

00581
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios de Posgrado

"Efectos Neuroconductuales y
Neurobioquímicos de la Privación de
Sueño Mor en la Conducta de
Automutilación Inducida por las
Anfetaminas en la Rata"

T E S I S
Que para obtener el Grado Académico de
DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGIA)
p r e s e n t a
ALICIA LARA LEMUS

266119

Director de Tesis: Dr. René Raúl Drucker Colín

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

Efectos neuroconductuales y neurobioquímicos de la privación de sueño MOR en la conducta de automutilación inducida por las anfetaminas en la rata.

La conducta de automutilación (CAM) se presenta en algunas alteraciones neurológicas y psiquiátricas y en los adictos a las anfetaminas y a la cocaína. Los mecanismos neuroquímicos relacionados con la presentación de la CAM no se conocen aunque hay evidencia de la participación del sistema dopaminérgico en los ganglios basales. Por otra parte se ha reportado que la privación de sueño MOR aumenta algunas respuestas conductuales inducidas por agonistas dopaminérgicos como la apomorfina y las anfetaminas.

Como la d-anfetamina incrementa los niveles de dopamina en el estriado, nos propusimos explorar si la privación de sueño MOR aumenta la CAM inducida por d-anfetamina en la rata y determinar si el efecto se relaciona con alguna alteración en la función dopaminérgica.

Encontramos que la privación de sueño MOR incrementa la CAM inducida por la administración diaria de 7.5 mg/kg de la d-anfetamina, pero no se vio el incremento con 5 mg/kg y con 10 mg/kg se presentaron cambios complejos sin significado estadístico. El SCH23390 (antagonista D₁) y el haloperidol (antagonista D₁/D₂) previnieron la CAM mientras que el sulpiride (antagonista D₂) solo tuvo efecto parcial.

Para entender la participación de las monoaminas en la CAM inducida por la d-anfetamina en la rata privada de sueño MOR se midieron los niveles de dopamina, noradrenalina y serotonina. Los niveles de dopamina se elevaron 31% en el estriado y 33% en la corteza cerebral de ratas con 48 horas de privación de sueño MOR mientras que los niveles de noradrenalina y serotonina permanecieron sin cambio.

Biochemical and behavioral effect of REM sleep deprivation on the d-amphetamine-induced self-mutilating behavior of the rat.

The neurochemical dysfunction present in patients showing self-mutilating behavior (SMB) is not well understood. The SMB is developed in rats and humans during the daily treatment with d-amphetamine. On the other hand, in rats rapid eye movement (sleep) deprivation has been reported to enhance the behavioral responses to dopamine (DA) receptor agonists, including d-amphetamine, to increase the striatal DA levels. In view of the above, we considered it of interest to explore whether REM sleep deprivation had any effect on the d-amphetamine-induced SMB and to determine if such effect could be linked to any alteration in dopaminergic function.

In this work it was found that the daily treatment with 7.5 mg/kg d-amphetamine induced in rats a progressive appearance of SMB. Lower doses (5mg/kg) were not effective and higher doses (10mg/kg) produced a pattern of SMB in which the mutilation induced at the beginning of the d-amphetamine administration disappears completely as the treatment progresses. REM sleep deprivation (48 h) potentiated significantly the SMB induced by the daily administration of 7.5 mg/kg d-amphetamine, and to lesser extent, the SMB induced by the daily treatment with 10 mg/kg d-amphetamine. R(+)-SCH23390 a D₁ dopamine (DA) receptor antagonist blocked completely or abolished the SMB induced by 7.5 mg/kg d-amphetamine in REM sleep deprived rats while sulpiride a D₂ DA receptor antagonist had only a partial blocking effect. Haloperidol a D₁/D₂ DA receptor antagonist behaved as a D₁ antagonist. DA levels of were elevated (31%) after REM sleep deprivation (48 h) in the neostriatum and the cerebral cortex (33%), while the levels of noradrenaline and serotonin remained constant.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi hermano "Charly", a mis hijos (Alicia, Raúl y Georgina), a mis padres, a mis familiares y amigos y a todos mis compañeros de trabajo y amigos de la UAM-Iztapalapa, de la Facultad de Medicina y del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

AGRADECIMIENTOS

Doy las gracias al Dr. René Drucker Colín por la dirección de éste trabajo.

