, - 381 -384, 1964.
- 33) Spooner, C. E., D. B. Taylor and W. O. Waiters. Drug induced- alterations of amphetamine response in chicks. Fed. Proc. 23, 455, 1964.
- 34) Thiessen, D. D. Amphetamine toxicity, population density and behavior. A review . Psychol. Bull. 62, 401-410, 1964.
- 35) Ackevold, F. Paranoid incidents, delirium and amphetamine, - JAMA, 170, 1453, 1959.
- 36) Bell, D. S. Comparison of amphetamine psychosis and schizo-- phrenia. Brit. J. Psychiat. 3, 701 - 707, 1965.
- 37) Breitner, C. Appetite suppressing drugs as an eticologic fac- tor in mental illness. Psychosomatics 4, 327-337, 1963.
- 38) Connell, P. H. Amphetamine Psychosis. London, Chapman and -- Hall, 1958.
- 39) Delay, J.; P. Pichot; Th. Lamperiere and R. Sadom, Psychose -- pseudo anfetaminique. Ann med. psychol. 112, ii, 51, 1954.
- 40) Delay, J. Methodes biologiques en clinique psychiatrique. - Paris. Masson et. an., 1950.
- 41) Hampton, W. H. Observed psychiatric reactions following use -

- of amphetamine and amphetamine - like substances. Bull N. Y. Acad. Med. 37, 167-175, 1961.
- 42) Herman, Maud S. H. Nagler Psychoses due to amphetamine J. Nerv. Ment. Dis. 120, 268, 1954.
- 43) Hoffer, A. The chemical basis of clinical psychiatry Charles C. Thomas, 1960.
- 44) Roberts, H. J. Amphetamine Lancet 2, 909-910, 1965
- 45) Weiner, I. B. Differential diagnosis of amphetamine Psycho-- sis Psychiat Quart 38, 707-716, 1964.
- 46) Kalant, O. J. The Amphetamines: Toxicity and Addition University of Toronto Press, 1966.
- 47) Biel, J. H. Structure -Activity Relationships of amphetamine and derivatives. En: Amphetamines and Related compounds, - Ed. by E. Costa. and S. Garattini. Raven Press, N. York. 1970 pp. 3 - 17.
- 48) Innes, I. R. and M. Nickerson. Drug activity on postganglionic Adrenergic nerve endings and Structure innervated by them (sympathomimetic Drugs) En: Pharmacological Basis of therapeutics Ed. by L. S. Goodman and Gilman. London-Toronto. -- The McMillan, 1968.
- 49) Arnold, E., P. H. Wender, K. McCloskey and S. H. Snyder L-amphetamine and D-amphetamine: Comparative efficacy in the hyperkinetic Syndrome. Arch. Gen. Psychiat. 27, 816-822, 1976.
- 50) Arnold, J. E., R. D. Huestis, D. J. Smeltzer, J. Scheib, D. Wemmer and G. Colmer. L amphetamine vs. D-amphetamine in minimal brain disfunction. Arch. Gen. Psychiat. 33, 292-301, - 1976.
- 51) Huestis, R. D., L. E. Arnold and D. J. Smeltzer. Caffeine ver

