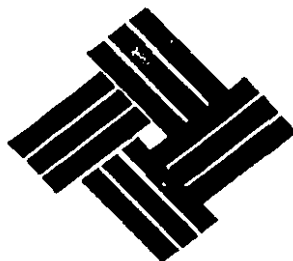


UNIVERSIDAD ANAHUAC

ESCUELA DE PSICOLOGIA

CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



VINCE IN BONO MALUM

**VARIACIONES CIRCADIANAS EN LOS EFECTOS DE LA
MORFINA SOBRE LA LOCOMOCION EN RATAS**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S
DUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A
LAURA YOLANDA PATARGO APSTEIN

MEXICO, D. F.

1988

26
200



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
I RITMOS BIOLÓGICOS.....	7
1. Generalidades de los Ritmos Biológicos.....	7
2. Funciones de los Ritmos Biológicos.....	10
3. Investigaciones de Ritmos.....	12
3.1. Experimentos Sobre Estructuras Responsables de los Ritmos.....	12
3.2. Experimentos Sobre las Bases Químicas de los Ritmos.....	17
4. Manifestaciones Conductuales de los Ritmos.....	20
II FUNCION DE LOS OPIÁCEOS.....	27
1. Historia.....	27
2. Biosíntesis.....	30
3. Receptores.....	33
4. Distribución de los Opiáceos.....	37
4.1. Distribución de la Beta-endorfina.....	38
4.2. Distribución de las Proencefalinas.....	39
4.3. Distribución de las Dinorfinas.....	40
5. Liberación.....	41
6. Acción Fisiológica de los Opiáceos.....	47
6.1. Efectos Electrofisiológicos.....	47
6.2. Otros Efectos Fisiológicos.....	49
7. Efectos Conductuales de los Opiáceos.....	57
III MANIFESTACIONES DE LOS RITMOS ENDOGENOS SOBRE LAS ACCIONES OPIÁCEAS.....	73
IV TRABAJO DE INVESTIGACION.....	78
1. Planteamiento del Problema.....	78
2. Método.....	80
2.1. Sujetos.....	80
2.2. Diseño Experimental.....	81
2.3. Aparato.....	82
2.4. Procedimiento.....	82
2.5. Análisis Estadísticos.....	84
3. Resultados.....	85
3.1. Efectos de la Morfina sobre la Locomoción en las Primeras Horas de Luz.....	85
3.2. Efectos de la Morfina sobre la Locomoción en las Últimas Horas de Luz.....	89
3.3. Efectos de la Morfina sobre la Locomoción en las Primeras Horas de Oscuridad.....	93
3.4. Efectos de la Morfina sobre la Locomoción en las Últimas Horas de Oscuridad.....	98
3.5. Resumen de los Principales Resultados.....	104
4. Discusión y Conclusiones.....	106
5. Recomendaciones.....	111
REFERENCIAS.....	112

RESUMEN

En los últimos años se ha demostrado que la mayoría de los neurotransmisores muestran variaciones cíclicas en sus concentraciones dentro del sistema nervioso central. Asimismo, se ha demostrado una variación cíclica en la cantidad de receptores. Además, es bien conocido el hecho de que ciertas conductas también varían de forma cíclica. Se podría suponer que las variaciones cíclicas conductuales son manifestaciones de las variaciones cíclicas de las concentraciones de los neurotransmisores o de los receptores a los que se asocian.

La conducta locomotriz resulta particularmente adecuada para estudios de ritmicidad por dos razones. Por un lado, muestra notorias variaciones circadianas y es de fácil cuantificación; por otro lado, se sabe que esta conducta está bajo el control de neurotransmisores que varían de forma similar que la conducta en cuestión. Esta coincidencia es especialmente notoria en relación con las endorfinas, las cuales muestran variaciones en sus concentraciones que coinciden con las variaciones en la conducta locomotriz. Tanto las concentraciones de endorfinas como la conducta locomotriz tienen su máximo durante las primeras horas del período de oscuridad y su mínimo en las primeras horas del período de luz.

En el presente trabajo se investigaron las variaciones circadianas en los efectos de la administración de morfina sobre la actividad locomotriz en ratas. Se administró morfina en dosis de 2.5mg/Kg, 5.0mg/Kg, y 10.0mg/Kg en cuatro diferentes períodos del ciclo luz-obscuridad.

Los resultados aquí observados indican que efectivamente existe una diferencia importante en los efectos de la morfina sobre la locomoción según la fase del ciclo en que sea administrada. En términos generales se encontró un mayor efecto en el período de obscuridad, especialmente en las últimas horas de éste. No así en el ciclo de luz donde la rata mostró una sensibilidad realmente baja a la morfina.

El conocido efecto bifásico de las altas dosis se pudo observar con dosis pequeñas (2.5mg/Kg) en las últimas horas de obscuridad, mientras que fué necesaria una dosis de 10.0mg/Kg para que dicho efecto se observara en las primeras horas de luz. Estos datos apoyan la existencia de ritmos endógenos que interactúan e influyen sobre los efectos de la morfina en la locomoción.

INTRODUCCION

Los ritmos, elementos cíclicos del tiempo son una propiedad de la materia viva, desde los vegetales más simples hasta los organismos más complejos como el ser humano. Los ciclos más frecuentes son los de 24 horas, llamados también ritmos circadianos, los cuales participan funcionalmente en varios procesos fisiológicos, bioquímicos y conductuales.

El estudio de los ritmos se hizo tan extenso que fue necesario crear una nueva rama de la investigación: la cronobiología. Esta área esta especializada en descubrir cuales ritmos son aprendidos, cuales se originan y mantienen en el organismo que los presenta y bajo que mecanismos operan unos y otros. Aunque los ritmos endógenos generan su propia señal de tiempo, pueden estar influenciados por ciertas señales externas, llamadas también sincronizadores (Rusak y Zucker, 1975). Entre los sincronizadores más potentes se encuentran la luz y la obscuridad que influyen en la mayor parte de las funciones biológicas.

En el sistema nervioso central de varias especies, se han encontrado evidencias de ciclos endógenos tanto en diferentes estructuras como en complejos sistemas bioquímicos. Los neurotransmisores, las enzimas que

los sintetizan y sus metabolitos varían en el transcurso del día (Kafka et al., 1983). Las hormonas y otros péptidos se liberan siguiendo ciertos ritmos. Entre el grupo de péptidos que presentan estos ciclos, se encuentran los opiáceos los cuales se liberan y ejercen sus efectos con variaciones circadianas (Frederickson et al., 1977).

Gran parte del conocimiento que tenemos en la actualidad sobre las endorfinas (término que se ha utilizado para referirse a todas las sustancias endógenas con actividad opiácea), se ha obtenido a través de experimentos en los cuales se administra morfina u otros agonistas afines a los receptores opiáceos, con el objeto de observar sus efectos en diferentes actividades y conductas.

La administración de morfina produce complejos efectos sobre la actividad locomotriz. Estos efectos, estudiados principalmente en ratas, incluyen componentes tanto de excitación como de disminución de la actividad motora. A bajas dosis de morfina se produce una excitación inicial que dura una o dos horas seguida de un regreso al estado basal de la actividad. La administración de altas dosis produce efectos bifásicos: una disminución inicial de la actividad locomotora seguida de un período de hiperactividad. La

duración del efecto de inactividad aumenta en función de la dosis de morfina (Brady y Holtzman, 1980).

Por otra parte, se ha visto que la rata presenta un ritmo circadiano en su actividad con un mínimo durante las primeras horas del período de luz y un máximo durante las primeras horas de oscuridad. Aparentemente, las concentraciones cerebrales de endorfinas muestran una variación circadiana similar, es decir, con un mínimo al principio del período de luz y un máximo al principio del período de oscuridad. Por lo anterior, es muy probable que las encefalinas exógenas estimulen la actividad cuando se administran mientras la actividad espontánea y el contenido de encefalinas se encuentren en sus niveles mínimos (Agmo y Avila, 1985).

En este trabajo de tesis se van a observar los diferentes efectos sobre la actividad locomotriz de las ratas producidos por altas y bajas dosis de morfina, en diferentes períodos del ciclo luz-oscuridad. Así, cuando se administra la morfina en las primeras horas de luz se esperaría obtener el claro efecto bifásico de las altas dosis y el monofásico de las bajas, mientras que en las primeras horas de oscuridad se espera no encontrar ningún efecto claro. Sobre los efectos de las últimas horas de ambos

períodos poco se ha publicado y sin resultados concluyentes.

Es posible que muchas de las discrepancias hasta ahora encontradas en los efectos de los opiáceos sobre la actividad locomotriz, se deban a que las drogas se han administrado en diferentes períodos del ciclo luz-obscuridad. Los resultados de este trabajo pueden proporcionar un parámetro claro de acción de los opiáceos según la hora del día. Esto, además, representa un instrumento de gran utilidad no sólo para investigaciones posteriores sobre los opiáceos, sino también para las aplicaciones terapéuticas de la morfina.

CAPITULO I

RITMOS BIOLÓGICOS

I GENERALIDADES DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

Las funciones rítmicas de los organismos han sido estudiadas con base en una serie de conceptos tales como los de ritmos endógenos y exógenos. Los exógenos son aquellos que están determinados por factores externos al organismo; los endógenos por lo contrario, mantienen su propia ciclicidad independientemente de los cambios ambientales.

Otro concepto importante es el de los "zeitgebers", factores ambientales con variaciones cíclicas capaces de modificar un ritmo endógeno. Los sincronizadores exógenos o "zeitgebers" se pueden manipular para llevar a cabo investigaciones muy interesantes. Por ejemplo, se puede dejar al animal en condiciones de ritmos libres sin influencia de ningún "zeitgeber" conocido y observar sus ciclos endógenos para la conducta estudiada. En este tipo de experimentos el "zeitgeber" que más comúnmente ha sido eliminado, es la luz, cuyos efectos se han observado sobre múltiples conductas rítmicas. Una función sencilla como la actividad locomotriz puede reflejar la operación de dos o más ritmos endógenos (Rusak y Zucker, 1975).

En la actualidad existen abundantes evidencias de que los organismos multicelulares contienen varios osciladores endógenos, cada uno de los cuales puede presentar diferentes características y períodos. En nuestro sistema de biocronometría el ritmo más común es el ciclo que gira alrededor de las 24 horas conocido como ritmo circadiano. Estos ciclos se pueden detectar midiendo la temperatura corporal, frecuencia cardíaca, secreción urinaria, contenido de plasma o realizando cualquier medición que indique algún cambio metabólico. Existen además muchos otros ritmos como los de las estaciones del año y los circanuales que tienen una duración mayor a 24 horas también llamados infradianos; o los que tienen una duración menor a 24 horas llamados ultradianos.

Las propiedades principales de los ritmos circadianos parecen ser las mismas en todas las diferentes especies en las cuales estos se presentan. Aréchiga (1984) clasificó estas propiedades como sigue:

- a) Los ritmos circadianos son endógenos. En la materia viva existe un mecanismo tal, que independientemente del sincronizador exterior, el ritmo endógeno es capaz de generar su propia señal de tiempo. La

periodicidad de estos ritmos no es idéntica entre sí. De hecho, la palabra circadiano significa alrededor de 24 horas (los ritmos fluctúan entre 22 y 26 horas).

b) Aunque los ritmos endógenos generan su propia señal de tiempo, van quedando gradualmente defasados. Pueden ser puestos en fase por influencias medio-ambientales y se sincronizan siguiendo estas señales. La capacidad de asimilar frecuencias distintas a la natural no es ilimitada; esta capacidad es mayor para adoptar las frecuencias cercanas a la natural y disminuye conforme las frecuencias se alejan de ella. Además de la luz, el sonido y la temperatura también influyen como señales sincronizadoras. Mientras más evolucionado sea un organismo, más rico será en posibilidades sensoriales y serán más las influencias externas que pueda percibir. Además, la influencia de un sincronizador externo depende de la fase del ciclo sobre la cual incide.

c) La frecuencia de los ritmos es independiente de la temperatura ambiental. Esta propiedad resulta sorprendente porque la mayoría

de las funciones corporales se relacionan de una forma u otra con la temperatura.

- d) La ritmicidad circádica es hereditaria. Lo que se hereda es la capacidad de mantener el ritmo pero no la fase. La ritmicidad se transmite con carácter dominante y se ha visto que la información genética de los ritmos se almacena en un sitio determinado del cromosoma X.

2 FUNCIONES DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

Los ritmos influyen en tantos procesos naturales, que se les han atribuido las más variadas funciones biológicas. Incluso se ha llegado a pensar que los ritmos son mecanismos indispensables para la supervivencia.

La comunicación de un organismo con su medio y su capacidad de captar selectivamente ciertas señales externas son condiciones necesarias para la vida. Con base en esto, Rusak y Zucker (1975), proponen que los ritmos

biológicos evolucionaron, entre otras cosas, para sincronizar la conducta con el medio externo. Muchos animales sincronizan sus actividades con el acceso que tienen al alimento y con la ausencia de situaciones de peligro.

Los ritmos también se han relacionado con el mantenimiento de la homeostasis corporal. Todo organismo necesita un equilibrio entre la actividad y la inactividad para mantener un nivel de funcionamiento óptimo en sus funciones metabólicas. El sueño representa un buen ejemplo de esto; muchas de las hipótesis sobre las funciones del sueño giran alrededor de sus posibles mecanismos compensatorios sobre la vigilia.

Otro ejemplo de la importancia que tienen los ritmos en las funciones corporales, es el del sistema endócrino el cual regula la mayor parte de sus actividades por medio de ciclos. La sincronización de la actividad enzimática y las acciones sinérgicas de las hormonas dependen de patrones temporales muy precisos de secreción, que son en realidad la base de estos sistemas.

3 INVESTIGACIONES DE RITMOS

3.1 EXPERIMENTOS SOBRE ESTRUCTURAS RESPONSABLES DE LOS RITMOS

Los experimentos sobre los ritmos endógenos se han llevado a cabo en varios tipos de animales. De estos, los más sencillos se han realizado en cultivos de metazoarios, donde se ha visto que no todos sus elementos son rítmicos. En los organismos multicelulares la ritmicidad circádica se origina en ciertas células especializadas.

Los ritmos circadianos se han logrado demostrar en una sola neurona: el ganglio parietovisceral y en el nervio óptico de la *Aplysia*. Jacklet y Geronimo, (1981) observaron que cortando ciertas regiones del nervio óptico el ritmo se mantenía, pero cuando se cortaban porciones más largas, la periodicidad del ritmo disminuía. Con estos resultados, los autores propusieron que las células cuyas fibras forman el nervio óptico son en sí marcapasos que funcionan de forma autónoma.

En los mamíferos se han establecido criterios para localizar

estructuras hipotéticas responsables de la ritmicidad del organismo en general. Dos de las situaciones experimentales que cubren estos criterios son las siguientes:

- a) Aislar órganos donde sabemos que se asienta un ritmo presente en el organismo entero y medirles su ritmicidad. Si se conserva el ritmo, la conclusión es que en la estructura en cuestión existe, efectivamente, un mecanismo intrínseco responsable de éste ritmo. Si el ritmo desaparece, el órgano es efector de algún otro marcapaso circádico, situado en alguna otra región del cuerpo. Dentro de este tipo de experimentos, se ha visto en cultivos de hígado de mamíferos, que la actividad enzimática conserva su ritmo. Las glándulas suprarrenales aisladas del organismo continúan secretando rítmicamente sus hormonas. Además, células pertenecientes a la glándula pineal, mantenidas también en un medio de cultivo, conservan un ritmo de actividad enzimática, demostrándose así la existencia de ritmicidad a nivel celular.
- b) Demostrar que la extirpación o destrucción de un órgano suprime la

expresión de algún ritmo circádico, es decir, que el órgano en cuestión no solo mantiene su propia ritmicidad sino que es capaz de comunicarsela a otros órganos, funcionando así como marcapaso. Sin embargo, los cambios que se pueden describir después de lesiones cerebrales están sujetos a muchas otras variables por lo que es difícil hacer interpretaciones con base en alteraciones en los patrones temporales de una sola respuesta fisiológica o conductual. Cambios descritos después de lesiones incluyen:

- Cambios en las fases de la liberación de corticoesterona en perros sin bulbo olfatorio (Arcangeli et al., 1973).
- Eliminación temporal del ritmo de corticoesterona en ratas sin fornix y eliminación de este mismo ritmo después del aislamiento del hipotálamo basal (Woods y Leibowitz, 1985).
- Lesiones del hipotálamo ventromedial o dorsomedial reducen las diferencias normales de alimentación entre el día y la noche, mientras que las lesiones en el hipotálamo lateral

aumentan las conductas nocturnas de alimentación (Cloudsley-Thompson, 1980).

- En ratas se ha visto que las lesiones de los núcleos de Raphé aumentan el nivel de actividad aunque no eliminan las fluctuaciones rítmicas endógenas (Dement, 1965).
- Con lesiones hipotalámicas hay pérdida completa de la ritmicidad de alimentación, bebida y actividad en ratas ciegas (Rusak y Zucker, 1975).
- Al ser destruido el núcleo supraquiasmático en mamíferos y otras especies, son afectadas notablemente varias funciones: en ratas, las lesiones del núcleo supraquiasmático eliminan el ritmo en los niveles de corticoesterona en muestras de plasma tomadas a diferentes horas del ciclo luz-obscuridad. Registros individuales de actividad locomotriz muestran también una pérdida del ritmo después de las lesiones de este núcleo. Rusak y Zucker (1975) y varios autores más, proponen que esta región

es responsable de la producción, mantenimiento y coordinación de varios ritmos corticales. Este núcleo también se encuentra involucrado en el control de la liberación de la hormona luteinizante y en el período de ovulación de varias especies.

- El área pre-óptica media adyacente al núcleo supraquiasmático y el hipotálamo lateral muestran cambios regulares en la actividad eléctrica espontánea registrada durante diferentes períodos del ciclo luz-obscuridad (Roberts, 1974).