Mi mas profundo agradecimiento al Dr. Miguel Pérez de la Mora por sus consejos en todas las etapas de este trabajo.

Agradezco a los integrantes del comité tutorial, Dra. María Luisa Fanjul Peña y Dr. Raúl Aguilar Roblero, su participación durante el desarrollo de esta tesis.

También agradezco a los sinodales: Dr. René Drucker Colín, Dr. Miguel Pérez de la Mora, Dra. María Luisa Fanjul Peña, Dra. Carolina Escobar Briones, Dr. Raúl Aguilar Roblero, Dr. Alfonso Martín del Campo y Dr. Javier Velázquez Moctezuma, su invaluable cooperación en la revisión del manuscrito.

Agradezco al Dr. José Luis Arredondo Figueroa, al M. en C. Ernesto Rodríguez Aguilera y a la M. en C. Ma de los Angeles Aguilar Santamaría su apoyo en las diferentes etapas del trabajo.

A todo el personal del departamento de computo de la UAM-Iztapalapa y del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM mi eterno agradecimiento por su valiosa colaboración.

Resumen.- La conducta de automutilación (CAM) se presenta en algunas alteraciones neurológicas y psiquiátricas como son el síndrome de Lesch-Nyhan, el de Gilles de la Tourette, el de Comella de Lange y el de Rett, también es parte de los síntomas en los pacientes con autismo y en los adictos a las anfetaminas y a la cocaína. Los mecanismos neuroquímicos relacionados con la presentación de la CAM no se conocen aunque se tiene evidencia de la relación fundamental entre la actividad del sistema de neurotransmisión dopaminérgico en los núcleos basales y la CAM. También participan otros sistemas de neurotransmisión como el adrenérgico, el serotoninérgico, el purinérgico, el colinérgico, el opioidérgico, y los peptidérgicos en las vías neuronales que originan la CAM.

La administración repetida de d-anfetamina o metanfetamina causa CAM en ratas intactas y en ratones. El tratamiento con agonistas D_1/D_2 del receptor a dopamina (DA) en ratas adultas o en monos de 10 a 12 años cuyas neuronas dopaminérgicas del estriado fueron destruidas con 6-OHDA al nacer o por la destrucción quirúrgica del área tegmental ventral en monos de 2 años de edad, causó la aparición de CAM. En monos con lesión unilateral, la CAM se limitó a los dedos de la mano contralateral a la lesión y en ambas especies se previno o se bloqueó con la administración de antagonistas D_1/D_2 del receptor a dopamina.

En pacientes con el síndrome de Lesch-Nyhan; la tomografía por emisión de positrones in vivo o el análisis neuroquímico postmortem mostró que los niveles de dopamina y otros marcadores de la función dopaminérgica se encontraban disminuidos en el estriado y en otras áreas cerebrales, indicando una denervación dopaminérgica y sugiriendo la existencia de receptores hipersensibles a dopamina los cuales al ser activados por una vía desconocida causarían la aparición de la CAM.

Por otra parte se ha reportado que la privación de sueño MOR aumenta algunas respuestas conductuales inducidas por agonistas dopaminérgicos (apomorfina o d-anfetamina) por ejemplo la conducta de giro, la sexual, la agresiva, y la estereotipada. Como la administración de d-anfetamina incrementa los niveles de dopamina en el estriado nos propusimos explorar si la privación de sueño MOR tiene algún efecto en la CAM inducida por d-anfetamina en la rata y determinar si el efecto se relaciona con alguna alteración en la función dopaminérgica.