- sus methyl phenidate and d-amphetamine in minimal brain dis--
struction. A double blind comparison. Am. J. Psychiat. 132,
(8), 868-870, 1975.
- 52) Arnold, L. E., G. Krebs and W. Knepp. Amphetamine treatment--
of Paranoid Obsessions Case Report and Biochemical implica--
tions. Pharmacopsychiat 35, 322-327, 1974.
- 53) Friedhoff, A. J., E. Von Winkle. A biochemical approach to --
study of schizophrenia. Am. J. Psychiat 121, 1054-1055, 1965
- 54) Woolley, D. W. The Biochemical Basis of Psychoses. J. Willy
and Sons, 1962.
- 55) Smythies, J. R. Schizophrenia : Chemistry, Metabolism and --
treatment, Charles C. Thomas. Springfield, III, U. S. A., --
1963.
- 56) Axelrod, J. Amphetamine metabolism, physiological disposi--
tion and its effects on catecholamines storage En: Amphetami--
nes and related compounds. Ed. by E. Costa y S. Garattini. --
Raven Press, N. Y., pp. 207-215, 1970.
- 57) Dring, L. G., R. L. Smith and R. T. Williams, The metabolic
fate of amphetamine in man and other species. Biochem. J. --
116, 425-535, 1970.
- 58) Smith, R. L. and L. G. Dring. Patterns of the metabolism of
phenylisopropylamines in man and other species. En: Amphetami--
nes and related compounds. Ed. by E. Costa and S. Garattini.
Raven Press, N. Y. pp. 121-139, 1970.
- 59) Mann, P. G. J., J. H. Quastel, Benzadrime and brain metabo--
lism, Nature 144, 943, 944, 1939.
- 60) Mann, P. G. J., J. H. Quastel. Benzadrime (B - phenylisopro--
pil amine) and brain metabolism. Biochem J. 34, 414-431, --
1940.

- 61) Beckett, A. H. Physiological urinary excretion of amphetamine in man. *Nature* 204, 1203-1204, 1964.
- 62) Beckett, A. H. A specific method for the determination of amphetamine in urine. *J. Pharm. Pharmacol*; 16 Suppl. 27, 314, 1964.
- 63) Díaz, J. L. P. Antón-Tay, Excreción urinaria de amfetamina en algunos trastornos mentales. *Neurol. Neurocir. Psiquiat.-Méx.* 7, 67-72, 1966.
- 64) Roseu, E. et. al. Adsorption and excretion of radioactively tagged dextroamphetamine sulphate from a sustained release preparation, *JAMA*, 194, 1203, 1205, 1965.
- 65) Axelrod, J. Studies on sympathomimetic amines. II. The biotransformation and physiological disposition of D-amphetamine D - p - hydroxyamphetamine and D-methamphetamine. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 110, 315-326, 1954.
- 66) Beckett, A. H. and M. Rowland. Diagnosis of amphetamine addiction. *Brit. med. J.* 5436, 725, 1965.
- 67) Beckett, A. H. and M. Rowland. Urinary excretion of methylamphetamine in man. *Nature* 206, 1260, 1965.
- 68) Beckett, A. H. Boyes, R. H. and Tucker, G. T. Use of the analogue to examine the quantitative relation between urinary pH and kidney reabsorption of drugs partially ionized at physiological pH. *J. Pharm. Pharmacol* 20, 269, 1968.
- 69) Schayer, R. W. In vivo inhibition of monoamine-oxidase studied with radioactive tiramine. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 84, 60, 1963.
- 70) Littleton, J. M. The interaction of dexamphetamine with inhibitors of noradrenaline biosynthesis in rat brain in vivo. -

- J. Pharm. Pharmacol 19, 414-422, 1967.
- 71) Weloh, B. L. and Welch, A. S. Stimulus - dependent antagonism of the α -methyltyrosine - induced lowering of brain catecholamines by (+)-amphetamine in intact mice. J. Pharm. Pharmacol. 19, 941, 849, 1967.
 - 72) McKewen, C. M., Jr., Sasaki, G. and Jones, D. C. Human liver mitochondria monoamine - oxidase. II Determinants of substrate and inhibitor specificities Biochemistry 8, 3952, 3962, -- 1969.
 - 73) Smith, G. B. Effects of d-amphetamine upon brain amine content and locomotor activity of mice. J. Pharmacol Exp. Therap. 147, 96-102, 1965.
 - 74) Gbwiniski, J., Axelrod, J. and Iversen, L. L. Regional studies of catecholamines in the rat. IV. Effects of drugs on the disposition and metabolism of H^3 - norepinephrine and H^3 - dopamine. J. Pharmacol Exp. Therap. 153, 30-41, 1966.
 - 75) Vogt, M. Effect of drugs on metabolism of catecholamines in the brain. Brit. Med. Bull. 21, 57, 1965.
 - 76) Editorial In: Straight Dope Analysis Newsletter Vol. 1, 2, - 1973.
 - 77) Bell, D. S. and Trethowan, W. H. Amphetamine addiction, J. - Nerv. Ment. Dis. 133, 486-495, 1961.
 - 78) Bell, D. S. and W. H. Trethowan. Amphetamine addiction and - disturbed sexuality Arch. Gen. Psychiat. 4, 74-78, 1961.
 - 79) Rylander, G. Psychosis and the punding and choreiform syndromes in addiction to central stimulant Drugs. Psychiat. Neurol Neurochir. (Amst). 72, 203-212, 1972.
 - 80) Slater, E. and M. Roth. Mayer - Gross - Slater - Roth. Clin