El hipotálamo en general tiene una función importante en la regulación de la ritmicidad. Además de los ya mencionados, existen otros datos que apoyan esto. Los datos clínicos en humanos, muestran que los pacientes con lesiones hipotalámicas, muestran respuestas opuestas en el patrón normal de secreción electrofisiológica. Existe pérdida de los ritmos de temperatura corporal normal y otros síntomas donde hay defasamiento de los ciclos normales (Rusak y Zucker, 1975).

3.2 EXPERIMENTOS SOBRE LAS BASES QUÍMICAS DE LOS RITMOS

En organismos multicelulares la referencia del oscilador circadiano puede ser un resultado de interacciones entre grandes poblaciones de neuronas y las células pueden acoplarse además a señales externas o a otros osciladores. Las sustancias químicas pueden estar operando en cualquiera de estos niveles de organización, por lo que se han realizado varios estudios sobre modificaciones farmacológicas de los ritmos llegando hasta procesos de disgregación celular. En estos experimentos existen básicamente dos puntos de vista:

- El primero sostiene que es posible afectar a los ritmos circadianos modificando las condiciones de la membrana celular como si esta sólo bastara para mantener la ritmicidad. Este punto de vista se basa en que los potenciales transmembranales y la permeabilidad de ciertos canales iónicos pueden variar de acuerdo a los ritmos circadianos. El alcohol y agentes químicos prolongan los períodos de varios relojes biológicos y se ha visto que aumentan la estabilidad de las membranas. Últimamente se ha desarrollado un nuevo modelo de

membrana como reloj biológico. Este modelo sugiere que la periodicidad es el resultado de un sistema de retroalimentación que incluye gradientes iónicos transmembranales y canales de proteínas.

- El segundo punto de vista se sustenta en otros datos experimentales que indican que es necesaria la participación del aparato celular de síntesis proteica para integrar un ritmo determinado.

Ambos puntos de vista no son mutuamente excluyentes. Unas funciones rítmicas pueden originarse en la membrana y otras en el aparato celular o la misma función puede tener componentes cíclicos de ambos lugares.

Los ritmos químicos afectan la amplitud de los ritmos conductuales. En el sistema nervioso central y periférico existen fluctuaciones en la 5-hidroxitriptamina (5-HT), en la norepinefrina (NE), en la dopamina (DA) y en otros neurotransmisores como veremos más adelante (Capítulo III). La amplitud de estos ritmos y sus relaciones de fase con el ciclo de iluminación son específicos de cada especie. La depleción de 5-HT reduce temporalmente los ritmos nocturnos de alimentación, saciedad y actividad en ratas. Efectos

similares se han observado con 6-OHDA (tratamientos que reducen la NE y DA), donde el ritmo de actividad locomotriz nocturna se atenúa. Un bloqueador Beta-adrenérgico previene el aumento en la actividad enzimática pineal en ratas. La depleción de NE también interfiere en la ritmicidad de la temperatura (Rusak y Zucker, 1975).

El ritmo de 24 horas de alimentación de las ratas desaparece con la administración de anfetaminas. La actividad locomotriz también pierde su ritmo natural con anfetaminas y otros fármacos (Pengelley, 1974).

El hecho de que la extirpación de ciertos órganos produzca cambios en los ritmos se puede deber a efectos hormonales consecuentes a estas extirpaciones más que a la función de reloj del órgano en sí. Esto se basa en que la extirpación de órganos endócrinos reduce la amplitud de varios ritmos incluyendo los de temperatura corporal, actividad locomotriz e ingestión de líquidos y alimentos (Arcangeli et al., 1973).

Los sustratos químicos específicos responsables de la percepción de los "zeitgebers" o de la sincronización de los osciladores con sus sistemas

efectores aún no se conocen. Parece ser que el funcionamiento del reloj neuronal y su sincronización con otros sistemas es un mecanismo electrotónico además de químico. La sincronización electrotónica ha sido demostrada en mamíferos en varias estructuras neuronales incluyendo el sistema visual. Aquí se ha visto que existen fotorreceptores (con influencias de ciclos geofísicos) especializados en la detección de señales externas. Lo más sorprendente es, que estos receptores no son los mismos que participan en la visión; incluso algunos de ellos se localizan fuera de la retina, cerca de elementos relacionados a la generación de los ciclos endógenos (Rusak y Zucker, 1975).

4 MANIFESTACIONES CONDUCTUALES DE LOS RITMOS

Existe una amplia variedad de conductas influenciadas por los ritmos. La ciclicidad intrínseca de varias conductas era obvia aún antes de que empezaran a hacerse investigaciones específicas sobre los ritmos. Los elementos cíclicos se habían encontrado en el sueño, la actividad locomotora, la alimentación y la reproducción. Posteriormente se descubrieron ritmos en

procesos más complejos involucrados en la sensación, percepción y aprendizaje.

En los estudios sobre alimentación se ha postulado que la frecuencia y periodicidad de esta conducta dependen de la naturaleza de la dieta ingerida y pueden variar de especie a especie (carnívoros, hervívoros etc.) Estos ritmos en el consumo de alimentos están afectados por varios sincronizadores externos como la iluminación, temperatura y humedad, además de factores internos como los ritmos endógenos de actividad. Kavaliers y Hirst (1985), encontraron ritmos de alimentación en ratas y ratones: La cantidad de alimentos ingeridos durante la noche (período de oscuridad), es mayor que la cantidad de alimentos ingeridos durante el día (período de luz). Estas respuestas han sido corroboradas en varios experimentos posteriores revisados por Olson (1985).

En los procesos de actividad general, se ha demostrado que la rata presenta una clara ritmicidad circadiana en su conducta ambulatoria. Esta conducta presenta sus máximos niveles durante las primeras horas de oscuridad y se inhibe notablemente durante las primeras horas del período

de luz (Frederickson et al., 1977).

Probablemente uno de los ciclos más estudiados ha sido el de actividad y sueño. Este ciclo aparece tanto en organismos sencillos como en los más sofisticados, como el hombre. Los resultados más concluyentes sobre las características de estos ritmos ya han sido motivo de extensas revisiones (Bloch y Fishbein, 1975; Dement, 1965). En general, parece haber un acuerdo en que el sueño lento tiene una función compensatoria sobre la vigilia previa, mientras que el sueño paradójico parece estar regulado por un ritmo endógeno. La proporción vigilia-sueño puede cambiar por medio de "zeitgebers" siendo el más importante de estos la luz. Sin embargo, los ritmos tienden a prevalecer (aunque estén defasados) bajo condiciones de luz u oscuridad continuas. Cuando una persona es aislada en un sótano subterráneo, los ritmos de vigilia y sueño, así como los de sus índices fisiológicos como temperatura corporal y niveles hormonales, siguen presentando un ritmo circadiano.

La fisiología de la reproducción de varios mamíferos también parece estar regulada rítmicamente. El proceso de ovulación atraviesa por las fases

folicular y luteinizante con duraciones más o menos fijas. Este ciclo se repite, a menos que sea interrumpido por copulación o embarazo. En esta función intervienen varios factores de origen principalmente endógeno relacionados con la liberación cíclica de hormonas y mecanismos de retroalimentación.

Muchos animales ajustan sus conductas a los cambios de las estaciones del año por medio de sus propios ritmos endógenos. Los ritmos endógenos circanuales se han observado en algunos pájaros migratorios. Por ejemplo las cucurras europeas de jardín, subalpinas y sauce (*Sylvia borin*, *Sylvia cantillans* y *Phylloscopus trochilus* respectivamente), viven durante el verano en Europa y emigran a través del desierto del Sahara a África del Sur para quedarse ahí durante el invierno. Cuando estos animales han sido llevados al laboratorio a los pocos días de haber nacido, siguen presentando estas conductas asociadas a la migración. Estos pájaros mostraron, además, marcadas fluctuaciones en su peso corporal debidas a los cambios de estaciones. Las cucurras generalmente emigran durante la noche y descansan en el día; en el laboratorio se encuentran inquietas durante la noche saltando hacia la dirección a la cual estarían viajando normalmente. El patrón de

actividad nocturna en el laboratorio se asemeja notablemente al patrón de actividad que los pájaros migratorios ejecutarían normalmente. Estas evidencias sugieren que el patrón de conducta alternada entre actividad e inactividad que muestran estos pájaros está regulada a través de uno o varios ritmos endógenos (Cloudsley- Thompson, 1980).

Los mamíferos que hibernan muestran un fenómeno similar. La ardilla de manto dorado (*Citellus lateralis*) y la marmota (*Marmota monax*) muestran ritmos circanuales en su peso corporal y actividad general aún cuando se mantienen bajo condiciones constantes en el laboratorio durante años. Estos animales generalmente suben de peso antes de la hibernación y pierden peso durante la misma. Este patrón persiste en el laboratorio bajo condiciones constantes de los fotoperíodos y la temperatura ambiental (Pengelley, 1974).

Muchos animales marinos exhiben ritmos que corresponden a ciclos lunares o de la marea. La liebre de mar (*Aplysia Californica*) posee células nerviosas cuyos ritmos de actividad son semejantes a los ciclos de la marea. El cangrejo (*Carcinus maenas*) presenta un ritmo de marea donde el pico de

mayor actividad se presenta con mareas altas. Este ritmo se mantiene bajo condiciones de laboratorio constantes durante una semana, al cabo de la cual desaparece. Si el cangrejo es enfriado durante seis horas, el ritmo de la marea se restablece (Cloudsley-Thompson, 1980).

En organismos unicelulares como el protozoo Euglena se han observado ritmos de actividad sincronizados con los movimientos del sol, los cuales prevalecen aún cuando el organismo es llevado al laboratorio bajo condiciones de obscuridad continua. Sin embargo, muchas de las propiedades de los protozoos de una sola célula no se encuentran en células solas de animales multicelulares, y algunos fenómenos rítmicos pueden ser el resultado de la interacción entre varias células. Tal es el caso de las cucarachas en las cuales la actividad eléctrica de las diferentes células del lóbulo óptico, parece ser determinante en el mantenimiento de ritmos circadianos de actividad locomotriz (Brady, 1969; Roberts, 1974).

Los anteriores son sólo unos ejemplos de las múltiples funciones que se encuentran afectadas por los ritmos. El estudio de estos mecanismos se está extendiendo cada vez más hacia muchas conductas y hacia los procesos que las regulan.

CAPITULO II

FUNCION DE LOS OPIACEOS

1 HISTORIA

El opio es una de las drogas más antiguas utilizada por el hombre. Desde hace miles de años se conocen sus efectos farmacológicos y conductuales entre los cuales están la analgesia, la euforia, cambios en la actividad locomotriz y desarrollo de tolerancia y dependencia, además de otros efectos colaterales.

La morfina fue reconocida desde el siglo XIX como el principal alcaloide responsable de la mayoría de los efectos benéficos del opio así como de sus efectos colaterales indeseables, en particular del desarrollo de la adicción bajo su administración crónica.

Con el objeto de encontrar un analgésico no adictivo, se han realizado numerosas investigaciones, que aunque nunca encontraron lo que buscaban, proporcionaron mucha información que dió origen a la búsqueda de los aún inciertos mecanismos bajo los cuales operan los opiáceos endógenos.

Se reconoció primero, que la acción analgésica y la adicción son funciones estereoespecíficas, es decir, estas actividades se presentan con uno solo de los enantiómeros de la molécula de morfina. Se demostró además, que alteraciones relativamente pequeñas en ciertas partes de la molécula de morfina producían cambios drásticos en su acción farmacológica.

La estereoespecificidad arriba mencionada se explicó por la existencia dentro del Sistema Nervioso Central (SNC) de sitios de asociación altamente específicos a los cuales se pegan las drogas narcóticas analgésicas para ejercer sus efectos. La existencia de dichos sitios o receptores opiáceos fue propuesta mucho antes de que en realidad fuera demostrada, hecho que sucedió casi simultáneamente, en investigaciones que habrían de ser reportadas posteriormente por Terenius (1975) y Snyder (1975). El procedimiento de investigación fue similar en los dos casos: homogeneizaron tejido cerebral extrayendo posteriormente sinaptosomas por medio de centrifugación diferencial. Estas muestras se incubaban en una solución de opiáceos marcados o antagonistas con alta actividad específica. Los resultados concordaron en que la asociación que ocurrió fue de alta estereoespecificidad al igual que la actividad farmacológica de los opiáceos.

Goldstein et al., (1971) ya habían reportado la existencia de dichos receptores en la glándula pituitaria del ratón. Posteriormente, se demostró en un estudio filogenético que estos receptores existen en los cerebros de todos los vertebrados. Comenzaron entonces las especulaciones sobre la naturaleza de dichos receptores tan específicos para alcaloides de la familia de los opiáceos. Era muy poco probable que hubieran evolucionado azarosamente en la naturaleza con el único propósito de unirse a drogas opiáceas exógenas; por lo contrario, la historia de la farmacología ha demostrado que la mayoría de los receptores a drogas son en realidad receptores para ligandos endógenos.

Con estos antecedentes, Hughes (1975) finalmente logró identificar a los primeros opiáceos endógenos en extracto de cerebro de puerco. En estas investigaciones se vió que la actividad opiácea se debía principalmente a dos pentapéptidos: leu-encefalina y met-encefalina. Este descubrimiento dió origen a una serie de investigaciones sobre las endorfinas (morfinas endógenas), término que ha sido utilizado desde entonces para referirse a todas las sustancias endógenas con actividad opiácea.

2 BIOSINTESIS

Hasta la fecha se han encontrado tres familias de péptidos opiáceos. En la Tabla 1 se muestran las principales endorfinas aisladas en los últimos años, su secuencia de aminoácidos y el precursor del cual proviene cada una.

Tabla 1

FAMILIAS DE LOS PEPTIDOS OPIACEOS

(Akil et al., 1984)

BETA-END/ACTH	Proencefalina	Prodinorfina
<u>Beta-Endorfina:</u> Try-Gly-Gly-Phe-Met- Thr-Ser-Glu-Lys-Ser- Gln-Thr-Pro-Leu Val-Thr-Leu-Phe-Lys- Asn-Ala-Ile-Val-Lys- Asn-Ala-Ile-Lys Lys-Gly-Gln	<u>(Melencefalina):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Met	<u>Alfa-Meo-endorfina:</u> Try-Gly-Gly-Phe- Leu-Arg-Lys-Try- Pro-Lys
	<u>(Leuencefalina):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Leu	<u>Beta-Meo-endorfina:</u> Try-Gly-Gly-Phe-Leu- Arg-Lys-Tyr-Pro
	<u>(Melencefalina-β):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Met- Arg-Gly-Leu	<u>Dinorfina A (1-8):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Leu- Arg-Arg-Ile
	<u>(Melencefalina-Arg-Phe):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Met- Arg-Phe	<u>Dinorfina A (1-17):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Leu- Arg-Arg-Ile-Arg-Pro- Lys-Leu-Trp-Asp-Asn- Gln
	<u>Péptido E:</u> Try-Gly-Gly-Phe-Met- Arg-Arg-Val-Gly-Arg Pro-Glu-Trp-Trp-Met- Asp-Tyr-Gln-Lys-Arg- Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu	<u>Dinorfina B (1-13):</u> Try-Gly-Gly-Phe-Leu- Arg-Arg-Gln-Phe-Lys- Val-Val-Thr

Como la tabla lo indica, existen tres precursores de los cuales se derivan los péptidos con actividad opiácea:

- El precursor Beta-endorfina/ACTH también conocido como proopiomelanocortina (POMC). Este es una glicoproteína de 31 kilodaltons, que ha sido identificada además como la fuente de varios péptidos bioactivos. La proopiomelanocortina produce a la Beta-lipotropina, Gamma-lipotropina, Corticotropina, Beta-endorfina (de la cual se han encontrado dos formas N-acetiladas: C y C'), Gamma-MSH (Hormona Estimulante de Melanocitos), X-MSH Y péptidos del lóbulo intermedio afines a la corticotropina (Roberts y Herbert, 1977).
- El precursor de las Encefalinas: Proencefalinas. Este precursor contiene en su estructura a siete péptidos activos con la secuencia de met o leu. Cuatro de estos siete péptidos son simplemente met-encefalinas; dos más son extensiones del término carboxil: met-encefalina, ARG-PHE y ARG-GLY-LEU; el séptimo es una copia de leu-encefalina. Poco se sabe sobre los eventos que llevaron a la

conformación de este precursor. Tampoco se conoce la función de los péptidos E y F contenidos en él. Existe una evidencia preliminar que sugiere que una porción del péptido F (entre dos met-enkefalinas), es procesada en fragmentos más pequeños y se encuentra ampliamente distribuida en el cerebro, (Akil et al, 1984).

- El precursor de Neo-endorfina/Dinorfina: Pro-dinorfina. Este precursor produce principalmente tres péptidos (que contienen la secuencia de leu-enkefalina): Alfa/beta neo-endorfina, dinorfina A y dinorfina B. Las dos neo-endorfinas, Alfa y Beta difieren entre sí por una sola lisina. Existen diferentes tamaños de dinorfina A y estos varían de una región a otra. A la fecha no existen más datos concluyentes sobre procesamientos posteriores de las dinorfinas (Fischli et al., 1982).

3 RECEPTORES

Desde los primeros reportes de la actividad opiácea en el sistema

nervioso central, se han realizado numerosos intentos por clasificar a los receptores según su naturaleza. Repetidas veces se ha sugerido que existe más de un tipo de receptor asociable a los péptidos opiáceos.

Amir et al., (1981), propusieron un mecanismo dual, mediador de los efectos opiáceos. Unos receptores estarían mediando los efectos de afinidad a opiáceos siendo reversibles con naloxona (antagonista de los opiáceos) y otros regularían la conducta motora explosiva sin ser reversibles a la naloxona. Estos autores encontraron que la conducta motora explosiva involucra otros componentes además de los opiáceos; que no solo los opiáceos la producen y que algunos efectos de la ACTH (no opiácea) son reversibles por medio de naloxona.

Se ha visto que la morfina actúa en los receptores que regulan la excitación conductual y del electroencefalograma, de diferente forma que sobre los que regulan la sedación y analgesia. Diferentes tipos de opiáceos parecen asociarse a diferentes tipos de receptores produciendo efectos conductuales distintos. Estos efectos incluyen reacciones farmacológicas opuestas sobre la nocicepción, reversibilidad diferencial a la naloxona y efectos diferentes en los disparos de una sola neurona (Olson et al., 1979).

efectos diferentes en los disparos de una sola neurona (Olson et al, 1979).