En este trabajo encontramos que la privación de sueño MOR aumenta la CAM inducida por la administración diaria de d-anfetamina 7.5 mg/kg. por vía intraperitoneal en la rata. No se presentó CAM en ratas tratadas con 5 mg/kg. Con 10 mg/kg. se presentó un patrón complejo sin significado estadístico. El SCH23390 (antagonista D_1) y el haloperidol (antagonista D_1/D_2) previnieron la CAM mientras que el sulpiride (antagonista D_2) solo tuvo efecto parcial al inhibir la CAM inducida por d-anfetamina 7.5 mg/kg en ratas privadas de sueño MOR. Para entender la participación de las monoaminas en la CAM inducida por d-anfetamina en la rata privada de sueño "MOR" se midieron los niveles de DA, NA y 5-HT en las ratas privadas de sueño MOR únicamente y en ratas privadas de sueño MOR y tratadas con d-anfetamina. Los niveles de DA se elevaron 31% en el neoestriado y 33% en la corteza cerebral de ratas con 48 horas de privación de sueño MOR mientras que los niveles de NA y 5-HT permanecieron sin cambio. Los niveles de monoaminas se midieron con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución "HPLC" acoplado a un detector electroquímico en homogenados de tejido cerebral. También se observó que la privación de sueño MOR no cambia la liberación de [3H]DA inducida por d-anfetamina en rebanadas de estriado y de corteza cerebral de las ratas. Nuestros resultados sugieren que un mecanismo dopaminérgico presináptico está involucrado en los efectos de la privación de sueño MOR sobre la CAM inducida por d-anfetamina en la rata.

Esta tesis está basada en los siguientes artículos:

1. Lara-Lemus, A., Pérez de la Mora, M., Méndez-Franco, J., Palomero-Rivero, M. y Drucker-Colín, R., *Effects of REM sleep deprivation on the d-amphetamine-induced self-mutilating behavior*, Brain Res., 770 (1997) 60-64.
2. Lara-Lemus, A., Drucker-Colín, Méndez-Franco, J., Palomero-Rivero, M. y Pérez de la Mora, M., *Biochemical effects induced by REM sleep deprivation in naive and d-amphetamine treated rats*, Neurobiol., 6 (1998) 13-22.

Ver anexo 1 y 2

ÍNDICE

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	4
I.1. GANGLIOS BASALES (NB)	5
I.1.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA	5
NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA	8
DOPAMINA (DA)	10
RECEPTORES PARA DOPAMINA	11
I.1.2. FISIOPATOLOGÍA	12
ESQUIZOFRENIA	13
CONDUCTA DE AUTOMUTILACIÓN (CAM)	14
SUPERSENSIBILIDAD DEL RECEPTOR DA-D ₁ Y CAM	17
ANFETAMINAS	18
SÍNDROME DE LESCH-NYHAN	22
MODELOS ANIMALES DE CAM	24
I.2. SUEÑO MOR (SMOR) Y PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR (PSMOR)	25
II. HIPOTESIS	29
III. OBJETIVO	29
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	29
V. RESULTADOS	36
VI. DISCUSIÓN	45
VII. CONCLUSIONES	49
VIII. BIBLIOGRAFÍA	50
APÉNDICE I (Estructuras químicas)	
ANEXO I (Artículo 1997)	
ANEXO II (Artículo 1998)	

Abreviaturas usadas:

A	d-Anfetamina
[³ H]DA	Dopamina tritiada
μM	Micromolar
μm	Micrómetro
5-HT	Serotonina
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	Análisis de varianza
CAM	Conducta de automutilación
D ₁	Receptores tipo 1 a dopamina
D ₂	Receptores tipo 2 a dopamina
D ₃	Receptores tipo 3 a dopamina
D ₄	Receptores tipo 4 a dopamina
D ₅	Receptores tipo 5 a dopamina
DA	Dopamina
DOPA	Dihidroxifenilalanina
EEM	Error estándar de la media
GABA	Ácido gamma amino butírico
GB	Ganglios Basales
GMP	Monofosfato de guanosina
HGPRT	Hipoxantinaguanina fosforribosiltransferasa
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta presión
IMP	Monofosfato de hipoxantina

M	Molar
mM	Milimolar
MOR	Movimientos oculares rápidos
NA	Noradrenalina
PET	Tomografía por emisión de positrones
PG	Plataforma grande
PSMOR	Privación de sueño MOR
SMOR	Sueño MOR
SNC	Sistema nervioso central
SSI	Solución salina isotónica

de ello se ha avanzado bastante en el conocimiento de la relación entre la morfología y la función de algunos grupos de neuronas en regiones específicas, entre las que destacan los ganglios basales y que se relacionan con las alteraciones psicomotoras estudiadas en este trabajo.

I.1. GANGLIOS BASALES (GB)

I.1.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA

Los GB son 5 estructuras que participan en el control del movimiento (Fig. 1) 3, son regiones subcorticales; el núcleo caudado, el putamen, el globo pálido y 2, son zonas relacionadas; el núcleo subtalámico y la sustancia nigra. El núcleo caudado y el putamen reciben juntos el nombre de neostriado o simplemente estriado (Fig. 1).