- cal Psychiatry Bailliere, Tindall and Casell London, 1970.
- 81) Randrup, A. and Munkvad, I. Stereotyped activities produced by amphetamine in several animal - species and man, *Psychopharmacologia* 11, 300 - 310, 1967.
- 82) Randrup, A. and Munkvad, I. Biochemical, Anatomical and Psychological investigations of stereotyped behavior induced by amphetamine In: *Amphetamines and Related compounds* Ed. E. -- Costa and S. Ganetini, pp. 695-713, 1970.
- 83) Ellinwood, E. H. Amphetamine Psychoses. A description of the individual and Process, *J. Neur. Mental Dis.* 144, 273-283 1967.
- 84) Ellinwood, E. H., Sudilovsky, A. and Nelson, L. Evolving-behavior in the clinical and Experimental Medicine (Model) -- Psychosis. *Am. J. Psychiat* 130, 1087-1093, 1973.
- 85) Smythies, J. R., Johnston, U. S. and Bradley, R. J. Some new behavior - disrupting Amphetamines and their significance. *Nature* Vol. 216, 128-129, 1967.
- 86) May, J. and Pizegalinski, E. Disulfiram and some effects of amphetamines in mice and rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 19, 341-345, 1967.
- 87) Ellinwood, E. H. Effect of chronic methamphetamine intoxication in rhesus mankeys. *Biol. Psychiat* 3, 25-29, 1971.
- 88) Ellinwood, E. H., Sudilovsky, A. and Nelson, L. Behavioral - Analysis of chronic amphetamine intoxication. *Biol. Psychiat* 4, 28-33, 1972.
- 89) Carranza-Acevedo, J. Ortega-Corona, B. G., Ordoñez, S. y Castro, G. Cambios en la conducta producidos por la administra--

- ción crónica de d-anfetamina. Arch. Inv. Méd. 1, 221-226, -
1970.
- 90) Beamish, P. and Kiloh, L. G. Psychoses due to amphetamine -
consumption J. Ment. Sc. 106, 337, 1960.
- 91) Akevold, F. Paranoid Incidents and abstinence Delirium in-
abuses of amphetamines Acta Psychiat. Neurol. Scand. 34,-
145, 1959.
- 92) Stein, L. Self stimulation of the brain and the central sti-
mulant action of amphetamine. Fed. Proc. 23, 836-850, 1964.
- 93) Weissman A., Kee B. and Teneu S. Antiamphetamine effects fo-
llowing inhibition of tyrosine hydroxylase J. Pharm. Exp. -
Therap. 151, 339-343, 1966.
- 94) Utena, H., Ezoo, T. Koto, N. and Hada H. Effects of chronic-
administration of methamphetamine in enzymic patterns in - -
brain tissue. J. Neurochem. 4, 161-169, 1959.
- 95) Schild Krant, J. J., Winokur, A., Draskoczy, P. R. and Hausle
J. H.
Am J. Psychiat, 127, 1032-1034, 1971.
- 96) Randrup, A., Munkvad, I. and Udsen, P. Adrenergic mechanism -
of amphetamine - induced abnormal behaviour. Acta Pharm. To-
xical 20, 145-150, 1963.
- 97) Randrup, A. and Munkvad, I. Behavioral stereotypes induced-
by pharmacological agents. Pharma Koppsychiatie Neuropsychopharmakologie 1, 18, 1968.
- 98) Randrup, A. and Scheel-Krüger, J. Diethyliditlaco carbamate -
and amphetamine stereotype behaviour V. Pharmacol Pharm. 13,
752-758, 1966.
- 99) Utena, H. Behavior and Neurochemistry. A. Special type model