Martin et al, (1976), reportaron la existencia de tres receptores distintos:

- Mu o receptor de morfina

- Kappa o ketociclazocina

- Sigma o skf-10047

Los receptores Mu, presentes en órganos periféricos y SNC son más específicos para la morfina, por lo que también se les ha llamado receptores a la morfina. Se pueden encontrar principalmente en varios núcleos talámicos e hipotalámicos, sustancia gris periacueductal, núcleos interpedunculares, colículos inferiores y núcleos medios de raphé.

In vivo las drogas Kappa se distinguen de las Mu porque después de una dosis aguda de una droga agonista del receptor Kappa, hay ausencia de bradicardia y además es incapaz de suprimir los efectos de abstinencia en perros dependientes de morfina. Se ha visto que todas las dinorfina y neo-

endorfinas tienen preferencia por Kappa. Estos receptores se han encontrado en la región estriatal, en las láminas IV y V de corteza, núcleo caudado y putámen (Goodman y Snyder, 1982).

El receptor Sigma propuesto en un origen por Martín no es necesariamente un receptor típico de opiáceos ya que no presenta la estereoespecificidad clásica de los receptores opiáceos.

Por su parte, Wuster et al., (1977) reportaron especificidad de varios agonistas opiáceos para tres tipos diferentes de receptores: Mu, Delta y Epsilon.

En la corteza los receptores Mu muestran heterogeneidad laminar a través de las regiones, mientras que los Delta parecen estar mucho más uniformemente distribuidos laminar y regionalmente. En el caudado y el putámen hay acumulación de Mu y los Deltas muestran una distribución difusa. Se ha llegado a sugerir que los receptores Mu y Delta pueden estar "interconvertidos" en la región estriatal (Bowen et al., 1981).

Los receptores Delta son más específicos para las encefalinas y son más abundantes en la amígdala, el núcleo acumbens, el tubérculo olfatorio y los núcleos pontinos (Goodman et al., 1980).

Los receptores Epsilon muestran alta esteroespecificidad para la Beta-endorfina, aunque para esta, se han encontrado además otros receptores (también es potente en Mu y Delta) (Shulz et. al., 1979).

Los receptores pueden existir en por lo menos dos estados conformacionales. La presencia de iones de Na durante ensayos de asociación permite la distinción entre agonistas y antagonistas. La asociación agonista es inhibida por Na, mientras que la antagonista, o no se afecta, o aumenta, (Siegel y Jensen, 1985).

4 DISTRIBUCION DE LOS OPIACEOS

Se ha logrado combinar las técnicas del radioinmunoensayo (RIA) y la radioinmunoquímica para dar un mapa detallado de los opiáceos en el

SNC.

4.1 DISTRIBUCION DE BETA-ENDORFINA

Los péptidos del precursor Beta-endorfina/ACTH se pueden encontrar en varios lugares de tejido nervioso. Sin embargo, el mayor sitio de producción es la pituitaria. Otro sitio importante es el grupo de células del núcleo arcuato de la región media basal del hipotálamo. Sus fibras se proyectan ampliamente incluyendo así a varias áreas del sistema límbico y tronco del encéfalo. Emanan hacia áreas medias cerca de superficies ventriculares; se proyectan al área preóptica alrededor de la comisura anterior y a la región periacueductal del diencefalo y puente. Las estructuras medias que contienen Beta-endorfina incluyen al núcleo anterior paraventricular, el raphé dorsal y el núcleo coeruleus (Khachaturian et al., 1985).

4.2 DISTRIBUCIÓN DE LAS PROENCEFALINAS

Las encefalinas se encuentran ampliamente distribuidas en el sistema nervioso central y periférico. Uno de los lugares de mayor concentración es el globo pálido (estructura profundamente relacionada con la actividad locomotriz). Se han encontrado además, en múltiples estructuras telencefálicas incluyendo la corteza cerebral, tubérculos olfatorios, amígdala, hipocampo, cuerpo estriado, septum, estria terminal, y el área preóptica (Khachaturian et al., 1985).

En el área diencefálica, las encefalinas se han localizado en la mayoría de los núcleos hipotalámicos, y en los núcleos geniculados laterales del tálamo (Akil et al., 1984).

En el cerebro medio, las células encefalinérgicas se localizan en los colículos, sustancia gris periacueductal, y núcleos interpedunculares (Khachaturian et al., 1985).

En el puente y médula se han encontrado en el segmento parabraquial

dorsal, núcleos de raphé y vestibular, núcleos reticulares gigantocelular y paragigantocelular, núcleos del tracto solitario, núcleos reticulares laterales, núcleos espinales trigeminales y sustancia gris dorsal de la médula espinal (Olson y Olson, 1979).

Las inervaciones encefalínérgicas dentro del sistema nervioso central se encuentran, no solo en regiones involucradas con la percepción sensorial (como son los casos de la sustancia gelatinosa del cuerno dorsal; sustancia gris del cerebro medio; formación reticular y áreas límbicas), sino también en áreas motoras (como el núcleo caudado-putamen y globo pálido) y áreas de sistema nervioso autónomo (hipotálamo y núcleo del tracto solitario).

4.3 DISTRIBUCION DE LAS DINORFINAS

Los lugares principales son otra vez la pituitaria y el cerebro. Se han encontrado en varios grupos de células hipotalámicas incluyendo células productoras de vasopresina del núcleo neurosecretor magnocelular. Otros reportes han encontrado dinorfinas en varias células del tallo cerebral. Se

conocen algunas vías como la del núcleo supraóptico a la pituitaria posterior que contienen a estos péptidos (Akil et al., 1984).

5 LIBERACION

La semejanza entre las endorfinas y los neurotransmisores clásicos fué observada por numerosos investigadores, prácticamente desde que se lograron aislar por primera vez. Sin embargo, existen varias posturas al respecto, debido a que no reúnen todas las características de los criterios establecidos para considerar a una sustancia como neurotransmisor.

Uno de los criterios más importantes consiste en la demostración de que la sustancia propuesta como neurotransmisor, se libera de las terminaciones nerviosas pre-sinápticas cuando la secreción se induce apropiadamente.

Sobre estas bases, se han realizado numerosos experimentos en rebanada de tejido, sinaptosomas y terminales nerviosas aisladas e

incubadas en medios fisiológicos adecuados. El estímulo puede ser un impulso eléctrico, depolarización por exceso de potasio (K^+), o administración de veratridina (la cual activa al canal de sodio).

Przewlocki et al., (1978) observaron que la Beta-endorfina puede ser liberada del lóbulo anterior de la pituitaria en respuesta a la administración de K^+ . La tasa de liberación aumentó en respuesta a lisina-vasopresina, (datos obtenidos in vitro).

Vermes et al., (1980) también estudiaron la liberación in vitro de Beta-endorfina y de Beta-LPH en pituitaria de rata. La lisina-vasopresina indujo también aumentos significativos de ambos péptidos. Las catecolaminas y la serotonina no tuvieron ningún efecto en la liberación. La dopamina tuvo efectos inhibitorios sobre la secreción espontánea de Beta-endorfina. La isoprenalina triplicó la estimulación de la secreción, mientras que el propranolol, el bloqueador del receptor Beta-adrenérgico previno esta estimulación.

Iversen et al., (1978) y Bayón et al., (1978) han investigado la liberación de encefalinas en el globo pálido, región donde estas se encuentran

en sus máximas concentraciones. Se ha visto en rebanadas de globo pálido de rata liberación tanto de leu como de met-enkefalina Ca^{++} -dependiente.

Glowinski (1981) investigó la liberación in vivo de las enkefalinas utilizando una cánula de push-pull y demostró liberación de met-enkefalina y un aumento de la misma en presencia de K^+ . La veratridina produjo aumentos similares en la liberación.

Otros grupos han estudiado la liberación en el cuerpo estriado. Henderson et al., (1978) mostraron también una liberación Ca^{++} -dependiente de enkefalinas en este núcleo. Estos resultados han sido corroborados por varios autores que además han demostrado que otros tejidos como tálamo y el núcleo acumbens están involucrados en la liberación de enkefalinas Ca^{++} -dependiente en presencia de K^+ (Olson et al., 1986).

Por otra parte, un gran número de investigadores sugiere que las endorfinas pueden ser neuromoduladores más que neurotransmisores y en consecuencia, deben de estar actuando en coordinación con estos últimos. Se han realizado investigaciones orientadas a encontrar una interacción entre

péptidos neuroactivos y neurotransmisores clásicos estudiando la liberación de unos y otros dentro del sistema nervioso central. En la tabla 2 se muestra la coexistencia de algunos neurotransmisores clásicos y los neuropéptidos. Aún no ha sido posible determinar las implicaciones fisiológicas de estas interacciones. Una hipótesis opcional es la de Hokfelt et al., (1980), quienes proponen que un transmisor de bajo peso molecular puede co-existir con un péptido en la misma neurona y que ambos se liberan simultáneamente para ejercer sus efectos durante la transmisión sináptica.

Tabla 2

CO-EXISTENCIA DE NEUROTRANSMISORES CON PEPTIDOS NEUROACTIVOS
(Hokfelt et al., 1980)

Transmisor	Péptido
Acetilcolina	Péptido intestinal vasoactivo (VIP)
Norepinefrina	Somatostatina
	Enkefalina
	Neurotensina
Dopamina	Coescistoquinina (CCK)
	Leu-Enkefalina
Adrenalina	Met-Enkefalina
Serotonina	Substancia P
	Hormona liberadora de Tirotrpina (TRH)

Mains y Elpper, (1977), reportaron una liberación basal de la pituitaria de ratón de péptidos pituitarios incluyendo cantidades equimolares de ACTH, fragmento 16K, Gamma-LPH y Beta-endorfina. La administración de norepinefrina estimulaba una liberación Ca^{++} -dependiente de estos péptidos.

En general se ha visto una regulación coordinada en la liberación de ACTH, Beta-LPH y Beta-endorfina en la pituitaria anterior. La liberación de Beta-endorfina de los lóbulos intermedios parece estar regulada de otra forma. Aquí la dopamina y otros agentes dopaminérgicos tienen efectos más importantes ya que inhiben la liberación. A raíz de esto se han propuesto varios modelos de interacción entre el sistema dopaminérgico y el encefalinérgico (Agmo, 1984) y acciones encefalinérgicas en el sistema mesolímbico involucrado en la locomoción (Kalivas, 1983).

También se han estudiado los efectos de diversos agonistas y antagonistas a los receptores de GABA. Swaynok et al., (1979) observaron que el GABA y el baclofén potencian la liberación de met-encefalina Ca^{++} -dependiente, mientras que la picrotoxina (antagonista de GABA) bloquea este efecto GABA-érgico. Aún existen muchas dudas sobre el papel

específico de los receptores GABA-érgicos en la regulación de la liberación de encefalinas.

La mayoría de los autores coinciden en el hecho de que la liberación de las endorfinas en el SNC y periférico suprime la liberación de los neurotransmisores clásicos a nivel presináptico. La influencia de los opiáceos en la liberación de acetilcolina del plexo mientérico (Waterfield, 1976; Cox, 1975) y en la liberación de norepinefrina de los vasos deferentes (Henderson, 1976) apoyan estas hipótesis.

Sin embargo, se ha considerado la posibilidad de que exista una doble localización (pre y post-sináptica) de los receptores opiáceos (Barker, 1978; Atweh, 1977), basándose en observaciones anatómicas y en algunos estudios autoradiográficos sobre receptores.

6 ACCION FISIOLOGICA DE LOS OPIACEOS

6.1 EFECTOS ELECTROFISIOLOGICOS

La mayoría de los estudios electrofisiológicos sobre opiáceos coinciden en que el disparo de neuronas se encuentra inhibido por met-enkefalina en varias regiones cerebrales que contienen receptores opiáceos (Bradley et al., 1976; Frederickson y Norris, 1976; Zieglansberger et al., 1976). Este efecto se presentó en todas las regiones estudiadas con excepción de las células de Renshaw de la médula espinal y las células piramidales del hipocampo (Nicolli et al., 1980; Davies, 1976; Hill et al., 1976). Estas células mostrarán una acción de excitación bajo la aplicación microiontóforética de encefalinas.

Las respuestas excitatorias en las células del hipocampo pueden ser un resultado de los efectos inhibitorios de las interneuronas GABA-érgicas inhibitorias. Según esto, un péptido opiáceo es liberado de las terminales nerviosas para actuar sobre los receptores GABA-érgicos que normalmente proveen de una inhibición tónica a las células piramidales. La desinhibición

resultante de la aplicación de encefalinas en las células piramidales es reversible tanto con naloxona como con bicuculina (antagonistas encefalinérgico y GABA-érgico respectivamente), (Zieglansberger et al., 1976).

Gross et al., (1978), reportaron una vía encefalinérgica inhibitoria desde la amígdala hasta uno de los núcleos de la estria terminal: el BST (el núcleo "cama" de la estria terminal). La existencia de las encefalinas contenidas en esta vía ha sido confirmada posteriormente. Se han realizado además, estudios electrofisiológicos de este sistema encefalinérgico en el cerebro del cobayo.

Sawada y Yamamoto (1981), reportaron que un agonista a las encefalinas, el dalamid, suprime las descargas de espigas espontáneas, las evocadas con glutamato, los potenciales de campo y las espigas producidas por estimulación de la estria terminal. Estas acciones del dalamid pueden ser bloqueadas por naloxona. Complementando estos datos, se vió que la estimulación de la división lateral de la estria terminal produce una acción inhibitoria tardía en las neuronas de BST, misma que puede ser antagonizada

por naloxona.

Como se puede apreciar en este inciso, la acción electrofisiológica de las endorfinas ha sido estudiada en escasas estructuras, lo que solo nos permite conocer un bosquejo de sus posibles acciones.

6.2 OTROS EFECTOS FISIOLOGICOS

Múltiples funciones han sido atribuidas a los opiáceos endógenos, sin embargo, existe un cuerpo de evidencias que apoya su acción definitiva sobre los mecanismos involucrados en la analgesia producida por estrés, actividad gastrointestinal, sistema cardiovascular, sistema respiratorio y termoregulación (Rhee y Tyler, 1985; Olson et al., 1986; Akil et al., 1984).

Las acciones de la naloxona y otros antagonistas opiáceos han sido utilizadas como evidencia de los papeles fisiológicos de las endorfinas. El principio que se sigue en estas investigaciones es el siguiente: si las endorfinas regulan una función determinada, el tratamiento con naloxona

(bloqueando las endorfinas), debe lógicamente causar el efecto opuesto.

Las manifestaciones del estrés se han encontrado en numerosas reacciones que parecen estar reguladas por los opiáceos. De estas, la analgesia ha sido la que mayor interés ha recibido por parte de los investigadores.

Se ha logrado demostrar que los choques eléctricos que resultan ser eventos estresantes para varios animales, producen una disminución significativa en la percepción del dolor. La suposición de que estas situaciones se encuentran mediadas por sistemas opiáceos, esta sustentada por su reversibilidad causada mediante la administración de antagonistas de los opiáceos (Fanselow, 1985; DeMaría et al., 1985; Levine et al., 1985).

Otras evidencias que apoyan la influencia de los opiáceos sobre la analgesia inducida por el estrés, son aquellas proporcionadas por estudios en los cuales se ha observado que después de la administración de choques eléctricos (que producen estrés y consecuentemente analgesia), se produce una liberación significativa de endorfinas (Nabeshima et al. 1985; Kameyama et al., 1985).

Además, existen muchos otros estudios demostrando una fuerte interacción entre varios tipos de situaciones estresantes y el sistema opiáceo endógeno (Akil, et al., 1984; Hayes et al., 1978; Lewis et al., 1981).

La influencia de los opiáceos en las actividades gastrointestinales también ha sido motivo de varias investigaciones. La mayoría de los autores concuerdan en que los agonistas opiáceos inhiben la actividad gastrointestinal (Bardon y Ruckebusch 1984; Broccardo 1985; Bueno et al., 1985), sin embargo, existen muchas contradicciones. Aunque la morfina y la met-enkefalina disminuyen la frecuencia de contracciones estomacales, aumentan su fuerza y amplitud (Schusdziarra 1983), indicando que el tipo de medición utilizada puede variar los resultados.

La ruta de administración también influye en los efectos de los opiáceos sobre la actividad gastrointestinal: en las rutas centrales generalmente se han observado efectos más fuertes (Broccardo 1985; Bueno et al., 1985) que los observados en rutas periféricas (Bueno et al., 1985). Incluso se han llegado a reportar efectos opuestos entre las dos rutas (Broccardo 1985).

Otro factor importante en estos experimentos es la porción del tracto gastrointestinal que ha sido sometida a estudio. Aunque la met-enkefalina, la B-endorfina y la morfina (Schusdziarra 1983) disminuyen las contracciones en el estómago y el colon, las aumentan en el intestino delgado. (Bueno et al., 1985) En el mismo colon se han reportado diferencias: el fentanil y el DADL aumentaron las contracciones en la porción distal, pero las disminuyeron en la proximal (Fioramonti et al., 1985).

Los efectos de los antagonistas en la actividad gastrointestinal no han sido mucho más concluyentes. Recientemente se ha reportado que la naloxona no tiene ningún efecto sobre la evacuación en ratas ni en cambios (Schusdziarra, 1985). Por otro lado, se ha encontrado que la naloxona produce un aumento significativo de las contracciones intestinales en ovejas (Maas y Leek, 1985), pero es capaz de potenciar la inhibición de las contracciones en el colon inducidas por atropina, en gatos (Hellstrom, 1985).

Las posibles influencias del sistema opiáceo endógeno sobre las funciones cardiovasculares también han resultado ser un tema de importancia para los investigadores sobre todo en los últimos años. Como en las demás

funciones, múltiples factores metodológicos influyen en los efectos observados. En este caso las variables más importantes son las dosis administradas; si el animal se encuentra o no anestesiado; el sitio de acción o de inyección; la especificidad en los receptores; el estado previo del organismo, y desde luego, la especie en la cual se está realizando la investigación.