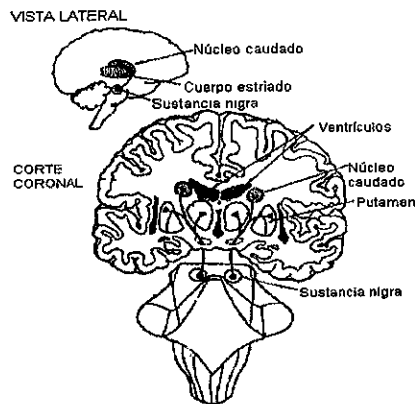


Figura 1.- Aspecto lateral y corte coronal del cerebro donde se pueden distinguir algunas estructuras de los ganglios basales como el núcleo caudado, el putamen y la sustancia nigra.

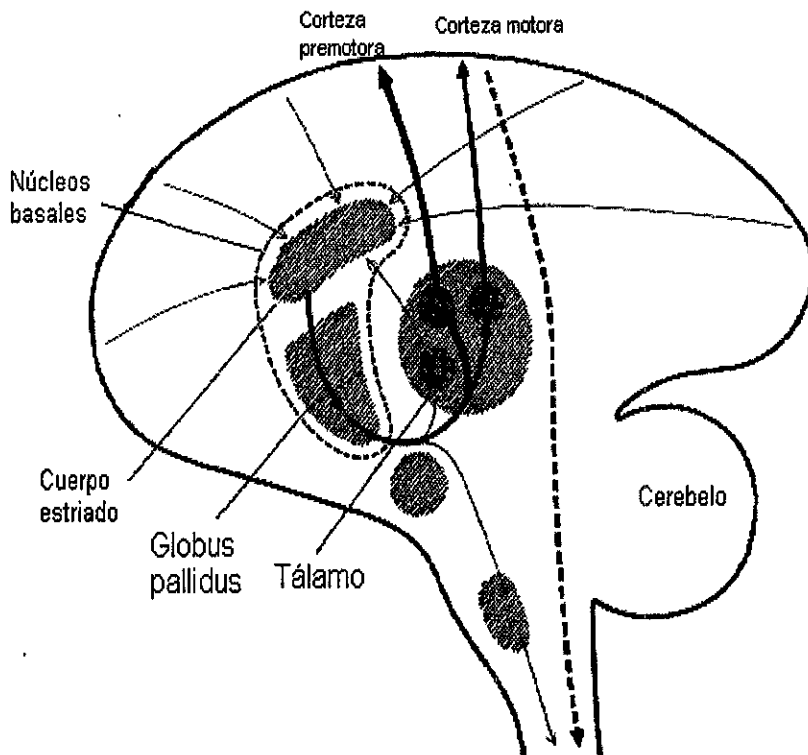


Figura 2.- La entrada de las señales a los ganglios basales son a través de las neuronas aferentes, que tienen sus cuerpos celulares en la corteza y en el tálamo (como lo muestran las flechas que van de la corteza al cuerpo estriado).

Las estructuras que forman los GB se encuentran estrechamente intercomunicadas (Fig.2 y 3) y la información que llega al estriado se transmite con gran eficacia a las 5 estructuras que los constituyen.

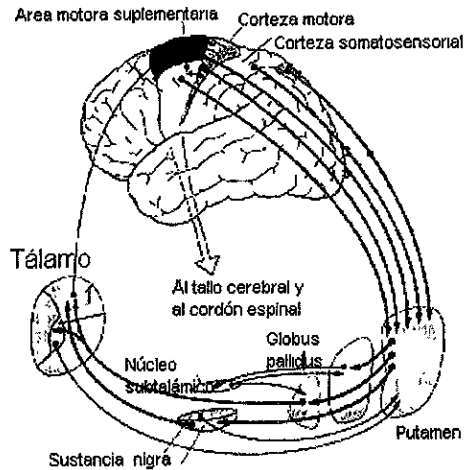


Figura 3.-Los ganglios basales y la corteza forman un circuito de información (como lo indican las flechas) que va desde la corteza (motora y somatosensorial) hacia algunas estructuras de los GB y el tálamo y regresa a la corteza premotora, al área motora suplementaria y a la corteza motora.

