

881225

9
rej.

UNIVERSIDAD ANAHUAC

ESCUELA DE PSICOLOGIA
Con Estudios Incorporados a la U N A. M.



VINCE IN BONO MALUM

**ENCEFALINAS EN EL NUCLEO ACUMBENS Y EL
CONTROL DE LA LOCOMOCION DE LA RATA:
INTERACCION CON DOPAMINA**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE, PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADA EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A :
ALBA GEORGINA TORRES SANDOVAL

México, D. F.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

		PAGS.
	i RESUMEN	i
	ii INTRODUCCION	ii
CAPITULO	1 ENDORFINAS	1
	1.1 Historia	1
	1.2 Clasificación	4
	1.3 Distribución	7
CAPITULO	2 FUNCION DE LAS ENDORFINAS	11
	2.1 Relación con dolor, estrés y analgesia	11
	2.2 Aprendizaje y memoria	12
	2.3 Conducta sexual	22
CAPITULO	3 ENDORFINAS Y PSICOPATOLOGIA	27
	3.1 Trastornos afectivos	27
	3.2 Esquizofrenia	31
CAPITULO	4 ESTUDIOS EN ANIMALES	41
	4.1 Relevancia de estudios de animales	41
	4.2 Mecanismos de reforzamiento	41
	4.3 Locomoción	45
CAPITULO	5 TRABAJO DE INVESTIGACION	53
	5.1 Planteamiento e importancia del problema	53
	5.2 Método	55
	5.2.1 Sujetos	55
	5.2.2 Diseño experimental	55
	5.2.3 Procedimiento	56
	5.2.4 Drogas	57
	5.2.5 Análisis estadístico	58

5.3	RESULTADOS	
5.3.1	Sitios de infusión	60
5.3.2	Efectos de DALA sobre la actividad locomotora	62
5.3.3	Efectos de Fosfo-leu-fé sobre la actividad locomotora	64
5.3.4	Efectos de DALA 5ug + anfetamina simultánea a la infusión	66
5.3.5	Efectos de salina + anfetamina 40 min antes y fosfo-leu-fé 20ug + anfetamina 40 min antes	68
5.3.6	Resumen de la actividad locomotora total registrada durante los diferentes tratamientos	71
5.4	DISCUSION Y CONCLUSIONES	73
5.5	RECOMENDACIONES	77
iv	REFERENCIAS	78

1 RESUMEN:

En el presente trabajo se investigó la relación de dopamina y de una met-enkefalina (DALA) en el núcleo acumbens con respecto a la locomoción de la rata. Con DALA 5 y 10 ug obtuvimos un efecto bifásico sobre la actividad locomotora, caracterizado por una supresión de actividad al principio y un incremento posterior. El inhibidor de enkefalinas a diferentes dosis (5, 10 y 20 ug), produjo incrementos únicos significativos a los 10, 50 y 40 min respectivamente. Además no se observó un incremento sostenido sobre la actividad locomotora. Al combinar este mismo inhibidor con amfetamina obtuvimos un incremento de la actividad a los 10 y 20 min. En el caso de DALA 5 ug + amfetamina se observó un único efecto excitatorio sobre la actividad a la hora 30 min. Los datos no permiten establecer una relación directa entre el sistema encefalinérgico y dopaminérgico sobre el control de la actividad locomotora en el núcleo acumbens.

2 INTRODUCCION:

Desde que Hughes y Kosterlitz (1975) y Terenius y Wahlström (1975) reportaron simultáneamente la presencia de actividad opioide en cerebros de animales, se desencadena un gran interés por estas sustancias. Después se logra caracterizar y diferenciar a dichos péptidos (Hughes y cols., 1975; Simantov y Snyder, 1976; Guillemin y cols., 1976) reportándose la existencia de compuestos distintos encefalinas y endorfinas. A partir de entonces y hasta la fecha, se han hecho diversos descubrimientos sobre los efectos de dichas sustancias en el control de la percepción del dolor (Cohen y cols., 1983), analgesia (Fanselow, 1985), estrés (Fanselow y Sigmundi, 1985), en la disrupción de la respuesta sexual (Pfaus y Gorzalka, 1986), en los mecanismos mediadores del reforzamiento (Goeders y cols., 1984), en aprendizaje y memoria (Kastin y cols., 1976) y en la modulación de la respuesta locomotora (Swerdlow y cols., 1986), además de otras conductas tanto normales como en desórdenes psiquiátricos del orden de la esquizofrenia (Spector, 1980) y la depresión (Berger y Barchas, 1983).

Sin embargo, a pesar de los grandes avances y de la amplia gama de investigaciones que se han logrado, aún existen muchas dudas y controversias sobre la manera precisa en que estas sustancias actúan en el sistema nervioso. Este trabajo está dirigido a aclarar una de tantas incógnitas. Por un lado, verificar si existe una relación entre dopamina y encefalinas en el núcleo acumbens con respecto al control de la actividad locomotora de la rata, y en caso de que dicha interacción exista explicar el modo en que se realiza.

Existen algunas evidencias que demuestran que los opiáceos afectan la actividad locomotora. Así, por ejemplo, la morfina en

dosis altas deprime inicialmente la conducta motora para después estimularla (Oka y Hosoya, 1977).

Péptidos opioides como la β -endorfina causan inmovilidad y rigidez muscular muy parecida a la catalepsia observada en la esquizofrenia catatónica (Bloom, 1983). Una de las observaciones más interesantes es que tanto los efectos depresores como estimulantes de la morfina sobre la actividad locomotriz se pueden antagonizar rápidamente con naloxona (antagonista de opiáceos), lo cual nos sugiere que ambos efectos están mediados por receptores opiáceos (Brady y Holtzman, 1981). Inyecciones directas de DALA en el área ventral tegmental o en el núcleo acumbens producen aumento en la motilidad (Pert y Sivit, 1977). En contraste, Havemann y Kuschinsky (1985) reportan que al inyectar opiáceos (DADL) en el núcleo acumbens de ratas no hubo efecto estimulatorio sobre la locomoción. Sabemos que el núcleo acumbens y el área ventral son importantes para la integridad del sistema dopaminérgico mesolímbico, el cual tiene un papel importante en el control de la locomoción.

Todos estos datos nos hacen suponer que la encefalina, de alguna manera, afecta la neurotransmisión dopaminérgica para producir algún tipo de cambio en la motilidad de la rata. Por tal motivo, se pensó en la importancia de estudiar los efectos de DALA²-met⁵encefalinamida (péptido opioide sintético sustituto de la metionina encefalina natural) sobre la actividad locomotora de la rata después de la estimulación de encefalina y dopamina. Además se investigaron los efectos de DALA sola o en combinación con anfetamina, que es un inhibidor de la recapturación de dopamina y también provoca la liberación de dicho neurotransmisor.

CAPITULO 1: ENDORFINAS:

1.1 HISTORIA

Hasta muy recientemente, la mayor parte de lo que se sabía acerca de los opiáceos venía de relatos históricos. Los opiáceos son una de las drogas de abuso más antiguamente utilizadas entre los humanos. Evidencia de esto ha sido encontrada en el arte asiático de 400 A.C. y en las culturas egipcias, griegas y persas. Se han encontrado evidencias del uso de opiáceos de Egipto como ungüentos funerales, sugiriéndonos que sus contenidos narcóticos se consideraban comodidades para después de la muerte. Otra de sus aplicaciones en ese tiempo fue la analgesia (Simon, 1982).

A principios del siglo XIX existía una población adicta al opio muy significativa en India y China. Al mismo tiempo, en Europa los opiáceos eran muy usados como tónicos fáciles de obtener y baratos (Bayón, 1981).

Poco a poco, se fue tomando conciencia de los peligros de esta droga y a mediados del siglo XIX era bien conocido que la morfina era el agente causante de los efectos más notables del opio. La euforia y la analgesia son dos de los efectos de los opiáceos, pero también afectan la motivación, la respiración, el apetito, la libido y el sueño (Bolles, 1982). La pregunta era que cómo era posible que una droga afectara tantos sistemas. Se observó que los opiáceos aún en dosis mínimas eran capaces de tener efecto farmacológico sobre el organismo. Esto hizo suponer que debían existir receptores para tales sustancias en el organismo. Snyder y Pert (1973) demostraron la existencia de receptores específicos para los opiáceos en el sistema nervioso. Ante esto, se trató de encontrar aquel ligando endógeno que debía unirse a los receptores en

contrados; este supuesto ligando debía poseer características análogas a la morfina, pero debía estar presente en el cerebro de forma natural, ya que los alcaloides de opio no se producen ni se encuentran en ningún tejido animal. Los primeros reportes de esta actividad endógena opioide surgieron simultáneamente de dos laboratorios. John Hughes (1975) en el laboratorio de Hans Kosterlitz en Escocia y Terenius y Wahlström (1975) en Suecia, reportaron la presencia de actividad opioide en extractos acuosos de cerebros animales. El grupo escocés de Hughes se dedicó a trabajar en bioensayos in vitro, mientras que el grupo de Terenius usó la competencia por el receptor opiáceo como criterio de la actividad opioide. Por otro lado, Goldstein y cols. (1974) reportaron la presencia de actividad opioide en extractos de la glándula pituitaria de bovinos.

El trabajo de purificación y caracterización de factores opioides alcanzó su cenit con el reporte de Hughes y cols. en diciembre de 1975, en el cual caracterizaba a dos pentapéptidos que parecían ser los responsables de la actividad opioide presente en los extractos del cerebro de cerdo.

Los pentapéptidos fueron identificados como Tyr-Gly-Gly-Phe-Met y Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu y fueron denominados metionina (met) y leucina (leu), encefalinas respectivamente.

Las estructuras de las encefalinas fueron confirmadas por Simantov y Snyder (1976) que encontraron y describieron péptidos con las mismas estructuras que se encontraban presentes en diferentes proporciones en las diversas partes de cerebros de bovinos. En este mismo año, Roger Guillemin y su grupo (1976) encontraron en hipotálamo e hipófisis de oveja, otras sustancias que tenían efectos parecidos a la morfina, a las cuales llamaron endorfinas clasificándolas en: -endorfina con 16 aminoácidos; β -endorfina compuesta

por 31 aminoácidos y γ -endorfina formada por 17 aminoácidos; de esta manera, se probaba que los receptores existentes en el cerebro para la morfina eran los mismos receptores de las endorfinas y encefalinas, y que la morfina se unía al receptor de opiáceos endógenos debido a que la forma que sus moléculas adoptan en el espacio es muy semejante a la de las encefalinas y endorfinas, aunque su estructura química es diferente.

taba acompañado por una señal de peligro para las ratas. Si los choques que se administraban a las ratas eran inevitables la analgesia aumentaba; en contraste, con los choques de los que habían aprendido que podían escapar, ya que estos últimos no producían analgesia. Por otro lado, se observó que un choque intermitente es importante para demostrar una analgesia mediada por opiáceos. Tal como lo reportan Madden y cols. (1977), sus resultados indican que un choque eléctrico extremadamente intenso (3.0 ma) prolongado (30 min.) y discontinuo provocó un incremento de los niveles de opioides endógenos, medidos con un ensayo radioactivo que marca los sitios donde se une la naloxona (antagonista de los opiáceos) que produjo analgesia en una prueba en que se mide la latencia con que se retira la cola ante un estímulo caliente. Sin embargo, estos autores reportan que el efecto desapareció en el curso de 13 sesiones de choques, conforme los animales se volvieron tolerantes a sus propias endorfinas, así mismo, se reportó también que los animales se volvieron hiperalgésicos.

Estos hallazgos son interesantes y nos hacen pensar en los posibles efectos conductuales a largo plazo y en las fallas en la adaptación derivadas del estrés crónico. Así, podría ser fácil concluir que el estrés crónico provoca disfunciones en el balance bioquímico del organismo produciendo hipersensibilidad al dolor y una adaptación al mecanismo natural de inhibición del dolor. Tal como Terenius y Wälhstrom (1975) reportaron que pacientes con dolor crónico carecen de niveles altos de endorfinas libres en líquido cefalorraquídeo. El problema aquí es, como lo señalan Bolles y Fanselow (1982), que no está muy claro en qué medida los pacientes con dolor crónico pueden ser caracterizados como víctimas de estrés crónico, o en que medida estos niveles de endorfinas tienen que ver con una hipersensibilidad al dolor. Estas posibilidades aún nos intrigan.

CAPITULO 2: FUNCION DE LAS ENDORFINAS:

2.1 RELACION CON DOLOR, ESTRES Y ANALGESIA:

Se decidió unir en un solo punto estrés, analgesia y dolor debido a que son tópicos que se encuentran estrechamente unidos entre sí y con las endorfinas; sin embargo se considera importante puntualizar, que no son las únicas funciones de las endorfinas, ya que estas influyen en conductas como; hábitos de alimentación, ingesta de líquidos. También se ha encontrado que el estrés produce un número de reacciones que parecen ser mediadas por opiáceos. Algo que ha recibido mucha atención es el hecho de que el estrés puede inducir analgesia (Olson, Olson y Kastin, 1986). El uso de choques eléctricos ha demostrado un decremento de la percepción del dolor en un número significativo de estudios y se cree que dicha analgesia pudiera estar mediada por opiáceos, debido a que los efectos se revierten con naltrexona, antagonista de opiáceos (Fanselow, 1985; Fanselow y Sigmundi, 1985; Hamm y Knisely, 1985; Kameyama y cols., 1985; Levine y cols., 1985; Nabeshima y cols., 1985; Nabeshima, Matsuno y Kameyama, 1985; Terman y cols., 1985; Urea y Sarne, 1985; Whitehouse y cols., 1985; Belluzzi y cols., 1976; Graf y cols., 1976; Szekely y cols., 1977). Sin embargo, dicha analgesia solo se produce cuando los choques eléctricos son intermitentes y no cuando el choque es continuo (Fanselow y Sigmundi, 1985; Terman y cols., 1985; Whitehouse y cols., 1985). Por otro lado, Terman y cols. (1985) refieren que un minuto de choque continuo o 20 min. de choques intermitentes inducen analgesia semejante a la de origen opioide, pero 4 min. de choque continuo no reducen el dolor en absoluto (Terman y cols., 1985), indicando que el efecto es una interacción entre la duración y la constancia del choque (continuo o intermitente). Fanselow y Sigmundi (1985) reportan que naltrexona (antagonista de los opiáceos) incrementó la analgesia producida por un solo choque, pero únicamente si es-

TABLA 2: DISTRIBUCION DE β -ENDORFINA INMUNOREACTIVA EN CEREBRO E HIPOFISIS DE RATA.

	ng/g de tejido β -ENDORFINA
Hipófisis (completa)	269.1
Adenohipófisis	128.1
Neurohipófisis y pars intermedia	1500.1
Cerebro (completo)	108
Hipotálamo	490
Septum	234
Cerebro medio	207
Médula y Puente	179
Estriado	No se encontró
Globo pálido	"
Hipocampo	"
Corteza cerebral	"
Cerebelo	"

(Fuente: Rossier y Bloom, 1983).

Finalmente, pero no en último lugar, se considera importante puntualizar que Wise y Bozarth (1984) refiere haber encontrado niveles altos de met-enkefalinas, neurotensina y sustancia P. En tanto que, Graybiel y cols. (1983) sostienen que existen conexiones encefalinérgicas eferentes que van del estriado hacia el globo pálido y conexiones aferentes dopaminérgicas probablemente subtalamoestriales que van de las neuronas B7 de núcleo de raphé hacia grupos de células A8, A9 y A10 nigroestriales y tegmentoestriales.

la línea media dorsal del tálamo al tallo cerebral. Estas fibras se extienden luego hacia el locus coeruleus y el núcleo parabrachial, llegando en dirección caudal hasta el tracto solitario. Este largo trayecto, parece formar parte, por su localización, del sistema límbico, relacionado con las experiencias emocionales; sin embargo, aún se desconoce el papel que juegan estas sustancias en estos lugares. Así mismo, se encuentran extensivas arborizaciones de fibras de β -endorfina en otros núcleos específicos como son, los núcleos paraventricular, ventromedial y dorsomedial del hipotálamo, el núcleo paraventricular del tálamo, la amígdala medial, septum y el núcleo ventral de la estría terminal.

Finalmente, algunos estudios realizados indican que la dinorfina y α -neendorfina se distribuyen en los circuitos magnocefalares de la hipófisis posterior y en el hipocampo.

A continuación se muestra una segunda tabla tomada de Rossier y Bloom (1983) en la cual se muestran distribuciones de β -endorfina inmunoreactiva en el cerebro e hipófisis de rata.

TABLA 1: DISTRIBUCION DE MET-ENCEFALINA Y LEU-ENCEFALINA INMUNOREACTIVA EN CEREBRO E HIPOFISIS DE RATA.

	ng/ de tejido	
	MET-ENCEFALINA	LEU-ENCEFALINA
Estriado (completo)	600	100
Globo pálido	1750	350
Caudado y Putamen	250	50
Hipotálamo	450	80
Tálamo	400	60
Puente ó Protuberancia Anular	350	40
Hipocampo	200	20
Corteza Cerebral	140	15
Hipófisis (completa)	700	60
Pars nervosa	1900	600

(Fuente: Rossier y Bloom, 1983).

Por otro lado, la β -endorfina se localiza en el lóbulo intermedio del hipotálamo y en las células corticotrofas del lóbulo anterior. Algo muy interesante es que aquí se libera en situaciones de tensión junto con la hormona corticotrófica, lo cual nos podría indicar que una vez en la sangre, las endorfinas pudieran actuar como analgésicos, componentes de la reacción aguda a la tensión. La β -endorfina también se distribuye en el núcleo arcuato, en la base del hipotálamo. De ahí se extiende hacia la porción frontal del encéfalo, área anterior hipotalámica-preóptica y a través de

1.3 DISTRIBUCION:

Antes que nada quisiéramos aclarar que esta revisión no pretende ser exhaustiva, sino únicamente una revisión muy general. Para una revisión más amplia se sugiere consultar la bibliografía correspondiente.

Para poder conocer la distribución de las endorfinas en tejido nervioso central y periférico, se utilizan complicadas técnicas de separación química por medio de gelatinas, radioinmunoensayos y localización inmunocitoquímica. Por medio de estas técnicas se ha visto que las encefalinas se encuentran prácticamente en todo el sistema nervioso central, principalmente en globo pálido (relacionado con sistemas programadores del movimiento), núcleo central de la amígdala (forma parte de los sistemas que controlan la conducta emocional), cerebro medio y médula espinal, particularmente en las astas dorsales donde parecen modular el paso de impulsos dolorosos provenientes de los nervios sensitivos. Se encuentra también encefalina en sustancia nigra, locus coeruleus y el núcleo de raphé. En ratas, changos y gatos se ha encontrado un circuito encefalinérgico que se extiende de los núcleos paraventricular y supraóptico al lóbulo neural. Se ha propuesto otro circuito que va del núcleo caudado y putamen a globo pálido. Además, existe encefalina en el sistema nervioso periférico, incluyendo a la retina y en las células cromafines de la médula adrenal. A continuación mostraremos una tabla de Rossier y Bloom(1983) en la cual se muestran concentraciones de met-encefalina y leu-encefalina inmunoreactiva en el cerebro e hipófisis de rata.

nos interesan las últimas.

Una de las primeras diferencias es que tienen diferentes precursores. Las endorfinas provienen de una proteína que contiene una cadena de 264 aminoácidos, llamada pro-opio-melano-cortina, la cual contiene cadenas de la β -lipotrofina, de la corticotrofina y de las tres hormonas melanotrofas: α , β y γ .

Las encefalinas por su parte están contenidas en otra proteína llamada proencefalina formada por 239 aminoácidos y localizada en las células cromafines de la médula adrenal, sistema nervioso central o intestino, que a su vez contiene las cadenas de aminoácidos de la dinorfina, α -neo-endorfina, del heptapéptido adrenal-cerebral y del péptido triptico adrenal, además de la metilencefalina (Bayón, 1981).

Algunas diferencias entre las endorfinas y encefalinas son su localización en el sistema nervioso y su período de actividad al ser inyectadas. Las encefalinas tienen una vida activa extremadamente corta, sólo algunos minutos; mientras que las endorfinas son estables durante varias horas (Bayón, 1981).

1) PEPTIDOS DE LA SERIE PRO-OPIO-MELANO-CORTINA:

A) Péptidos Opioides:

- a) β -endorfina
- b) α -endorfina
- c) γ -endorfina

B) No-opioides:

- a) γ MSH (γ melanotrofina)
- b) β MSH (β melanotrofina)
- c) γ MSH₃ (γ melanotrofina₃)

2) PEPTIDOS DERIVADOS DE LA PRO-ENCEFALINA:

A) Encefalinas

- a) Met⁵-encefalina
- b) Leu⁵-encefalina
- c) Met⁵-Arg⁶-Phe⁷-encefalina

3) PEPTIDOS DERIVADOS DE LA PRO-DINORFINA:

Encefalinas alargadas:

- a) Dinorfina
- b) α -neo-endorfina
- c) β -neo-endorfina

4) OTROS:

- a) Kiotorfina
- b) Demorfina
- c) Caseí-morfina (Se considera exorfina, porque se extrae de la caseína de la leche).