Se logró demostrar que los agonistas opiáceos disminuyen la presión arterial y/o la frecuencia cardíaca en animales anestesiados (Feuerstein, 1984; Brus et al., 1985; Gautret y Schmitt, 1984; Rhee y Tyler, 1985) pero aumentan una de las dos o las dos respuestas cuando se trata de animales concientes (Evanich et al., 1985; Moor et al., 1985). En varios de estos experimentos, los efectos fueron bloqueados por naloxona o naltrexona (Brus et al., 1985; Kregel et al., 1985). Sin embargo, muchos autores reportaron que no había ningún efecto en las respuestas cardiovasculares después de la administración de naloxona, en animales anestesiados (Lechner et al., 1985), animales concientes (Marshall y Buccafusco, 1984) y en humanos con problemas cardíacos (Zoccali et al., 1985).

Otro grupo de investigaciones se ha orientado a observar los efectos específicos de los opiáceos sobre los shocks debido a que se ha observado que la naloxona tiene efectos benéficos sobre el sistema cardiovascular en condiciones estresantes (Holaday y Faden, 1980). El tipo de shock parece ser determinante en la respuesta a la naloxona, siendo el shock hemorrágico el que mejor responde.

La naloxona eleva la presión durante el shock hemorrágico independientemente de que el animal este anestesiado o no (Holaday, 1982; Chance, 1985). En algunos casos se observaron mejoras en otras respuestas como frecuencia cardiaca (Jansen y Lutherer, 1980; Traverso et al., 1985), flujo sanguíneo a los órganos vitales (Zamir et al., 1980; Lechner et al., 1985), contracciones del miocardio (Zamir y Schuber, 1980; Lechner et al., 1985) e inclusive algunos autores reportaron incrementos en las posibilidades de sobrevivir al shock (Akil, 1984; Vargish y Beamer, 1985). Sin embargo, en otros casos, la naloxona no tuvo ningún efecto en la presión arterial ni en la frecuencia cardiaca (Kregel et al., 1985) y en otros hasta llegó a disminuir las dos respuestas. (Lechner et al., 1985; McIntosh et al., 1985).

Las estudios relacionadas con los efectos del sistema opiáceo sobre la respiración son aún más confusos. La mayoría de los estudios realizados concuerdan en que los agonistas opiáceos tienen un efecto depresivo sobre la respiración (Lagamma et al., 1983; Faden y Feuerstein, 1983), siendo este reversible con naloxona en ratas anestesiadas (Brus et al., 1985; Long y Lawson, 1983). Sin embargo, otro estudio reportó que la administración de met-enkefalina produce aumentos temporales en la ventilación, en perros concientes. Este efecto fué antagonizado por naltrexona (Evanich et al., 1985). Estos datos sugieren que, como en el caso del sistema cardiovascular, los efectos de los opiáceos sobre la respiración varían dependiendo de si el animal está o no anestesiado.

Muchos trabajos han tratado de detectar la influencia del sistema opiáceo sobre los desórdenes respiratorios. En pacientes con apnea, la naloxona no afectó el número de episodios apnéicos, pero sí logró disminuir su intensidad (Bellin et al., 1985). Parece ser que los opioides están involucrados sobre todo en los desórdenes respiratorios en infantes donde se ha observado un mayor efecto benéfico con la administración de antagonistas opiáceos (Pasi et al., 1983). También se ha observado un alto nivel de B-

endorfinas en el tallo cerebral de varios niños que han padecido de "muerte de cuna", síndrome generalmente atribuido a severas complicaciones respiratorias (Pasi et al., 1983).

En la regulación de la temperatura, los efectos de los opiáceos varían drásticamente según la temperatura ambiental. La beta-endorfina produce una disminución de la temperatura corporal en ambientes fríos, pero en climas calurosos produce el efecto opuesto (Glyn-Ballinger et al., 1985). Las situaciones estresantes del experimento parecen ser otra variable de gran importancia: se observó que el agonista opiáceo DAGO produjo un cambio de temperatura bifásico (hipotermia seguida de hipertermia) en ratas que no se habían adaptado previamente a las condiciones experimentales, mientras que en las ratas adaptadas se produjo únicamente la hipertermia. La naloxona bloqueó la hipotermia en el primer caso y la hipertermia en el segundo (Benedek y Obal, 1983; Spencer et al., 1985)

La naloxona y naltrexona tuvieron efectos bifásicos sobre la temperatura: se observó una disminución de la temperatura corporal entre los 45 y 90 minutos después de la inyección y un aumento significativo de la

misma entre los 270 y 360 minutos después de la inyección (Eikelboom, 1984).

Será necesaria mucha más información para entender la relación que guardan los opiáceos con estas y muchas otras respuestas fisiológicas.

7 EFECTOS CONDUCTUALES DE LOS OPIÁCEOS

Los efectos de los opiáceos han sido estudiados sobre múltiples conductas, sin embargo, el desarrollo de estas investigaciones se encuentra aún en una etapa embrionaria y es necesaria mucha más información antes de que les podamos atribuir a estas sustancias una función específica sobre la conducta. Aún así existen ya muchos datos acumulados que nos permiten hacer algunas suposiciones preliminares.

Aparentemente, los péptidos opiáceos juegan un papel importante en el control de la alimentación. En términos generales, los investigadores han encontrado que los agonistas opiáceos aumentan el consumo de alimentos,

mientras que los antagonistas lo suprimen. En estos experimentos ha habido una tendencia a identificar que tipo de receptor está operando en la conducta de la alimentación. Existen abundantes evidencias sobre la estimulación de la alimentación cuando las drogas administradas se asocian a los receptores mu (Morley et al., 1985; Hirst y Kavaliers, 1985), kappa (Jackson y Cooper, 1985; Levine et al., 1985), delta, epsilon (Morley et al., 1985) y sigma (Levine et al., 1985). Los efectos más potentes se han encontrado con la administración de los agonistas de los receptores kappa (Kavaliers y Hirst, 1985; Jackson y Cooper 1985).

Otro factor importante en los estudios de alimentación es el sitio cerebral que ha sido afectado por la droga. La morfina incrementó los niveles de alimentación cuando fue microinyectada en el área ventral tegmental, pero los inhibió o no tuvo efecto en la zona gris periacueductal (Jenck et al., 1985). La met-enkefalina inyectada en el hipotálamo basomedial o la amígdala disminuyó la alimentación, pero la aumentó en el bulbo olfatorio (Scallet et al., 1985). Otras áreas que estimulan la alimentación cuando se les inyectan agonistas opiáceos incluyen al núcleo paraventricular (Morley et al., 1985), el hipotálamo ventromedial y el área perifórnica (Woods y Leibowitz, 1985).

En este caso, los resultados con los antagonistas han sido más consistentes. La mayoría de los estudios coinciden en el hecho de que los antagonistas opiáceos suprimen las conductas de alimentación. Varios diferentes tipos de antagonistas produjeron inhibición en la conducta de alimentación incluyendo a la naloxona (Baldwin y Parrott, 1985), naltrexona, nalmefene y anticuerpos de B-endorfina y de dinorfina (DeHaven et al., 1985; Simpkins et al., 1985). Las microinyecciones de naloxona en el núcleo paraventricular, en la región preforínica del hipotálamo y en el núcleo ventromedial del hipotálamo disminuyeron también los niveles de ingestión de alimentos (Woods y Leibowitz, 1985).

Los estudios de los efectos de los opiáceos sobre la alimentación se complican por la influencia de otras condiciones como son la dieta previa del animal y los ritmos circadianos de alimentación. Se ha observado, por ejemplo, que la alimentación nocturna es estimulada por varios agonistas opiáceos como la morfina y ketociclazocina (Olson y Olson, 1979; Gosnell et al., 1985), pero estos efectos no se presentan durante la alimentación diurna (Kavaliers et al., 1985).

El consumo de líquidos parece estar influenciado, también por los sistemas opiáceos endógenos. Las investigaciones en esta conducta no muestran consistencia en los efectos inhibitorios de los antagonistas o en los efectos facilitadores de los agonistas. Se ha observado que la naloxona suprime el consumo de líquidos en varios paradigmas (Okawara et al., 1984; Olson et al., 1986), sin embargo, en muchos otros estudios estos efectos inhibitorios se presentaron sólo bajo ciertas condiciones de manipulación experimental. Varios estudios mostraron que otros antagonistas como la naltrexona, naloxanzina, deprenorfina y MR226 (DeHaven et al., 1985; Olson et al., 1986) tuvieron también un efecto inhibitorio sobre la conducta de beber, pero en otros casos estos mismos antagonistas y la naloxona (Samson et al., 1985) no tuvieron efecto. Más confusos aún, son los experimentos donde agonistas opiáceos como la morfina, la demorfina y leu y met-enkefalinas suprimieron el consumo de líquidos (Zetler y Raberg, 1985). Así, aunque los péptidos opiáceos están involucrados en la modulación de la conducta de beber, no conocemos la naturaleza exacta de esta relación, además, como se puede apreciar los estudios en esta área son muy recientes.

En los últimos años se han publicado numerosos trabajos sobre la

Influencia del sistema opiáceo endógeno sobre los procesos de aprendizaje y memoria. En términos generales se ha observado que la mayoría de los péptidos opiáceos deterioran los procesos de memoria, mientras que sus antagonistas los facilitan. Los efectos sobre el aprendizaje son menos claros, probablemente debido a que los resultados de las investigaciones se han visto afectados por los parámetros experimentales incluyendo dentro de estos a la dosis, la droga, la ruta de inyección y el tipo de tarea estudiada.

Dentro del grupo de experimentos de adquisición de conductas de evitación se ha reportado que la naloxona deterioró la adquisición de una conducta de prevención pasiva en ratas jóvenes (Myslivecek y Slamberova, 1983), y tanto la naltrexona como su forma cuaternaria interfirieron en el aprendizaje de una tarea de escape (Martinez y DeGraaf, 1985), pero el "metilnaloxona" (una forma cuaternaria de la naloxona) facilitó la adquisición del condicionamiento de escape y evitación (Martinez y DeGraaf, 1985). Otros estudios encontraron deterioro en la ejecución de tareas de evitación activa, después de la administración periférica (Heinrichs et al., 1985), pero no después de la administración intracerebroventricular de leu-enkefalina (Martinez y DeGraaf, 1985). La microinyección de morfina en el área tegmental ventral disminuyó las respuestas de escape.

Las mediciones hechas en conductas de retención difieren mucho de las de adquisición y tienden a ser más consistentes. En términos generales los antagonistas facilitaron el recuerdo de tareas de evitación cuando se administraron inmediatamente después del entrenamiento (Del Cerro y Borrell, 1985; Introini y McGaugh, 1985). La naloxona no tuvo efecto cuando se administró antes de la sesión de prueba (Castellano y Pavone, 1985), indicando que su efecto es sobre la consolidación de la memoria más que sobre su recuperación.

Es posible que los antagonistas aumenten la memoria en estas tareas aversivas por medio de la liberación de norepinefrina consecuente a la inhibición opiácea. Lo anterior se basa en experimentos donde lesiones en los haces noradrenérgicos dorsales provocadas por la administración de 6-OHDA (6-hidroxydopamina), inhibieron los efectos facilitatorios de la naloxona sobre la memoria en tareas de evitación pasiva y el efecto facilitatorio de la naloxona se restauró cuando los haces noradrenérgicos fueron protegidos de la 6-OHDA, por medio de un pretratamiento (Gallagher et al., 1985).

Como es de esperarse, resultados opuestos tienden a ocurrir con los

agonistas opiáceos en sus efectos sobre la memoria en paradigmas de evitación o escape. La met-enkefalina, leu-enkefalina, morfina, y B-endorfina (Introlini y McGaugh, 1985; Castellano y Pavone, 1985; Izquierdo y Dias, 1985), produjeron interferencia en la retención. También se observaron interferencias en la retención cuando se administró morfina en una tarea de reforzamiento por medio de comida (Bostock y Gallagher, 1985), sin embargo, ni la morfina ni la naloxona tuvieron efecto sobre la memoria en paradigmas de plataforma caliente (Rodgers et al., 1985). Todos los datos anteriores nos sugieren que los opiáceos afectan a funciones muy específicas tanto del aprendizaje como de la memoria.

Los opiáceos se han relacionado también con varias enfermedades mentales. Esta serie de hipótesis surgieron de los hallazgos de que en ratas, las inyecciones intracerebrales de Beta-endorfina (en pequeñas dosis) causaban catatonía, componente de ciertos tipos de esquizofrenia. Con estos antecedentes, mucho del trabajo inicial en esta área se orientó al descubrimiento de la posible influencia de los opiáceos sobre los síntomas y etiología de la esquizofrenia. Aunque estas investigaciones no han tenido mucho éxito y existen aún muchas discrepancias, la naloxona ha sido

utilizada como tratamiento con resultados benéficos sobre todo en ciertos tipos de esquizofrenia. En pacientes previamente diagnosticados con esquizofrenia paranoide y con esquizofrenia simple o indiferenciada, se observaron mejorías temporales después de la administración de la naloxona (Gunné et al., 1977; Lindstrom et al., 1978; Emrich et al., 1977; Berger et al., 1981; Barchas et al., 1985). Sin embargo, los pacientes catatónicos no respondieron al antagonista (Lipínsky et al., 1979). En términos generales la naloxona produce mejoras en alucinaciones auditivas, algunos síntomas psicóticos, pensamientos inusuales y tensión cuando es administrada en grandes dosis.

En la depresión, las evidencias de la influencia opiácea han sido también muy indirectas. Se observó una correlación entre los niveles de asociación a receptores opiáceos y medidas de depresión especialmente en episodios alucinatorios (Olson et al., 1985). En contraste, se ha observado también, que los niveles de leu-encefalina y met-encefalina inmunoreactivas se encuentran aumentados en el cuerpo estriado y núcleo acumbens de la rata después de la administración de antidepresivos (DeFelipe et al., 1985) y el tratamiento neuroléptico administrado a pacientes con desórdenes afectivos

produjo niveles elevados de met-enkefalina en plasma (Mosnaim et al., 1985). La administración de naloxona no produjo cambio en el estado de ánimo en pacientes depresivos (Volavka et al., 1977), pero la naltrexona sí produjo efectos indeseables como hostilidad, depresión y ansiedad (Olson et al., 1985). Estos resultados nos permiten concluir muy poco sobre el papel que juegan los opiáceos en la depresión.

Se han realizado también, algunas investigaciones para encontrar una posible relación entre los opiáceos y los niños autistas o con otros problemas psíquicos. En este contexto, se reportó que hubo una alta correlación entre niños psíquicos y grandes concentraciones de B-endorfina; esta correlación resultó más significativa cuando se trataba de niños con tendencias a conductas autodestructivas (Gillberg et al., 1985; Terenius et al., 1979). La conducta de autodestrucción en un paciente con un severo retraso mental se inhibió con la administración de naltrexona (Herman et al., 1985), lo que apoya la influencia de los opiáceos sobre estas conductas. En general, todas las investigaciones de la influencia de los opiáceos sobre los desórdenes mentales son todavía muy confusas.

Por último vamos a considerar la influencia de los opiáceos sobre la

actividad locomotora, función de especial importancia para este trabajo. Tanto los opiáceos endógenos como los exógenos tienen efectos bidireccionales sobre la actividad general. Estos efectos incluyen componentes depresivos y estimulantes. A bajas dosis de morfina se produce una excitación inicial seguida de un retorno al estado basal de la actividad motora. La administración de altas dosis produce efectos bifásicos: una depresión inicial de la actividad (probablemente la que se ha relacionado a la catatonía), seguida de un periodo de hiperactividad. La duración del efecto depresivo aumenta en función de la dosis de morfina (Brady y Holtzman, 1980). Los cambios de la actividad locomotora con la administración de morfina también varían en función del periodo del ciclo luz-obscuridad en el cual se administra (Agmo y De Avila, 1985; Brady y Holtzman, 1980; Joyce et al., 1981; Frederickson et al., 1982, 1977).

Los efectos investigados con agonistas opiáceos, han reportado que la morfina aumenta la conducta locomotora en ratas y/o ratones cuando es administrada intraperitonealmente, directamente en el area tegmental ventral o en la sustancia nigra, además de tener efectos bifásicos en ratas y hamsters (Frederickson et al., 1977; Brady y Holtzman, 1981; Galina y Amit,

1985; Kavalliers y Ossenkopp, 1985). La heroína y anfetamina inyectadas intraperitonealmente también presentaron estos efectos estimulatorios, siendo todos ellos reversibles tanto con naloxona como con otros antagonistas (Swerdlow et al., 1985). DALA también aumenta la actividad cuando es administrada en la zona tegmental ventral (Kalivas, 1985) o en el núcleo acumbens (Kalivas y Bronson, 1985), mientras que DADL inyectado directamente en el núcleo acumbens produce una respuesta bifásica de hipoactividad seguida de hiperactividad (Havemann y Kuschlasky, 1985).

Los resultados con los antagonistas concuerdan en el hecho de que la mayoría de ellos disminuyen los niveles de actividad en varias especies incluyendo las ratas (Schnur, 1985), aunque sus formas cuaternarias no tienen ningún efecto (Schaefer y Michael, 1985), indicando la existencia de un mecanismo central. Sin embargo, existen reportes sobre ausencia de efectos e inclusive sobre efectos excitatorios (Ukai y Kameyama, 1985; Olson et al., 1985; Lowy et al., 1985) con la administración de naloxona en algunas pero no en todas las especies, como tigres y changos (Billington et al., 1985).

Los mecanismos bajo los cuales operan los opiáceos para ejercer sus

efectos sobre la locomoción aún no están claros. Existen muchas hipótesis basadas principalmente en los circuitos que contienen endorfinas y están involucrados en estas conductas. La mayoría de los autores (Fink y Smith, 1980; Moore y Bloom, 1978; Agmo y De Avila, 1985; Joyce et al., 1981; Swerdlow et al., 1986) sugieren que puede haber una acción encefalinérgica importante en el sistema mesolímbico. Lo anterior se basa en el hecho de que existen altas concentraciones de encefalinas en regiones cerebrales que contienen también a varias neuronas catecolaminérgicas. Especialmente, se han encontrado altas densidades de leu y met-enkefalina así como de dopamina en el área ventral tegmental y en el núcleo acumbens (Sar et al., 1978; Wamsley et al., 1980). El área ventral tegmental tiene proyecciones axónicas ascendentes hacia varias estructuras límbicas, formando así a los sistemas dopaminérgicos mesocorticales (área medial prefrontal, corteza cíngulada y corteza entorrinal) y mesolímbicos (séptum, tubérculo olfatorio, núcleo acumbens, complejo amígdaloide y corteza piriforme). El sistema mesolímbico tiene funciones importantes tanto en conductas exploratorias como en las de locomoción (Fink y Smith, 1980; Pert y Sívít, 1977).