Las consecuencias electroquímicas causadas por la información entrante y la interacción en las estructuras que forman los GB viaja y se transmite por las sinápsis que las neuronas eferentes del globo pálido y la *pars reticulata* de la sustancia nigra hacen con 3 regiones del tálamo: el núcleo ventral lateral, el núcleo ventral anterior y el núcleo mediodorsal. El tálamo manda la información a la corteza prefrontal, a la corteza premotora, al área motora suplementaria y a la corteza motora. Los sistemas descendentes corticoespinal y el corticobulbar llegan al cordón espinal y al bulbo raquídeo respectivamente. Las vías corticoespinales llevan las instrucciones a las neuronas motoras para que dirijan el movimiento de los huesos y se produzca el movimiento en el lado opuesto del cuerpo al hemisferio cerebral donde se originó (Alexander y Crutcher, 1990).

NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA

Así se conoce a la variante de la transmisión de señales en el SNC donde el neurotransmisor liberado es la DA (estructura en el APÉNDICE I), que al activar un receptor en otra neurona le transmite una señal y cambia su bioquímica intracelular (Fig. 4). En los GB se encuentra el 80 % de la DA del encéfalo. Esta se sintetiza en el cuerpo y en las terminales de las neuronas de la sustancia nigra (*pars compacta*), y se libera en el núcleo caudado y el putamen donde se encuentran receptores específicos sobre las neuronas espinosas medianas (Fig.5). Algo de la DA liberada es recapturada por transportadores específicos (Jaber y col.,1997).

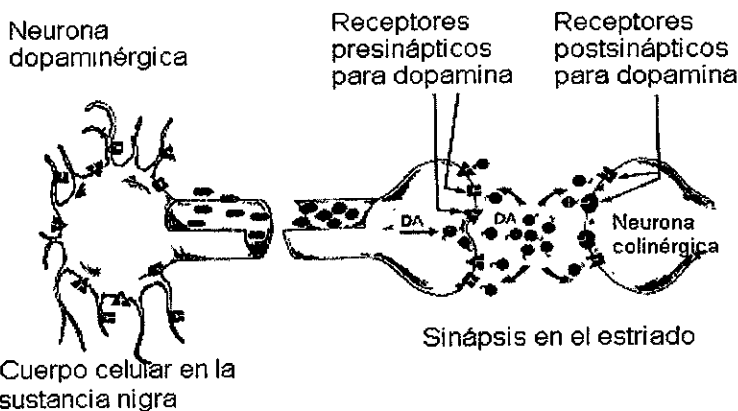


Figura 4.- La neurona dopaminérgica con sus autorreceptores y receptores postsinápticos y una sinápsis con una neurona colinérgica en el estriado.

Se han descrito tres vías donde se encuentra neurotransmisión dopaminérgica en el cerebro, el nombre de todas ellas se origina por el sitio donde se encuentran las neuronas que sintetizan dopamina y el nombre de la zona donde llegan las terminales y se libera DA que activa receptores. Así tenemos los sistemas:

- a) Nigro-estriatal .- Los cuerpos celulares se encuentran en la sustancia nigra y sus axones llegan al neostriado (Fig. 1, 3 y 5).
- b) Mesolímbico y mesocortical .- Se origina en el área tegmental ventral del mesencéfalo y sus axones llegan a estructuras estriatales, límbicas y corticales.
- c) Tubero-infundibular .- Son fibras que nacen en el hipotálamo (núcleo arcuato y periventricular) y terminan en la hipófisis (lóbulo intermedio) y la eminencia media.

También hay interneuronas dopaminérgicas en la retina, el bulbo olfatorio y el hipotálamo.