Para los fines de esta tesis es importante mencionar algunas diferencias entre las endorfinas y encefalinas, ya que a nosotros

1.2 CLASIFICACION

Antes de hablar de clasificación de las endorfinas se considera conveniente hacer un comentario acerca de la nomenclatura. Con el descubrimiento de las endorfinas hubo mucha confusión acerca del nombre que se emplearía para referirnos a estas sustancias. Hughes y Kosterlitz (1975) llamaron a sus factores activos encefalinas. Goldstein (1974) se refirió a su sustancia como péptido opioide hipofisiario y los laboratorios de Terenius y Snyder hablaron de factores parecidos a la morfina. Así conforme aumentaba el número de péptidos encontrados era más y más preocupante el hecho de la confusión en la nomenclatura. De tal forma que, en un encuentro en Virginia (1975) de la INRC (International Narcotics Research Conference) Eric J. Simon sugirió el nombre de endorfinas como término genérico para los opioides endógenos. Entonces, el término encefalinas se aplicó únicamente a los dos pentapéptidos aislados y caracterizados por Hughes y Kosterlitz (1975).

Se han encontrado hasta ahora más de una docena de "endorfinas" y parece que la lista continúa en incremento. Para fines prácticos, se menciona, a continuación, la clasificación que Bloom (1983) realizó de la "super familia de las endorfinas". Dentro de esta clasificación caen todos los péptidos endógenos cuyas secuencias incluyen al menos una cadena de aminoácidos de la met-enkefalina o de la leu-enkefalina y que comparten algunas acciones comunes en los receptores opiáceos. Se distinguen tres ramas principalmente:

Por otro lado, Urca, Segev y Sarne (1985) encuentran que la analgesia también se puede producir por estimulación eléctrica ó por inyecciones de opiáceos directamente en la sustancia gris periacueductal. Otra variable implicada es la edad de los sujetos, esto lo indica en un estudio gerontológico realizado por Hamm y Knisely (1985) donde apoyan la idea de que hay un declive en el sistema opiáceo endógeno relacionado con el aumento de la edad; ya que al medir la cantidad de analgesia, notaron un decremento conforme aumentaba la edad. Existen otros estudios donde se aplicaron choques eléctricos a ratas y estas disminuyeron su actividad locomotora. Estos investigadores piensan que esta conducta está mediada por opiáceos por lo menos en parte, ya que dicha respuesta se inhibía con antagonistas opiáceos como la naloxona (Fanselow, 1985; Kameyama y cols., 1985; Nabeshima y cols., 1985; Nabeshima, Matsuno y Kameyama, 1985) y porque el efecto era similar al de la morfina.

Una manera de estresar ratas era, primero, introducir al animal a un compartimento donde se le administraban choques eléctricos, sacar a éste y meter a otro en el mismo compartimento. Así, con el simple hecho de que el animal percibiera el olor de la rata que había recibido los choques eléctricos, ésta se estresaba (Fanselow y Sigmundi, 1985), y esta respuesta se potenciaba con naltrexona (antagonista de los opiáceos), indicando una posible ba se opioide de la respuesta al estrés.

En íleon aislado de ratas crónicamente inmobilizadas, naloxona produjo contracciones tónicas que se antagonizaban con met-enkefalina ó dinorfina (Nieber y cols., 1985), sugiriéndonos una mediación del estrés que induce respuestas gastrointestinales. Aún un confinamiento tan corto como 2 min. incrementó la inmunoreactividad a β -endorfina, con una adrenalectomía potenciando la respues

ta (DeSouza y VanLoon, 1985), indicando esto, una activación del sistema opioide aún con el estrés más mínimo. Por otro lado, el forzar a las ratas a nadar en agua tibia, puede también inducir respuestas mediadas por opiáceos. Dicho nado produce analgesia (Galina y Kastin, 1985; Girardot y Holloway, 1985) e inmovilidad (Galina y Kastin, 1985; Girardot y Holloway, 1985).

Antagonistas de los opiáceos como la naloxona (Kavaliers y Hirst, 1985; Teskey y Kavaliers, 1985) redujeron el número de mordidas en peleas de ratones comparadas con un grupo control. Indicando nuevamente, algún papel para los opiáceos y sus antagonistas en el control de la conducta de pelea. Raab, Seizinger y Herz (1985) usaron como sujetos experimentales una especie de roedores, parecida a los ratones, proveniente de las regiones desérticas de Asia y Africa. Llamada "Mongolian Gerbils" ó Gerbils de Mongolia. A estos ratones se les inducía estrés de una manera peculiar, ya que cuando dichos ratones se peleaban, entonces se les forzaba a vivir juntos como factor estresante. Se encontró que la β -endorfina y met-enkefalina se incrementó en los animales perdedores; específicamente en la amígdala. Esto es una evidencia bioquímica más del papel que juegan los péptidos opioides en la victoria y el fracaso.

El aislamiento, se ha usado como factor estresante en algunos experimentos. Ratas aisladas de sus madres ó hermanos a los 6 días de edad, mostraron analgesia reversible con naloxona, antagonista de los opiáceos. Sin embargo, la naloxona, sola no tuvo efecto, indicándonos que los opiáceos no operan posiblemente a esta edad tan temprana (Spear y cols., 1985).

Cuando las crías de ratas fueron separadas del nido, produjeron gran número de vocalizaciones ó gritos de sufrimiento. Ratas

pre-tratadas con naloxona incrementaron significativamente el número de vocalizaciones de sufrimiento (Kehoe y Blass, 1985; Robinson, D'Udine y Olivero, 1985) y ratas pre-tratadas con morfina casi las eliminaron (Kehoe y Blass, 1985). Sin embargo, la administración de anticuerpos de β -endorfina intracerebroventricularmente no tuvo efecto.

Así, los investigadores observaron que las crías decretaban sus gritos de sufrimiento. Esto sucedía cuando se les daba leche, sacarosa ó naltrexona (Blass, Fitzgerald y Kehoe, 1985). Sugiriendo nuevamente que dichas vocalizaciones están mediadas por opioides. Así mismo, el aislamiento social de ratas adultas redujo los niveles de met-enkefalina en el hipotálamo y el estriado e incrementó los niveles de β -endorfina en la amígdala e hipotálamo (Raab, Seizinger y Herz, 1985), indicando un rol de los opiáceos en estas situaciones. De la misma manera, el número de receptores en la corteza frontal, estriado, hipocampo y sustancia gris periacueductal decreció con el aislamiento de las ratas. Sugiriéndonos que un ambiente estresante puede modificar el funcionamiento opiáceo (Petkov y cols., 1985).

El estrés neonatal aparentemente influencia el desarrollo del sistema opioide endógeno, ya que la analgesia que induce la morfina se redujo en ratas adultas que habían sido expuestas a manejo temprano. Además de esto, si la madre aislada de sus crías era expuesta a crías estresadas que no eran las propias y luego se le devolvían las suyas, la madre alteraba su conducta maternal y sus crías en la adultez mostraban una menor respuesta analgésica (González y cols., 1985).

En otro estudio, ratas expuestas a etanol en las dos últimas semanas de gestación decrementaron su analgesia inducida por es-

trés en la adultez (Nelson y cols., 1985). Sugiriendo que la experiencia temprana altera el desarrollo del sistema opioide y sus subsecuentes respuestas al estrés.

Algunos trabajos apoyan que aún estresores muy leves pueden activar el sistema opioide (Lester y cols., 1985), la presentación de un gato ó de un estímulo novedoso a ratas produjo analgesia reversible con naltrexona. Indicando esto una mediación opioide de la respuesta. Así también, ratas que no podían controlar el suministro de comida ó con un suministro sin ninguna señal, tuvieron analgesia. Así como aquellas ratas con una polidipsia inducida por un programa en el cual su botella de agua era retirada.

El descubrimiento de un sistema opioide endógeno (Frederickson y Geary, 1982; Hughes, Smith y Kosterlitz, 1975) en el humano, nos permitió hipotetizar que había una relación primaria de este sistema en la adaptación a eventos estresantes de la vida (Frederickson y Geary, 1982; Cohen y cols., 1983). Uno de los estresores más intensamente estudiados ha sido la cirugía en humanos. Se ha encontrado que hay incrementos marcados en β -endorfina del plasma en pacientes sometidos a amputaciones ó lamparotomías exploratorias cuando no se administran opiáceos (morfina) en el manejo hospitalario de estos pacientes. De tal manera que Cohen y colegas (1983) nos señalan que los niveles elevados de β -endorfina se podrían considerar como un marcador biológico de la respuesta humana al estrés. La relación entre los niveles de β -endorfina en plasma y el umbral al dolor pueden ser una manifestación del fenómeno de analgesia inducida por estrés. Los niveles de β -endorfina en plasma circulante no se han implicado directamente en analgesia. Sin embargo, estos niveles pueden reflejar una respuesta del sistema nervioso central que involucre al sistema opioide endógeno. De tal forma que se propone a los opiáceos como moduladores del dolor (Naber y cols., 1981).

Por último, las endorfinas tienen una potente actividad analgésica en una gran variedad de procedimientos y en varias especies incluyendo a los humanos. Sin embargo, la modulación de mecanismos del dolor en el organismo puede no ser la función primaria de las endorfinas, ya que la potencia de dichas endorfinas para producir otros cambios conductuales es mayor que su potencia analgésica (Cohen y cols., 1983).

Como es evidente, los opiáceos se han involucrado en gran número de estudios sobre el estrés y la analgesia inducida por él. La importancia fisiológica de la posible liberación de opioides en situaciones de estrés, induciendo analgesia como consecuencia, parece estar bien establecida.

2.2 APRENDIZAJE Y MEMORIA

Una actividad estudiada frecuentemente con respecto a su posible mediación opiácea es el condicionamiento operante, es decir, el hecho de presionar la palanca de la caja de Skinner. Con respecto a esto, DALA (D-ala²-met⁵-encefalinamida) en el área ventral tegmental incrementa la tasa de respuesta para el programa de intervalo fijo (Kelley y cols., 1985), pero inyecciones sistémicas de morfina decremantan la tasa de respuesta en conejillos de indias (France y Woods, 1985).

Kastin y cols., (1976) administraron met-encefalina intraperitonealmente (80 mg/kg) y encontraron que facilitaba la habilidad de las ratas para recorrer un laberinto complejo, donde se les reforzaba con comida. En contraste, ratas tratadas con morfina recorrerían el laberinto más lentamente y exhibían un número mayor de errores que el grupo control, que fue tratado únicamente con vehículo. Además, ratas tratadas con un análogo de las encefalinas, D-Phe⁴-Met-encefalina, provocó que las ratas recorrieran el laberinto significativamente mejor que las ratas del grupo control. Por otro lado, Moerschbaeher y cols. (1985), reportan que varios agonistas opiáceos incrementaron el número de errores en situaciones de aprendizaje, donde los monos eran reforzados con comida. Así mismo, Bostock y Gallaguer (1985) encuentran en su estudio que después de aplicar β -endorfina en el septum, hay una interferencia tanto de la adquisición como de la retención de tareas que tienen que ver con el condicionamiento operante y el uso de comida como reforzador.

Por tanto, después de analizar estos estudios podríamos aventurarnos a decir que los péptidos opioides como la met-encefalina intraperitoneal y la DALA intracerebral tienden a afectar positivamente el aprendizaje de tareas. En contraste con la β -endorfina

y morfina que presentan la tendencia a retardar el aprendizaje y a aumentar el número de errores en estas mismas tareas.

Los antagonistas, por otro lado, suprimieron la respuesta de palanqueo en conejillos de indias (France y Woods, 1985) y la presión de la palanca en monos ardilla (Warren y Morse, 1985) y ratas (DeRosset y Holtzman, 1985; Watson y cols., 1985). También France y Woods (1985) reportan que con antagonistas se revirtieron los efectos inhibitorios de morfina, más de lo que se potenciaron. La forma cuaternaria de naltrexona tuvo los mismos efectos supresores que la forma terciaria, pero dosis diarias produjeron un incremento de la sensibilidad para la forma terciaria, pero no para la cuaternaria, indicando que solamente la repetición del efecto fue central (Watson y cols. 1985). La tasa de respuesta por tanto, está modulada por péptidos opioides, pero aún queda por determinarse si el mecanismo involucra la actividad muscular per se, el reforzamiento ó algún otro proceso (Olson, Olson y Kastin, 1986).

Los efectos de los opiáceos en el aprendizaje humano ó en habilidades cognoscitivas se han estudiado poco, con resultados inconsistentes (Olson, Olson y Kastin, 1986). La naloxona ayudó en la ejecución de tareas cognoscitivas de pacientes con Alzheimer, incluyendo una facilitación de la memoria, sugiriendo esto, un probable papel del sistema opiáceo en este desorden (Zager y Black, 1985). Este mismo antagonista, (naloxona) no mejoró ni deterioró la ejecución de tareas cognoscitivas (como sumas y restas) de pacientes deprimidos. Una variable importante de este estudio fue que los sujetos habían recibido terapia electroconvulsiva antes del experimento (Nasrallah y cols., 1985). En general, se necesita hacer más investigación en humanos antes de llegar a cualquier conclusión.

Por otra parte, algunos investigadores sostienen que las endorfinas están involucradas en la memoria, particularmente, conductas aversivas motivadas instrumentalmente. Por ejemplo, si damos β -endorfina por corto tiempo, después de un entrenamiento de prevención pasiva. Durante el período de consolidación de la memoria, se observa un decremento en la ejecución en las pruebas subsecuentes (Martínez y Rigter, 1980). Por otro lado, Gallagher y Kapp (1978) encuentran que un agonista opiáceo levorfanol tuvo un efecto similar cuando se administró directamente en la amígdala. Lo mismo sucede con met-enkefalina (Introini y cols., 1985; Zhang y cols., 1985), Leu-enkefalina (Introini y cols., 1985; Izquierdo y cols., 1980), morfina (Introini y cols., 1985; Zhang y cols. 1985; Izquierdo, 1979), DADL y demorfina (Castellano y Pavone, 1985) y β -endorfina (Introini y cols., 1985; Izquierdo y Dias, 1985; Izquierdo y cols., 1985; Izquierdo y cols., 1980) todos dados seguidos de un entrenamiento de escape, decrementaron la ejecución en las sesiones de prueba posteriores. En los estudios de Izquierdo y McGaugh, (1985) e Izquierdo y cols. en el mismo año, el efecto de β -endorfina se encontró únicamente a las seis horas después de la prueba en algunos de los casos; ó bien fue facilitatorio (Izquierdo y Dias, 1985) si el péptido se inyectaba antes de la prueba más que después del entrenamiento. En general, a pesar de que variables específicas de los diferentes estudios influyen el efecto de péptidos opiáceos sobre la memoria, los hallazgos de las investigaciones en su mayoría indican que los opioides interfieren con la memoria (Bolles y Fanselow, 1982).

Naloxona y antagonistas opiáceos administrados después del entrenamiento de prevención activa, facilita la tarea y sobre todo la ejecución en las sesiones de prueba (Gallagher y Kapp, 1978; Izquierdo, 1979; Messing y cols., 1979; Del Cerro y Borrel, 1985). Así mismo, Flood y cols. (1985) tuvieron estos resultados con po-

llos y ratones usando naloxona intracerebral. Por otra parte Gallagher y cols. (1985) encuentran lo mismo y explican que esto es dependiente de que la función norepinefrínica esté intacta (Introini y McGaugh, 1985; Introini y cols., 1985; Izquierdo y cols., 1985). Con respecto a esto, Opotowsky-Gulack y cols. (1985) explican que los antagonistas opiáceos en su estudio produjeron una respuesta de inmovilidad adquirida en ratones. Zhang y cols. (1985) reportan que naloxona ayudó a una mejor consolidación de la memoria en sus sujetos experimentales. Pese a estos resultados tan consistentes, Castellano y Pavone (1985) reportan que naloxona no tuvo efecto cuando usaron (0.3 ug intracerebralmente) al efectuar una curva dosis-respuesta, lo cual no es sorprendente. Izquierdo y McGaugh, (1985) aplicaron naloxona antes de la sesión de prueba y vieron que no se observaba ningún efecto, ni se mejoraba, ni tampoco se deterioraba la memoria; a diferencia de cuando se administraba después del ensayo de entrenamiento. Indicando que este efecto es probablemente sobre la consolidación de la memoria más que en la recuperación de ésta.

En general, podemos decir que los hallazgos en cuanto a aprendizaje y memoria son bastante consistentes. Apuntando en el sentido de que péptidos opioides interfieren de alguna forma con el aprendizaje y la consolidación de la memoria y que estos efectos se revierten con antagonistas (naloxona y naltrexona) en la mayoría de los estudios.

2.3 CONDUCTA SEXUAL

Durante siglos los opiáceos han sido un refugio para el dolor y el estrés ó nerviosismo; se ha mencionado su uso como analgésicos, ansiolíticos y narcóticos. Así mismo, se han usado únicamente por placer y para incrementar la creatividad artística. Una característica común de la experiencia con esta droga ha sido una breve pero intensa euforia seguida de un período prolongado de relajación, sedación y sensación de bienestar (Mirin y cols., 1980). A lo largo de la historia los usuarios de opiáceos han descritos estos efectos en términos sexuales, usualmente equiparándolos con el órgano sexual. En contraste con estas descripciones de una euforia parecida al orgasmo con administración opiácea aguda, el uso prolongado de opiáceos se asocia generalmente con un deterioro incidiendo de la función sexual. El uso prolongado de opiáceos en hombres adictos está asociado con la eliminación de sueños sexuales, eyaculación retardada, decremento del volumen eyaculatorio, anorgasmia, impotencia y en algunos casos infertilidad. De la misma manera, el uso prolongado de opiáceos en mujeres adictas está asociado con la eliminación de sueños sexuales, amenorrea, anorgamia y en algunos casos infertilidad. Eventualmente, mujeres y hombres adictos experimentan una severa disminución en la capacidad para responder sexualmente, una especie de falta de motivación sexual, lo que Jones y Jones (1977) explicaban como un reemplazo de opiáceos por sexo. Esta motivación sexual se restaura gradualmente por medio de una abstinencia de la droga ó bien con un tratamiento de antagonistas opiáceos (Greenberg, 1984).

A continuación se muestra una tabla tomada de Pfaus y Gorzalka (1986) en la que se resumen de una manera elegante los efectos de drogas opiáceas sobre la conducta sexual bajo diferentes condiciones de administración.