- psychosis. A chronic methamphetamine intoxication in man and animal. Brain and Nerve 13, 687-693, 1961. (translated to -- English)
- 100) Lemberger, L. Witt, E. D., Davis, J. M. and Kopin I. J.; The effects of haloperidol and chlorpromazine on amphetamine metabolism and amphetamine stereotypic behavior in the rat. J. -- Pharmacol. exp. ther. 174, 428-433, 1970.
- 101) Anlezark, G. M. Arbuthnott, G. W., Christie, J. E. and Crow, - T. J. Role of cerebral dopamine in the action of psychotropic drugs. Brit. J. Pharmacol 41, 406, 1971.
- 102) Snyder, S. H. Amphetamine psychosis: A "Model" Schizophrenia Mediated by catecholamines. Am. J. Psychiat. 130, 61-67, - - 1973.
- 103) Garattini, A. Jori, and Samanin, R., Interactions of various drugs with amphetamine. Ann. New York. Acad. Sci. No. 764, - 409-425, 1976.
- 104) Lewander, T. Effects of chronic amphetamine intoxication on the accumulation in the rat brain of labelled catecholamines-synthesized from circulating tyrosine -¹⁴C and dopa-³H, Naunyn -Schmiedeberg's Arch. Pharmac. 271, 211-213, 1971.
- 105) Lew, G. M. Temporal differences in the effects of amphetamine on norepinephrine. Gen. Pharmac. 8, 109-111, 1977.
- 106) Ebadi, M. S. and Kugel R. B. Fedn. Proc. Fedu. Am. Soc. exp Biol 28, 577, 1969.
- 107) Gey, K. F. and Georgi, H., Effect of neurotropic agents on-total pyridoxal phosphate and on the activity of the decarboxylase of aromatic amino acid as well as of other pyridoxal - phosphate - dependent - enzymes in rat brain , J. Neurochem.

- 23, 725-738, 1974.
- 108) Yuwiler, A., Geller, E. and S. Eduson. Effect of pyridoxine deficiency on inductibility and circadian rhythmus of some pyridoxine - dependent enzymes. *Biochemica et Biophys Acta* - - 244, 557-566, 1971.
 - 109) Bhagavon, H. N., Coursin, D. B. and Stewart, Ch. N. Regional distribution of pyridoxal -5'-phosphate in developing and mature brains and its depletion in pyridoxine deficiency. *Neurochem. Res.* 2, 681-687, 1977.
 - 110) Snell, E. E. Effect of heat sterilization on growth promoting activity of pyridoxine for *Streptococcus laetis*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 51, 356, 1942.
 - 111) Snell, E. E. The vitamin B₆ group. I. Formation of additional members from pyridoxine and evidence concerning their structure. *J. Am. Chem. Soc.* 66, 2082-2089, 1944.
 - 112) Snell, E. E. Chemical structure in relation ship to biological activities of vitamin B₆. *Vitamins and Hormones*, 16, - 77, 1958.
 - 113) Braunstein, A. E. Pyridoxal phosphate. In. *Enzymes*. 2 ed. - Ed. Vol. 2 adited by P. D. Bayer, H. Lerdy and K. Myrback -- pp. 113-184, Acad. Press, New York, 1960.
 - 114) Snell, E. E. Some enzymatic transformations of vitamin B₆ and their inhibition. In: *Molecular Basis of Enzyme action and inhibition*. Vol. 4 Ed. by P.A.E. Desnuelle pp 268-279. - Pergamon Press., 1963.
 - 115) Hurwitz, J. The enzymic phosphorylation of vitamin B₆ and derivatives and their effects on tyrosine decarboxylase. *Bio*

chem. Biophys. Acta 9, 496, 1952.