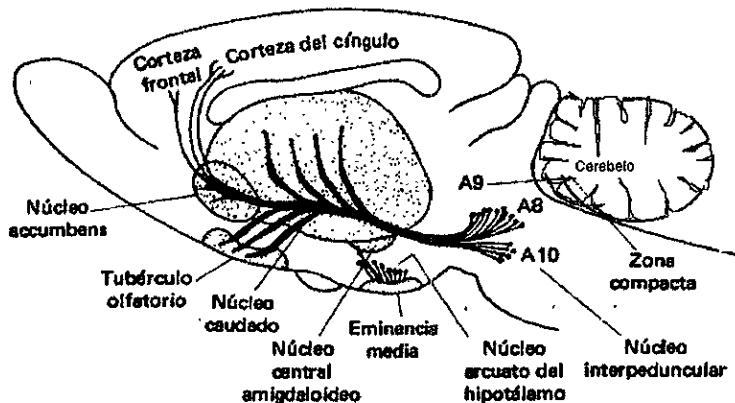


Figura 5.- En la región A8 y A9 se encuentran los cuerpos de las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal y en la A10 los de la vía mesolímbica.

DOPAMINA

Hace mas de 30 años que se describió la función de la dopamina (3,4-dihidroxifeniletilamina) como neurotransmisor del SNC, antes de esto se pensaba que solo era un intermediario en la síntesis de noradrenalina. La DA se sintetiza a partir de la L-tirosina y por la acción de la tirosina hidroxilasa que forma la dihidroxifenilalanina (DOPA) y de la dopa-decarboxilasa que la convierte en dopamina (Fig.6).

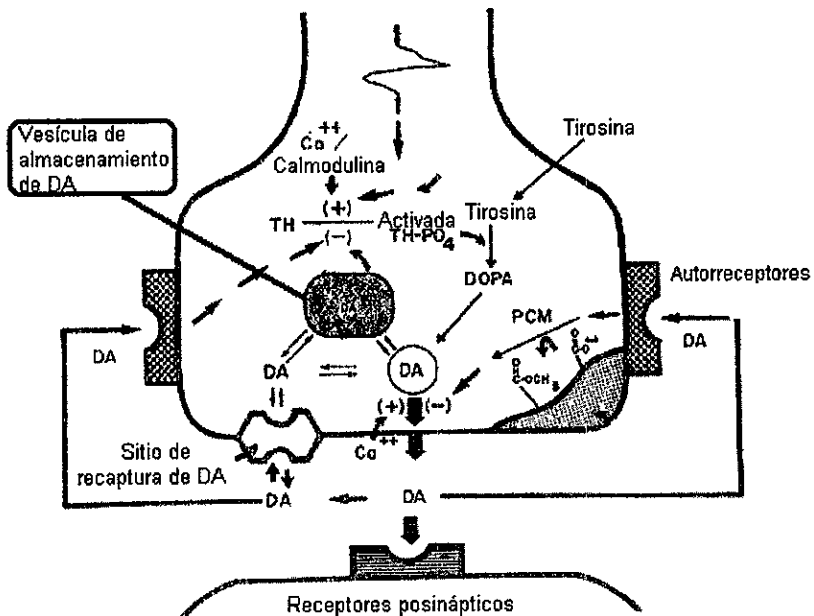


Figura 6.- Terminal dopaminérgica y la regulación de la síntesis y de la liberación de la dopamina.

RECEPTORES PARA DOPAMINA

En los años 70 se observó que los resultados experimentales de varios grupos de investigación no se podían explicar considerando un receptor único para la DA y en 1979 se describió la existencia de dos subtipos; D₁ y D₂ por su capacidad de estimular o de inhibir a la adenilato ciclasa respectivamente en ambos casos a través de las proteínas G (Kebabian y Calne, 1979 y Andersen y col., 1990). Tampoco fue suficiente esta división de los receptores para explicar las diferencias a las respuestas encontradas por algunos investigadores cuando administraron diferentes ligandos del receptor para dopamina en tejidos cerebrales diferentes por lo que se sospechó de la existencia de otros subtipos.

El avance de las técnicas de biología molecular en los años 80 han permitido estudiar diferentes familias de receptores como los adrenérgicos, los muscarínicos y los serotoninérgicos encontrándose subtipos de receptores con características bioquímicas y farmacológicas diferentes y codificados por distintos genes.

Para la dopamina se han descrito 5 subtipos distintos : el D₁ y el D₅ corresponden, por algunas de sus características bioquímicas y electrofisiológicas a los receptores D₁ de la primera clasificación y los D₂, D₃ y D₄, a los D₂ (Missale y col.1998).