Existen además, varias evidencias farmacológicas y conductuales que

apoyan el hecho de que estas interacciones entre los sistemas dopaminérgicos y encefalínérgicos en el sistema mesolímbico constituyen uno de los substratos neuronales más importantes de la conducta locomotriz. La inyección de DALA, en el área tegmental ventral, demostró un incremento en la actividad motora (Joyce et al., 1981; Broekkamp et al., 1979; Kelley et al., 1980) que es reversible con naloxona (Joyce et al., 1981). La administración de morfina en el núcleo acumbens produce también, un efecto estimulador sobre la actividad locomotriz que puede ser bloqueado con naloxona o con haloperidol (Pollar et al., 1977). Adicionalmente, se ha demostrado que en el núcleo acumbens, varios antagonistas dopaminérgicos producen un incremento importante de encefalinas (Hong et al., 1978).

El núcleo acumbens ha sido propuesto como la principal estructura responsable de los efectos de activación conductual de los opiáceos y de otros estimulantes debido a que recibe proyecciones límbicas de la amígdala, hipocampo y corteza cingulada (Khachaturian et al., 1985), y se encuentra innervado además, por fibras extrapiramidales de neuronas dopaminérgicas del cerebro medio. La información integrada de los circuitos límbicos y extrapiramidales es llevada a través de las fibras GABA-érgicas eferentes que se proyectan desde el núcleo acumbens hasta el globo pálido, para

conducir finalmente la información a los circuitos motores inferiores (Swerdlow et al., 1986).

El globo pálido es, a su vez, una estructura rica en receptores opiáceos (Bradley et al., 1976; Atweh y Kuhar, 1977) y en terminales encefalínérgicas (Wamsley et al., 1980) y se encuentra innervada además por neuronas del estriado que forman una gran proyección estriadopálida (Cuello y Páxinis, 1978; Swerdlow et al., 1986). En esta región se ha encontrado que los opiáceos también inducen cambios en la locomoción. Inyecciones de DALA y de D-ala²-D-leu⁵-encefalina producen un incremento en la respuesta motora, mismo que puede ser antagonizado con naloxona (Joyce et al., 1981). El globo pálido contiene además a varias neuronas gabérgicas que parecen participar en los mecanismos inhibitorios de la conducta locomotora, producidos por los antagonistas opiáceos (Swerdlow et al., 1986).

Agmo y Tarasco (1985) investigaron las interacciones entre GABA y naloxona en el control de la actividad locomotora de la rata. Estos autores sugieren que ciertos mecanismos GABA-érgicos participan en la inhibición de la locomoción causada por la naloxona basándose en el hecho de que dos

sugieren que ciertos mecanismos GABA-érgicos participan en la inhibición de la locomoción causada por la naloxona basándose en el hecho de que dos antagonistas del receptor GABA (bicuculina y picrotoxina) fueron capaces de inhibir los efectos inhibitorios de la naloxona. Además, se observó que la naloxona potenció el efecto del baclofén (agonista GABA-érgico) reflejándose en una fuerte inhibición de la conducta locomotora.

En resumen, el sistema mesolímbico y en particular el núcleo acumbens ha sido propuesto por numerosos autores como el principal substrato neuronal de la iniciación del movimiento y de la locomoción (Carey, 1983; Johnels, 1982; Olson, 1985), mientras que el cuerpo estriado y en especial el globo pálido se encuentran más involucrados en el tono muscular y la rigidez (Johnels, 1982; Barbeau, 1978; Joyce et al., 1981), aunque también tienen funciones principalmente inhibitorias sobre la conducta locomotriz. Adicionalmente cabe mencionar que los efectos de las endorfinas sobre la conducta locomotora dependen de la interacción de estas sustancias con las neuronas GABA-érgicas y/o dopaminérgicas.

En la actualidad no existe un papel funcional definido para las

endorfinas. Aún así hay suficientes datos que apoyan que las endorfinas del SNC, ya sea que se consideren como neurotransmisores o como neuromoduladores, regulan varias respuestas al dolor y adicción, así como múltiples aspectos motivacionales y emocionales de la conducta (incluyendo a la parte locomotora de ésta). Menos substanciales son las hipótesis sobre la influencia de las endorfinas en la actividad sexual, placer, y otras funciones propuestas.

CAPITULO III

MANIFESTACIONES DE LOS RITMOS ENDOGENOS SOBRE LAS ACCIONES OPIACEAS

Como ya mencioné previamente, muchas de las variaciones y efectos contradictorios hasta ahora encontrados en las acciones de los opiáceos han sido atribuidas a los ritmos endógenos bajo los cuales operan los mecanismos involucrados en estas acciones.

Estos ritmos se han hecho aparentes bajo una gran cantidad de condiciones experimentales incluyendo estudios a nivel bioquímico. Las investigaciones sobre ritmos se han realizado con varias sustancias químicas, incluyendo neurotransmisores y neuromoduladores.

Se han visto cambios diarios en la función cerebral que contribuyen a muchos fenómenos conductuales importantes. Varios estudios han indicado fluctuaciones diarias en el metabolismo de la dopamina (DA) en el cerebro de mamíferos (Lemmer y Berger, 1978; Owasoyo et al., 1979; Simon y Georg, 1975). Además, se han observado ritmos diurnos en los receptores catecolaminérgicos de algunos tejidos. Se han reportado fluctuaciones diarias tanto en respuesta a agonistas, como a antagonistas de la dopamina. Se observaron los efectos de sedación cíclicos de clorpromacina,

MANIFESTACIONES DE LOS RITMOS ENDOGENOS SOBRE LAS ACCIONES OPIACEAS

tetrabenzina y haloperidol. Campbell et al., (1982) llegando más lejos, mostraron que hay cambios circadianos significativos en la respuesta cataleptica al haloperidol con un máximo en la mitad del periodo de luz (4 p.m.) y un mínimo en la fase oscura (4 a.m.). Estas condiciones son aún constantes con el ciclo revertido o bajo situaciones de luz u oscuridad continuas.

Kafka et al., (1983) mostraron que en el cerebro de la rata existen ritmos diarios en el número de receptores Beta-adrenérgicos, muscarínicos, colinérgicos, dopaminérgicos, opiáceos y de benzodiazepinas. Los ritmos en estos experimentos eran generados endógenamente y eran circadianos. Las características de los ritmos también estaban influenciadas por cambios anuales. Estos autores sugieren además, que en la corteza el ritmo circadiano de la norepinefrina, ya demostrado por varios autores, es una respuesta biológica a los ritmos circadianos de los receptores Alpha y Beta-adrenérgicos.

Aún no existen muchas más evidencias de ritmos en todos los neurotransmisores y en muchas otras sustancias endógenas. Aquí me

limitaré a hablar de los hallazgos más sobresalientes de los ritmos relacionados con los opiáceos.

En el líquido cefalorraquídeo y el plasma de animales y humanos se han observado ritmos diurnos en los niveles de péptidos opiáceos (Clement-Jones, et al., 1980).

Kerdelhue et al., (1982) reportaron variaciones circadianas en las concentraciones de Beta-endorfina en la pituitaria y otros núcleos cerebrales de ratas adultas. Entre otros resultados, estos autores encontraron que los valores máximos de la Beta-endorfina se registraron durante las primeras horas de oscuridad de un ciclo de 24 horas (12 de luz y 12 de oscuridad). Estos resultados coinciden con reportes de un máximo en la actividad locomotriz a estas mismas horas.

En la conducta de locomoción otros estudios también han reportado ritmos circadianos con un mínimo en las primeras horas de luz y un máximo durante las primeras horas del periodo de oscuridad (Spiteri, 1982). Estas variaciones se deben muy probablemente a los cambios correspondientes en las concentraciones de opiáceos cerebrales, ya que estas muestran

variaciones circadianas similares.

Bayón y Antón (1985) estudiaron los ritmos diurnos de la liberación in vivo de encefalinas en el globo pálido. Estos autores encontraron un ritmo diurno en la liberación de encefalinas y de GABA ya que los sistemas GABA-érgicos parecen estar controlando la liberación de encefalinas en esta región. La liberación de encefalinas aumenta mientras que la de GABA disminuye hacia las últimas horas de la tarde (4:00 p.m. a 10:30 p.m.). Dado que la rata presenta sus máximos ritmos de actividad durante las primeras horas de oscuridad, la transmisión coordinada encefalina-GABA, en el globo pálido representa un eslabón importante en el control neural de los ritmos de actividad motora en la rata.

Sobre la acción analgésica producida por opiáceos existen también evidencias de ritmos circadianos. Oliverio, (1982) encontró variaciones circadianas en la reactividad al dolor, y lo que es más interesante, es que encontró estas mismas variaciones en la modificación sobre estas respuestas producida por la morfina. El autor propone un sinergismo entre la morfina y los opiáceos endógenos. Este fenómeno depende de las variaciones

de las endorfinas según el periodo del ciclo luz-obscuridad. Estos resultados han sido corroborados por varios autores (Akil, 1984, Olson, 1982).

Con anterioridad Frederickson et al., (1977), ya habían propuesto ritmos en las respuestas al dolor. Estas hipótesis se basaron en el hecho de que la hiperalgesia inducida por la naloxona, sigue un claro ritmo diurno.

El papel del estrés, influenciado por los opiáceos, también tiene una activación diferencial regida por un ritmo circadiano (Akil et al., 1984).

Los anteriores son, en resumen, los estudios más significativos que sustentan la hipótesis de trabajo de esta investigación.

CAPITULO IV

TRABAJO DE INVESTIGACION

I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como expliqué previamente en el capítulo I, la actividad ambulatoria de la rata demuestra una clara ritmicidad circadiana con un máximo durante las primeras horas de oscuridad y un mínimo durante las primeras horas de luz. Además, en el capítulo III se discutieron algunas evidencias sobre la ritmicidad en la concentración de opiáceos endógenos que parece coincidir con el ritmo de actividad ambulatoria. Esta coincidencia puede ser meramente casual, sin embargo, se han presentado varios datos indicando que aumentos producidos artificialmente en el nivel de opiáceos en varias estructuras cerebrales, incluyendo al globo pálido, al núcleo accumbens, al sépto medial y a el área ventral tegmental, estimulan la actividad locomotora de la rata. En vista de lo anterior, es posible que esta coincidencia en la ritmicidad de las concentraciones de opiáceos y la actividad locomotora represente una relación causal, de tal modo que los niveles de opiáceos endógenos sean un determinante del nivel de actividad locomotora.

Es un hecho bien conocido, que un xenobiótico tiene sus efectos máximos cuando la función afectada así como las concentraciones de la substancia endógena controladora de dicha función, se encuentran en un mínimo. Esto implicaría que con la administración de morfina se obtuviera un mayor efecto en las primeras horas de luz, cuando las concentraciones de endorfinas se encuentran en sus niveles mínimos; de la misma manera que se esperaría un efecto menor en las primeras horas de obscuridad cuando tanto las concentraciones de endorfinas como la actividad se encuentran en sus máximos niveles.

Los efectos de la morfina sobre la locomoción varían según la dosis que se administra: las altas dosis de morfina producen un efecto bifásico (una inhibición inicial seguida de una estimulación de la actividad locomotora). Las bajas dosis, por su parte, producen un efecto monofásico que consiste de una estimulación seguida de un retorno al estado basal de actividad. Esta respuesta bifásica provocada por altas dosis podría constituir una dificultad en la interpretación de los efectos. Por esta razón será necesaria la administración de dos o mas dosis de morfina, para hacer un estudio sobre la ritmicidad de sus efectos.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

En el presente trabajo se procedió a estudiar los efectos sobre la locomoción, de dos dosis de morfina administradas en cuatro diferentes fases del ciclo luz-obscuridad, con el fin de encontrar un ritmo circadiano en dichos efectos.

2 METODO

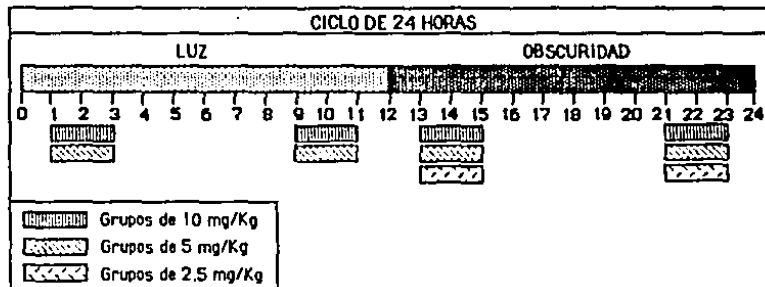
2.1 SUJETOS

Se utilizaron 120 ratas machos de la cepa Wistar cuyo peso oscilaba entre los 250 y 400 gramos, provenientes del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Una parte de estos animales fué mantenida bajo un ritmo artificial de luz-obscuridad (12 horas). La otra parte se encontraba bajo un ritmo de luz natural. Todos los animales tenían acceso libre a alimento comercial (Purina) y a agua de la llave.

2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los animales fueron asignados a 10 grupos con doce animales en cada grupo y a su vez los grupos fueron asignados a diferentes horarios de observación como se ilustra en el esquema N° 1.



Esquema N° 1: Asignación de los grupos de ratas a los cuatro horarios de observación: primeras horas de luz, últimas horas de luz, primeras horas de oscuridad y últimas horas de oscuridad.

La hora 0 en el esquema, se refiere a la primera hora de luz y la hora 12 a la primera hora de oscuridad.

2.3 APARATO

La actividad motora se midió utilizando una caja de acero cilíndrica (61.0 cm. de diámetro y 38.1 cm. de altura) equipada con 6 fotoceldas cubiertas por filtros infrarojos, situadas 2.5 cm. arriba del piso de rejillas. La actividad de la rata se reflejó como interrupciones del rayo, y se registró por medio de un contador colocado afuera del cuarto de observación. Para que una interrupción fuera registrada en los contadores, se requería una duración mínima de 250 mseg. De esta manera, movimientos rápidos y pequeños no se registraban, por ejemplo coletazos o movimientos para rascarse, es decir, que la medida obtenida refleja fundamentalmente actividad ambulatoria. Para los fines de este experimento se disponía de cuatro cajas de actividad: dos colocadas en el cuarto con ritmos de luz controlada y dos en el cuarto de ritmo de luz natural.

2.4 PROCEDIMIENTO

Antes del tratamiento, los animales fueron habituados al aparato durante tres sesiones de 10 minutos cada una.

Para fines prácticos, la administración de la droga se realizó a los grupos de animales mantenidos en el cuarto de ritmo de luz controlada, excepto el de las primeras horas de luz (1-3), para el cual se usaron ratas en el cuarto con ritmo de luz natural. En este último caso se procuró iniciar el experimento exactamente una hora después de que apareciera el sol.

En la primera sesión experimental, para cada una de las dosis y de los horarios se administró morfina intraperitonealmente (clorhidrato de morfina proporcionado por la Oficina de Control de Estupefacientes y Narcóticos de la Secretaría de Salud), disuelta en NaCl fisiológico, en un volumen de 1 ml por Kg de rata a la mitad de los animales y NaCl fisiológico a la otra mitad.

En la segunda sesión experimental, 48 horas después, se administró NaCl a los animales anteriormente tratados con morfina y viceversa. En vista de lo limitado del horario y del número de cajas de actividad, se observaron habitualmente a 4 animales por sesión. Después de haber observado a 4 animales con un horario y una dosis, se cambiaron aleatoriamente los horarios y las dosis para evitar posibles influencias de ritmos estacionales. Así se procedió hasta que cada uno de los grupos tuviera 12 animales. Ningún animal fué inyectado mas de una vez con morfina, para evitar los efectos de

tolerancia a la droga.

Las dosis arriba mencionadas se refieren a clorhidrato de morfina y no a morfina.

Inmediatamente después de la inyección, la rata fué introducida a la caja de actividad. Una vez colocada la rata dentro de la caja de actividad, se tomaron registros durante una hora dividida en 6 segmentos de 10 minutos cada uno.

2.5 ANALISIS ESTADISTICOS

Por cada dosis y cada horario, se efectuó una ANOVA para medidas repetidas con dos factores: tratamiento (morfina y NaCl) y segmento (del primero al sexto). En los casos donde existió una interacción significativa, se realizó una prueba t para medidas repetidas para comparar los tratamientos en cada uno de los segmentos.

3 RESULTADOS

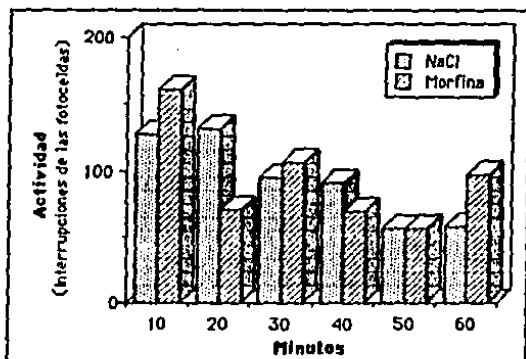
3.1 EFECTOS DE LA MORFINA SOBRE LA LOCOMOCION EN LAS PRIMERAS HORAS DE LUZ

Como se puede apreciar en la tabla Nº 1, con una dosis de 5 mg/Kg el efecto principal del tratamiento no fué significativo. Tampoco hubo una interacción significativa entre tratamiento y segmento. Los resultados se encuentran ilustrados en la gráfica Nº 1.