EFFECTOS DE OPIACEOS EN LA CONDUCTA SEXUAL HUMANA

DROGA	CONDICION DE ADMINISTRACION	CONDICION DE LOS SUJETOS	EFFECTO	OBSERVACIONES	REFERENCIAS
HOMBRES:					
Agonista Opiáceo. Laudanum (Tintura de opio).	Crónica	?	-	Pérdida del deseo sexual, pérdida de la capacidad para mantener y lograr erección. Anorgasmia.	Ashworth 1914 Coltman 1890 Guerra 1974 Happel 1892 Jones 1700 Pace 1892 Passover 1893 Wholey 1912
Heroína	Crónica	Adicto Heroína	-	Pérdida deseo sexual, pérdida capacidad para mantener y lograr erección, anorgasmia.	Bloom y Butcher 1970 Cushman 1972 De Leon y Wexler 1973 Greenberg 1984 Jones y Jones 1977 Mathis 1970 Smith y cols., 1982
		Sujetos en abstinencia de Heroína	-	Pérdida deseo sexual pérdida de capacidad lograr y mantener erección. Anorgasmia.	Jones y Jones 1977 Larner 1967
Metadona	Crónica	Adicto Heroína	+	Incremento capacidad para mantener y lograr erección.	Cushman 1972 Hanbury y cols., 1977. Jones y Jones 1977
		Abstinencia Heroína	-	Pérdida deseo sexual Interferencia con erección sexual.	Espejo y cols., 1973. Garbutt y Goldstein 1972

Fuente: Pfaus y Gorzalka (1986)

CONTINUACION

DRUGA	CONDICION DE ADMINISTRACION	CONDICION DE LOS SUJETOS	EFECTO	OBSERVACIONES	REFERENCIAS
INHIBIDOR DE ENCEFALINAS: Captopril	Crónica	Pacientes con migraña y dolores de cabeza	-	Pérdida de la libido.	Sicuteri y cols. 1983
ANTAGONISTAS OPIACEOS: Naloxona	Aguda	Pacientes no adictos	0	0-10 mg IV; Masturbación, sujeto único.	Goldstein y Hans-teen 1977
	Aguda	Pacientes no adictos	+	20 mg IV; Masturbación, incremento de la latencia de eyaculación; incremento del núm. de contracciones anales durante la eyaculación.	Graber y cols., 1984
		Adictos heroína	+	Reaparición de la libido; erecciones espontáneas del pene.	Hollister 1975
Naltrexona	Aguda	No-adictos	+	50 mg PO; erecciones espontáneas del pene.	Mendelson y cols., 1979
MUJERES: AGONISTAS OPIACEOS: Heroína	Crónica	Adictos Heroína	-	Pérdida de la libido, anorgasmia, amenorrea, anovulación.	Jones y Jones 1977. Wielund y cols., 1970 Weirof 1902

Fuente: Pfaus y Gorzalka (1986)

CONTINUACION

DROGA	CONDICION DE ADMINISTRACION	CONDICION DE LOS SUJETOS	EFECTO	OBSERVACIONES	REFERENCIAS
Metadona	Crónica	Adictos Heroína	+	Aumento libido. Reducción de la disfunción menstrual (amenorrea y falta de ovulación).	Wallach y cols., 1969 Wieland y cols., 1970
		Abstinencia Heroína	-	Pérdida de la libido.	Garbutt y Goldstein 1972
ANTAGONISTAS OPIACEOS:					
Naloxona	Aguda	No-adictos	+	0.4-2.0 mg IV; Masturbación; incremento del placer durante el orgasmo.	Gillman y Lichtigfeld 1983
		No-adictos	-	2.0 mg, IV; Masturbación; falta de motivación, decremento del placer durante el orgasmo.	Gillman y Lichtigfeld 1983

Fuente: Pfaus y Gorzalka (1986)

Como pudimos ver en los datos resumidos en las tablas, en cuanto a la categorización de los efectos de varios agonistas y antagonistas opiáceos sobre patrones de conducta sexual, se ha encontrado que agonistas opiáceos como morfina, heroína, metadona, DALA (D-ala²-met⁵-encefalinamida) y β -endorfina producen una inhibición confiable y específica de la conducta sexual a dosis en las que no produce una disrupción de la conducta motora. Sin embargo, se han encontrado los mismos resultados para los efectos de antagonistas opiáceos como naloxona y naltrexona. Esto ha hecho difícil asignar un rol al sistema opiáceo endógeno durante la conducta copulatoria. Sin embargo, evidencias preliminares nos muestran que hay una relación entre la actividad incrementada del sistema opioide endógeno y una inhibición ó disrupción de los patrones de conducta copulatoria, similar a el efecto de agonistas opiáceos administrados exógenamente. Además, la estimulación sexual produce analgesia en humanos y en animales de laboratorio. El uso prolongado de opiáceos parece producir una disrupción a largo plazo de la motivación y actividad sexual en humanos. Esta motivación sexual se restaura gradualmente, por medio de la abstinencia de la droga, ó bien con un tratamiento de antagonistas opiáceos.

A pesar de todo, nos resultaría difícil llegar a una conclusión, ya que como en muchas áreas del estudio de opiáceos, los resultados de las investigaciones no son contundentes y tampoco lo son en cuanto al área sexual ya que existen teorías, pero faltaría aún más investigación para poder llegar a afirmar algo en concreto.

CAPITULO 3. ENDORFINAS Y PSICOPATOLOGIA:

3.1 TRASTORNOS AFECTIVOS

Desde el descubrimiento de las endorfinas, los estudios e investigaciones tanto en animales como en humanos se han intensificado. Una de las razones ha sido la hipótesis de que en el humano pudieran existir algunas condiciones patológicas que involucren un sistema endorfinérgico fuera de balance (Terenius, 1982)

Algunas investigaciones de β -endorfina en desórdenes afectivos han utilizado un diseño simple-ciego con dosis de 1.8 y 9 mg de β -endorfina en pacientes deprimidos, de tal manera que los resultados han sido favorables, ya que se ha descrito una mejoría de la depresión. Sin embargo, el efecto ha tenido muy poca duración y desaparece durante las primeras horas después de la inyección (Berger y Barchas, 1983).

Por otro lado, Pickar, Naber y cols., (1982) observaron que en pacientes deprimidos la actividad opioide en líquido cefalorraquídeo se relacionaba significativamente con la excreción excesiva de cortisol. Un desorden de la excreción de cortisol en la orina es un hallazgo importante, ya que esto apoya una relación entre el eje hipotalámico-pituitario-adrenal y el sistema opioide; pero posiblemente, esto sucede únicamente bajo condiciones de estrés y desorden, sin embargo, no sabemos si este hallazgo se relaciona con factores causales ó es un epifenómeno de la depresión.

Berger y Barchas (1983) citan una serie de experimentos llevados a cabo en diferentes ciudades. Así los suizos Angst y cols. trataron 6 pacientes deprimidas hospitalizadas, dichas pacientes tuvieron una sintomatología estable durante 8 días. Cada paciente recibió 1.0 mg de β -endorfina en una dosis única inyectada por vía

intravenosa lentamente por 5 mins. Cuatro de las pacientes tenían depresión bipolar, mientras que dos pacientes tenían depresión unipolar. A todos se les retiraron los antidepresivos los últimos 3 días antes de la investigación. En 3 de las 6 pacientes se observó un cambio a hipomanía ó manía durante ó después del estudio. En un caso, una paciente bipolar, el cambio parece haber sido inducido por privación de sueño provocada por la supresión del sedante hipnótico que usaba antes del estudio y no al tratamiento. Esta paciente exhibió hipomanía disfórica por pocos días después remitió.

En el segundo caso una paciente depresiva unipolar desarrolló una hipomanía en la tarde después de la inyección de β -endorfina, seguido esto por una recaída a la depresión anterior. La tercera paciente tenía una depresión bipolar, cambió a un episodio maníaco un día después del estudio. Este episodio maníaco fue severo y requirió tratamiento con haloperidol por varias semanas. En general, Angst y cols. (1983) concluyeron que el cambio a la hipomanía ó manía observado es interesante, pero no debe sobreinterpretarse, ya que estos autores creen que factores como falta de sueño la noche anterior al experimento, suspensión de medicamentos y el estrés provocado por el estudio pudieron haber provocado cambios en el estado psiquiátrico.

En otro estudio citado por Berger y Barchas (1983), Gerner y cols. hicieron un estudio doble ciego con placebo y una infusión de β -endorfina que fue dada a 10 pacientes deprimidos. La condición de estos pacientes fue descrita como significativamente mejor de 2 a 4 horas después de la infusión de β -endorfina cuando se comparó con el grupo placebo. Los investigadores describen un efecto típico de la β -endorfina, en el que hay un decremento del retardo psicomotor, incremento de la integración social y menor contenido depresivo en sus conversaciones, estos efectos positivos disminuyeron durante el día siguiente a la infusión. Concluyen que nin-

gún paciente mostró mejoría a largo plazo.

Por otra parte, Pickar y cols. dieron de 4 a 15 mg de β -endorfina a 4 pacientes deprimidos en un estudio doble ciego con placebo. A uno de los pacientes se le dieron 10 mg de β -endorfina, 5 mg de metadona y placebo. Este paciente mostró estimulación de prolactina y decremento de cortisol en respuesta a la β -endorfina y metadona, pero no la respuesta placebo. Sin embargo, el efecto de la β -endorfina en la prolactina y el cortisol fue menos prolongado que la respuesta a la metadona. Al comparar los estudios, los resultados finales del placebo y la β -endorfina indicaron que la β -endorfina no causa cambios conductuales significativos en pacientes deprimidos. En esta investigación en contraposición a la anterior, no se encontró ni siquiera una mejoría transitoria.

Terenius (1982) investigó las anormalidades en la homeostasis de endorfinas en el líquido cefalorraquídeo y encontró que en la depresión hubo casos donde los niveles eran muy altos y otros muy bajos, aunque el primer caso era predominante.

Hasta el momento, hemos hablado extensamente de la β -endorfina, pero que hay acerca de los antagonistas opiáceos. En un estudio piloto Terenius y cols., (1977) aplicaron inyecciones múltiples de naloxona en 5 pacientes con depresión endógena, los resultados indican que dos de los pacientes empeoraron después del tratamiento. Lo cual es predecible si asociamos la depresión con niveles altos de endorfinas. Sin embargo, esto es solamente una hipótesis, ya que requeriríamos de estudios con mayor número de sujetos y de mayor profundidad.

En general, después de esta revisión podemos observar que los efectos de la β -endorfina en pacientes deprimidos no han sido consistentes, pero al parecer, hay evidencia de efectos positivos

al aplicar una dosis única.

Los resultados nos intrigan y una interpretación de éstos no es fácil. Los niveles observados pueden ser al principio de la enfermedad, pero pueden ser también un fenómeno secundario debido al mal funcionamiento de otros sistemas. Sin embargo, podría ser posible que ciertos aspectos de los cambios patológicos del humor ó del contenido del pensamiento, característicos de la depresión puedan estar mediadas por cambios en la homeóstasis de las endorfinas.

En vista de estos datos contradictorios ha habido un decremento en el interés por el estudio de las endorfinas y los trastornos afectivos por lo cual es difícil encontrar referencias recientes.

3.2 ESQUIZOFRENIA

La esquizofrenia, una de las enfermedades más desorganizantes, desintegrantes y crónicas, representa una entidad nosológica a la cual se han atribuido infinidad de factores etiológicos.

Entre estos factores tenemos la suposición de que la esquizofrenia tiene su raíz en una compleja interacción entre neurotransmisores, el medio psicosociocultural, factores hereditarios, postnatales y perinatales y factores patofisiológicos, entre otros.

Así, desde los tiempos de Kraepelin y Bleuler, (1986), esta misteriosa enfermedad ha inquietado tanto a clínicos como investigadores. Desde hace algunas décadas se ha intentado buscar algún componente biológico de esta enfermedad. Un primer intento para explicar la esquizofrenia se hizo en 1963 por Carlsson y Lindqvist's. Estos autores proponían que posiblemente existía un aumento en la actividad dopaminérgica cerebral.

Kaplan, Freedman y cols. (1980) resumen los estudios de casi una década. Estos autores hablan de gran cantidad de neurotransmisores implicados entre los factores que podrían jugar algún papel en esta enfermedad. Sin embargo, para efectos de esta tesis se proponen tres hipótesis alternativas acerca de la relación entre Dopamina y Esquizofrenia:

- 1) Pudiera existir mayor cantidad de dopamina presente en las sinapsis del sistema dopaminérgico.
- 2) Los receptores post-sinápticos presentan hipersensibilidad a dopamina.
- 3) Existe un desequilibrio entre las interacciones entre 3 neurotransmisores; acetilcolina, dopamina y GABA (ácido

gamma-aminobutírico), debido a un desorden de la acción excitatoria e inhibitoria de dopamina y GABA.

La evidencia para estas tres hipótesis, en general, se deriva de experimentos farmacológicos con anfetaminas y drogas antipsicóticas. En estos experimentos se ha intentado bloquear preferentemente receptores dopaminérgicos, de tal forma que, se cree que este bloqueo de los receptores dopaminérgicos en el área del mesolímbico es el responsable de las propiedades antipsicóticas de estas drogas. Así el postulado de un aumento en la dopamina en terminales nerviosas, se puede explicar por un decremento en la conversión de dopamina a norepinefrina por una enzima, si hay una disminución de esta enzima, entonces vamos a tener un aumento de dopamina.

Wise y Stein (1973) midieron la actividad de esta enzima (dopamina - β -hidroxilasa) en el diencéfalo e hipocampo de pacientes esquizofrénicos después de tres horas de muertos. Encontraron que la actividad de la enzima era baja, lo cual, indicaría que podría existir dopamina en gran cantidad; sin embargo, estos experimentos no pudieron ser confirmados por Wyatt y cols. (1975).

Así también, agentes que aumentan las cantidades de catecolaminas en el cerebro incrementan los síntomas psicóticos. La L-dopa, precursor de dopamina, norepinefrina y epinefrina provoca ésto. Sin embargo, la exacerbación de los síntomas psicóticos no es específica de la esquizofrenia, ya que, los síntomas empeoran también en maníacos, deprimidos y esquizofrénicos (Murphy, 1972).

Otra aproximación para probar la primera hipótesis es medir los metabolitos de dopamina en líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos. Uno de los metabolitos es el ácido homovanílico

(HVA) que sale del espacio subaracnoideo. La probenacida es una sustancia que provoca que el ácido homovanílico no escape del líquido cerebroespinal, para de esta forma cuantificar el metabolismo. Bowers (1974) encontró que los niveles de HVA en líquido cerebroespinal eran significativamente más bajos en pacientes esquizofrénicos no medicados que en pacientes con psicosis afectiva. Los niveles más bajos de HVA se encontraron en esquizofrénicos con muy mal pronóstico. Estos resultados no confirman el hecho de que se libere un exceso de DA (dopamina) y que esta se use en las sinapsis de los cerebros de pacientes esquizofrénicos. Bowers (1974) dice que estos resultados se pueden interpretar como los receptores de DA no son sensibles a pequeñas cantidades de DA. Sin embargo, el problema de éstos es que los niveles de HVA reflejan un número de variables que no se han controlado en estos estudios y que muy posiblemente el hecho de tomar en cuenta un solo factor, tenga muy poco que ver con la patogénesis de la esquizofrenia en sí.

Por otro lado, Spector (1980) dice que si los opiodes endógenos están implicados en la enfermedad mental, puede deberse a una alteración del receptor opiáceo, ya que puede haber una serie de cambios en el número de receptores debido a alteraciones en la tasa de síntesis y degradación; también se podría especular que, las células que contienen receptores opiáceos los pierdan. Es sabido que las neuronas se pueden destruir con químicos, 6-Hidroxi-dopamina y ácido kaínico, así que es posible que algunas enfermedades degenerativas sean el resultado de errores metabólicos que a su vez son resultado de una acumulación de sustancias neurotóxicas para los receptores opioides, de tal manera que, en la esquizofrenia los receptores post-sinápticos pudieran presentar una hipersensibilidad a DA, debido a algún desorden receptor.

Existe información que apoya una tolerancia del receptor pa-

ra llevar a cabo la respuesta y evidencia de que, aunque el receptor opiáceo sea específico, éste modifique de tal forma, que se lleven a cabo reacciones cruzadas entre otros péptidos cerebrales y el receptor (Spector, 1980).

La tercera hipótesis se explicaría con base en, que el sistema nigroestriado y la DA interactúa con otros tres neurotransmisores por lo menos (acetilcolina, GABA y glutamato). Se sugiere que hay un trastorno de la regulación entre estas tres sustancias presente en la esquizofrenia (Janowsky y cols. 1973).

En general se considera que el concepto de un desorden en la regulación de varias sustancias en su interacción es más satisfactorio que el concepto de incrementos y decrementos de una sola sustancia; sin embargo, el papel de las catecolaminas y sus productos y otros supuestos neurotransmisores en la esquizofrenia queda aún sin respuesta.

En la búsqueda por resolver este complejo problema, los investigadores han intentado encontrar una relación entre las endorfinas y los desórdenes psicopatológicos, en particular, la esquizofrenia.

En general, los hallazgos encontrados hacen suponer que existe un mal funcionamiento del sistema endorfinérgico, debido probablemente, a un exceso de actividad. Se ha encontrado, por ejemplo, que un gran número de pacientes esquizofrénicos tiene aumentado el nivel de endorfinas en el líquido cerebroespinal (Terenius y cols. 1976; Lindstrom y cols., 1980). En estos estudios se encontró que pacientes esquizofrénicos agudos tuvieron un marcado aumento del nivel de endorfinas, mientras que, los esquizofrénicos crónicos, sólo tuvieron un nivel por encima de lo normal. Así mismo, Pickar

y cols., 1982, encontraron que un exceso de actividad opioide contribuye muy específicamente con la esquizofrenia y la sintomatología maniaca. El tratamiento con neurolépticos disminuye significativamente el nivel de endorfinas en esquizofrénicos agudos. Sin embargo, cabe hacer notar que esta actividad anormal de los opiáceos no es exclusiva de los pacientes esquizofrénicos, ya que también se ha encontrado un aumento de los niveles de endorfinas en la psicosis maniaco-depresiva, particularmente en su fase maniaca (Terenius y cols., 1976; Lindstrom y cols., 1978; Naber y cols., 1981).

A pesar de que los niveles de endorfinas son muy altos en algunos casos, también existen casos donde los niveles tienden a la normalidad ó a niveles subnormales. Ciertamente, no hay correlación absoluta entre los niveles de endorfinas encontrados en líquido cefaloraquídeo y la esquizofrenia. Wagemaker y Cade (1977) reportaron que tratamientos repetidos con hemodiálisis incrementan los síntomas esquizofrénicos. Se cree que el efecto terapéutico depende del procedimiento de diálisis, ya que cuando se detiene temporalmente, se observa una mejoría y el efecto terapéutico se reinstala reasumiendo la diálisis. Los autores (Wagemaker y Cade, 1977) especulan que la hemodiálisis remueve una sustancia del torrente sanguíneo y que esta sustancia no la eliminan normalmente los riñones. También se ha reportado el aislamiento, en grandes cantidades, de un componente parecido a las endorfinas encontrado en los pacientes tratados por Wagemaker. La sustancia ha sido identificada tentativamente como leu-5- β -endorfina (Palmer y cols., 1979; Cox y cols., 1979). Aparentemente, se podría asegurar que la sustancia aislada previamente y la leu-5- β -endorfina son la misma, porque sus propiedades cromográficas, electro-fisiológicas y sus efectos conductuales son similares. Sin embargo, estas observaciones no han sido confirmadas por ningún otro estudio (Lewis, Gerber,

Stein y cols., 1979). Por otro lado, si se confirmara alguno de estos hallazgos darían mayor fuerza a la hipótesis endorfinérgica de la esquizofrenia. Por otro lado, la leu-5- β -endorfina no ha sido relacionado a fuentes naturales, de tal manera que, se supone que sería otra posibilidad (Gunne y cols., 1977).

Una interpretación de los resultados no es fácil, los niveles anormales observados pueden ser a principio de la enfermedad, pero pueden ser también un fenómeno secundario debido supuestamente, al mal funcionamiento en otros sistemas. Sin embargo, podría ser que ciertos aspectos de los cambios patológicos del estado de ánimo ó del contenido del pensamiento, que son características de esta enfermedad, puedan estar mediadas por cambios en la homeóstasis de las endorfinas (Terenius, 1982).

Hace algún tiempo, Van Ree y De Wied (1981), propusieron una hipótesis sobre la etiología de la esquizofrenia basada en lo siguiente; en condiciones normales la β -endorfina es convertida por el tejido cerebral en γ -endorfina y subsecuentemente en des-tyr- α endorfina (DT α E) ó en α -endorfina y des-tyr- α -endorfina (DT α E), dependiendo de la actividad de diferentes enzimas. Así mismo por ejemplo, la deficiencia de α -endorfina puede ser causada por diferentes mecanismos y puede conducir a una perturbación en la homeostásis de la β -endorfina. Suponiendo que la generación de γ -endorfina ó uno de sus fragmentos sea el marcador límite para la neurotransmisión de β -endorfina, un nivel disminuído de γ -endorfina podría resultar en una excesiva producción de β -endorfina. Grandes cantidades de esta endorfina pueden producir síntomas cattónicos. Un exceso de α -endorfina podría relacionarse con la esquizofrenia paranoide, puesto que estos péptidos inducen efectos en animales que son en algunos aspectos comparables a los producidos por anfetamina (Van Ree y cols., 1980). Así también esta amina pue

de desencadenar y exagerar la esquizofrenia paranoide (Meltzer y Stahl, 1976).

En síntesis, Van Ree y De Wied (1981), proponen que el balance entre α , β y γ -endorfinas, es fisiológicamente importante para la función cerebral y un desbalance puede ocasionar la psicopatología de la esquizofrenia. Este mismo autor da un enfoque más amplio y completo a su hipótesis y la relaciona con la antigua hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia. Esta nueva hipótesis propone que las endorfinas γ actúan como moduladores en la liberación de dopamina cerebral. Así, existe la suposición de que la esquizofrenia está asociada con un incremento de la actividad dopaminérgica en estructuras cerebrales específicas, como el núcleo acumbens (Meltzer y Stahl, 1976; Crow, 1979). En este sentido, se ha visto que la γ -endorfina interviene con el sistema dopaminérgico en el núcleo acumbens mediando la hipomotilidad. Este sistema puede estar localizado presinápticamente en neuronas dopaminérgicas (Van Ree y Wolterink, 1981). De hecho, el tratamiento crónico con des-en-cefalina- γ -endorfina (DE γ E) inyectado en el núcleo acumbens conduce a hipoactividad y el tratamiento crónico con antisuero de γ -endorfina a hiperactividad. Así, las γ -endorfinas que están en este núcleo (Dorsa y cols., 1981), pueden modular la actividad de cierto sistema dopaminérgico en esta región. Una deficiencia de γ -endorfina puede resultar en una liberación sostenida de dopamina en las neuronas equipadas con sistemas receptores dopaminérgicos sensitivos a endorfinas tipo γ , y en consecuencia se presentarían los síntomas característicos de la esquizofrenia.