Algunos autores encuentran en sus investigaciones evidencia que apunta hacia la idea de que los subtipos D₃, D₄ y D₅ únicamente son diferentes conformaciones (o estados de activación) de los receptores D₁ y D₂ descritos originalmente por Kebabian y Calne.

La DA puede actuar en receptores presinápticos o autorreceptores o en receptores postsinápticos si se encuentran en la misma neurona o en otra respectivamente. En las neuronas dopaminérgicas los autorreceptores se encuentran en la región somatodendrítica y su activación provoca una disminución en la frecuencia de generación de

potenciales de acción (Brailowsky, 1995).

Los autorreceptores para DA en la terminal sináptica se encuentran como detectores de los niveles de DA y como controladores de su liberación ya que cuando se activan, se inhibe la síntesis y la liberación de este neurotransmisor (Fig.4): Ambos son de tipo D_2 . En las membranas de las neuronas postsinápticas se han encontrado en cambio tanto receptores D_1 como D_2 .

Algunos procesos fisiológicos o fisiopatológicos podrían estar diferencialmente ligados al funcionamiento de cada subtipo o estado conformacional de los receptores para DA, por lo que es necesario realizar mas estudios encaminados hacia su caracterización exhaustiva.

I.1.2 FISIOPATOLOGÍA

Cuando se dañan o se altera el funcionamiento de las neuronas en los GB el cambio adaptativo en la química del cerebro puede tener consecuencias en el control del movimiento. El movimiento dirigido y controlado es el resultado del equilibrio de señales neuronales (dopamina, GABA y acetilcolina) que se generan en los GB y cuyo desequilibrio produce los dos grupos de transtornos de los núcleos basales; hiperkinéticos e hipocinéticos.

Esta división en transtornos hipocinéticos e hiperkinéticos tiene una base farmacológica, sustentada por la respuesta de los pacientes ante agonistas y antagonistas dopaminérgicos:

- Padecimientos hipocinéticos (mejoran con agonistas y empeoran con antagonistas) como la enfermedad de Parkinson y la narcolepsia .
- Padecimientos hiperkinéticos (mejoran con antagonistas y empeoran con agonistas) como la enfermedad de Huntington, el balismo, la corea y el síndrome de Lesch-Nyhan.

Las bases anatómicas y bioquímicas de las manifestaciones clínicas por el mal funcionamiento de los GB, especialmente en los padecimientos hipercinéticos no se han dilucidado, aunque en algunos casos se han identificado a los sistemas de neurotransmisión involucrados.

El desequilibrio entre las señales interneuronales y la conducta psicomotora que se observa en las patologías del SNC se ha tratado de corregir a través de la historia con métodos conductuales (psicoterapia) y/o medicamentosos (agonistas y antagonistas de los receptores) o quirúrgicos que van desde la extracción de grupos neuronales (en el pasado) hasta el trasplante neuronal en pacientes con la enfermedad de Parkinson. En 1987 Madrazo y Drucker describen por primera vez un efecto compensatorio de los trasplantes de tejido neural en la sintomatología de pacientes con enfermedad de Parkinson.

ESQUIZOFRENIA

TEORÍA DOPAMINÉRGICA DE LA ESQUIZOFRENIA

La respuesta de los pacientes con esquizofrenia a los neurolépticos dio origen a la teoría dopaminérgica de la esquizofrenia debido a que hay una correlación directa entre la potencia antipsicótica de la mayoría de los fármacos usados como antipsicóticos y su afinidad por el receptor D₂, la excepción es la clozapina (Snyder y col., 1974 y Seeman y Van Tol, 1994).

Otro hallazgo que apoya a esta teoría es la "psicosis paranoide" que presentan los adictos a las anfetaminas (fármaco que aumenta la neurotransmisión dopaminérgica) y que es indistinguible de la que presentan los pacientes con esquizofrenia paranoide aguda (Ellison, 1994 y Kratofil y col. 1996).

La administración inadecuada de los fármacos que actúan en los núcleos basales lleva a los síntomas de los pacientes de un extremo a otro (manifestaciones hipocinéticas como el parkinsonismo medicamentoso y en el otro extremo hipercinéticas como la akatisia y las distonías).