ANOVA para medidas repetidas de dos factores				
Fuente de Variación		Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos		11	148.490.410	13.499.128
A		1	8.507	8.507
B		5	107.429.618	21.485.924
A x B		5	41.052.285	8.210.457
Error		132	846.310.583	6.411.444
Total		143	994.800.993	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	0.001	p > .25
B	3.351	.005 < p < .01
A x B	1.281	p > .25

Tabla Nº 1: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 5.0 mg/Kg en las primeras horas de luz.



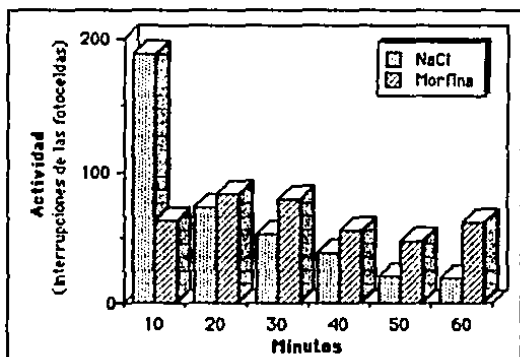
Gráfica Nº 1: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las primeras horas de luz con una dosis de 5.0mg/Kg.

Con la dosis de morfina de 10 mg/Kg, tampoco se observa una diferencia significativa entre los tratamientos, pero sí una interacción significativa entre tratamiento y segmento (tabla Nº 2). Se procedió a realizar una prueba t entre los tratamientos en cada uno de los segmentos encontrándose una reducción significativa de la actividad en el primer segmento ($t_{11} = 6.56; p < .0005$) y una estimulación significativa en el último segmento ($t_{11} = 2.28; p < .025$). En la tabla Nº 2 se pueden apreciar estos resultados.

ANOVA para medidas repetidas de dos factores A: 2 grupos B: minutos			
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos	11	256,236.056	23,294.187
A	1	20.250	20.250
B	5	139,515.222	27,903.044
A x B	5	116,700.583	23,340.117
Error	132	500,386.833	3,790.809
Total	143	756,622.889	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	0.005	$p > .25$
B	7.361	$p \leq .0001$
A x B	6.157	$p \leq .0001$

Tabla N° 2: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 10.0 mg/Kg en las primeras horas de luz.



Gráfica N° 2: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las primeras horas de luz con una dosis de 10.0mg/Kg.

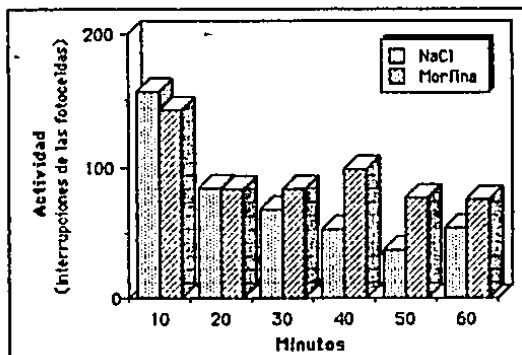
3.2 EFECTOS DE LA MORFINA SOBRE LA LOCOMOCION EN LAS ULTIMAS HORAS DE LUZ

La dosis de 5 mg/Kg careció de efecto. (tabla Nº 3 y gráfica Nº 3). La dosis de 10 mg/Kg también careció de efecto. (tabla Nº 4 y gráfica Nº 4).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores A: 2 grupos B: minutos			
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos	11	161,000.354	14,636.396
A	1	11,862.840	11,862.84
B	5	133,226.896	26,645.379
A x B	5	15,910.618	3,182.124
Error	132	421,417.083	3,192.554
Total	143	582,417.438	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	3.716	.05 < p < .10
B	8.346	p < .0001
A x B	0.997	p > .25

Tabla Nº 3: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 5.0 mg/Kg en las últimas horas de luz.



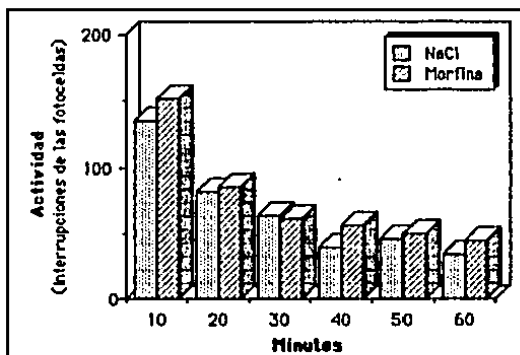
Gráfica N° 3: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las últimas horas de luz con una dosis de 5.0mg/Kg.

TRABAJO DE INVESTIGACION

ANOVA para medidas repetidas de dos factores			
A: 2 grupos B: minutos			
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos	11	182,742.889	16,612.990
A	1	2,384.694	2,384.694
B	5	178,426.722	35,685.344
A x B	5	1,931.472	386.294
Error	132	374,762.000	2,839.106
Total	143	557,504.889	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	0.840	p > .25
B	12.569	p < .0001
A x B	0.136	p > .25

Tabla N° 4: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 10.0 mg/Kg en las últimas horas de luz.



Gráfica N° 4: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las últimas horas de luz con una dosis de 10.0mg/Kg.

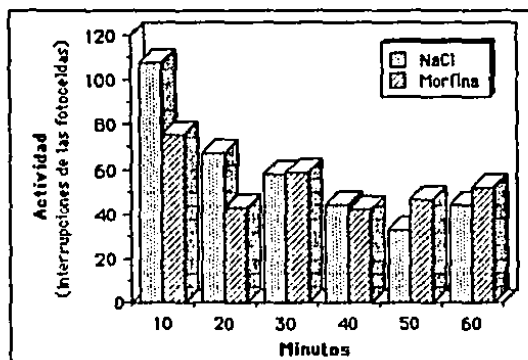
3.3 EFECTOS DE LA MORFINA SOBRE LA LOCOMOCION EN LAS PRIMERAS HORAS DE OSCURIDAD

En vista de que en este horario hubieron efectos tanto con la dosis de 10 mg/Kg como con la de 5 mg/Kg, se procedió a incluir una dosis más: 2.5 mg/Kg. Sin embargo ésta no tuvo ningún efecto (ver tabla Nº 5 y gráfica Nº 5).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores A: 2 grupos B: minutos			
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos	11	54,328.833	4,938.985
A	1	1,406.250	1,406.250
B	5	42,664.000	8,532.800
A x B	5	10,258.583	2,051.717
Error	132	263,198.167	1,993.926
Total	143	317,527.000	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	0.705	p > .25
B	4.279	.0001 < p ≤ .005
A x B	1.029	p > .25

Tabla Nº 5: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 2.5 mg/Kg en las primeras horas de oscuridad.



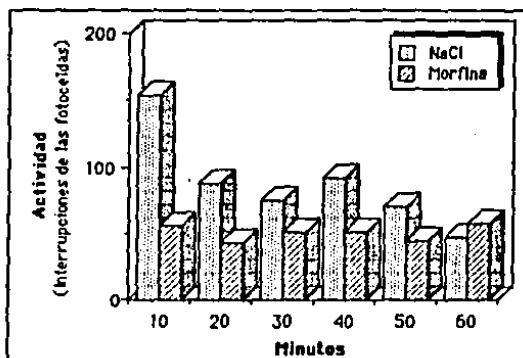
Gráfica N° 5: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las primeras horas de oscuridad con una dosis de 2.5mg/Kg.

La dosis de 5 mg/Kg produjo una inhibición significativa sobre la actividad locomotriz. Además se obtuvo una interacción significativa entre tratamiento y segmento. (tabla Nº 6). La prueba t demostró una inhibición significativa en los primeros tres segmentos ($t_{11} = 4.41$; $P < .005$; $t_{11} = 2.89$; $p < .01$; $t_{11} = 2.22$; $p < .025$ respectivamente). No hubo ninguna diferencia entre los tratamientos en los tres últimos segmentos (gráfica Nº 6).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores				
Fuente de Variación		Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos		11	129,369.916	11,760.901
A		1	49,224.818	49,224.818
B		5	42,275.869	8,455.174
A x B		5	37,869.229	7,573.846
Error		132	276,002.173	2,090.926
Total		143	405,372.089	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	23.542	$p \leq .0001$
B	4.044	$.0001 < p \leq .005$
A x B	3.622	$.0001 < p \leq .005$

Tabla Nº 6: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 5.0 mg/Kg en las primeras horas de obscuridad.



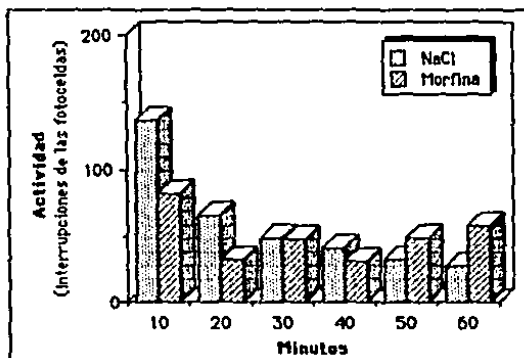
Gráfica N° 5: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las primeras horas de obscuridad con una dosis de 5.0mg/Kg.

La dosis de 10 mg/Kg no tuvo ninguna diferencia significativa entre los tratamientos, pero sí una interacción significativa entre segmentos (tabla Nº 7). La prueba t demostró una inhibición significativa en el primer segmento ($t_{11} = 2.43$; $p < .025$) y una estimulación significativa en el último segmento ($t_{11} = 2.27$; $p < .025$) (ver gráfica Nº 7).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores				
Fuente de Variación		Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos		11	122,696.139	11,154.194
A		1	2,686.694	2,686.694
B		5	90,256.306	18,051.261
A x B		5	29,753.139	5,950.628
Error		132	243,350.500	1,843.564
Total		143	366,046.639	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	1.457	.10 < p ≤ .25
B	9.792	p ≤ .0001
A x B	3.228	.005 < p ≤ .01

Tabla Nº 7: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 10.0 mg/Kg en las primeras horas de obscuridad.



Gráfica Nº 7: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las primeras horas de oscuridad con una dosis de 10.0mg/Kg.

3.4 EFECTOS DE LA MORFINA SOBRE LA LOCOMOCION EN LAS ULTIMAS HORAS DE OSCURIDAD

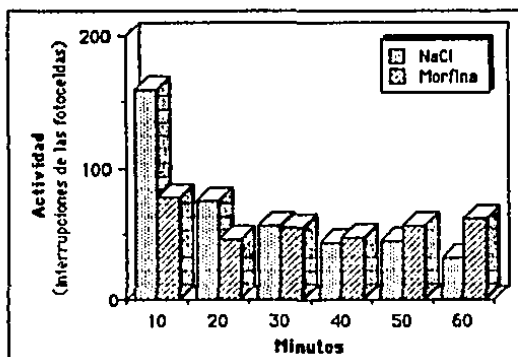
Como también en este horario se obtuvieron efectos con las dosis de 5 mg/Kg y 10 mg/Kg, se empleó también una dosis de 2.5 mg/Kg. Con esta última, no hubo ningún efecto principal, pero sí una interacción significativa entre segmentos (tabla Nº 8). La prueba t mostró una inhibición significativa en los primeros dos segmentos ($t_{11} = 3.95$; $p < .005$; $t_{11} = 3.31$; $p < .005$

respectivamente) y una estimulación en el último segmento ($t_{11} = 2.14$; $p < .025$) (ver gráfica Nº 8).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores				
Fuente de Variación		Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos		11	143,222.576	13,020.234
A		1	4,703.674	4,703.674
B		5	92,526.201	18,505.240
A x B		5	45,992.701	9,198.540
Error		132	387,322.083	2,934.258
Total		143	530,544.660	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	1.603	.10 < p ≤ .25
B	6.307	p ≤ .0001
A x B	3.135	.01 < p ≤ .025

Tabla Nº 8: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 2.5 mg/Kg en las últimas horas de obscuridad.



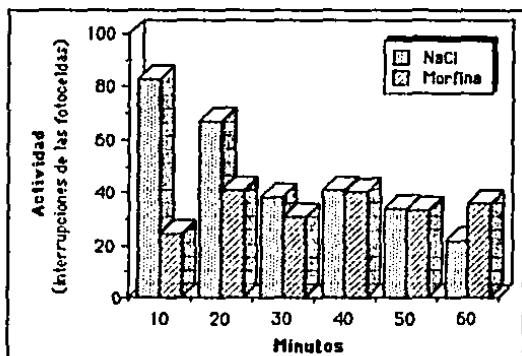
Gráfica N° B: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las últimas horas de oscuridad con una dosis de 2.5mg/Kg.

Con la dosis de 5 mg/Kg se observó una diferencia significativa entre tratamientos así como una interacción entre tratamiento y segmento (tabla Nº 9). La prueba t demostró únicamente una inhibición en el primer segmento ($t_{11} = 3.53$; $P < .005$) (ver gráfica Nº 9).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores			
A: 2 grupos		B: minutos	
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos	11	40,437.389	3,676.126
A	1	6,293.778	6,293.778
B	5	13,989.639	2,797.928
A x B	5	20,153.972	4,030.794
Error	132	157,189.167	1,190.827
Total	143	197,626.556	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	5.285	.01 < p < .025
B	2.350	.025 < p < .05
A x B	3.385	.005 < p < .01

Tabla Nº 9: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 5.0 mg/Kg en las últimas horas de obscuridad.



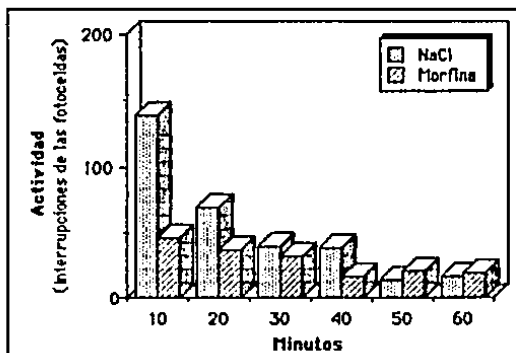
Gráfica N° 9: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las últimas horas de oscuridad con una dosis de 5.0mg/Kg.

Con la dosis de 10 mg/Kg también hubieron diferencias significativas entre tratamientos, así como interacciones entre segmento y tratamiento (tabla Nº 10). La prueba t demostró una inhibición significativa en el primer segmento ($t_{11} = 4.78$; $p < .0005$). No hubo diferencia significativa entre los grupos en los siguientes segmentos (gráfica Nº 10).

ANOVA para medidas repetidas de dos factores				
Fuente de Variación		Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios
Sub-grupos		11	159,195.083	14,472.280
A		1	20,832.111	20,832.111
B		5	97,961.833	19,592.367
A x B		5	40,401.139	8,080.228
Error		132	174,030.667	1,318.414
Total		143	333,225.750	

Fuente de Variación	F	Probabilidad
A	15.801	.0001 < p ≤ .005
B	14.861	p ≤ .0001
A x B	6.129	p ≤ .0001

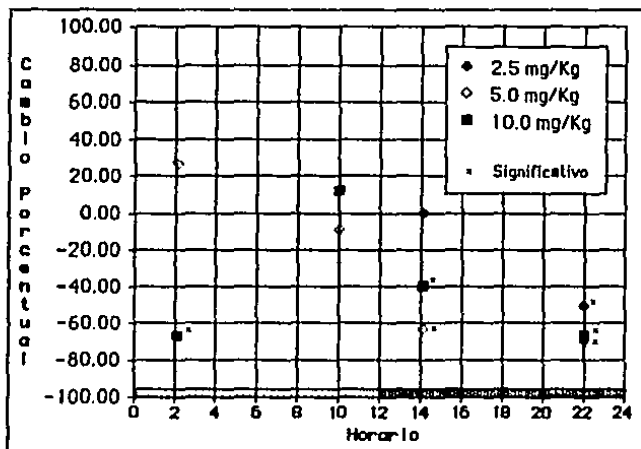
Tabla Nº 10: Análisis de varianza de los datos obtenidos con morfina 10.0 mg/Kg en las últimas horas de oscuridad.



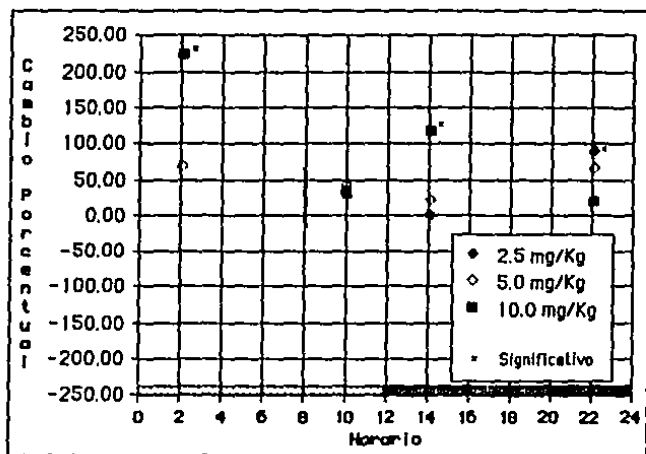
Gráfica N° 10: Actividad de las ratas tratadas con morfina y NaCl en las últimas horas de oscuridad con una dosis de 10.0mg/Kg.

3.5 RESUMEN DE LOS PRINCIPALES RESULTADOS

En vista de que se obtuvieron efectos fundamentalmente en el primer y último segmentos, se elaboraron dos gráficas en donde se aprecia la diferencia entre tratamiento control y tratamiento experimental para todas las dosis y horarios en el primer y último segmento (gráficas N° 11 y N° 12 respectivamente).



Gráfica Nº 11: Diferencias entre tratamiento control y tratamiento experimental observadas en el primer segmento.



Gráfica Nº 12: Diferencias entre tratamiento control y tratamiento experimental observadas en el último segmento.

4 DISCUSION Y CONCLUSIONES

Se observó una clara ritmicidad en los efectos de la morfina sobre la actividad locomotriz dosis-dependiente.

La dosis de 2.5 mg/Kg tuvo efecto únicamente en las últimas horas de

obscuridad, en donde demostró un efecto bifásico parecido al que se obtuvo con la dosis de 10 mg/Kg en las primeras horas de luz y en las primeras de obscuridad.

Por otro lado, la dosis de 10 mg/Kg demostró su efecto bifásico muy conocido, únicamente en las primeras horas de luz y en las primeras horas de obscuridad. En las últimas horas de luz careció de efecto y en las últimas de obscuridad presentó un efecto inhibitorio.