A continuación se hablará de lo encontrado con antagonistas opiáceos. Uno de los compuestos más populares es la naloxona, este compuesto antagoniza los efectos producidos por opiáceos, por esta razón ha sido extensamente usado en estudios para comprobar al-

gunas hipótesis. El primer estudio en el que se administró naloxona a pacientes esquizofrénicos fue hecho por Gunne, Lindstrom y Terenius, (1977). Se encontró que una dosis intravenosa de 0.4 mg de naloxona redujo los síntomas psicóticos, particularmente las alucinaciones auditivas en 4 de 6 pacientes esquizofrénicos crónicos. A este estudio siguieron por lo menos 15 más, en los que un total de 200 esquizofrénicos fueron tratados con una dosis única intravenosa de naloxona (0.4 a 20 mg), recibieron un tratamiento con naltrexona (50 - 80 mg diariamente), durante 1 a 3 semanas (Terenius, 1978; Davis y cols., 1979) En general, se encontró que hubo una reducción de los síntomas psicóticos, en particular, de alucinaciones auditivas, que duró hasta 7 horas después de la inyección en un 30 por ciento de los pacientes. Así se puede decir, que el bloqueo de receptores opiáceos está asociado con un decremento en alucinaciones auditivas en un subgrupo de pacientes esquizofrénicos sensibles a la naloxona. A partir de estos hallazgos se han hecho otros experimentos con naloxona en esquizofrenia, tomando las alucinaciones y otros cambios como síntomas básicos. A continuación se muestra un cuadro tomado de Terenius (1982), dicho cuadro señala los resultados obtenidos con diferentes dosis de naloxona. La mayor parte de los estudios fueron doble ciego con pacientes esquizofrénicos crónicos.

CUADRO 1: NALOXONA EN DISTINTAS DOSIS, ADMINISTRADA A PACIENTES ESQUIZOFRENICOS CRONICOS

SERIES	DOSIS (mg)	# PACIENTES/MEJORIA # TOTAL DE PACIENTES	REFERENCIAS
1	0.4	4/6	GUNNE, L.M. & TEREINIUS 1977
2	0.4	0/7	VOLAVKA, J.; MALLYA, BAIG & PEREZ CRUET, 1977
3	0.4-10	0 ^a /14	DAVIS, G.C.; BUNNEY W. E. JR. & E.G. DE FRAITES, 1977
4	1.2	0/8	JANOWSKY, D.S.; B. S. SEGAL; A. ABRAMS; F. BLOOM & R. GUILLEMIN; 1977
5	0.4-1.2	0/12	KURLAND, A.A.; L. McCABE; T.E. HANLON & D. SULLIVAN, 1977
6	4.0	12/20	ENRICK, H.M.; C. CORDING; S. PIREE; A. KOLLING; D.V. ZERSSEN & A. HERZ, 1977
7	10	6/9	BERGER, P.A.; S.J. WATSON; H. AKIL & J. D. BARCHAS, 1979
8	25	7/12	ENRICK, H.M.; C. CORDING; S. PIREE; A. KOLLING, H.; J. MOLLER; D.V. ZERSSEN & A. HERZ 1979
9	0.8	1/10	GUNNE, L.M.; L. LINS-TRON & E. WIDERLOV; 1979
10	0.4	1/1	ORR, M. & OPPENHEIMER 1978
11	10	5/6	LEHMANN, H.; N. P. V. NAIR & N. S. KLINE; 1979

^a Algunos pacientes reportaron contenido del pensamiento raro.

Fuente: Terenius (1982)

En relación al cuadro anterior, se muestra que tres de los grupos de investigadores fueron incapaces de duplicar resultados y reportaron hallazgos totalmente negativos. El grupo de Davis y cols., 1977, reportan datos negativos a pesar de que algunos de los pacientes reportaron pensamientos extraños. Finalmente 5 grupos de investigadores reportaron resultados positivos. En total el cuadro cubre un total de 104 pacientes que han recibido una ó más inyecciones de naloxona, y en 36 casos hubo una respuesta apoyando la hipótesis endorfinérgica. Sin embargo debe hacerse notar que en algunos pacientes la dosis total de naloxona fue bastante considerable para que hubiera resultados observables.

El hecho de que las endorfinas estén involucradas en la expresión de ciertos síntomas de la esquizofrenia, aún permanece obscuro. El uso de un componente de acción parenteral como la naloxona, con una vida media en plasma de menos de una hora, pone en graves problemas metodológicos al experimentador. La experiencia farmacológica previa en la clínica ha sido el uso de algunos componentes como drogas antipsicóticas de larga duración dados crónicamente durante semanas. Lo cual es una variable incontrolable en la mayoría de los estudios; ya que la medicación antipsicótica anterior muy probablemente obscurece los efectos terapéuticos.

Por otro lado, también es posible que la esquizofrenia sea el nombre colectivo para entidades patológicas cualitativamente diferentes con exposiciones similares, por tanto, es de esperarse que la naloxona sea efectiva en un subgrupo específico únicamente. Además, como opinan Snyder y cols. 1974, cada investigador tiende a apoyar una causa específica de la enfermedad.

CAPITULO 4: ESTUDIOS EN ANIMALES

4.1 RELEVANCIA DE ESTUDIOS EN ANIMALES

El investigador de la conducta animal se debe esforzar por hacer que adelanten nuestros conocimientos de los principios conductuales básicos, ó contribuir al mejoramiento de la salud y bienestar humanos. Al perseguir estos fines, el investigador se debe asegurar del bienestar de los animales y tratarlos humanitariamente. Así, existen muchos fenómenos que permanecieron inaccesibles al ojo observador del científico. Primero, en algunos casos, debido a la falta de instrumentos y de tecnología y por otro lado, debido a factores éticos, ya que por consenso ético, el efecto de cualquier droga se prueba en animales para posteriormente hacerlo en humanos bajo una estricta observación. De ahí, la gran importancia de los experimentos llevados a cabo en animales de laboratorio en las diversas líneas de investigación. Así, mucho ha sido el avance de la ciencia al poder estudiar dichos fenómenos que seguirían siendo inabordables sin poder echar mano de estos animales que sin saberlo contribuyen con mucho al avance científico y al mejoramiento de la salud y bienestar humanos.

4.2 MECANISMOS DE REFORZAMIENTO

Algunas drogas como los opiáceos endógenos (encefalinas) y exógenos (morfina) pueden servir como reforzadores de conducta operante de la misma manera que los reforzadores convencionales agua y comida, (Bozarth, 1986). Algunos argumentan que el abuso de opiáceos depende en parte de sus propiedades reforzadoras (Goeders, Lane y Smith, 1984). Estudios con autoestimulación intracraneal proponen al sistema opiáceo como actor principal en el interjuego de este paradigma (Hall, Bloom y Olds, 1977). Una fuente

importante de evidencia viene de la demostración de que morfina sistémica facilita la conducta de autoestimulación intracraneal y de que naloxona bloquea este efecto (Esposito, McLean y Kornetsky, 1979; Kuhar, Pert y Snyder, 1973; Lorens y Sainati, 1978). Evidencia adicional deriva de la demostración de que morfina y encefalina aplicada en los ventrículos laterales asegura que la conducta de auto-administración se establezca. Este hallazgo se ha interpretado como que, tanto encefalina como morfina tienen propiedades reforzadoras (Olds, 1979). Por otro lado, Olds y Williams (1980) usaron un pentapéptido de larga duración, análogo de las encefalinas, DALA (D-ala²-metancefalinamida) en el hipotálamo lateral posterior para probar su hipótesis. Postulando que este pentapéptido ayuda al establecimiento de la autoestimulación intracraneal en ratas macho. Estos autores encuentran que las ratas aumentaron su tasa de respuesta (apretón de palanca) para por cada respuesta operante poder autoadministrarse DALA intracerebralmente. Además DALA a 1 y 5 ug/ul probó ser más reforzante que a 0.1 ug/ul. Naltrexona no bloqueó el efecto reforzante de DALA, mientras que naloxona (antagonista de los opiáceos) sí lo bloqueó. Sin embargo, las evidencias con naloxona son controversiales (Holtzman, 1976; Kooy, LePaine y Phillips, 1977; Lorens y Sainati, 1978) e investigadores reportan una supresión de la auto-estimulación con dosis bajas de esta sustancia dada sistemáticamente; pero otros argumentan que la supresión de la auto-estimulación intracraneal ocurre únicamente con dosis muy altas (Olds y Williams, 1980).

Goeders, Lane y Smith (1984) realizaron otro experimento con ratas se autoadministraban microinfusiones de DALA en el núcleo acumbens. La naturaleza reforzadora de esta autoadministración intracaneana se evaluó con un paradigma intermitente de reforzamiento y con un procedimiento de discriminación de 2 palancas, una activa y otra inactiva. Los resultados indican que la microinyección

intracraneal de met-enkefalina en el núcleo acumbens es reforzante y esto se concluye debido a la rápida adquisición de la respuesta operante (apretar la palanca). Se apoya la idea de que los receptores opiáceos son responsables de la iniciación de este estímulo reforzador desde el momento en que 1500 pmol de naloxona (antagonista de opiáceos) atenúa significativamente la autoadministración.

Estos datos sugieren que hay una mediación de opiáceos como reforzadores a través de las interacciones con receptores opiáceos. La hipótesis de que la dopamina es necesaria para la iniciación del proceso de reforzamiento es cuestionada (Goeders, Lane y Smith, 1984). Además de que se hipotetiza que los receptores opiáceos en el núcleo acumbens pueden estar involucrados en otros procesos de reforzamiento. Se ha observado que la liberación de enkefalina endógena en esta región del cerebro, podría iniciar eventos reforzantes. Los resultados de investigaciones demuestran que la activación de receptores opiáceos está asociada con cuerpos neuronales dopaminérgicos en el área ventral tegmental (Wise y Bozarth, 1984).

Dentro de esta misma línea, para estudiar propiedades motivacionales se han usado otros paradigmas. Uno de estos es, el de condicionamiento de aversión a los sabores y al lugar, con agonistas del receptor kappa, incluyendo (EKC, Tifluadorn y su isómero positivo U-50, 488, negativo Bremazocina y MR 2034) produciendo todos aversión (Mucha, Millan y Herz, 1985).

En cuanto al paradigma de preferencia de lugar, el procedimiento que se sigue es que, se colocan ratas con cierta droga o bien con solución salina, en cajas distintas, claramente diferenciables para las ratas, por un período de tiempo determinado; de tal manera que, tanto las drogas como los ambientes se presentan

alternadamente para que el animal quede expuesto a cada uno. El objetivo es que el animal asocie los efectos de la droga con el lugar (una caja determinada). Entonces se deja que el sujeto experimental escoja entre estas cajas distintas asociadas previamente con las características de la droga. Finalmente, se observa si dichas características son reforzantes ó aversivas. La morfina produjo aversión en algunas situaciones (Bechara y Vanderkooy, 1985; Bechara y Vanderkooy, 1985a; Mucha, Millan y Herz, 1985a); sin embargo, dosis más altas provocaron preferencias (Bechara y Vanderkooy, 1985). Anfetamina (Trujillo y cols. 1985), heroína (Schenk y cols. 1985) y leu-encefalina (Heinrichs y cols. 1985) también produjeron efectos preferenciales, pero los últimos dos solamente lo provocaron si las drogas se aparearon con el lado preferido de la caja inicialmente y no tuvieron efecto (Schenk y cols. 1985) ó bien propiedades aversivas. (Heinrichs y cols. 1985) si se apareaban con el lado no preferido inicialmente.

Como sucede también con otros paradigmas, las variables específicas manipuladas en los experimentos afectan en gran medida los resultados, por lo que las generalizaciones son difíciles. Por otro lado, podemos decir que en la mayor parte de los estudios con antagonistas (naloxona la mayoría de las veces) se reporta que los animales desarrollan aversiones al lugar apareado con dicho antagonista (Bechara y Vanderkooy, 1985; Mucha, Millan y Herz, 1985; Mucha, Millan y Herz, 1985a), excepto por la forma cuaternaria de naltrexona, la cual provocó características de reforzador positivo (Bechara y Vanderkooy, 1985a). Una variable importante que influenció el desarrollo de la preferencia de lugar fueron las condiciones de vivienda de los animales, ya que heroína no tuvo efecto en ratas que vivían en grupo y en ratas aisladas tuvo menos efecto si los animales habían sido aislados desde el nacimiento que si lo habían sido a los 120 días, cuando el sistema opioide es más maduro

(Schenk y cols. 1985).

En general, ambos paradigmas, el de preferencia de lugar ó el de aversión a los sabores, ofrecen ser una manera adecuada para el estudio de las propiedades de los péptidos opiáceos y sus antagonistas, pero necesitamos hacer interpretaciones cuidadosas acerca de los resultados, ya que las diversas condiciones experimentales y el uso de varias sustancias y drogas afectan los resultados de manera diferente.

4.3 LOCOMOCION

La actividad locomotora ó nivel de actividad general es una de las medidas más extensamente usadas para analizar la conducta de un animal (Swerdlow y cols. 1986). Farmacólogos, toxicólogos y científicos frecuentemente miden la actividad de un animal para poder elucidar algunos mecanismos de acción de las drogas diferenciar colonias de receptores y ver sus funciones en el sistema nervioso central.

El medir la actividad locomotora es una forma práctica y una medida objetiva para la observación conductual del efecto de una droga. En este caso veremos algunos estudios que reportan la capacidad de la actividad locomotora de modificarse con opiáceos y sus antagonistas. Las variables importantes en estos estudios son: la dosis, el tiempo, la vía de absorción, sitio de administración, tipo y especificidad de agonistas y antagonistas usados.

La morfina como buen antagonista opiáceo, se ha usado en numerosos estudios. Pese a esto, no podemos hacer generalizaciones acerca de sus efectos; ya que las condiciones experimentales influyen tremendamente los resultados. Los efectos de morfina administrada sistémicamente sobre la actividad locomotora espontánea de ratas ha sido bien caracterizada. Existe un componente estimulante

por un lado y uno depresor por otro, los cuales están relacionados con el tiempo y la dosis. Autores como Babbini y Davis, 1972; Ayyhan y Randrup, 1973; Buxbaum y cols. 1973; usando dosis de morfina desde bajas hasta moderadas (1.0-5.0 mg/kg) han observado una estimulación inicial de la actividad que dura de una a dos horas, seguido de niveles de actividad normal. Dosis más altas (10-40 mg/kg) producen efectos bifásicos: una depresión inicial de la actividad seguida de un periodo de hiperactividad locomotriz (Oka y Ho soya, 1976).

Domino y cols. 1976, encontraron que la duración del efecto depresor inicial se incrementa en función de la dosis de morfina. Smith y Meyer, (1985) encontraron que la morfina potenció la inmovilidad tónica y también la respuesta dorsal de inmovilidad en ratas; esta respuesta se inhibió con naltrexona. Estos autores concluyen que aunque los receptores opiáceos están involucrados en respuestas como la inmovilidad, el receptor no es esencial en su modulación.

Kavaliers y Ossenkopp (1985) han encontrado que la conducta motora en "campos magnéticos rotantes" interfirió con la actividad que se produce típicamente con morfina en ratones. Se ha visto que los efectos estimulantes y depresores de la morfina sobre la conducta locomotriz, se pueden antagonizar rápidamente con naloxona (antagonista de opiáceos), lo cual nos sugiere que ambos efectos están mediados por receptores opiáceos (Brady y Holtzman, 1981).

Por otro lado, en cuanto a opiáceos Galina y Amit (1985) encontraron que incrementaron la actividad locomotora en ratas administrados sistémicamente, en el área ventral tegmental (Moreau, Schmitt y Karli, 1985) ó en la sustancia nigra (Morelli y DiChiara 1985) y en ratones (Mickley, Stevens y Galbraith, 1985; Kavaliers

y Ossenkoop, 1985), en hamsters (Schnur, 1985) tuvo el típico efecto bifásico. No tuvo efecto en acociles y suprimió la actividad de embriones de pollo (Maderdrut y cols. 1985) y cuando se inyectaron en el núcleo acumbens de ratas tampoco tuvo efecto (Havemann y Kushinsky, 1985).

Opioides endógenos pentapéptidos como la met y leu-encefalinas se unen a receptores opiáceos que se localizan en zonas del SNC (sistema nervioso central) que también son sitios donde actúa la morfina (Adler, 1980) y de ahí su importancia en las investigaciones sobre opioides. Sin embargo, resultados obtenidos en términos de consistencia de datos con estos péptidos opioides dejan mucho que desear. Por ejemplo, DALA (D-ala²-met⁵-encefalinamida) incrementa la actividad locomotora cuando se administra en el área ventral tegmental (Kalivas, 1985) ó en el núcleo acumbens (Kalivas y Bronson, 1985), pero produce sedación y lentificación del movimiento en pollos (Nistico, Bagetta y DeSarro, 1985). Con DALA y sus análogos en el núcleo caudado, putamen y globo pálido, se produjeron rotaciones ipsiversivas, mientras que naltrexona y naloxona (antagonistas opiáceos) produjeron rotaciones contraversivas. Lo cual, podría indicar que los opiáceos en estas áreas ejercen algún tipo de control sobre el sistema motor (Geula y Asdourian, 1985).

DADL en el septum medial estimula la actividad, pero con una respuesta bifásica de hipoactividad y después hiperactividad si se inyecta en el núcleo acumbens (Havemann y Kuschinsky, 1985). Otras sustancias como la β -endorfina intraperitoneal (ip) produce hiper-motilidad (Yeshuda y Sheleff, 1985), pero si se administra intra cerebro-ventricularmente produce catalepsia y sedación (Itoh y Katsura, 1985; Nistico, Bagetta y DeSarro, 1985). A pesar de que la β -endorfina no tuvo efecto sobre la motilidad inducida por melato-

nina en núcleo acumbens, α y γ -endorfina la bloquearon, sugiriéndonos que la β -endorfina (10-16) trae la información esencial para el efecto (Gaffori y Van Ree, 1985).

Por otro lado, el agonista delta DPDPE, incrementó la respuesta de alerta en ratas, como lo hizo β -casomorfina y la Brema-zocinina (Bremazocine) (Morelli y DiChiara, 1985). El agonista kappa U-50, 488H decrementó la locomoción en algunos estudios (Kavali-ers, Hirst y Teskey, 1985; Ukai y Kameyama, 1985), la incrementó en otras (Morelli y DiChiara, 1985), con la dosis y vía de administración posiblemente afectando las diferencias. Uno de los péptidos más consistentes en cuanto a los resultados fue la dermorfina, produciendo catalepsia (Cervini, Rossi, Perseo y De Castiglione, 1985; Broccardo y cols., 1985; Parolaro y cols., 1985) ó sedación (Nistico, Bagetta y DeSarro, 1985) sin importar la vía de administración ni la especie del animal. La vagotomía no tuvo efecto en la supresión de la actividad (Parolaro y cols., 1985).

En cuanto a los antagonistas, también hemos encontrado en la literatura resultados inconsistentes, con diferencias entre las especies estudiadas y sistemas metodológicos distintos. Así Galina y Amit (1985); Schaefer y Michael (1985) y Zagon y McLaughlin (1985) encuentran que la naloxona y otros antagonistas opioides disminuyen la actividad locomotora espontánea de ratas. Lowy y cols., (1985) tienen resultados similares con naltrexona y hamsters como sujetos experimentales. Sin embargo, los antagonistas en formas cuaternarias no tuvieron efectos, indicando posiblemente un mecanismo central como mediador (Schaefer y Michael, 1985). Encontramos que la dosis es muy importante al administrar naltrexona crónicamente, ya que las dosis altas facilitaron la aparición de conducta motora espontánea y dosis bajas la inhibieron (Zagon y McLaughlin, 1985). Naloxona decrementó la actividad cuando se les

dió a ratas después de una inyección de solución salina, pero no si se administraba antes de la solución salina (Galina y Amit, 1985), sugiriendo ésto posibles efectos del estrés povocado por la inyección. Estos mismos autores encuentran un efecto temporal, con naloxona decrementando la locomoción en la primera hora e incrementándola en la segunda. Sin embargo, esto no se observó en un paradigma distinto, también con ratas, pero con el compuesto MIF-1 que es un antagonista endógeno (Yeshuda y Scheleff, 1985). En ratones, la naloxona no tuvo efecto excepto a dosis muy altas (Ukai y Kameyama, 1985), sin embargo, en otros reportes se encontró una lentificación de la conducta ambulatoria (Vickers y Paterson, 1985).

Los antagonistas, naloxona y naltrexona, no tuvieron efectos en hamsters (Lowy y cols., 1985; Schnur, 1985), en tigres (Billington y cols., 1985) y monos (Izquierdo y Dias, 1985); además hubo diferencias dependiendo de la estación del año en el venado de cola blanca, con una reducción de la locomoción espontánea con naltrexona en el invierno y un incremento en el verano y otoño (Plotka y cols., 1985), reflejando cambios en la conducta normal.

El efecto de los opiáceos sobre el funcionamiento del SNC, ha sido estudiado, como hemos visto, directamente sobre la conducta locomotora; pero también se ha registrado la actividad de una sola célula. La morfina y met-enkefalina, ambas deprimieron la actividad de las células del globo pálido de ratas, sin embargo, una pequeña porción de neuronas en esa zona se excitó, sugiriéndonos dos clases de receptores en el área (Frey y Huffman, 1985).