- 116) McCormick, D. B., Gregory, M. E. and Snell, E. E. Pyridoxal-phosphokinases I. Assay, distribution, purification and properties. J. Biol. Chem. 236 : 2076-2084, 1961.
- 117) Morisane, T., Morino, Y., Sakamoto, Y. and Iohihara, K. Enzymic studies on pyridoxine metabolism. III.- Pyridoxine -- phosphate oxidase. J. Biochem. 48, 12-22, 1960.
- 118) Wada, H. and Snell, E. E. The enzymatic oxidation of pyridoxine and pyridoxamine phosphate. J. Biol. Chem. 236, 2089- - 2095, 1961.
- 119) Hurtwitz, J. The enzymatic phosphorylation of pyridoxal. J. Biol. Chem. 205, 935-946, 1953.
- 120) Lyon, J. B. Jr., Bain, J. A. and Williams, N. L. The distribution of vitamin B₆ in the tissues of two inbred strains of mice fed complete and vitamin B₆ - deficient rations. J. - - Biol. Chem. 237, 1989-201, 1962.
- 121) Turner, J. M. Pyridoxal phosphate breakdown by an alkaline-phosphate preparation. Biochem. J. 70, 663-668, 1961.
- 122) Saraswathi, S. and Bachhawat, B. C. Phosphatases from brain I. Purification and properties of pyridoxal phosphate phosphatase. J. Neurochem. 10, 127-138, 1963.
- 123) Huff, J. W. and Perlzweig, W. A. A product of oxidative metabolism of pyridoxine 2-methyl -3- hydroxy - 4 - carboxy - 5 - hydroxy - methyl pyridine (4- pyridoxic acid. J. Biol. - - Chem. 155, 345-349, 1944.
- 124) Contractor, J. F. and Shane, B. 4-pyridoxic acid 5'-phosphate. A metabolite of pyridoxal in the rat. Biochem. Biophys. Res. Comm. 39, 1175-1181, 1970.

- 125) Hillarp, N. A., Fuxe, K. and Dahlström, A. Demonstration and mapping of central neurons containing dopamine, noradrenaline and 5-hydroxy tryptamine and their reactions with psychopharmac. Pharmacol. Rev. 18, 727-739, 1966.
- 126) Nagatsu, T., Levitt, M. and Udenfiend, S. Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. J. Biol. Chem. 239, 2910-2921, 1964.
- 127) Glowinsky, J. Storage and Release of monoamines in the CNS. In: Basic Neurochemistry Ed. by R. W. Albers p. 91, 1972.
- 128) Axelrod, J. The metabolism, storage and release of catecholamines. Recent. Prog. Horm. Res. 21, 597-609, 1965.
- 129) Iversen, L. L. The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. London: Cambridge University Press, 1967.
- 130) Ichiyama, A., Nakamura, S. Nishizuka, Y. and Hayaishi, O. Enzymic studies on the biosynthesis of serotonin in mammalian brain. J. Biol. Chem. 245, 1699-1708, 1970.
- 131) Schubert, J. Nyback, H. and Sedvall, G. Accumulation and disappearance of ^3H -5-hydroxy-tryptamine formed from ^3H -tryptophan in mouse brain; effect of LSD - 25. Eur. J. Pharmacol. 10, 215-221, 1970.
- 132) Aghajanian, G. K., Poote, W. E. and Sheard, M. H. Action of psychotogenic drugs on single midbrain raphe neurons. J. Pharmacol. Exp. Ther. 171, 178-189, 1970.
- 133) Angrist, S., Lee, H. K., and Gerson, J. The antagonism of amphetamine induced symptomatology by a neuroleptic. Am. J. Psychiat. Vol. 131, 3-12, 1974.
- 134) Snyder, S. H. Catecholamines in the brain as mediators of am-