Es importante observar que el mayor efecto de la morfina se obtuvo en las últimas horas de obscuridad, un horario poco usado. Al contrario, las primeras horas de luz son las preferidas por los investigadores y es un horario en el cual la rata demuestra una sensibilidad realmente baja a la morfina (en este horario la dosis de 10 mg/Kg mostró un efecto bifásico que se obtuvo con la dosis de 2.5 mg/Kg en las últimas horas de obscuridad). Estos datos nos sugieren que difícilmente se pueden hacer inferencias en relación a los efectos de diferentes dosis de morfina sobre la locomoción, sin antes haber tomado en cuenta como variable la hora en la que estas han sido administradas.

Contrariamente a lo esperado, los efectos de la morfina fueron mayores

durante la fase oscura del ciclo luz-obscuridad, en donde tanto la actividad locomotora como los niveles de endorfinas se encuentran en su máximo. Esto nos hace pensar que la acción de la morfina no solo depende de la actividad de endorfinas en el sistema nervioso central, sino que además depende de otros factores endógenos, por ejemplo, la cantidad de receptores opiáceos disponibles en las diferentes fases del ciclo.

Los ritmos circadianos se han encontrado en múltiples receptores a agonistas opiáceos (Kafka et al., 1983; Frederickson et al., 1982). La ritmicidad observada a través del período de 24 horas, no se debe a cambios en la afinidad, sino a cambios en la cantidad de receptores, y este ritmo se asemeja a aquel que se ha observado en las concentraciones de opiáceos endógenos así como en la respuesta locomotora. Los anteriores, coinciden con los datos obtenidos en el presente trabajo, donde la morfina tuvo sus mayores efectos en el período de oscuridad, cuando la cantidad de receptores opiáceos se encuentra en sus máximos niveles.

Por otra parte, como se dijo en el capítulo II, existe una notoria influencia inhibitoria de las neuronas GABA-érgicas sobre las

encefalínérgicas que se refleja en la conducta locomotora. Antón y Bayón, (1983), reportaron aumentos en la liberación de encefalinas y disminución en la liberación de GABA en el globo pálido de la rata, durante la fase oscura del periodo luz-obscuridad, manteniéndose así una relación inversa entre la liberación de las dos sustancias. Estos datos, también resultan congruentes con este trabajo en donde se observó que el efecto de la morfina sobre la conducta locomotora de la rata fué mínimo en las primeras horas de luz, cuando GABA se encontraba en sus máximas concentraciones y las endorfinas en sus mínimas, y viceversa.

Los resultados aquí observados, nos indican que la variación circadiana en los efectos de la morfina sobre la locomoción, es de hecho el resultado de una compleja interacción entre varios ritmos endógenos. Dichas interacciones ocurren entre diferentes sistemas inhibitorios y excitatorios, donde existen importantes variaciones tanto en las concentraciones de neurotransmisores como en las cantidades de receptores. Estos ritmos pueden proporcionarnos una explicación a las múltiples discrepancias encontradas, entre diferentes laboratorios e investigaciones concernientes a estos efectos.

Muchos otros neurotransmisores así como los receptores a los que se asocian y las funciones a las que afectan, presentan variaciones circadianas con características similares a las observadas con los opiáceos en este trabajo (Kafka et al., 1983; Bruinink et al., Frederickson et al., 1977). Dichos ritmos se han observado en múltiples especies (Campbell et al., 1982; Rusak y Zucker, 1975; Aréchiga et al., 1984) incluyendo a los humanos (Perry et al., 1977; Wher et al., 1983).

Lo anterior nos sugiere que si en los cerebros humanos existen dichas variaciones endógenas, capaces de influir a tantas y tan variadas funciones, los resultados de este y múltiples trabajos sobre ritmos, deberán tomarse en cuenta en la administración de las diferentes drogas con fines terapéuticos. Tal sería el caso de la naloxona, la cual como ya explicamos, se utiliza frecuentemente en los hospitales psiquiátricos para el tratamiento de algunos síntomas en pacientes esquizofrénicos. Es probable que gran parte del éxito en estos y otros tratamientos, dependa de la sistematización de los horarios en los cuales se administra la droga.

En términos generales, podemos concluir que en vista de que efectivamente se observaron variaciones circadianas en los efectos de la

morfina sobre la locomoción en la rata, los datos aquí presentados deberán tomarse en cuenta en investigaciones posteriores concernientes a estos efectos.

5 RECOMENDACIONES

Como dije en la discusión, una de las razones por las cuales no se obtuvieron los mayores efectos en las primeras horas de luz, es que en este período es cuando las concentraciones de GABA se encuentran en sus niveles máximos, inhibiendo por lo tanto, los efectos de la morfina sobre la conducta motora. Tomando en cuenta que el citado horario es el más utilizado por los investigadores, sería interesante realizar un experimento similar al presente, bloqueando la liberación de GABA, en espera de obtener mayores efectos de la morfina en las primeras horas de luz.

Además, de esta investigación se deriva la importancia que los ritmos pueden tener sobre múltiples funciones cerebrales, por lo que las variaciones circadianas deben ser una variable importante en los controles de investigaciones sucesivas sobre mecanismos neurofisiológicos.

REFERENCIAS

1. Agmo, A. and De Avila, N. Interactions between enkephalin and dopamine in the control of locomotor activity in the rat: a new hypothesis. Pharmacol. Biochem. and Behav. 22:599-603, 1985.
2. Agmo, A. and Tarasco, C. Interactions between naloxone and GABA in the control of locomotor activity in the rat. J. Neural Trans. 61:137-149, 1985.
3. Akil, H., Watson, S.J., Young, E., Lewis, M.E., Khachaturian and Walker, J.M. Endogenous opioids: biology and function. Ann. Rev. of Neurosci. 7:223-255, 1984.
4. Amir, S., Solomon, W. and Amit, Z. The effect of acute and chronic naloxone administration on motor activation in the rat. Pharmacol. Biochem. Behav. 14:113-116, 1981.
5. Antón, B. and Bayón A. Ritmo diurno en la liberación in vivo de encefalina en el globo pallidus de la rata. Relación con los sistemas liberadoras de GABA. XXVI Mex. Congr. Physio. 65, 1983.
6. Archangeli, P., Degliesi V., Madeddu, G. Temporary displacement of plasma corticoid circadian peak induced by ablation of olfactory bulbs in dog. Exp. 29:358-359, 1973.
7. Aréchiga, H. Los ritmos biológicos. Ciencia y Desarrollo. 55:41-42, 1984.
8. Atweh, S.F. and Kuhar, M.J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. The telencephalon. Brain Res. 134:393-405, 1977.

REFERENCIAS

9. Baldwin, B.A. and Parrott, R.F. Effects of interacerebroventricular injection of naloxone on operant feeding and drinking in pigs. Pharmacol. Biochem. Behav. 22:37-40, 1985.
10. Barbeaü, A. Biology of the striatum. In: Biology of Brain Disfunction. 2(G.E. Gall ed.). New York. Plenum Press:333-350, 1978.
11. Barchas, J.D., Evans, C., Elliott, G.R. and Berger, P.A. Peptid neuroregulators: the opioid system as a model. Yale J. Biol. Med. 58:579-596, 1985.
12. Bardon, T. and Ruckebusch, Y. Comparative effects of opiate agonists on proximal and distant colonic motility in dogs. Eur. J. Pharmacol. 110:329-334, 1985.
13. Barker, J.L., Neale, J.H., Smith, T.G. and MacDonald, R.L. Opiate peptid modulation of amino acid responses suggests novel form of neuronal communication. Sci. 199:1451-1453, 1978.
14. Bayon, A., Rossler, J. Mauss, A. Bloom, F.E., Iversen, L., Ling, N. and Guillemin, R. In vitro release of <5-methionine> enkephalin and <5-leucine> enkephalin from the rat globus pallidus. Proc. Natn. Acad. Sci. 75:3503-3506, 1978.
15. Beilin, B., Vatashsky, E., Aronson, H.B. and Weinstock, M. Naloxone reversal of postoperative apnea in a premature infant. Anesthesiology. 63:317-318, 1985.
16. Benedek, G. and Obal, F. Stress-related changes of opiate sensitivity in thermoregulation. Life Sci. 33:591-593, 1983.

17. Berger, P.A., Watson, S.J., Akil, H. and Barchas, J.D. The effects of naloxone in chronic schizophrenia. Am J. Psych. 138:913-918, 1981.
18. Billington, C.J., Morley, J.E., Levine, A.S. Wright, F. and Seal, U.S. Naloxone induced suppression of feeding in tigers. Physiol. Behav. 34:641-643, 1985.
19. Bloch, B. and Fishbein, W. Sleep and psychological functions: memory. In: Experimental study of human sleep: methodological problems. (Lairy G. C. and Salzurulo, P.) Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Co., 1975.
20. Bostock, E. and Gallagher, M. Intraseptal β -endorphin impairs novel spatial memory. Soc. Neurosci. Abstr. 11:383, 1985.
21. Bowen, W.D., Gentleman, S., Herkenham, M. and Pert, C.B. Interconverting mu and delta forms of the opiate receptor in rat striatal patches. Proc. Natl. Acad. Sci. 78:4818-4822, 1981.
22. Bradley, P.B., Briggs, I., Gayton, R.J. and Lambert, L.A. Effects of microiontophoretically applied methionine-enkephaline on single neurons in rat brainstem. Nature. 261:425-426, 1976.
23. Brady, L.S. and Holtzman, S.G. How are insect circadian rhythms controlled? Nature. 223:781-784, 1969.
24. Brady, L.S. and Holtzman, S.G. Locomotor activity in morphine-dependent and post-dependent rats. Pharmacol. Biochem. and Behav. 14:361-370, 1981.

25. Broccardo, M. Development of tolerance to the effect of dermorphin on gastric emptying in the rat. Pharmacol. Res. Commun. 17:345-350, 1985.
26. Broekkamp, C.L.E., Phillips, A.C. and Cools, A.R. Stimulant effect of enkephalin microinjection into the dopaminergic A10 area. Nature. 278:560-562, 1979.
27. Bruinink, A., Lichtensteiger, W. and Sonlumpf, M. Ontogeny of diurnal rhythms of central dopamine, serotonin and spirodecalone binding sites and of motor activity in the rat. Life Sci. 33:31-38, 1983.
28. Brus, R., Herman, Z.S., Szkiilnik, R., Krzeminski, T., Juraszczik, Z. and Kurcok, A. Antinociceptive and behavioral effects of leu-enkephalin or D-Ala-Met-enkephalinamide in rats after central chemical sympathectomy or serotoninectomy. Pol. J. Pharmacol. Pharm. 37:23-31, 1985.
29. Bueno, L., Fioramonti, J. Honde, C., Fargeas, M.J. and Primi, M.P. Central and peripheral control of gastrointestinal and colonic motility by endogenous opiates in conscious dogs. Gastroenterology. 88:549-556, 1985.
30. Campbell, A. Baldessarini and Ross, J. Circadian changes in behavioral effects of haloperidol in rats. Psychopharmacology. 77:150-155, 1982.
31. Carey, J. Differential effects of limbic versus striatal dopamine loss on motoric function. Behav. Brain Res. 7:283-296, 1983.
32. Castellano, C. and Pavone, F. Dose and strain-dependent effects of dermorphin and <D-Ala-D-Leu> enkephalin on passive avoidance behavior in mice. Behav. Neurosci. 99:1120-1127, 1985.

REFERENCIAS

33. Chance, E., Paciorek, P.M., Todd, M.H. and Waterfall, J. F. Comparison of the cardiovascular effects of meptazinal and naloxone following hemorrhagic shock in rats and cats. Br. J. Pharmacol. 86:43-53, 1985.
34. Clement-Jones, V., Lowry, P.J., Rees, L.H. and Besser, G.M. Development of a specific extracted radioimmunoassay for methionine enkephalin in human plasma and cerebrospinal fluid. J. Endocr. 86:231-243, 1980.
35. Cloudsley-Thompson, J. Biological clocks, their functions in nature. London: Weidenfeld and Nicholson, 1980.
36. Cox, B. M., Ophelm, K.E., Teschemacher, H. and Goldstein, A. A peptide-like substance from pituitary that acts like morphin. Life Sci. 16:1777-1782, 1975.
37. Cuello, A.C. and Paxinos, G. Evidence for a long leu-enkephalin striopallidal pathway in rat brain. Nature. 271:178-180, 1978.
38. Davies, J. Effects of morphine and naloxone on Renshaw cells and spinal interneurons in morphine dependent and non-dependent rats. Brain Res. 113:311-326, 1976.
39. DeFelipe, M.C., DeCeballos, M.L., Gil, C. and Fuentes, J.A. Chronic antidepressant treatment increases enkephalin levels in n. accumbens and striatum of the rat. Eur. J. Pharmacol. 112:119-122, 1985.
40. DeHaven, D.L., Brostrom, P. and Steranka, L.R. Naloxonazine: effects on food intake and conditioned taste aversion. Soc. Neurosci. Abstr. 11:1068, 1985.

REFERENCIAS

41. DeMaria, A., Heffernan, J.J., Grindlinger, J.-A., Craven, D.E., McIntosh, T.K. and McCabe, W.R. Naloxone versus placebo in treatment of septic shock. Lancet. 1:1363, 1985.
42. Dement, W.C. Recent studies on the biological role of REM sleep. Am. J. Psychiat. 122:404-408, 1965..
43. Eikelboom, R. Naloxone, naltrexone and body temperature. Soc. Neurosci. Abstr. 11:1072, 1985.
44. Emrich, H.W., Cording, C. and Piree, S. Indication of an anti-psychotic action of the opiate antagonist naloxone. Pharmakopsych Neuropsychopharmak. 10:265-270, 1977.
45. Evanich, M.J., Sander, G.E., Rich, J .C. and Giles, T.D. Ventilatory response to intravenous methionin enkephalin in awake dogs. J. Pharmacol Exp. Ther. 234:677-680, 1985.
46. Faden, A.I. and Feuerstein, G. Hypothalamic regulation of cardiovascular and respiratory systems: role of specific opiate receptors. Br. J. Pharmacol. 79:997-1002, 1983.
47. Fanselow, M. S. Odors released by stressed rats produce opioid analgesia in unstressed rats. Behav. Neurosci. 99:589-592, 1985.
48. Feuerstein, G. The opiate system and central cardiovascular control: analysis of controversies. Peptids. 6:51-56, 1985.
49. Fink, J.S. and Smith, G.P. Mesolimbocortical dopamine terminals fields are necessary for normal locomotor and investigatory exploration in rats. Brain Res. 199:359-385, 1980.

50. Fioramonti, J., Bueno, L. and Fargeas, J. Enhancement of colonic motor response to feeding by central endogenous opiates in the dog. Life Sci. 36:2509-2514, 1985.
51. Fischli, W., Golstein, A., Hunkapiller, M.W., Hood, L.E. Two "big" dynorphines from porcine pituitary. Life Sci. 31:1769-1772, 1982.
52. Frederickson, R.C.A. and Norris, F.H. Enkephalin-induced depression of single neurons in brain areas with opiate receptors-antagonism by naloxone. Sci. 194:440-442, 1976.
53. Frederickson, R.C.A., Burgis, V., Edwards, J.D. Hyperalgesia induced by naloxone follows diurnal rhythm in responsivity to painful stimuli. Science. 198:756-758, 1977.
54. Galina, Z.H. and Amit, Z. Interactions between ACTH, morphine and naloxone and their effects on locomotor behavior. Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry. 9:691-695, 1985.
55. Gallagher, M., Rapp, P.R. and Fanelli, R.J. Opiate antagonist facilitation of time-dependent memory processes: dependence upon intact norepinephrine function. Brain Res. 347:284-290, 1985.
56. Gautret, B. and Schmitt, H. Central and peripheral sites for cardiovascular actions of dinorphin in rats. Eur. J. Pharmacol. 111:263-266, 1985.
57. Gillberg, C., Terenius, L. and Lonnerholm, G. Endorphin activity in childhood psychosis. Arch. Gen. Psychiatry. 42:780-783, 1985.

58. Glowinski, J. In vivo release of transmitters in the cat basal ganglia. Fedn. Proc. 40:135-141, 1981.
59. Glyn-Ballinger, J.R., Clark, W.G. and Lipton, J.M. Altered body temperature of rabbits after central injection of β -endorphin and other peptides. Brain Res. 333:366-368, 1985.
60. Goldstein, A.L.I., Lowney, and Pal, B.K. Stereospecific and nonspecific interactions of the morphine narcotic congener levorphanol in subcellular fractions of mouse brain. Proc. Natl. Acad. Sci. 68:1742-1747, 1971.
61. Goodman, R., Snyder, R., Kuhar, S.H. and Young, M.J. Differentiation of delta and mu opiate receptor localizations by light microscopic autoradiography. Proc. Natl. Acad. Sci. 77:6239-6243, 1980.
62. Goodman, R. and Snyder, R. Opiate receptors localized by autoradiography to deep layers of cerebral cortex: relation to sedative effects. Proc. Natl. Acad. Sci. 79:5703-5707, 1982.
63. Gross, C., Pradeles, P., Humbert, J. Dray, F., Le Gal LaSalle, G. and Ben-Ari, Y. Regional distribution of met-enkephalin within the amigdaloid complex and bed nucleus of the stria terminalis. Neurosci. Lett. 10:193-196, 1978.
64. Gunne, L.M., Lindstrom, L. and Terenius, L. Naloxone induced reversal of schizophrenic hallucinations. J. Neural Trans. 40:13-19, 1977.
65. Havemann U. and Kuschinsky, K. Locomotor activity of rats after injections of various opioids into the nucleus accumbens and the septum mediale. Naunyn Schmiedebergs Arch, Pharmacol. 331:175-180, 1985.