Basándonos en estos datos podemos ver que los antagonistas tienen poca consistencia y se ven influenciados por infinidad de variables como la especie, la estación del año, la dosis usada,

procedimientos en el experimento y manejo de los sujetos, únicamente por mencionar algunas de las variables; así, observamos lo difícil que sería llegar a hacer cualquier tipo de generalización acerca de lo que recientemente se ha demostrado del rol que juega el sistema opioide endógeno en la regulación de la actividad locomotora.

Un tópico sumamente importante como sustento de este trabajo es la interacción entre encefalina y dopamina. Así, por medio de técnicas de radioinmunoensayo y técnicas autoradiográficas se ha encontrado que los receptores opiáceos y las encefalinas endógenas están asociadas con las neuronas dopaminérgicas. Verbigracia, existen altas concentraciones de leu-encefalina y met-encefalina en regiones cerebrales que contienen cuerpos y terminales catecolaminérgicas. Particularmente, se han encontrado fibras que contienen encefalinas de moderada a alta densidad en el área ventral tegmental (AVT) y núcleo acumbens (Sar y cols., 1978; Wanskey y cols, 1980). El AVT, llamada también región A-10, contiene alta densidad de una variedad de estructuras límbicas, formando los sistemas dopaminérgicos mesocorticales (área medial prefrontal, corteza cingulada y entorrinal) y mesolímbicas (septum, tubérculo olfatorio, núcleo acumbens, complejo amigdalóide y corteza piriforme (Moore y Bloom, 1978). Dicho sistema mesolímbico tiene una función importante en la regulación de las conductas exploratorias y locomotora (Fink y Smith, 1980).

Estudios conductuales y bioquímicos han dado evidencias de que el sistema encefalinérgico puede influir la función de neuronas dopaminérgicas mesolímbicas. En este sentido, microinyecciones de morfina ó de DALA en el AVT del cerebro de rata producen un incremento en la actividad locomotora espontánea, parecida a la que

se observa después de provocar farmacológicamente la liberación de dopamina (con anfetamina) en mesolímbico (Joyce y cols., 1981; Broekamp y cols., 1979; Kelley y cols., 1980). Este efecto se antagoniza con inyecciones sistémicas de naloxona y haloperidol. Pert y Sivit (1977) observaron que la administración de morfina ó DALA en el núcleo acumbens produce un aumento en la actividad locomotora y este efecto se puede bloquear por una inyección sistémica de naloxona en núcleo acumbens ó bien, después de una lesión en las neuronas A-10 con 6OH-DA (6 hidroxidopamina). Además se han identificado receptores opiáceos con ^3H naloxona en las terminales dopaminérgicas en el núcleo acumbens (Pollard y cols., 1977). Por otra parte, Hong y cols., (1978) demostraron que la administración crónica de antagonistas de dopamina produce un aumento de met-enkefalina inmunoreactiva en el núcleo acumbens.

Así, estos datos nos harían suponer que los opiáceos ejercen una acción facilitadora sobre las neuronas dopaminérgicas. La manera como esto se lleva a cabo ha sido muy discutida y aún no está clara. Una hipótesis propuesta por Kuschinsky y Hornykiewicz (1974) hablaba de que la morfina tenía una acción desplazada, así la dopamina nueva sintetizada en los sitios de almacenamiento (vesículas) se desplaza a los sitios de catabolismo. Explican estos autores que dicho desplazamiento resulta de una deficiencia de la dopamina disponible para ser liberada en los receptores, dando catalepsia como correlato farmacológico y después un aumento en la síntesis de dopamina como una medida bioquímica compensativa. En síntesis, el papel que juega aquí la morfina es el de modulador de la liberación de dopamina, de una manera inhibitoria y el aumento en la síntesis de dopamina es solo su efecto secundario.

Pollard y cols., (1976b) proponen que la morfina ejerce su acción a nivel presináptico mediante la interacción con receptores

opiáceos localizados en las terminales dopaminérgicas del estriado.

Otra hipótesis propuesta (Nicolli y cols., 1980; Lee y cols. 1980) sugieren que las encefalinas no hacen sinapsis directa con cuerpos celulares dopaminérgicos, sino que ejercen su acción inhibiendo neuronas inhibitorias (probablemente gabaérgicas) que hacen sinapsis con las neuronas dopaminérgicas. Tal mecanismo se propone para explicar la excitación de las neuronas piramidales del hipocampo resultante de una inyección de encefalina (Dunwiddie y cols. 1980).

Por otro lado, recientemente se ha identificado al sistema mesolímbico, en particular al núcleo acumbens, como el responsable de la iniciación del movimiento y la locomoción (Carey, 1983; Johnels, 1982), mientras que el cuerpo estriado parece ser necesario en el control del tono muscular y la postura (Anden y Johnels, 1978; Barbeau, 1978; Havemann y cols., 1980). Así, se ha sugerido que la akinesia (inmovilidad total) podría depender de la liberación insuficiente de dopamina en el área mesolímbica y la rigidez y catalepsia podría ser provocada por la falta de transmisión en el área nigroestriada de estas vías dopaminérgicas (Johnels, 1982).

CAPITULO 5: TRABAJO DE INVESTIGACION

5.1 PLANTEAMIENTO E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA:

El motivo de nuestra atención es estudiar la posible relación entre encefalinas y dopamina en el núcleo acumbens con respecto a la locomoción de la rata. En este sentido, Kalivas y cols. (1983) reportan que microinyecciones de DALA (D-ala²-met⁵-encefalina), una encefalina resistente a la degradación, en el núcleo acumbens produjeron un aumento de la locomoción dosis-dependiente. Decidieron destruir el sistema dopaminérgico mesolímbico con 6-OHDA (6 hidroxidopamina) y no lograron bloquear la alta respuesta locomotora. Aplicaron neurolépticos en núcleo acumbens y tampoco hubo ningún decremento de la locomoción. Después vieron que la DALA aplicada en núcleo acumbens no alteraba los niveles de dopamina ni los de sus metabolitos. Con esto, concluyen que la hiperactividad conductual producida con DALA en núcleo acumbens es independiente de la dopamina mesolímbica, Swerdlow y cols., (1986) concuerdan con este hallazgo. En contraste con estos resultados, Kalivas y cols. (1983) encuentran que existe un sinérgismo entre dopamina y DALA. Esto implica que al inyectar dopamina 5 ug + DALA 5 ug en el núcleo acumbens, obtuvieron un efecto sinérgico sobre la locomoción. Por otro lado, Swerdlow y cols. (1985) encontraron que la naloxona (antagonista de opiáceos) va a contrarrestar las propiedades activadoras de la anfetamina (agonista de dopamina). Esto podría indicar que los opiáceos ejercen una influencia facilitadora sobre la síntesis y liberación dopaminérgica en núcleo acumbens. Así también Agmo y de Avila (1985) no encontraron ningún efecto al infundir DALA a diferentes dosis intracerebroventricularmente. Sin embargo, se encontró un efecto significativo sobre la locomoción al combinar DALA + anfetamina. Además que el efecto se antagonizaba con naloxona. Estos autores explican sus resultados

proponiendo una compleja relación entre dopamina, encefalina y GABA. Agmo y de Avila (1985) apoyados por Swerdlow en este mismo año proponen a los opiáceos como inhibidores de la salida gabaérgica del núcleo acumbens. Prueban esto aplicando en el núcleo acumbens, dopamina, anfetamina y heroína, atenuando sus efectos sobre la locomoción aplicando gabaérgicos en globo pálido ventral. Así mismo, Tarasco y cols., (1985) observaron que la naloxona inhibía la locomoción y que esta inhibición se podía bloquear con antagonistas gabaérgicos. lo cual indica que la acción de naloxona es la de potenciar la inhibición de la salida gabaérgica del núcleo acumbens.

Pese a los descubrimientos anteriores aún existen muchas dudas y controversias sobre la manera precisa como las encefalinas interactúan con otras drogas en el SNC. Así en el presente trabajo, estudiaremos los efectos de DALA (D-ala²-met⁵-encefalinamida) una met-encefalina resistente a la degradación. Y de un inhibidor de encefalinasa (Fosfo-Leu-Phe) solos ó en combinación con anfetamina y sus manifestaciones en la conducta motora de la rata. Con este propósito vamos a aumentar los niveles de dopamina aplicando anfetamina sistémica. Y los niveles de encefalina serán aumentados aplicando DALA e Inhibidor de encefalinasa respectivamente.

5.2 METODO

5.2.1 SUJETOS

Se utilizaron un total de 70 ratas macho de la cepa Wistar (200 y 310 g), de una colonia local, con libre acceso a agua y comida. Ubicadas individualmente en cajas de acrílico. Los sujetos fueron asignados al azar a 10 grupos de 6 a 8 sujetos cada uno y todos fueron implantados en el núcleo acumbens.

5.2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental de grupos paralelos, donde todos los grupos fueron observados inmediatamente después de la microinyección. Se midió la actividad locomotora durante las próximas dos horas y media a intervalos de 10 minutos cada animal. Se realizaron 3 experimentos y los grupos se distribuyeron de la siguiente manera:

EXPERIMIENTO	TRATAMIENTO
A	1) Salina intraacumbens 2) DALA 5 ug intraacumbens 3) DALA 10 ug intraacumbens 4) Inhibidor de encefalinasa 10 ug Intra 5) Inhibidor de encefalinasa 20 ug Intra
B	1) Anfetamina (ip) 40 min antes de la infusión + Salina intraacumbens 2) Anfetamina (ip) 40 min antes de la infusión + Inhibidor de encefalinasa 20 ug
C	1) Salina intraacumbens + Anfetamina (ip) simultánea a la infusión 2) DALA 5 ug + Anfetamina ip simultánea a la infusión

5.2.3 PROCEDIMIENTOS

Implantación Estereotáxica:

Como mencionamos antes, todas las ratas fueron implantadas bilateralmente en el núcleo acumbens, en un estereotáxico. Las cánulas guía median 1 cm de longitud y la medida era de 23 gauge. Las coordenadas fueron situadas 2 mm lateral a bregma y 3.2 anterior a esta misma. Estas coordenadas se realizaron verificando previamente que bregma estuviera 1 mm arriba de lamda. Finalmente, la cánula guía se descendió 1 mm por debajo de duramadre. Los taponos que cubrirían las cánulas guía se fabricaron con agujas dentales de 30 gauge. Las cánulas de inyección median 16.3 mm.

Para llevar a cabo la operación quirúrgica las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (Anestosal) 40 mg/kg complementada con éter. Después de la operación los animales tuvieron un período de recuperación de por lo menos 2 días antes del experimento.

Microinyección:

Se usaron microjeringas de 10 ul que se limpiaban previamente con alcohol y varios enjuagues de agua destilada. Después se llenaban con la droga correspondiente según era el caso. La velocidad de inyección intracerebral fue de 2 ul en 5 min permaneciendo 1 min más el microinyector dentro de la cánula guía para dejar que la sustancia se difundiera. Inmediatamente después se procedió a medir la actividad locomotora de la rata.

Actividad Locomotora:

Esta actividad se cuantificó en una caja circular de 60 cm de diámetro con paredes de 37.5 cm de altura, 2.5 cm arriba

ba del piso de malla de alambre están colocadas 6 fotoceldas cubiertas con filtros infrarrojos. La actividad de la rata se refleja como interrupciones del rayo, que son registradas por un contador colocado fuera del cuarto de observación. Después de que los animales han sido microinyectados, la observación conductual se lleva a cabo por las próximas 2 h 30 min después de la infusión. Este procedimiento se sigue con cada animal y la observación es individual.

Cuando el experimento concluyó, cada animal se decapitó, se extrajo el cerebro y se colocó en formol al 10%, para después de una semana, lavando previamente cada pieza con agua corriente, realizar cortes entre 50 y 100 micras con microtomo. Posteriormente, se montaron los cortes en portaobjetos, preparados previamente con gelatina, para que los cortes puedan permanecer adheridos a este. Se dejaron secar 24 h antes de teñir. Después se realizó una tinción con violeta de cresil al 1 en 100 ml de agua destilada. Se colocaron los cubreobjetos los cuales se pegaron con resina Sigma preparada y se observaron los cortes al microscopio. Se eliminaron los sujetos que mostraban hemorragias graves, ó que no estaban lesionados en núcleo acumbens.

5.2.4 DROGAS

Se utilizaron las siguientes sustancias:

1) DALA (D-ala² met⁵encefalinamida) (Sigma chemical Co., St. Louis, Mo.) Se disolvió en suero fisiológico inmediatamente antes de usarse y se microinyectaron intraacumbens 2 ul en 5 min. Durante la inyección los animales fueron detenidos manualmente. La DALA es una metencefalina resistente a la degradación por lo que hace su manipulación experimental sea más

accesible que otras encefalinas que se metabolizan muy rápidamente. La DALA fue usada sola ó en combinación con anfetamina intraperitoneal.

2) Fosforil-leucina-fenilalanina (Fosfo-leu-fé), sintetizado por el Dr. Salom Blumberg en el Instituto Weizmann en Rehovot Israel. El Fosfo-leu-fé es un inhibidor de encefalinasa y su supuesta función es incrementar los niveles de encefalina en el espacio sináptico. Este inhibidor de encefalinasa es aproximadamente 10 veces más potente que el tiorfano. Ha sido poco usado y es capaz de potenciar los efectos analgésicos de DALA (Alstein y cols., - 1982).

Este inhibidor se diluyó en suero fisiológico para inyectarlo a concentraciones distintas (10 y 20 ug). Fue usado solo ó en combinación con anfetamina intraperitoneal.

3) Sulfato de D-anfetamina (Anfetamina) (Sigma, chemical, Co. St. Louis, Mo.). Se disolvió en suero fisiológico y se inyectó intraperitonealmente (ip) en un volumen de 1 ml/kg, 40 min antes de la infusión cuando se usó en combinación con inhibidor de encefalinasa. Cuando se usó en combinación con DALA, se siguió el mismo procedimiento, solo que se inyectó anfetamina intraperitoneal al simultánea a la infusión intracerebral.

5.2.5 ANALISIS ESTADISTICO:

Para efectos del análisis estadístico se sumaron los intervalos en bloques de 2, de tal manera que cada bloque representa la actividad durante 20 min. En virtud de que las varianzas no fueron homogéneas según la prueba de Bartlett se procedió a hacer una transformación logarítmica de todos los datos. Para

este fin se usó logaritmo naperiano (natural). Se realizaron varios análisis de varianza de la siguiente manera: las 2 dosis de DALA se compararon con el control con un ANOVA 3x7 con medidas repetidas en un factor (bloques). Además del análisis están dar se analizaron los efectos principales simples en cada bloque. En caso de significancia se compararon los grupos tratados con DA LA con el control utilizando las pruebas Newman-Keuls. Los tres gru pos tratados con inhibidor de encefalinasa y el grupo tratado con salina, se compararon con un ANOVA 4x7 y los análisis posteriores fueron iguales a los descritos arriba. Para evaluar los efectos tanto de DALA como de inhibidor de encefalinasa después del trata miento con anfetamina se hicieron ANOVAS 2x7. Como no había más de dos grupos no se requirieron análisis posteriores con la prue ba Newman-Keuls.

Para el análisis de la distribución temporal de la activi dad locomotriz durante la sesión dentro de cada grupo, se compara ron los bloques adyacentes con un ANOVA. Esto es, la actividad du rante el bloque 1 se comparó con la del bloque 2 y la actividad durante el bloque 2 se comparó con la actividad durante el bloque 3 y así sucesivamente.

Algunas de las sustancias administradas a las ratas pudie sen tener un efecto menor a la duración de la sesión experimental. Para detectar efectos de esta naturaleza no es suficiente reali zar un ANOVA global. Este por un lado, evalúa las diferencias de los grupos en cuanto a actividad total de la sesión y por otro la do, el cambio de actividad entre bloques sin tomar en cuenta el tratamiento. Así mismo, la interacción entre los factores trata miento y bloque no es suficientemente sensible para detectar cam bios pequeños y totalmente inadecuado para detectar su localiza ción en el tiempo.

Para el análisis de la actividad locomotora total durante los 250 minutos se usó un análisis de varianza de un factor.

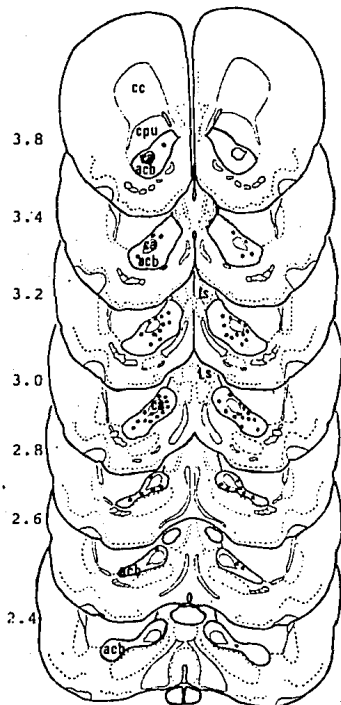


Fig. 1 Sitios de infusión:

Fig. 1 Sitios de infusión:

En virtud de que no hubo diferencias entre los grupos todos los sujetos de todos los experimentos se presentan en la misma figura. ACB, Núcleo acumbens; CA, comisura anterior; CC, cuerpo calloso; CPU, núcleo caudado; LS, septum lateral. Los números a la izquierda de la figura indican la distancia de bregma en milímetros (Pellegrino y Cushman, 1967).

5.3 RESULTADOS

5.3.1. Localización de la implantación:

En la Fig. 1 se pueden apreciar los sitios de infusión. La mayoría de los sitios se localizaron en el núcleo acumbens medial y muy pocos en la parte anterior y posterior. No hubo diferencias sistemáticas en los sitios de infusión entre los grupos por lo que la figura ilustra todos los sujetos.

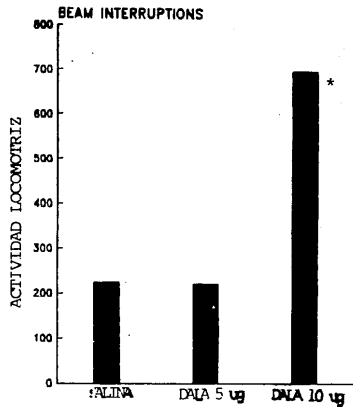
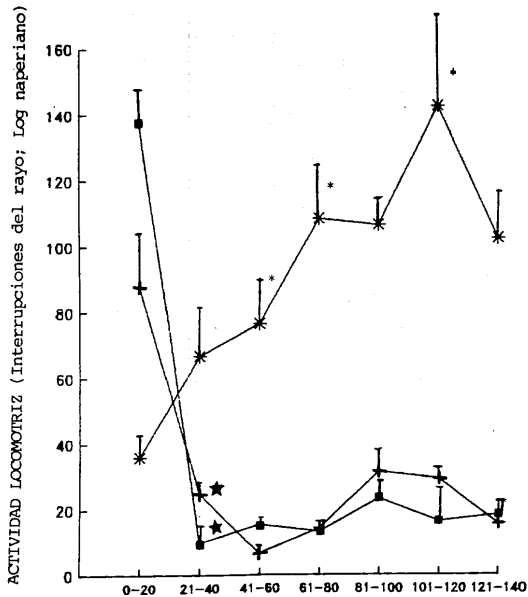


Fig. 2 Efectos de DALA sobre la actividad locomotora de la rata. Los datos son medias \pm Error estándar. +, Salina, N=8; ■, DALA 5 ug, N=6; * DALA 10 ug, N=6. *, diferente de salina, $p < .05$. ★, diferente del bloque anterior.

5.3.2 Efectos de DALA sobre la actividad locomotora.

El ANOVA demostró que había diferencias entre grupos; $F(2,102) = 7.65, p = 0.004$, y entre bloques, $F(6,102) = 3.48, p = 0.004$, así como una interacción grupo por bloque, $F(12,102) = 3.04, p = 0.001$. Al analizar los efectos principales simples en cada bloque se encontró una diferencia significativa en todos los bloques con excepción de los 2 primeros. bloque 1, $F(2,102) = 1.98, NS$; Bloque 2; $F(2,102) = 1.15, NS$; Bloque 3, $F(2,102) = -3.60, p = 0.03$; Bloque 4; $F(2,102) = 5.33, p = 0.006$; Bloque 5, $F(2,102) = 5.55, p = 0.005$; Bloque 6, $F(2,102) = 7.70, p = 0.001$; Bloque 7, $F(2,102) = 7.01, p = 0.002$. En los grupos tratados con salina y DALA 5ug hubo una reducción en la actividad entre el bloque 1 y 2. (Salina $F(1,7) = 49.116, p = 0.001$; DALA 5ug, $F(1,5) = 11.639, p = 0.019$). No hubo diferencia entre los demás bloques - en ninguno de estos dos grupos.