- phetamine psychosis. Arch. Gen. Psychiat 27, 169-179, 1972.
- 135) Contractor, S. F. and Shane B.: PYRIDOXAL KINASE IN THE HUMAN PLACENTA AND FOETUS THROUGH GESTATION; Clin. Chim. Acta, 25; 465-474, 1969.
- 136) Twomey, S. L. and Baxter, C. F.; SOME ASPECTS OF PYRIDOXAL PHOSPHOKINASES IN CHICK BRAIN; J. Neurochem. 21; 1253-1260, 1969.
- 137) Srivastava, S. K. and Deutler, E.- A man fluorometric method for the determination of pyridoxal 5'-phosphate. Biochem. Biophys. Acta, 304, 765-773, 1973.
- 138) Basford, R. E.- Preparation and properties of brain mitochondria. Methods Enzymol, 10, 96-101, 1967.
- 139) Acheo, F. M., Togulga, G. and Gabay, S.- Studies of monoamine oxidases; properties of the enzyme in bovine and rabbit brain mitochondria. J. Neurochem, 22, 651-661, 1974.
- 140) Jarnefelt, J.- Sodium - stimulated adenosinetriphosphatase in microsomes from rat brain. Biochem. Biophys. Acta, 48, 104-110, 1961.
- 141) Fiske, C. and Subbarow, Y.- The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66, 375-400, 1925.
- 142) Summer, J. B.: A method for the colorimetric determination of phosphorus. Science, 100, 413, 1944.
- 143) Weissbach, H., Smith, T. E. Daly, J. W., Witkop, B. and Udenfriend, S.- A rapid spectrophotometric assay of monoamine oxidase based on the rate of disappearance of Kynuramine, J. Biol. Chem. 235, (4), 1160-1163, 1960.
- 144) Harada, M., Mizutani, K. and Nagatsu, T.- Purification and properties of mitochondrial monoamine oxidase in beef brain.-

- J. Neurochem, 28, 559-569, 1971.
- 145) Catravas, G. N., McFarland, W. L. and Teitelbaum, A., Neurochemical changes in specific regions of rat brain during different phases of conditioning. *Physiol. Behav.* 11, 359-363, 1973.
- 146) Wurtman, R. J. and Axelrod, J. - A sensitive and specific assay for the estimation of monoamine oxidase. *Biochem. Pharmacol.* 13, 1439-1440, 1963.
- 147) Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. and Featherstone, R. M. - A sensitive and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 89-95, 1961.
- 148) Chang, C. C. A sensitive method for spectrofluorometric assay of catecholamines, *Int. J. Neuropharmacol.* 3, 643-649 1964.
- 149) Snyder, S. H., Axelrod, J. and Zweig, M. A sensitive and specific fluorescence assay for tissue serotonin, *Biochem. Pharmacol.* 14, 831-885, 1965.
- 150) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. T., Farr, L. and Randall, R. T. Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193, 265-275, 1951.
- 151) Carranza, J., Ortega-Corona, Bertha G., and Ludlow, A. Group dispersion in mice produced by chronic administration of d-amphetamine. *Psychopharmacologie* Vol. 26, Suppl. p. 54-56, 1972.
- 152) Shintomi, K. and Yamamura, M. Effects of penfluridol and other drugs on apomorphine induced stereotyped behavior in monkeys. *Enr. J. Pharmacol.* 31: 273-280, 1975.