66. Hayes, R.L., Bennett, G.J., Newlon, P.G. and Mayer, D.J. Behavioral and physiological studies of non-narcotic analgesia in the rat elicited by certain environmental stimuli. Brain Res. 166:69-90, 1984.
67. Heinrichs, S., Brown, S. and Martínez, J.L. Leu-enkephalin: effects on place preference conditioning and lack of effect of des-tyr-leu-enkephalin in active avoidance conditioning. Soc. Neurosci. Abstr. 11:383, 1985.
68. Hellstrom, P.M. Atropine and naloxone block the colonic contraction elicited by cholecystokinin and pentagastrin. Acta. Physiol. Scand. 124:25-33, 1985.
69. Henderson, G. and Hughes, J. The effects of morphine on the release of noradrenaline from the mouse vas deferens. Brit. J. Pharmacol. 57:551-557, 1976.
70. Henderson, G., Hughes, J. and Kosterlitz, H.W. In vitro release of leu and met-enkephalin from the corpus striatum. Nature. 271:677-679, 1978.
71. Herman, B.H., Hammock, M.K. Egan, J., Feinstein, C., Chatoor, I., Boechx, R., Zeinick, N., Jack, R. and Rosenquist, J. Naltrexone induces dose-dependent decreases in self-injurious behavior. Soc. Neurosci. Abstr. 11:468, 1985.
72. Hill, R.G., Pepper, C.M. and Mitchell, J.F. Depression of nociceptive and other neurons in the brain by iontophoretically applied met-enkephalin. Nature. 262:604-606, 1976.

REFERENCIAS

73. Hirst, M. and Kavaliers, M. Food hoarding and ingestion in the deer mouse: selective mu and kappa opiate influence. Neurosci. Abstr. 11:52, 1985.
74. Hokfelt, T., Lundberg, J.M., Schultzberg, M., Johansson, O., Ljungdahl, A. and Rehfeld J. Coexistence of peptides and putative transmitters in neurons. In: Advances in Biochemical Psychopharmacology. 1-23. Ed. E. Costa and M. Trabucchi. Raven Press, New York, 1980.
75. Holaday, J.W. and Faden, A. I. Naloxone acts at central opiate receptors to reverse hypotension, hypothermia and hypoventilation in spinal shock. Brain Res. 189:295-299, 1980.
76. Hong, J.S., Yang, H. Y.T., Fratta, W. and Costa, E. Rat striatal methionine-enkephalin content after chronic treatment with cataleptogenic and non-catoleptogenic anti-schizophrenia drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 205:141-147, 1978.
77. Hughes, J. Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. Brain Res. 88:295-308, 1975.
78. Intorini, I. and McGaugh, J.L. Epinephrine effects on memory storage: interaction with β -endorphine and naloxone. Soc. Neurosci. Abstr. 11:382, 1985.
79. Iversen, L.V., Iversen, S.D., Bloom, F.E., Vargo, T. and Guillemin, R. Release of enkephalin from rat globus pallidus in vitro. Nature. 271:679-681, 1978.

REFERENCIAS

80. Jackson, A. and Cooper, S.J. Effects of kappa opiate agonists on palatable food consumption in non-deprived rats. Brain Res. Bull. 15:391-396, 1985.
81. Janssen, H.F. and Lutherer, L.O. Ventriculocisternal administration of naloxone protects against severe hypotension during endotoxin shock. Brain Res. 194:608-612, 1980.
82. Jenck, F., Quirion, R. and Wise, A. Microinjected opioids into BTA or PAG induce opposite effects on LH stimulation-induced feeding. Soc. Neurosci. Abstr. 11:61, 1986.
83. Johnels, B. Locomotor hypokinesia in the reserpine treated rat: drug effects from the corpus striatum and nucleus accumbens. Pharmacol. Blochem. Behav. 17:283-289, 1982.
84. Joyce, E.M., Koob, G.F., Strecker, R., Iversen, S.D. and Bloom, F.E. The behavioral effects of enkephalin analogues injected into the ventral tegmental area and globus pallidus. Brain Res. 221: 259-370., 1981.
85. Kafka, M., Wirz-Justice, A., Naber, D., Moore, R. and Benedito, M. Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors. Federation Proceedings. 42:2796-2801, 1983.
86. Khachaturian, H., Lewis, M.E., Schafer, M.K.H. and Watson, S.J. Anatomy of the CNS opiod systems. Trends in Neuroscience. 8:111-119, 1985.
87. Kalivas, P. W. Sensitization of repeated enkephalin administration into the ventral tegmental area of the rat. II. Involvement of the mesolimbic dopamine system. J. Pharmacol. Exp. Ther. 235:544-550, 1985.

REFERENCIAS

88. Kalivas, P.W. and Bronson, M. Mesolimbic dopamine lesions produce an augmented behavioral response to enkephalin. Neuropharmacology. 24:931-936, 1985.
89. Kameyama, T., Nabeshima, T., Kamei, H. and Matsuno, K. Functional alteration of opioid receptor subtypes in the mice exhibited conditioned suppression in motility. Neurosci. Lett. 53:263-266, 1985.
90. Kavaliers, M., Hirst, M., Teskey, G.C. Opioid systems and feeding in the slug, Limax maximus: similarities to and implications for mammalian feeding. Brain Res. Bull. 14:681-685, 1985.
91. Kavaliers, M. and Hirst, M. The influence of opiate agonists on day-night feeding rhythms in young and old mice. Brain Res. 326:160-167, 1985.
92. Kavaliers, M. and Ossenkopp, K.P. Magnetic fields as environment specific cues for morphine-induced analgesia: interactions with tolerant development. Proc. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 9:713-716, 1985.
93. Kelley, A.E., Stinus, L. and Iversen, S.D. Interactions between D-Ala-Met-enkephalin, A10 dopaminergic neurons and spontaneous behavior in the rat. Behav. Brain Res. 1:3-24, 1980.
94. Kerdelhue, B., Karteszi, M., Pasqualini, C., Reinberg, A., Mezey, E. and Palkovits, M. Circadian variations in β -endorphin concentrations in pituitary and in some brain nuclei of the adult male rat. Brain Res. 261:243-248, 1983.
95. Lagamma, E.F., Itskovitz, J. and Rudolph, A.M. Maturation of circulatory responses to methionine enkephalin. Pediatr. Res. 17:162-167, 1983.

96. Lechner, R.B., Gurli, N.J. and Reynolds, D.G. Effects of naloxone on regional blood flow distribution in canine hemorrhagic shock. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 178:227-233, 1985.
97. Lemmer, B. and Berger, T. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 303:257-261, 1978.
98. Levine, J.D., Feldmesser, M., Tecott, L., Lane, S. and Gordon, N.C. The role of stimulus intensity and stress in opioid mediated analgesia. Brain Res. 304:265-269, 1985.
99. Lewis, J.W., Chudler, E.H., Cannon, J.T. and Liebeskind, J.C. Hypophysectomy differentially affects morphine and stress analgesia. Proc. West Pharmacol. Soc. 24:323-326, 1981.
100. Lipinsky, J., Meyer, R. and Kornetsky, C. Naloxone in schizophrenia: negative results. Lancet. 1:1292-1293, 1979.
101. Long, W.A. and Lawson, E.E. Developmental aspects of the effect of naloxone on control of breathing in piglets. Respir. Physiol. 51:119-129, 1983.
102. Lowy, M. T., Sangiah, S. and Yim, G.K.W. Naltrexone fails to suppress spontaneous locomotor activity in hamsters. Pharmacol. Biochem. Behav. 22:399-401, 1985.
103. Maas, C.L. and Leek, B.F. Central and local actions of opioids upon reticulo-ruminal motility in sheep. Vet. Res. Commun. 9:89-113, 1985.
104. Mains, R.E. and Elipper, B.A. Common precursor to corticotropines and endorphines. Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A. 74:3014-3018, 1977.

REFERENCIAS

105. Marshall, D.C. and Buccafusco, J.J. A comparison of the cardiovascular and the behavioral changes following naloxone as measures of the degree of physical dependence on morphine in rats. Drug Dev. Res. 5:271-280, 1985.
106. Martínez, J.L. Jr. and DeGraaf, J.S. Quaternary naxlozone enhances acquisition of a discriminated y-maze escape and one-way active avoidance task in mice. Psychopharmacology Berlin. 87:410-413, 1985.
107. Martin, W., Eades, C., Thompson, J., Huppler, R. and Gilbert, P. The effects of morphine-dependent chronic spinal dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. 197:517-532, 1976.
108. McIntosh, T.K., Palter, M., Grasberger, R., Vesina, R., Yeston, N.S., Egdahl, R.H. Effect of an opiate antagonist (naloxone) and an agonist-antagonist (nalbuphine) in primate hemorrhagic shock: relationship to catecholamin release. Circ. Shock. 17:313-325, 1985.
109. Moore, R.Y. and Bloom, F.E. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. Ann. Rev. Neurosci. 1:129-169, 1978.
110. Morley, J.E., Levine, A. S., Kneip, J., Grace, M., Zeugner, H. and Shearman, G.T. The opiate receptor and food intake. Eur. J. Pharmacol. 112:17-25, 1985.
111. Mosnalm, A.D., Wolf, M.E., Chevesich, J., Callaghan, O.H. and Diamond, S. Plasma methionine enkephalin levels. A biological marker for migraine. Headache. 25:259-261, 1985.

112. Myslivecek, J. and Stamberova, I. The role of endogenous opioids in inhibitory learning and memory in early ontogeny. *Activ. Nerv. Sup.* 27:288-289, 1985.
113. Nabeshima, T., Matsuno, K., Kamel, H. Noda, Y. and Kameyama, T. Electric footshock-induced changes in behavior and opioid receptor function. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 23:769-775, 1985.
114. Nicoll, R.A., Alger, and Jahr, C.E. Enkephalins blocks inhibitory pathways in the vertebrate CNS. *Nature.* 287:22-25, 1980.
115. Okawara, Y., Kasuya, Y., Uemura, H. and Kobayashi, H. Difference in effects of naloxone on water intake between Japanese quail fed on mixed grain and those given chicken pellet food. *Neuroendocrinol. Lett.* 7:319-325, 1985.
116. Oliverio, A., Castellanos, C., Puglisi-Allegra, S. and Renzi, P. Diurnal variations in electroconvulsive shock-induced seizures: involvement of endogenous opioids. *Neurosci. Lett.* 57:217-250, 1985.
117. Olson, G.A. and Olson, R.D. Endogenous opiates through 1978. *Neuroscience and Behav. Reviews.* 3:285-299, 1979.
118. Olson, G.A. and Olson, R.D. Endogenous opiates through 1979. *Peptid Theoretical Review.* 1:365-379, 1980.
119. Olson, G.A., Olson, R.D. and Kastin, A.J. Endogenous opiates: 1985. *Peptids.* 7:907-933, 1986.

120. Pasi, A., Foletta, D., Hartmann, H., Gramsch, C. and Pedrinis, E. Regional levels of β -lipotropin and β -endorphin in the brain and the hypothesis of victims of sudden infant death syndrome. Arch. Patol. Luh. Med. 107:336-337, 1983.
121. Pengelley, E.T. Circannual clocks: annual biological rhythms. New York and London: Academic Press, 1974.
122. Perry, E.K., Perry, R.H., Tomlinson, B.E. Circadian Variations in Cholinergic Enzymes and Muscarinic Receptor Binding in Human Cerebral Cortex. Neurosci. Lett. 4:185-189, 1977.
123. Pert, A. and Sivit, C. Neuranatomical locus for morphine and enkephalin-induced hypermotility. Nature. 265:645-647, 1977.
124. Pollard, H., Llorens-Cortés, Bonnett, J.J., Costentin, J. and Schwartz, J.C. Opiate receptors on mesolimbic dopaminergic neurons. Neurosci. Lett. 7:295-299, 1977.
125. Przewlocki, R., Hollt, V. and Herz, A. Release of β -endorphine from rat pituitary in vitro. Eur. J. Pharmac. 51:179-183, 1978.
126. Rhee, H.M. and Tyler, L. Potential role of met-enkephalin in short term regulation of blood pressure in anesthetized rabbits. Clin. Exp. Theory Pract. 6:2063-2067, 1985.
127. Roberts, J. and Herbert, H. Characterization of a common precursor to corticotropin and β -lipotropin: Cell-free synthesis of the precursor and identification of corticotropin peptides in the molecule. Proc. Natl. Acad. Sci. 74:4826-4830, 1977.

128. Roberts, S.K. Circadian rhythms in cockroaches. Effects of optic lobe lesions. Journ. of Comp. Physiol. 88:21-30, 1974.
129. Rodgers, R.J., Randall, J. and Pittock, F. Hot-plate learning in mice is unaltered by immediate post-training administration of naloxone, naltrexone or morphine. Neuropharmacology. 24:333-336, 1985.
130. Rusak, B. and Zucker, I. Biological rhythms and animal behavior. Ann. Rev. of Psychol. 26:137-171, 1977.
131. Samson, H.H. and Doyle, T.F. Oral ethanol self-administration in the rat: effect of naloxone. Pharmacol. Biochem. Behav. 22:91-99, 1985.
132. Sar, M., Stumpf, W.E., Miller, R.J., Chang, K. and Ciatrecasas, P. Immunohistochemical localization of enkephalin in rat brain and spinal cord. J. Comp. Neurol. 182:17-38, 1978.
133. Sawada, S. and Yamamoto, C. Postsynaptic inhibitory actions of catecholamins and opioid peptides in the bed nucleus of the stria terminalis. ExpBrainRes41:264-270,1981.
134. Sawynock, J., Pinsky, C. and L Bell, F.S. On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. Life Sci. 25:1621-1632, 1979.
135. Scallet, A.C., Della-Fera, M.A. and Baile, C.A. Satiety hunger and regional brain content of met-enkephalin immunoreactivity in sheep. Peptids. 6:937-943, 1985.
136. Schaefer, G.J. and Michael, R.P. Effects of opioid antagonists and their quaternary derivatives on locomotor activity responding for brain self-stimulation in rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 23:797-802, 1985.

REFERENCIAS

137. Schnur, P. Effects of naloxone and naltrexone on morphine-elicited changes in hamster locomotor activity. *Physiological Psychology*. 13 (1):26-32, 1985.
138. Schulz, R., Faase, E., Wuster, M. and Herz, A. Selective receptors for β -endorphin on the rat vas deferens. *Life Sci.* 24:843-850, 1979.
139. Schusdziarra, B. Modulation of motilin-induced somatostatin release in dogs by naloxone. *Peptids.* 6:861-864, 1985.
140. Siegel, M.A. and Jensen, R.A. The prolonged effects of naloxone on play behavior and feeding in the rat. *Behav. Neural. Biol.* 44:509-514, 1985.
141. Simpkins, J.W., Michel, M.E. and Tuttle, R. Effect of the narcotic antagonists, nalmefene, on spontaneous and insulin-induced food intake and body weight gain in male rats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 11:59, 1985.
142. Snyder, S. Opiate receptor in normal and drug altered brain function. *Nature.* 257:185-189, 1975.
143. Spencer, R.L., Ayres, A. and Burks, T.F. Temperature responses in restrained and unrestrained rats to the selective mu opioid agonist DAGO. *Proc. West Pharmacol. Soc.* 28:107-110, 1985.
144. Spiteri, N.J. Circadian patterning of feeding, drinking and activity during diurnal food access in rats. *Physiol. Behav.* 28:139-147, 1982
145. Swerdlow, N.R., Vaccarino, F.J. and Koob, G.F. Effects of naloxone on heroin-amphetamine- and caffeine-stimulated locomotor activity in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 23:499-501, 1985.

146. Swerdlow, N. R., Vaccarino, F.J., Amalric, M. and Koob, G.F. The neural substrates for the motor-activating properties of psychostimulants: a review of recent findings. Pharmacol. Biochem. Behav. 25:233-348, 1986.
147. Terenius, L. and Wahlstrom, A. Search for an endogenous ligand for the opiate receptor. Acta. Physiol. Scand. 94:78-81, 1975.
148. Terenius, L., Wahlstrom, A., Lindstrom, L. and Widerlof, E. Increased CSF levels of endorphins in chronic psychosis. Neurosci. Lett. 3:157-162, 1976.
149. Traverso, L.W., Bellamy, R.F., Hollenbach, S.J. and O'Benar, J.D. Naloxone does not prevent death after rapid hemorrhage in swine. Surg. Gynecol. Obstet. 161:229-239, 1985.
150. Ukai, M. and Kameyama, T. Naloxone specifically blocks the linear locomotion in mice. Brain Res. 328:378-380, 1985.
151. Vargish, T. and Beamer, K. Hemodynamic effects of naloxone in early canine hypovolemic shock. Circ. Shock. 17:45-57, 1985.
152. Vermes, I., Mulder, G.H., Smelik, P.G. and Tilders, F.J.H. Differential conduct of β -endorphin/ β -lipotropin secretion from anterior and intermediate lobes of the rat pituitary gland in vitro. Life Sci. 27:1761-1768, 1980.
153. Volavka, J., Mallia, A., Faig, S. and Perez-Cruet, J. Naloxone in chronic schizophrenia. Science. 196:1227-1228, 1977.

154. Waterfield, A., Hughes, J. and Kosterlitz, H. Cross tolerance between morphine and methioine-enkephalin. Nature. 260:624-625, 1976.
155. Wehr, T.A., Sack, D., Rosental, N., Duncan, W., Gillen, J.C. Circadian Rhythm Disturbances in Manic Depressive Illness. Federation Proc. 42:2809-2814, 1983.
156. Woods, J.S. and Leibowitz, S.F. Hypothalamic sites sensitive to morphin and naloxone: effects on feeding behavior. Pharmacol. Biochem. Behav. 23:431-438, 1985.
157. Wuster, M., Schulz, R. and Herz, A. Specificity of Opioids toward the mu, delta and epsilon opiate receptors. Neurosci. Lett. 15:193-198, 1979.
158. Zetler, G. and Raberg, G. Ceruletide inhibits water intake in deprived mice: comparison with morphine and the enkephalin analogue FK 33-824. Eur. J. Pharmacol. 114:247-251, 1985.
159. Zieglgansberger, W., Fry, J.P., Moroder, L., Hertz, A. and Wunsch, Enkephalin-induced inhibition of cortical neurons and the lack of this effect in morphine tolerant/dependent rat. Brain Res. 115:160-164, 1976.
160. Zoccali, C.M., Ciccarelli, M., Mallamaci, F. and Maggiore, O. Effect of naloxone of the defective autonomic control of heart rate in uraemic patients. Clin. Sci. 69:81-86, 1985.