En el grupo tratado con DALA 10ug ninguno de los bloques fue diferente del bloque anterior. Esto implica que los sujetos tratados con DALA 5ug demostraban una distribución temporal de actividad locomotriz idéntica a los sujetos tratados con salina. Lo característico de estos sujetos fue una actividad intensa en el primer bloque seguida de una actividad baja y estable en los demás bloques. Al contrario, los sujetos tratados con DALA 10 ug demostraron una actividad inicial relativamente baja, pero conforme avanzaba la sesión aumentaba paulatinamente su nivel de actividad. En el último bloque se observó una pequeña reducción que probablemente corresponde al desvanecimiento del efecto de la droga.

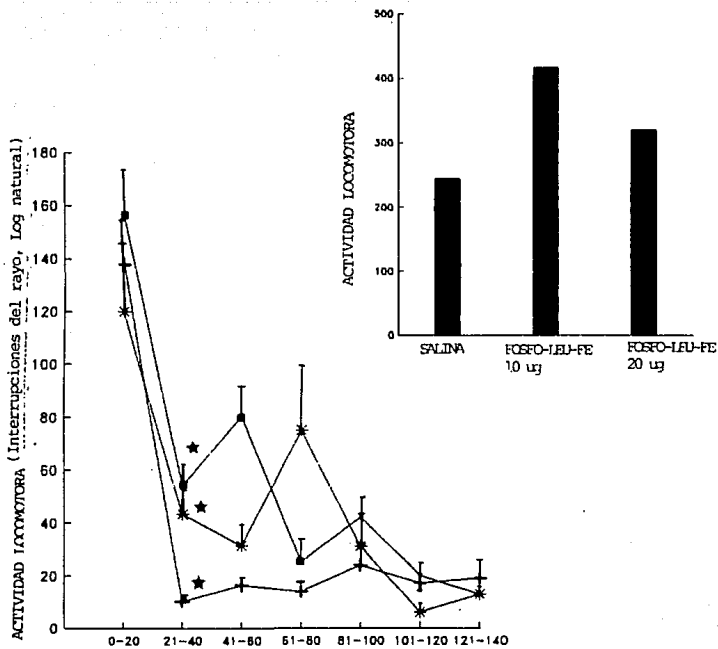


Fig. 3 Efectos del Fosfo-leu-fé sobre la actividad locomotora de la rata. Los datos son medias \pm Error estándar. Salina, N=8; Fosfo-leu-fé 10 µg, N=8; Fosfo-leu-fé 20 µg, N=7. *, diferente de salina, $p < .05$. * Diferente del bloque anterior.

△, salina; ●, Fosfo-leu-fé 10 µg; ■, Fosfo-leu-fé 20 µg.

5.3.3 Efectos del Fosfo-leu-fé sobre la actividad locomotora de la rata:

El ANOVA demostró que no había diferencia entre grupos, $F(2,120) = 2,86$, NS. En contraste se demostró una diferencia entre bloques, $F(6,120) = 11,89$, $p = 0,001$. La interacción grupo x bloque no fue significativa, $F(12,120) = 1,71$, NS, tal como se observa en la Fig. 3 hay una reducción de la actividad locomotriz entre el bloque 1 y 2 para todos los tratamientos (salina, $F(1,7) = 49,116$, $p = 0,001$; Fosfo-leu-fé 10ug, $F(1,7) = 21,904$, $p = 0,002$; Fosfo-leu-fé 20ug, $F(1,6) = 9,101$, $p = 0,02$). No hubo diferencia entre los demás bloques en ninguno de los grupos. Por lo tanto, la distribución temporal de la actividad locomotriz no se modificó por el inhibidor de encefalinasa.

Al analizar la actividad total con un ANOVA no se encontró ninguna diferencia entre los tratamientos, $F(3,27) = 1,211$, NS.

En resumen los datos demuestran que el Fosfo-leu-fé en dosis de 10 y 20 ug no tuvo efecto sobre la locomoción. Los datos se ilustran en la Fig. 3.

En un experimento adicional se evaluaron los efectos de una dosis de 5 ug de Fosfo-leu-fé, sin encontrar efecto alguno (los datos no se ilustran).

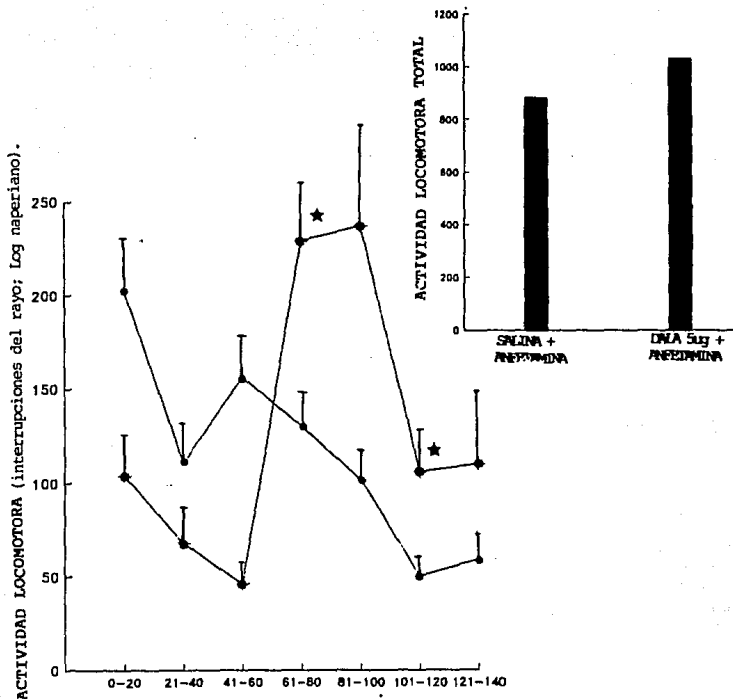


Fig. 4 Efectos de DALA 5ug + Anfetamina ip. simultánea a la infusión. Los datos son medias \pm Error estándar; \bullet , Salina + anfetamina 1 mg/kg, simultánea a la infusión, N=7; \blacksquare , DALA 5ug + anfetamina 1 mg/kg simultánea a la infusión, N=6. *, diferente de salina, $p < .05$. \star , diferente del bloque anterior.

5.3.4 Efectos de DALA 5ug + Anfetamina simultánea a la infusión, sobre la actividad locomotora de la rata:

El ANOVA demostró que no había diferencia entre grupos, $F(1,66) = 0.07$, $p = 0.78$ NS, ni entre bloques, $F(6,66) = 1.96$, $p = 0.08$ NS. Al analizar la interacción grupo por grupo tampoco hubo diferencia significativas, $F(6,66) = 0.89$, $p = 0.50$ NS. Al analizar los efectos principales simples en cada uno de los bloques no se encontraron diferencias significativas.

En los grupos tratados con salina + anfetamina y DALA + anfetamina no hubo diferencia alguna entre los diferentes bloques. La reducción entre el bloque 1 y 2 en el grupo tratado con salina + anfetamina probablemente no se demostró por el hecho de que la anfetamina ya había empezado a demostrar su efecto estimulatorio sobre la locomoción. Al contrario después del tratamiento con DALA 5 ug + Anfetamina hay una diferencia significativa entre el bloque 3 y 4 ($F(1,5) = 7.046$, $p = 0.045$), y el bloque 5 y 6 ($F(1,5) = 9.349$, $p = 0.028$).

Tal como se ve en la Fig. 4, hay un fuerte aumento de actividad entre el bloque 3 y 4. La actividad alta se mantiene hasta el bloque 5, en el bloque 6 se encuentra una fuerte reducción.

Para el análisis de la actividad total no se encontró diferencia significativa ($t(11) = 0.01$, NS).

Para resumir observamos que al combinar DALA más anfetamina hubo un aumento significativo de la actividad locomotora lo cual nos sugiere que hubo una potenciación de efecto.

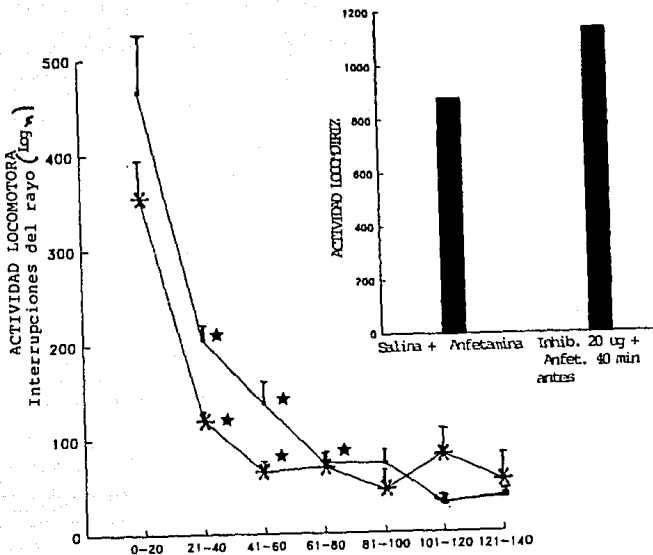


Fig. 5 Efectos de salina intraacumbens + anfetamina ip 40 min antes de la infusión e inhibidor de encefalinasa 20 ug + anfetamina 40 min antes. Los datos son medias \pm Error estándar. Inhibidor 20 ug + anfetamina 1 mg/kg N=7; salina + anfetamina 40 min antes, N=7. *, diferente de su control, $p < 0.05$; ★, diferente del bloque anterior.

* Salina + anfetamin 40 min antes de la infusión.

■ Inhibidor de encefalinasa (Fosfo-leu-fé) 20 ug + anfetamina 40 min antes.

5.3.5 Efecto de salina + anfetamina 40 min antes y Fosfo-leu-fé + anfetamina 40 min antes:

El ANOVA demostró que no había diferencias significativas entre grupos, $F(1,72) = 0.42$, NS, y una diferencia significativa entre bloques, $F(6,72) = 17.39$, $p = 0.001$; al contrario, en la interacción grupo x bloque no hubo diferencias significativas, $F(6,72) = 0.77$, NS.

En el análisis de la distribución temporal el ANOVA para los dos tratamientos hubo una reducción significativa entre el bloque 1 y 2 (salina + anfetamina, $F(1,6) = 14.880$, $p = 0.008$; - Fosfo-leu-fé + anfetamina simultánea, $F(1,6) = 14.707$, $p = 0.009$) y entre el bloque 2 y 3 (salina + anfetamina, $F(1,6) = 15.381$, $p = 0.008$; Fosfo-leu-fé + anfetamina, $F(1,6) = 13.393$, $p = 0.0011$). Además en el grupo tratado con Fosfo-leu-fé + anfetamina hubo una reducción de la actividad entre el bloque 3 y 4. $F(1,6) = 19.859$, $p = 0.004$.

En estos dos grupos la observación conductual se inició 40 min después de la administración de anfetamina, que es justamente el tiempo en cuanto la anfetamina tiene su máximo efecto. Esto se refleja en el hecho de que la actividad del grupo tratado con salina + anfetamina (Fig. 5) fue más del doble que un grupo no tratado con anfetamina (Fig. 3). En el bloque de 41-60 min post-inyección la actividad de estos sujetos había llegado a un nivel bajo y estable para el resto de la sesión. El patrón para el grupo tratado con fosfo-leu-fé + anfetamina fue muy parecido, con excepción de que la actividad se estabilizó hasta el bloque de 61-80 min.

Es difícil imaginar que este pequeño efecto tenga alguna relevancia funcional.

Para el análisis de la actividad total no se encontró diferencia significativa ($t(12)=0.78$ NS)

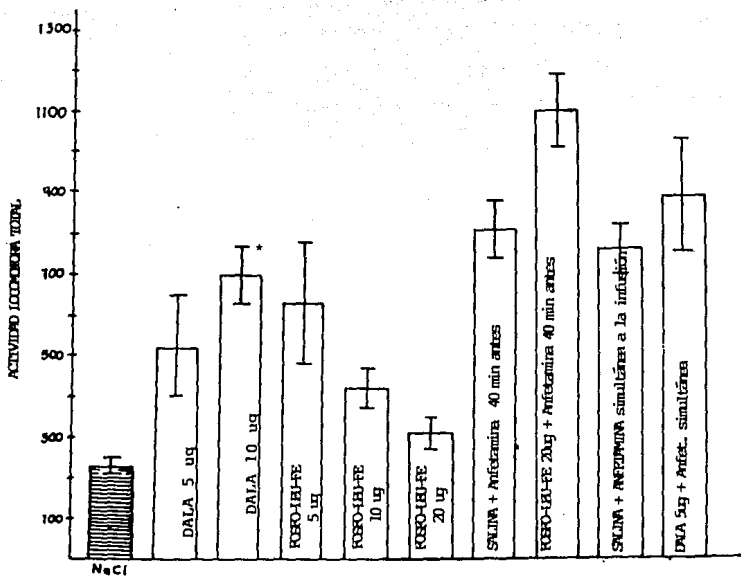


Fig. 6 Resumen de la actividad locomotora total registrada durante los diferentes tratamientos. *, diferente de su control, $p < .05$.

5.3.6 Resumen de la actividad locomotora total registrada durante los diferentes tratamientos.

Como ya se mencionó, al comparar la actividad locomotora total de cada uno de los tratamientos con su respectivo control, mediante pruebas t y ANOVAS se demostró una única diferencia significativa para la DALA 10ug (Fig. 5).

5.4 DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como ya se discutió en el capítulo de locomoción existe una coincidencia estructural indiscutible entre DA (dopamina) y encefalinas en el sistema AVT (área ventral tegmental) y núcleo acumbens. Además existen evidencias electrofisiológicas y bioquímicas de que una activación opioide en el AVT (área ventral tegmental) produce aumento de frecuencia de disparo neuronal en esta área y la administración sistémica de opioides provoca un aumento en el recambio de DA (dopamina) en el núcleo acumbens. La relevancia funcional de la interacción entre opioides y DA (dopamina) se ha demostrado en los estudios en donde la administración de antagonistas de DA (dipamina) bloqueaba los efectos sobre la locomoción de administración de opioides en el AVT (área ventral tegmental) (Kalivas y cols. 1983).

Por otro lado, los efectos reforzantes de los opioides igualmente se han atribuido a su interacción con DA (dopamina) en el AVT (área ventral tegmental) y núcleo acumbens (Wise, 1989). Sin embargo, hay varias observaciones que no coinciden con la hipótesis de que tanto los efectos de opioides sobre locomoción como sobre el reforzamiento sean mediados por DA (dopamina).

Primero, una infusión de naloxona en el núcleo acumbens bloquea los efectos de la heroína sobre la locomoción (Almaric y Koob, 1985).

Kalivas y cols., tal y como se mencionó antes demostraron que un antagonista dopaminérgico en el núcleo acumbens inhibía el efecto de una infusión de encefalina, en el AVT (área ventral tegmental), lo que implica que el efecto de este último depende de la liberación de DA (dopamina) en el núcleo acumbens. Ahora, si un antagonista opioide en el núcleo acumbens inhibe la acción de he-

roína sistémica es necesario suponer que la heroína actúa directamente sobre receptor por opioides en núcleo acumbens y que su acción en el AVT es de menor importancia, si Kalivas tuviese razón no requeriríamos de receptores de opioides para explicar los efectos de opioides sobre locomoción Amerlick y Koob (1985) demuestran lo contrario. Así mismo, se ha demostrado que los efectos reforzantes de opioides también se inhiben con infusiones de naloxona en el núcleo acumbens (Vaccarino, Bloom y Koob, 1985).

Segundo, varios estudios han demostrado que la activación de locomoción inducida por la anfetamina se puede inhibir con la administración de naloxona (Swedlow, Vaccarino y Koob, 1985; y Swedlow, Almaric y Koob, 1987).

En conclusión estos datos sugieren que la activación de DA produce liberación de opioides en el núcleo acumbens y que estos últimos son responsables de la activación producida por anfetamina.

Tercero, el hecho de que los opioides aumentan el recambio de DA en núcleo acumbens y otras estructuras no implica que haya aumento del metabolismo intraneuronal de dopamina. De hecho, se ha mostrado que los opioides aumentan las concentraciones de ácido homovanílico y del ácido dihidroxifenilacético en el cerebro de la rata (Wood y Col. 1980). Es de todos conocido, que estos metabolitos son el resultado de la acción de la MAO sobre la DA y es igual de conocido que la MAO es intracelular y sus metabolitos no demuestran liberación de DA. Al contrario, el metabolismo extraneuronal, es decir, la DA liberada tiene como primer paso la formación 3-metoxitiramina a través de la COMT. Los opioides si acaso tienen efectos sobre la concentración de la 3-metoxitiramina producen una pequeña reducción (Yonehara y Clouet, 1984).

Por lo tanto, no hay evidencia clara de que opioides estimulan la liberación de dopamina.

Cuarto, aunque los electrofisiólogos hayan demostrado activación de células en el AVT como resultado de la administración de opioides no es seguro ni que sean dopaminérgicas ni que los opioides actúan directamente sobre ellas, tal como proponen (Dunwiddie y cols. 1980; Zielgansberger, 1976).

Quinto, algunos autores han propuesto que la acción fundamental tanto de opioides como de dopamina en el núcleo acumbens es inhibir la actividad de una proyección gabaérgica del núcleo acumbens a la sustancia innomiata y al área preoptica lateral (Swerdlow y Koob, 1985; Mogenson y cols, 1983). Esto explicaría el hecho de que tanto antagonistas de opioides como de dopamina modifican la actividad locomotriz a veces en forma conjunta y a veces en forma parentemente independiente.

Los presentes datos no ofrecen evidencia alguna de que la DA activa sistemas opioides, si este hubiera sido el caso el inhibidor de encefalinasa hubiera tenido algún efecto después de la administración de anfetamina. Es importante observar que la encefalinasa se encarga del catabolismo de las encefalinas liberadas y carecen de efectos sobre las encefalinas almacenadas intraneuronamente (Yaksh y Chipkin, 1989).

Podría ser que el inhibidor de encefalinasa no tuviera efecto a causa de que no logró producir un aumento suficiente en las concentraciones de encefalina. Esto es poco probable en virtud de que se ha demostrado que el Fosfo-leu-fé modifica conductas que se asocian con liberación de encefalinas. Es

inclusive más eficiente que el inhibidor prototipo más reciente, el S-CH 34826, (Agmo e Irazábel, 1991). El hecho de que el inhibidor de encefalinasa por sí solo carece de efecto coincide con la antigua propuesta de Akil y cols. (1980) de que los sistemas encefalinérgicos carecen de actividad tónica. Inclusive Al-Rodan y cols. (1990) demostraron recientemente que la potencia analgésica del S-CH 34826 depende estrictamente de la cantidad de encefalinas liberadas por el estímulo nocivo.

La anfetamina potenció el efecto de DALA en el sentido de que una dosis de 5ug que por sí sola carecía de efecto modificó la distribución temporal después del tratamiento con anfetamina. Es interesante notar que el efecto estimulatorio de DALA se inició a los 60 min postinfusión, que es poco después de que la anfetamina tiene su mayor efecto, y el efecto término cuando el efecto de la anfetamina se estaba reduciendo. Parece por lo tanto razonable creer que hay una relación entre la actividad dopaminérgica y encefalinérgica. Sin embargo tal como demuestran los datos con inhibidor de encefalinasa no hay razones para suponer que la anfetamina activa sistemas opioides. Hay alguna evidencia de que la encefalina inhibe la actividad gabaérgica (Agmo y Tarasco, 1985; y referencias citadas ahí), de la misma manera que lo hace la dopamina (Mogenson y Nielson, 1982; Pérez de la Mora, 1975). Es por lo tanto, factible pensar que la activación de DA por la anfetamina aumenta la inhibición sobre las neuronas gabaérgicas que en consecuencia se hacen más sensibles a la inhibición encefalinérgica por una simple sumación espacial.

Por el momento, no es posible encontrar una explicación alternativa que logra acomodar todos los datos experimentales. De hecho los muchos datos que sugieren una interacción entre

opioides y DA son fácilmente explicables si se supone que las 2 sustancias actúan sobre un mismo sustrato gabaérgico, la acción conjunta de las 2 sustancias pueden entonces ser diferente de su acción por separado tal como se demostró en el presente trabajo, pero a su vez no obliga a suponer una relación directa entre DA y opioides.