- persensitivity do D-amphetamine and apomorphine induced stereotyped behaviour induced by chronic D-amphetamine administration. *J. Neurol Sci.* 25, 283-289, 1975.
- 154) Segal, D. S. and Mandell, A. J. Long-term administration of d-amphetamine. Progressive augmentation of motor activity and stereotypy. *Pharmac. Biochem. Behav.* 2, 249-255, 1974
- 155) Fog, R. On stereotypy and catalepsy: Studies on the effect of amphetamines and neuroleptics in rats, thesis. *Acta Neurol. scand.* 48, suppl. 50, 1972.
- 156) Creese, A. and Iversen, S. The pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. - - *Brain Res.* 83, 419-436, 1975.
- 157) Randrup, A. and Munkvad, I. Pharmacology and physiology of stereotyped behavior; in Kety and Mathysse catecholamines and their enzymes in the neuropathology of schizophrenia. *J. Psychiat. Res.* 11, 1-10, 1974.
- 158) Waddington, J. L. Induction of rotational behavior by intranigral baclofen suggests possible GABA - agonist activity. - *Experientia* 33, 1345, 1977.
- 159) Maickel, R. P. Cox, R. H. Jr., Keir, C. J., Snodgrass, W. R. and Miller, F. P. Some aspects of the behavioural pharmacology of the amphetamines. In: *Amphetamines and related compounds* pp. 747-759, 1970. Ed. by E. Costa and S. Garattini Raven Press, N. Y.
- 160) Weston, P. F. and Overstreet, D. H. Does tolerance develop to low doses of d-and-l-amphetamine on locomotor activity - in rats? *Pharmacol. Biochem. Beh.* 5, 645-649, 1976.

- 161) Chiuch, C. C. and Moore, K. E. Relative potencies of d and l - amphetamine on the release of dopamine from cat brain in vivo. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmac.* 7, 189-199, - - 1974.
- 162) Segal, D. S. Behavioural characterization of d-and-l-amphetamine. *Neurochemical implication. Science*, 190, 475-477, - 1975.
- 163) Taylor, K. M. and Snyder, S. H. Amphetamine differentiation by d- and - l isomers of behaviour involving brain norephrine and dopamine. *Science* 168, 1487-1489, 1970.
- 164) Ebadi, M. S. Pfeiffer, R. F. , Laoy, P. S. and Davis, R. H.- The catalytic role of pyridoxal phosphate and the regulatory involvement of pyridoxal kinase in the metabolism of monoamines. *Adv. Neurol* 2, 199-227, 1973
- 165) Ebadi, M. S., Rossell, R. C. and McCoy, E. E.; The inverse-relationship between the activity of pyridoxal kinase and -- level of biogenic amines in rabbit brain. *J. Neurochem.* 15, 659-665, 1968.
- 166) Ebadi, M. S., McCoy, E. E. and Kugel, R. B. Interrelationships between pyridoxal phosphate and pyridoxal kinase in rabbit brain. *J. Neurochem*, 17, 941-948, 1970.
- 167) Stein, J. and Wise, C. O. Release of norepinephrine from - hypothalamus and amygdala by rewarding medial forebrain bundle stimulation and amphetamine. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 67, 189-198, 1969.
- 168) Carr, L. A. and Moore, K. E. Norepinephrine: Release from brain by d-amphetamine in vivo. *Science* 164, 322-323, 1969.

- 169) Mc Nulty, J., O'Donovan, D. J. and Leonard, B. E.; The acute and chronic effects of d-amphetamine, chlorpromazine, amitriptyline and lithium chloride on adenosine 5-triphosphatases in different regions of the rat brain. *Biochem. Pharmacol.* 27, 1049-1053, 1978.
- 170) Rutledge, Ch. O. Effect of metabolic inhibitors and ouabain on amphetamine - and potassium induced release of biogenic - amines from isolated brain tissues. *Pharmacology* 27, 511- 516, 1978.
- 171) Deffenu, G. Bartolini, A. and Pepeu, G. Effect of amphetamine on cholinergic systems of cerebral cortex of the cat. - In: *Amphetamines and related compounds*. Ed. E. Costa and -- S. Garattini pp. 357-368, 1970.
- 172) Anfred, T. and Randrup, A. Cholinergic mechanism in brain - inhibiting amphetamine induced stereotyped behaviour. *Acta-Pharmacol. et Toxicol* 26, 384-394, 1968.
- 173) Stein, L. and C. D. Wise. Behavioral Pharmacology of central stimulants. In: *Principles of Psychopharmacology*. Ed. by - W. G. Clark and J. del Giudice pp. 313-325, 1970.
- 174) Costa, E. and Garattini, S. (Eds.). *International Symposium on amphetamines and related compounds*. Raven Press, New - - York, 1970.
- 175) Van Rossum, J. M., Van der Schöot, J. B. and Hunkmans, J. A. Mechanism of action of cocaine and amphetamine in the brain. *Experientia* 18, 229-231, 1962.
- 176) Carlsson, A., Fuxe, K., Hamberger, B. and Linguis, M. Biochemical and histochemical studies on the effects of imipra-