5.5 RECOMENDACIONES:

Esta investigación se limitó a estimular dopamina y encefalina para poder establecer cual era la relación exacta entre ambas; sin embargo, aún queda mucho por hacer para poder llegar a afirmar en qué medida están o no relacionadas. Al utilizar el inhibidor de encefalinasa en más estudios podría hacerse una mejor determinación de su función conductual y su interacción con otros neurotransmisores. Los resultados de esta investigación tendrían que ser confirmados en estudios posteriores. Se debiera también, medir la actividad gabaérgica en el núcleo acumbens.

iv REFERENCIAS:

- Adler, M. W. (1980). Minireview: Opioid Peptides. Life Sciences, 26, 497-510.
- Agmo, A., y de Avila, N. (1985). Interactions Between Enkephalin and Dopamine in the Control of Locomotor Activity in the Rat: A New Hypothesis. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22, 599-603.
- Agmo, A., y Tarasco, C. (1985) Interactions between naloxone and Gaba in the control of locomotor activity in the rat. Journal of Neural Transmission, 61, 137-149.
- Agmo, A., y Irazábal (1991). Enkephalinase Inhibition Facilitates sexual Behavior in the male Rat but does not Produce Conditioned Place Preference. Behavior and Neural Biology, en la Imprenta.
- Akil, H., Howlett, W.- Barchas, J. y Li, C. (1980) Binding of ³H-Beta-Endorphin to Rat Brain Membrans: Characterization of opiate properties and Interaction with ACTH. European Journal of Pharmacology, 64, 1-B.
- Akil, H., Watson, S.J., Young, E., Lewis. M.E., Kachaturian, H. y Walker J.M. (1984). Endogenous Opioids= Biology and Function. Annual Review of Neuroscience, 7, 223-255.
- Algenis, Altstein, M., de Sinone, M., G., y Guardabasso, V. (1981) In vivo Potentiation of (D-ALA²) MET-ENKEPHALIN AMIDE central effects after administration of an Enkephalinase Inhibitor. European Journal of Pharmacology, 74, 261-262.

Almaric, M., y F. Koob. (1985). Low doses of Methylnaloxonium in the Nucleus Accumbens Antagonize Hiperactivity Induced by Heroin in the Rat. Pharmacology Brochemistry and Behavior, 23, 411-415.

Al-Roda. N., Chipkin, R., y Yaksh, T.L. (1990). The Antino ciceptive Effects of SCH-32615, a neutral Endopeptidase (Enkephalinase) inhibitor microinjected in to the Periaqueductal, ventral medulla and Amygdala. Brain Research, 520, 123-130.

Alstein, M., Blumbery, S. y Vogel, Z. (1982). Phosphoryl-Leu-Phe: A potent inhibitor of the degradation of Enkephalin by Enkephalinase. European Journal of Pharmacology, 76, 299-300.

Anden, N. E. y Johnels, B. (1978). Some animal models of extrapyramidal disorders. En P. Deniker, C., Radoueo-Thomas, y A. Villemeure (Eds.) Neuropsychopharmacology (pp. 697-702). Oxford: Pergamon Press.

Ayhan, I.H., y Randrup, A. (1973). Behavioral and pharmacological studies on morphine-induced excitation of rats; Posible relation to brain catecolamines. Psychopharmacologia, 29, 317-328.

Babbini, M. y Davis W. M. (1972). Time-dose relationships for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment. British Journal of Pharmacology, 46. 213-334.

Barbeau, A. (1978). Biology of the Striatum. En G. E. Gall (Ed.), Biology of Brain Disfunction (Vol. 2, pp. 333-350). New York: Plenum Press.

Bayón, A. (1981). Endorfinas y Encefalinas, Opio en el cerebro? Ciencia y Desarrollo, 41, 173-180.

Bechara, A. y VanderKooy, D. (1985a). Kappa receptors mediate the aversive motivational effects of opiates. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 1172.

Bechara, A. y VanderKooy, D. (1985). Opposite motivational effects of endogenous opioids in brain and periphery. Nature, 314, 533-534.

Belluzzi, J. D., Grant, N., Garshy, V., Sarantakis, D., Wise, C. D., Stein, L. (1976). Analgesia induced in vivo by central administration of enkephalin in rats. Nature, 260, 625-626.

Berger, P. A., y Barchas, J. D. (1983). Pharmacologic studies of Betaendorphin in Psychopathology. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Ed.) Symposium on Endorphins Psychiatric Clinics of North America, 6 (3) = 377-389.

Billington, C. J., Morley, J. E., Levine, A. S., Wright, F., y Seal, U. S. (1985) Naloxone induced suppression of feeding in tigers. Physiology and Behavior, 134, 641-643.

Blass, E. M., Fitzgerald, E., y Kehoe, P. (1985). Sucrose inhibits distress vocalizations and elevates pain thresholds in 10 - day - old rats = Mediation by endogenous opioids. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 912.

Bloom, F. E. (1983). Endogenous Opioids: Histochemistry, Neurophysiology and Pharmacology. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Ed.). Symposium on Endorphinis Psychiatric Clinics of North America, 6, 365-391.

Bolles, R. C. (1982). Endorphins and Behavior. Annual Review of Psychology, 33, 87-101.

Bolles, R. C. y Fanselow, M. S. (1982). Endorphines and Behavior. Annual Review of Psychology, 33, 87-101

Bostock, E. y Gallagher, M. (1985). Intraseptal β -endorphin impairs novel spatial memory. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 383.

Bowers, M. B., Jr. (1974). Central dopamine turnover in schizophrenic syndromes. Archives of General Psychiatry, 31, 50.

Bozarth, M. A. y Wise, R. A. (1981). Intracranial self-administration of morphine into the ventral tegmental area. Life Sciences, 28, 551-555.

Brady, L. S. y Holtzman, S. G. (1981). Effects of Intraventricular Morphine and Enkephalins on Locomotor Activity in Nondependent, Morphine dependent and Pos-dependent Rats. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 218, (30), 613-620.

Broccardo, M., Improta, G., Negri, L., y Melchiorri, P. (1985). Tolerance and physical dependence induced by dermorphin in rats. European Journal of Pharmacology, 110, 55-61.

Broekkamp, C. L. E., Phillips, A. C. y cols., A. R. (1979). Stimulant effect of Enkephalin microinjection into the dopaminergic A10 area. Nature, 278, 560-562.

Buxbaum, D. M., Yarborough, G. G., y Carter, M. E. (1973). Biogenic amines and narcotic effects, Modification of morphine induced analgesia and motor activity after alteration of cerebral amine levels. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 185, 317-327.

Carey, J. (1983). Differential effects of limbic versus striatal dopamine loss on motoric function. Behavior Brain Research, 7, 283-296.

Carlsson y Lindqvist's, M. (1963). Effects of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-metoxytryptamine and normetanephrine in mouse brain. Acta Pharmacologica Toxicologica, 21, 140-144.

Castellano, C. y Pavone, F. (1985). Dose and strain dependent effects of dermorphine and (D-ala -D-leu -enkephalin) on passive avoidance behavior in mice. Behavior and Neuroscience, 99, 1120-1127.

Cervini, M. A., Rossi, A. C., Persoe, G. y de Castiglione, R. (1985). Antinociceptive and other opioid effects of a new series of dermorphin analogies after subcutaneous administration in the rat. Peptides, 6, 433-437.

Cohen, M., Pickar, D., y Dubois, M. (1983). The role of Endogenous opioid system in the human stress response En Malick, J. B., y Bell, R. S. (Ed.). Symposium on Endorphins Psychiatric Clinics of North America 6 (3), 377-389.

Cox, B. M., Ross, M., Goldstein, A. y Palmour, R. M. (1979) Leu-5- β -endorphin, a endorphin-like sustance. Brain Research, 165, 311.

Crow, T. J. (1979). Dopaminergic mechanisms in schizophrenia: site and mechanisms of antipsychotic effect and postmortem studies. En Simister, J. M. (Ed.). Neuroleptics and Schizophrenia (pp. 29-40). Lundbeck, Lutun.

Davis, G. C., Buchsbaum, M. S. y Bunney, W. E. (1979). Research in endorphins and schizophrenia. Schizophrenia Bulletin, 5, 244-250.

De Avila, N. (1987). Interacciones entre Encefalina y Dopamina en el control de la Actividad Locomotora de la rata. Una nueva hipótesis. Tesis profesional. Universidad Anáhuac, México.

Del Cerro, S. y Borrell, J. (1985). Naloxone influences retention behaviors depending on the degree of novelty inherent to the training situation. Physiology and Behavior, 35, 667-671.

De Rossett, S. E. y Holtzman, S. G. (1985). Effects of opiate antagonists and putative agonists on unpunished and punished operant behavior in the rat. Psychopharmacology, 86, 386-391.

Desouza, E. B. y Van Loon, G. R. (1985). Differential plasma β -endorphin β -lipotrophin, and adrenocorticotropin responses to stress in rats. Endocrinology, 116, 1577-1586.

Domino, E. F., Vasko, M. R. y Wilson, A. E. (1976). Mixed depressant and stimulant actions of morphine and their relationship to brain acetylcholine. Life Science, 18, 361-376.

Dorsa, D. M., Majumdar, L. A. y Chapman, M. B. (1981). Regional distribution of gamma and beta-endorphin-like peptides in the pituitary and brain of the rat. Peptides, 6, 332.

Dunwiddie, T., Mueller, A., Palmer, M., Stewart, J., y Hoffer, B. (1980). Electrophysiological Interactions of enkephalins with neuronal circuitry in the rat hippocampus. I. Effects on pyramidal cell activity. Brain Research, 184, 311-330.

Emrich, H. M., Cordingic., Piré'e, S., Kölling, A. Zerssen, D. V., y Herz, A. (1977). Pharmakopsychiatri. Neuro-Psychoparmakology, 10, 265.

Emrich, H. M., Cording, C., Piré's, S., Kölling, A., Möller, H. J., Zerssen, D. V., y Herz, A. (1979). En E. Usdin, W. E. Bunney, Jr. y N. S. Kline (Eds.). Endorphins Mental Health Research (pp. 452) Oxford University Press, New York.

Esposito, R., McLean, S. y Kornetsky, C. (1979). Effects of morphine on intracranial self-stimulation to varios, brain stem loci. Brain Research, 168, 425-429.

Fanselow, M. S. (1985). Odors released by stressed rats produce opioid analgesia in unstressed rats. Behavior and Neuroscience, 199, 589-592.

Fanselow, M. S. y Sigmundi, R. A. (1985). Innate danger signals, deffensive freezing and opioid analgesia. Psychon Soc. Abstr., 26, 17.

Fink, J. S. y Smith, G. P. (1980). Mesolimbocortical dopamine terminals fields are necessary for normal locomotor and investigatory exploration in rats. Brain Research, 199, 359-385.

Flood, J. F., Cherkin, A. y Morley, J. E. (1985). Intracerebral Na loxone enhaces memory retention in chicks and mice. Society of Neuroscence Abstracts. 11, 383.

- Forrest, W. H., Jr., Beer, E. G. Bellville, J. W., Ciliberti B. J. Miller, E. V. y Paddock, R. (1969). Clinical Pharmacology and Therapeutics, 10, 468.
- France, C. P. y Woods, J. H. (1985). Antagonistic and rate suppressing effects of opioid antagonists in the pigeon. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 235, 442-447.
- Frederickson, R. y Geary, L. (1982) Endogenous opioid peptides Review of physiological, pharmacological and clinical aspects. Progress in Neurobiology, 19, 19-69.
- Frey, J. M. y Huffman, R. D. (1985). Effects of Enkephalin and morphine on rats globus pallidus neurons. Brain Research Bulletin, 14 425-429.
- Graf, L. Szekely, J. I., Ronai, A. Z., Dunai-Kovacs, Z., Bajusz, S. (1976). A Comparative Study on Analgesic Effect of Met⁵-enkephalin and Related Lipotrophin Fragments. Nature, 263, 240-241.
- Gaffori, O. y Van Ree, J. M. (1985). β -endorphin-(10-16) antagonizes behavioral responses elicited by melatonin following injection into the nucleus acumbens of rats. Life Science, 37, 357-364.
- Gallagher, M. y Kapp, B. S. (1978). Manipulation of opiate activity in the Amygdala alters Memory processes. Life Sciences, 23, 1973-78.
- Gallagher, M., Kapp, P. R. y Fanelli, R. J. (1985). Opiate Antagonist facilitation of time-dependent memory processes: Dependence upon intact norepinephrine function. Brain Research, 347, 284-290.

Galina, Z. H. y Amit, Z. (1985). Interactions between ACTH, morphine, and naloxone and their effects on locomotor behavior. Progress in Neuropsychopharmacology, Biology and Psychiatry, 19, 691-695.

Galina, Z. H. y Kastin, A. J. (1985). MIF-1 Antagonizes warm, but not cold water stress-induced, Analgesia=Dissociation from Immobility. Peptides, 6, 1109-1112.

Geula, C. y Asdourian, D. (1985). Asymmetric Behavior-Induced by enkephalinergic agents in the basal ganglia. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 23, 207-213.

Girardot, M. N. y Holloway, F. A. (1985). Effect of age and long-term stress experience on adaptation to stress analgesia in Nature rats= role of opioids. Behavior and Neuroscience, 99, 411-422.

Goeders, N. E., Lane, J. D. y Smith, J. E. (1984). Self Administration of Methionine Enkephalin into the Nucleo Acumbens. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 208 (3), 451-455.

Gold, M. S. y Rea, W. A. (1983). The Role of Endorphins in opiate addiction, opiate withdrawal, and recovery. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Ed.). Symposium on Endorphins, Psychiatric Clinics of North America 6. 489-520.

González, M., Ortiz, M., Salazar, L., y González, G. (1985) Mild Neonatal Stress Influences Adult Analgesia Following Morphine. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 617.

Graybiel, A. M. y Raysdale, C. W. (1983). Biochemical Anatomy of the striatum. En Emson, P. C. (Eds.). Chemical Neuroanatomy, (pp. 427-504) Raven Press, New York.

Greenberg, A. (1984). Effects of Opiates on Male Orgasm. Medical Aspects of Human Sexuality, 18. 207-210.

Guillemin, R. N., Ling, N. y Burgus, R. (1976). Endorphines: Peptides d'origine hypothalamique et neurohipophysaire a active morphinomimetique, Isolement et structure moleculaire de l'alpha-endorphine. Comptes Rendues de l'Acadamica des Sciences Serie, 283, 783-785.

Gunne, L. M. Lindstrom, L. y Terenius, L. (1977). Naloxone induced reversal of schizophrenic hallucinations. Neural Transmition, 40, 13-19.

Gunne, L. M., Lindstrom, L. y Widerlöv, E. (1979). Endorphins and psychopatolgy. En Usdin, E., Bunney, W. E. Jr, y Kling, N. S. (Eds.). Endorphins in Mental Health Research. (pp. 547). Oxford University Press: New York.

Hall, R. D., Bloom, F. E. y Olds, J. (1977). Neuronal and Neurochemical substrates of Reinforcement. Neuroscience Research Progress Bulletin, 15. 12.

Hamm, R. J. y Knisely, J. S. (1985). Environmentally Induced Analgesia An Age-Related Decline in an Endogenous Opioid Systems. Journal of Gerontology, 40. 268-274.

Havemann, U., Winkler, M., Genc, E. y Kuschinsky, K. (1980). Opioid Actions on motility: possible actions on Gabaergic and dopaminergic neurons. Brain Research Bulletin, 5, (Suppl. 2), 891-895.

Havemann, U. y Kuschinsky, K. (1985). Locomotor Activity of Rats after Injection of various opioids into the Nucleus Accumbens and the Septum Mediale. Archives of Pharmacology, 3331, 175-180.

Heinrichs, S., Brown, S., y Martínez, J. L. Jr., (1985). Leu-enkephalin: Effects on place preference conditioning and Lack of Effect of des-tyr-leu-enkephalin In Active Avoidance Conditioning. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 383.

Holtzman, S. F. (1976). Comparison of the Effects of Morphine, Pentazocine, Ciclasocine and Amphetamine on Intracranial self-stimulation in the Rat. Psychopharmacologia, 223-227.

Hong, J. S., Yang, H. Y. T., Fratta, W. y Costa, E. (1970). Rat Striatal methionine enkephalin content after chronic treatment with cataleptogenic and noncataleptogenic antischizophrenia drugs. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 205, 141-147.

Hughes, J., Smith, T. W., y Kosterlitz, A. y cols. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. Nature, 258, 577-579.

Intrioni, I. y Mc Gaugh, J. L. (1985). Epinephrine Effects on Memory Storage: Interaction with β -endorphine and Naloxone. Society of Neuroscience Abstracts, 11, 382.

Intrioni, I. B., Mc Gaugh, J. L. y Baratti, C. M. (1985). Pharmacological evidence of a central effect of naltrexone, morphine and β -endorphin and a peripheral effect of met-and-leu-enkephalin on reversion of an inhibitory response in mice. Behavioral Neural Biology, 4, 434-446.

Itoh, S. y Katsuura, G. (1985). Fronto-cortical regulation of β -endorphin actions in the rat. Peptides, 6. 237-240.

Izquierdo, I. (1979). Effect of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: Possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. Psychopharmacology, 66. 199-203.

Izquierdo, I. y Dias, R. D. (1985). Influence of memory of Post-training or pre-test Injections of ACTH; Vasopressin, Epinephrine, and β -endorphin and their Interaction with Naloxone. Psychoneuroendocrinology, 10. 165-172.

Izquierdo, I. y Mc Gaugh, J. L. (1985). Delayed onset of the Anosic effect of post-training β -endorphin: Testing. European Journal of Pharmacology, 113. 105-108.

Izquierdo, I., Netto, C. A. Carrasco, M. A., Dias, R. D. y Volkner N. (1985). The course of the decrease of hypothalamic β -endorphin induced by training and the development of the effect of β -endorphin on the retrieval of inhibitory avoidance in rats. Brazilian Journal of Medical, Biological Research, 18. 391-395.

Izquierdo, I., Paiva, A. C. M., Elisabetsky, E. (1980). Posttraining intraperitoneal administration of Leu-enkephalin and β -endorphin causes retrograde amnesia for two different strains in rats. Behavioral Neural Biology, 28. 246-50.

Janowsky, D. S., El-Yousef, K., Davis, J. M. y Sekerte, N. J. (1973). Provocation of schizophrenic symptoms by intravenous administration of methylphenidate. Archives of General Psychiatry, 28. 185.

Janowsky, D. S., Seagal, D. S., Abrams, A., A., Bloom, F. y Guillemin, R. (1977). Endorphins and Enkephalins. Psychopharmacology, 53, 295.

Johnels, B. (1982). Locomotor hipokinesia in the reserpine treated rat: drug effects from the corpus striatum and nucleus: accumbens. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 17. 283-289.

Jones, H. y Jones. H. (Ed.) (1977). Sensual drugs: Deprivation and Rehabilitation of the Mind. Cambridge. Cambridge University Press.

Joyce, E. M., Koob, G. F., Strecker, R., Inversen, F. D. y Bloom, F. E. (1981). The behavioral effects of enkephalin analogues injected into the ventral tegmental area and globus palidus. Brain Research, 221. 359-370.

Kalivas, P. W. (1985). Sensitization to repeated enkephalin Administration into the ventral tegmental Area of the Rat. II Involvement of the Mesolimbic dopamine system. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 235. 544-550.

Kalivas, P. W. y Bronson, M. (1985). Mesolimbic Dopamine Lesions Produce an Augmented Behavioral Response to Enkephalin. Neuropharmacology, 24. 931-936.

Kalivas, P. W. Widerlöv, E., Stanley, D., Breese, G. y Prange, J. A. Jr. (1983). Enkephalin action on the Mesolimbic System: A Dopamine-dependent and a Dopamine-Independent Increase in Locomotor activity. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 227 (1). 229-237.

Kameyama, T., Nabeshima, T. y Yamada, K. (1985). Differences of Alteration in oploid systems induced by conditioned suppression and Electric Footshock in Mice. Pharmacology Biochemistry and Behavior 22. 249-254.

Kaplan, H., Freedman, A. y Sadock, B. (1980). Schizophrenia: Etiology. En H. J. Kaplan, y B. J. Sadock (Ed.), Comprehensive Textbook of Psychiatry (Vol. 3, pp. 1113-1287). Baltimore/London = William & Wilkins.

Kastin, A. J., Scollan, E. L., King, M. G., Schally, A. V. y Coy, D. H. (1976). Met⁵-Enkophalinenamide vs Morphine Facilitates Learning in Rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 5. 691.

Kavaliers, M. y Hibt, M. (1985). FMRFamide, a Putative Endogenous Opiate Antagonist: Evidence from supression of Defeat-Induced Analgesia and Feeding in Mice. Neuropeptides, 6. 485-494.

Kavaliers, M., Hirst, M. y Teskoy, G. C. (1985). Opioid systems and feeding in the slug, limax maximus: Similarities to and Implications for Manmalias feeding. Brain Research Bulletin, 14. 681-685.

Kavaliers, M. y Ossenkopp, K. P. (1985). Exposure to Rotating Magnetic fields Alters Morphine-Induced Behavioral Responses in two Strains of Mice. Neuropharmacology, 24. 337-340.

Kehoe, P. y Blass, E. M. (1985). Opioid Mediation of separation Distress in 10-day-old rats. Society of Neuroscience Abstracts, 11 912.

Kelley, A. E., Stinus, L. y Iversen, S. D. (1980). Interactions between D-ALA-Met-Enkephalin, A-10 dopaminergic neurons, and spontaneous behavior in the rat. Behavior and Brain Research, 1, 3-24.

Kelley, A. E., Cador, M., Stinus, L. y LoMoal, M. (1985). Ventral Tegmental Area Injection of Different Neuropeptides: Differential Effects on feeding and Operant Behavior. Society of Neuroscience Abstracts, 11. 619.