- techolamine neurons. *Acta Physiol. Scand.* 67, 481-498, - -
1966.
- 177) Axelrod, J. Hertting, G. and Potter, L. Effects of drugs -
on the uptake and release of H^3 -norepinephrine in the rat -
heart. *Nature* 19, 297-299, 1962.
- 178) Taylor, M. M. and Snyder, S. Amphetamine: Differentiation
by d and l isomers on behavior involving brain, norepinephri
ne and dopamine. *Science* 168, 1487-1489, 1970.
- 179) Shinozaki, H. and Ishida, M. Increase in potassium permeabi
lity caused by methamphetamine in crayfish opener muscle. --
Neuropharmacology 16, 583-655, 1977.
- 180) Johnston, J. P. Some observations upon a new inhibitor of-
monoamine oxidase in brain tissue. *Biochem. Pharmac* 17, - -
1285- , 1968.
- 181) Mantle, T. J. Tipton, K. F. and Garrett, N. J. Inhibition-
of monoamino-oxidase by amphetamine and related compounds. -
Biochem. Pharmacol. 25, 2073-2077, 1976.
- 182) Brasstrup, C. biochemical differentiation of amphetamine vs.-
methylphenidate and nomifensive in rats. *J. Pharm. Pharmac.*
29, 463-470, 1977.
- 183) Green, A. L. and El Hait, M. A. S. Inhibition of mouse brain
monoamine-oxidase by (+) amphetamine in vivo. *Comm. J. Pharm.*
Pharmac. 30, 262-263, 1978.
- 184) Planz, G., Palm, D. and Quiring, K. On the evaluation on -
weak and reversible inhibitors of monoamino-oxidase in vivo-
and in vitro. Investigations with diphenyl - piperidine de-
rivatives. *Arzneimittel Forsch* 23, 281-285, 1973.

- 185) Baird, J. K. and Lewis, J. J. Effects of drugs of noradrenaline and 3 - hydroxytyramine (dopamine) levels and on the noradrenaline to dopamine ratio in the rat brain. *Biochem. Pharmac.* 12, 579-581, . 1963.
- 186) Hitzemann, R. J. Loh, H. H. and Domino, E. F. Effects of - para-methoxy-amphetamine on catecholamine metabolism in the mouse brain. *Life Sci.* 10(1), 1087-1095, 1971.
- 187) Segal, J. H. *Enzyme Kinetics. Behavior and analysis of rapid and steady state enzyme systems.* Wiley New York, 1975.
- 188) Ebadi, M. and Govittrpong, P. Biogenic amine mediated alteration of pyridoxal phosphate formation in rat brain. *J. - Neurochem* 32, 845-853, 1979.
- 189) Vogt, M. The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and - after the administration of drugs. *J. Physiol (Lond)* 123,- 451-481, 1954.
- 190) Mc Geer, P. L., Mc Geer, E. G. and Wada, J. A. Central aromatic amine levels and behavior. II Serotonin and catecholamine levels in various cat brain-areas. *Arch. Neural* 9, 81, 89, 1963.
- 191) Carlsson, A., Lindquist, M., Magnusson, T. and Waldeck, B.- On the presence of 3-hydroxytyramine in brain, *Science* 127 471, 1958.
- 192) Saavedra, J. M. Distribution of serotonin and synthesizing enzymes in discrete areas of the brain. *Fed. Proc.* 36, -- 2134-2141, 1977.