Kooy, D., Le Paine, F. G. y Phillips, A. G. (1977). Apparent Independence of opiate Reinforcement and Electrical self-stimulation systems in Rat Brain. Life Science, 20. 981-986.

Kuhar, M. I., Pert, C. B. y Snyder, S. H. (1973). Regional Distribution of opiate receptor binding in Monkey and Human Brain. Nature, 245. 447-450.

Kurland, A. A., McCabe, L., Hanlon, T. E. y Sullivan, D. (1977). Endorphins and Psychopathology. American Journal of Psychiatry, 134, 1408.

Kuschinsky, K. y Hornykiewicz, O. (1974). Effects of Morphine on striatal dopamine metabolism: possible mechanism of its opposite effect on locomotor activity in rats and mice. European Journal of Pharmacology, 26. 41-50.

Lee, H. K., Dunwiddie, T., y Hoffer, B. (1980). Electrophysiological interactions of enkephalins with neuronal circuitry in the rat hippocampus. II. Effects on interneuron excitability. Brain Research, 184. 331-342.

Lehman, H., Nair, N. P. V. y Kline, N. S. (1979). Naloxone in Schizophrenic patients Decreases some symptoms. Annual Journal of Psychiatry, 136. 762.

Lester, L. S. y Fanselow, M. S. (1985). Exposure to a Cat Produces Opioid Analgesia in Rats. Behavior Neuroscience, 99. 756-759.

Levine, J. D., Feldmesser, M., Tecott, L., Lane, S. y Gordon, N. C. (1985). The Role of stimulus Intensity and stress in opioid mediated Analgesia. Brain Research, 304. 265-269.

Lewis, R. V., Gerber, L. D., Stein, S., Stophen, R. L., Grosser, B. I., Velick, S. T. y Udenfriend, S. (1974). Endorphins and Schizophrenia. Archives of General Psychiatry, 36. 237.

Lorens, S. A. y Sainati, S. M. (1978). Naloxone Blocks the Excitatory Effect of Ethanol and Chlordiazepoxide on Lateral Hypothalamic self-stimulation Behavior. Life Science, 23. 1359-1364.

Lowy, M. T., Sangiah, S. y Yim, G. K. (1985). Naltrexone Fails to Suppress Spontaneous Locomotor Activity in Hamsters. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22. 399-401.

Luján, M. y Rodríguez, R. (1986). Mecanismo de Acción de los Opioides. Psiquiatría, 3. 137-141.

Madden, J., Akil, H., Patrick, R. L. y Barchas, J. D. (1977). Stress-Induced Parallel Changes in Central Opioid Levels and Pain Responsiveness in the Rat. Nature, 265. 358-60.

Maderdrut, J. L., Reitzel, J. L., Okado, N., y Oppenheim, R. W. (1985). Behavioral Analysis of Opiate-Mediated Inhibition in the Early Chick Embryo. Neuroscience, 16. 405-416.

Malick, J. B. y Goldstein, J. M. (1982). Animal Pharmacology of Endorphins. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Eds.). Endorphins (pp. 215-223). New York: Marcel Dekker Inc.

Mansour, A., Lewis, M. E., Khachaturian, H., Akil, H. y Watson, S. J. (1986). Pharmacological and Anatomical Evidence of Selective and Opioid Receptor Binding in Rat Brain. Brain Research, 399. 69-79.

Martínez, J. L., Rigter, H. (1980). Endorphins After Acquisition and Consolidation of An Inhibitory Avoidance Response in Rats. Neuroscience Letters, 19. 197-201.

Meltzer, H. Y. y Stahl, S. M. (1976). The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: A Review. Schizophrenia Bulletin, 2. 19-76.

Messing, R. B., Jensen, R. A., Martínez, I. I., Speinhler, V. R. Vázquez, B. J., Soumireu-Mourat, E., Liang, K. L., Mc Gaugh, J. L. (1979). Naloxone Enhancement of memory. Behavioral Neural Biology 27. 266-275.

Mickley, G. A., Stevens, K. E. y Galbraith, J. A. (1985). Quaternary Naltrexone Reverses Morphine-Induced Behaviors. Physiology and Behavior, 35. 249-253.

Minn, S. R., Meyer, J., Mendelson, J. y Ellinghoe, J. (1980). Opiate use and sexual Function. American Journal of Psychiatry, 136. 909-915.

Moerschbaecher, J. M., Thompson, D. M. y Winsaver, P. J. (1985). Effects of Opioids and Phencyclidine in Combination with Naltrexone on the Acquisition and Performance of Response Sequences in Monkeys. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22. 1061-1069.

Mogenson, G.J. y M.A. Nielson, (1982). Evidence than a accumbens to sub-pallidal GABAergic projection contributes to locomotor activity Brain Research Bulletin, 11, 309-314.

Mogenson, G.J., L.W. Swanson y M. Wu. (1983). Neural Projections from the nucleus Accumbens to Globus pallidus, substantia Innomiata, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in rat. Journal of Neuroscience, 3, 89-202.

Moore, R. Y. y Bloom, F. E. (1978). Central Catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. Annual Review of Neurosciences, 1. 129-169.

Moreaw, J. L., Schmitt, P. y Karli, P. (1985). Morphine Applied to the Ventral Tegmentum Differentially Affects Centrally and Peri-

pherally Induced Aversive Effects. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 23. 931-936.

Morelli, M. y Dichiara, G. (1985). And K Opiate receptors Mediate Specific Behavioral Syndromes from the substantia Nigra. Society of Neuroscience Abstracts, 11. 470.

Mucha, R. F., Millan, M. J. y Herz, A. (1985a) Aversive Properties of Naloxone in non-dependent (naive) rats may Involve Blockade of Central β -endorphin. Psychopharmacology, 86. 281-285.

Murphy, D. L., (1972). L-Dopa Behavioral Activation and Psycopathology. Research Publication Association, 50. 472.

Naber, D., Bullinger, M. y Zahn, T. y Cols. (1981). Stress Effects of beta-endorphin in human plasma in Relationships to Psychophysiological and psychological variables. Psychopharmacology Bulletin, 117. 187-189.

Nabeshima, T., Matsuno, K., Kanei, H., Noda, V. y Kaneyama, T. (1985a) Involvement of Different Opioid Receptor Subtypes in Electric Shock-Induced Analgesia and Motor-Suppression in the Rat. European Journal of Pharmacology, 114. 197-207.

Nabeshima, T., Matsuno, K., Kanei, H., Noda, V. y Kaneyama, T. (1985). Electric footshock-induced changes in Behavior and Opioid Receptor Function. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 23. 769-775.

Nelson, L. R., Taylor, A. N. Lewis, J. W., Branch, B. J. y Liebeskind, J. C. (1985). Opioid but not non-opioid stress-induced Analgesia is enhanced Following prenatal Exposure to Ethanol. Psychopharmacology, 85. 92-96.

Nicoll, R. A., Alger y Jahr, C. E. (1980). Enkephalins blocks inhibitory pathways in the vertebrate CNS. Nature, 287. 22-25.

Nieber, K., Roske, I., Forner, P., Oehme, P. y Krivoy, W. (1985). Characterization of Opioid Dependence of Isolated ileum of Morphine Dependent and of chronically Stressed Wistar-Kioto (WKY)-rats. Bio medical and Biochemistry Acta, 44. 773-778.

Nistico, G., Bagetta, G. y Desarro, G. D., (1985). Behavioral and Spectrum power Effects of Opioid Peptides in chicks. Peptides, 6. (Suppl. 3), 137-141.

Oka, T. y Hosaya, E., (1976). Effects of Humoral Modulators and Naloxone on Morphine Induced Changes in the Spontaneous locomotor Activity of the Rat. Psychopharmacology, 47. 243-248.

Olds, M. E.. (1979). Hypothalamic Substrate for the Positive Reinforcing Properties of Morphine in the Rat. Brain Research, 168. 351-360.

Olson, G. A., Olson, D. R. y Kastin, A. J. (1986). Endogenous Opiates: 1985, Review. Peptides, 7. 907-933.

Opatowsky-Gulack, G. S., Martínez, J. L. y Leslie, M. (1985). Opioid Antagonists Enhance an Acquired Imobility Response in Mice. Society of Neuroscience Abstracts, 11. 383.

Orr, M., y Oppenheimer, C. (1978). Naloxone and Psychopathology. British Medical Journal, 11. 481.

Palmour, R. M., Ervin, F. R., Wagemaker, H. y Cade, R. (1979). Mental Health Research. En Usdin, E., Bunney, W. E. Jr. y Kline, N. S. (Eds.), Endorphine (pp.581). New York: Oxford University Press.

Parolaro, D., Sala, M., Crema, G., Giagnoni, G. y Gori, E. (1985). Cerebral Sites of Central Action Of Dermorphin on Intestinal Motility in the Rats. Peptides, 6. 149-153.

Pellegrino, L. J. y Cushman, A. J. (1967). A stereo taxic Atlas of the Rat Brain. New York: Academic Press.

Pérez de la Mora, M., Fuxe, K., Hohfelt, T. y Ljung dahl, A. (1975). Effect of Apomorphine on the GABA turnover in the Dopamine cell group rich area of the mesencephalon. Evidence for the involvement of an inhibitory gabaergic feedback control of the ascending dopamine neurons. Neuroscience Letters, 1, 109-114.

Pert, A., y Sivit, C. (1977). Neuroanatomical Focus for Morphine and Enkephalin Induced Hipermotility, Nature, 265. 645-647.

Petkov, V. V., Konstantinova, E. y Grahovaka, T. (1985). Changes in Brain Opiate Receptors in Rats with Isolation Syndrome. Pharmacology Research Communication, 17. 575-584.

Pfau, G. J. y Gorzalka, B. B. (1986). Opioids and Sexual Behavior. Neuroscience & Behavioral Review, 11. 1-34.

Phillips, A. G., LePiane, F. G., y Fibiger, H. C. (1983). Dopaminergic Mediation of Reward Produced by direct Injection of Enkephalin into the Ventral Tegmental Area of the Rat. Life Sciences, 33, 2505-2511.

Pickar, D., Naber, D., Post, R. M., Van Jammen, D. P., Ballanger, J., Rubinow, D., Waters, R., Kaye, W. H., Ebert, M. H. y Bunney, W. E. Jr. (1982). Endogenous Opioids and Psychiatric Illness: CSF Studies. Brain Peptides and Hormones, 207-219.

Pollard, H., Llorens-Cortés, Bonnett, J. J., Costentin, J. y Schwartz, J. C. (1977). Opiate receptors on mesolimbic dopaminergic neurons. Neuroscience Letters, 7. 295-299.

------(1977b). Enkephalin receptors on dopaminergic neurons in rat striatum. Neuroscience Letters, 268. 745-747.

Plotka, E. D., Morley, J. E., Levine, A. S. y Seal, U. S. (1985). Effects of Opiate Antagonists on Feeding and Spontaneous Locomotion in Deer. Physiology and Behavior, 35. 965-969.

Raab, A. B., Seizinger, R. y Herz, A. (1985). Continuous Social De-feet Induces an Increase of Endogenous Opioids in Discrete Brain Areas of Mongolian Gerbil. Peptides, 6. 387-391.

Robinson, D. J., D'Udine, B., y Olivero, A. (1985). Naloxone Influences Ultrasonic calling in Young Mice. Behavior Proceeding, 11. 253-255.

Rossier, J. P., Bayón, A., Vargo, T., Ling, N., Guillemin, P., Bloom, F. (1977). Radioimmunoassay of Brain Peptides: Evaluation of a Methodology for the Assay of β -endorphin and Enkephalin. Life Sciences, 21. 847-852.

Rossier, J. P., y Bloom, F. E. (1982). Distribution of Opioid Peptides. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Eds.). Endorphins (pp. 89-111). New York: Marcel Dekker, Inc.

Scoles, M. T. y Siegel, S. (1986). A Potential Role of Saline Trials in Morphine-Induced place Preference Conditioning. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 25. 1169-1173.

Schaefer, G. J. y Michael, R. P. (1985). Effects of Opioid Antagonists and their quaternary Derivates on Locomotor Activity and Fixed Ratio Responding for Brain Self-Stimulation in Rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 23. 797-802.

Schenk, S., Ellison, F., Hunt, T. y Amit, Z. (1985). An Examination of Heroin Conditioning in Preferred and Non-preferred Environments and in Differentially Housed Mature and Immature Rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22. 215-220.

Schnur, P. (1985). Effects of Naloxone and Naltrexone on Morphine elicited Changes in Hamster Locomotor Activity. Physiology and Psychology, 13. 26-32.

Sar, M., Stumpf, W. E., Miller, R. J., Chang, K. y Ciatrecasas, P. (1978). Immunohistochemical localization of enkephalin in rat brain and spinal cord. Journal of comp. Neurology, 182. 17-38.

Seeman, P. (1987a). Dopamine Receptors in Human Brain Diseases. Dopamine Receptors, 233-245.

Seeman, P. (1987). Dopamine Receptors and the Dopamine Hypothesis of Schizophrenia. Synapse, 1. 133-152.

Simon, J. E., (1982). History. En Malick, J. B., y Bell, R. S., (Eds.), Endorphins (pp. 1-8). New York: Marcel Dekker, Inc.

Smith, R. L. y Meyer, M. E. (1985). Morphine and Naloxone Effects on Tonic Immobility and the Dorsal Immobility Response in the Rat. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22. 505-507.

Snyder, S. A., Banerjee, S. P., Yamamura, H. I. y Greenberg, D. (1974). Drugs, Transmitters and Schizophrenia. Science, 184. 1243.

Spear, L. P., Enters, E. K., Aswaad, M. A. y Louzan, M., (1985). Drug and Environmentally Induced Manipulations of the Opiate and Serotonergic Systems Alter Nociception in Neonatal Rat Pups. Behavioral Neural Biology, 44. 1-22.

Spector, S. (1980). Opiate Receptor and their Clinical Implications. Supp. I. Circ. Res. 46 (6). I-138 e I-141.

Swerdlow, N.R; Amalric, M. y Koob G.S. (1987). Nucleus Accumbens Opiate-dopamine interaction and locomotor activite in the rat: Evidence for a presynaptic locus. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 26, 765-779.

Swerdlow, N.R., F.J. Vaccarino y G.F. Koob. (1985). Brief Communication; Effects of Naloxone on Heroin-Ampetamine and catfeine-Stimulated Locomotor Activity in the Rat; Pharmacogy Biochemistry and Behavior, 23, 499-501.

Szekely, J. I. Ronai, A. Z. Dunai-Kovacs, Z., Miglecz, E., Bajuzs, S. Graf, L. (1977). Cross-tolerance Between Morphine and β -endorphin in vivo. Life Sciences, 20. 1259-64.

Terenius, L. (1978). The Implications of Endorphins in Pathological States. En Van Ree, J. M., y Terenius, L. (Eds.). Characteristics and Funtion of Opioids. (pp. 143-158). Amsterdam/Holand: Bio medical Press.

Terenius. L. (1982). Clinical Aspects. En Malick, J. B. y Bell, R. S. (Eds.), Endorphins, (pp. 229-238). New York : Marcel Dekker, inc.

Terenius, L., Wahlström, A. y Agren, H. (1977). Endorphins. Psycho pharmacology, 54. 31.

Terenius, L. y Wahlström, A. (1975). Morphine-like ligand for Opiate Receptors in Humans. Life Sciences, 16. 1759-64.

Terman, G. W., Penner, E. R. y Liebskind, J. C. (1985). Stimulation-produced and Stress-Induced Analgesia : Cross-tolerance Between Opioid Forms. Brain Research, 360. 374-378.

Teskey, G. C. y Kavaliers, M. (1985). Prolyl-Leucyl-glicinamide Reduced Aggression and Blocks Defeat-Induced Opioid Analgesia in Mice. Peptids, 6. 165-167.

Trujillo, K. A., Belluzzi, J. D., Trabizi, P. R. y Stein, L. (1985). Naloxone Blockade of Amphetamine Reward in Place Preference Conditioning. Society of Neuroscience Abstracts, 11. 1173.

Ukai, M. y Kameyama, T. (1985a). Naloxone Specifically Blocks the Linear Locomotion in Mice. Brain Research, 328. 378-380.

Ukai, M. y Kameyama, T. (1985). Multidimensional Analyses of Behavior in Mice treated with U-50, 488H, a Purported kappa (non-mu) Opioid Agonist. Brain Research, 337. 352-356.

Urca, G., Segey, S. y Sarne, Y. (1985). Footshock-Induced Analgesia: It's Opioid Nature Depends on the Strain of Rat. Brain Research, 329. 109-116.

Vaccarino, F.J.; F.E., Bloom y G.F.Koob. (1985). Blockade of Nucleus Accumbens opiate receptors attenuates Intravenous Heroin Reward in the Rat. Psychopharmacology, 86, 37-42.

Van Ree, J. M., y De Wied, D. (1981). Endorphins in Schizophrenia. Neuropharmacology, 20. 1271-77.

Van Ree, J. M. y Wolterink, G. (1981). Injection of Low Doses of Apomorphine Into the Nucleus Acumbens of Rats Reduces Locomotor Activity. European Journal of Pharmacology, 11. 107-111.

Vickers, C. y Paterson, A. T. (1985). Social Behavior in Pairs of C57BL/6 Mice of Both Sexes in the Open field : Effects of Saline Drinking and of Naloxone. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 23. 905-909.

Volavka, J., Mallya, A., Baig, S. y Pérez-Cruet, J. (1977). Some Behavioral Effects of Endorphins. Science, 196. 1227.

Wagemaker, H. y Cade, R. (1977). Endorphins and Schizophrenia. American Journal of Psychiatry, 134. 684.

Wamsley, J. K., Scott, Young, W. y Kuhar, M. J. (1980). Immunohistochemical localizations of enkephalin in rat forebrain. Brain Research, 190. 153-174.

Warren, P. H. y Morse, W. H. (1985). Effects of Quaternary Naltrexone and Chlordiazepoxide in Squirrel Monkeys with Enhanced Sensitivity in the Behavioral Effects of Naltrexone. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 235. 412-17.

Watson, R. R., Jackson, J. C., Hartmann, B., Sampliner, R., Moble, D. y Eskelson, C. (1985). Cellular Immune Functions, Endorphins, and alcohol Consumption in Males; Alcoholism. Clinical Experimental Research, 9. 248-254.

Whitehouse, W. G., Blustein, J. E., Walker, J., Bersh, P. J. y Margulles, D. L. (1985). Shock Controlability and Opioid Substrates of Scape Performance and Nociception: Differential Effects of Peripherally and Centrally Acting Naloxone. Behavior and Neuroscience, 99. 717-733.

- Wise, R.A. (1989). Opiate Reward: Sites and substrates Neuroscience and Behavioral Reviews, 13, 129-133.

Wise, R. A. y Bozarth, M. A. (1984). Brain Reward Circuitry : Four Elements "wired" in Apparent Series. Brain Research Bulletin, 12. 203-208.

Wise, D. C. y Stein, L. (1973). Dopamine- β -hydroxylase Deficits in the Brain of Schizophrenic Patients. Science, 181. 344.

Wood, P.L., Stotland, M., Richard, J.W. y Rackham, A. (1980). Actions of mu, Kappa, sigma, delta y agonist/antagonist opiates on striatal dopamine function. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 215, 697-703.

Wyatt, R. J., Schwartz, M. A., Erdelyi, E. y Barchas, J. D. (1975) Dopamine- β -hydroxylase Activity in Brains of Chronic Schizophrenic Patients. Science, 187. 368.

Yaksh, T.L. y R.F. Chipkin (1989). Studies on the Effects of SCH-34826 and Thiurphan on (Met⁵) enkephalin levels and Release in rat spinal cord. European Journal of Pharmacology, 167, 367-373.

Yeshuda, S. y Sheleff, P. (1985). The Effects of MIF-1, β -endorphin and -MSH on D-Amphetamine Induced Paradoxical Behavioral Termoregulation: Possible Involvement of the Dopaminergic System. Peptides, 6. 189-192.

Yonehara, N, y D. Clovet (1984). Effects of Delta and Mu Opiopeptides on the Turnover and Release of Dopamine in Rat Striatum. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 231,(1), 38-42.

Zager, E. L., y Black, P. M. (1985). Neuropeptides in Human Memory and processes. Neurosurgery, 17. 355-369.

Zagon, I. S. y McLaughlin, P. J. (1985). Stereospecific Modulation of Tumorigenicity by Opioid Antagonist. European Journal of Pharmacology, 113, 115-120.

Zhang, S., I., Juler, R. y McGaugh, J. L. (1985). Adrenal Denervation Alters the Effect of Met-enkephalin and Naloxone on Memory Consolidation. Society Neuroscience Abstracts, 11, 382.

- Zieglgänsberger, W. y H. Bayerl. (1976). The Mechanism of inhibition of Neuronal Activity by opiates in the spinal cord of cat. Brain Research, 115, 118-128.