Como consecuencia del tratamiento con antipsicóticos un paciente con esquizofrenia puede presentar: distonía aguda (espasmos de los músculos de la lengua, cara cuello y dorso), acatisia (inquietud motora), parkinsonismo (bradicinesia, rigidez, temblor variable, fascies de máscara y marcha festinante), síndrome neuroléptico maligno (catatonía, estupor, fiebre, inestabilidad hemodinámica y mioglobinemia) , temblor perioral (síndrome del conejo) y discinesia tardía (discinesia orofacial, coreoatetosis o distonía),

CONDUCTA DE AUTOMUTILACIÓN (CAM)

Se desconocen los mecanismos neurobioquímicos relacionados con la presentación de una de las conductas que se distingue de entre las otras por, espectacular, aberrante e incontrolable. Esta es la CAM que conduce a los pacientes como su nombre lo indica a un verdadero estado de automutilación. Dicha conducta se presenta en algunos padecimientos neurológicos y psiquiátricos como:

- El síndrome de Lesch-Nyhan (Lesch y Nyhan, 1964).- que es el más estudiado y al que nos referiremos extensamente en el siguiente apartado.
- El síndrome de Gilles de la Tourette (George y col.1994 y Sandyk, 1995).- Padecido por varones se inicia a los 7-8 años de edad. La alteración mas evidente es la presencia de tics de los músculos faciales que se extienden a los hombros y a los brazos y la coprolalia (exclamación de

obsenidades). Los tics se intensifican con las emociones y hay CAM.

- El síndrome de Cornelia de Lange (Mueller y Hsaio, 1980) que se caracteriza por malformaciones congénitas múltiples, retraso mental y del crecimiento. Debido a las malformaciones gastrointestinales estos niños frecuentemente mueren por las consecuencias de una obstrucción intestinal. En el puede haber episodios de CAM.
- El síndrome de Rett (Nomura y col., 1985), lo describió Andreas Rett en 1966 originalmente como hiperamonemia y a partir de 1983 se le conoce como Rett. Es un padecimiento neurodegenerativo y progresivo que padecen únicamente las mujeres. Se inicia en la infancia, se acompaña con retraso mental y del crecimiento, presenta anormalidades psicomotoras que incluyen movimientos estereotipados y compulsivos de las manos (se rascan la nariz, la lengua, aplauden o se lavan las manos) durante el día y hay episodios de CAM.
- El autismo (Durand y Crimmins, 1988) que se puede presentar como consecuencia de múltiples factores , principalmente el genético. Los pacientes tienen deteriorada la capacidad de relacionarse con otras personas, el lenguaje y la capacidad de comunicarse, la severidad del cuadro es muy variable. Pueden tener asociada desde una deficiencia mental hasta un talento extraordinario, presentan estereotipias motoras que puede llegar hasta la automutilación, alteración de la atención y del sueño y aproximadamente un 30% tienen epilepsia cuando son adultos. Parece haber anormalidades en el sistema de neurotransmisión serotoninérgico y probablemente malformación en el cerebelo y en algunas estructuras límbicas.
- En adictos a las anfetaminas y a la cocaína (Ellison, 1994) que pueden padecer CAM durante sus episodios psicóticos (desintegración transitoria o definitiva de la personalidad con alucinaciones , ideas delirantes e incapacidad de autocrítica) que se presentan durante las "corridas" "binges" o "speed runs" (periodos de tiempo durante el cual el adicto se

administra varias veces la droga).

La CAM conocida también con los nombres de autoagresión, autofagia y en inglés como "self-mutilation behavior", "self-injurious behavior" o "self biting", consiste en una conducta oral estereotipada (sin motivo aparente, incontrolable y repetitiva) durante la cual los movimientos de los músculos de la boca (masticación) causan mordidas en alguna parte del propio cuerpo como labios, brazos, dedos, etc. Las mordidas son de una intensidad variable que va desde simples raspaduras hasta la pérdida de falanges o de pedazos de tejido y en el caso de las lesiones en los labios dejan cicatrices alrededor de la boca (Fig. 7) (Brasic y col., 1997 y Matson y col., 1997).



Figura 7.- Paciente con enfermedad de Lesch-Nyhan y cicatrices en el labio inferior causadas por la conducta de automutilación.

Se tiene evidencia de que existe una relación fundamental entre la sensibilidad y la reactividad del sistema dopaminérgico en los núcleos basales (NB) y la CAM (Aman, 1993). Además, del dopaminérgico (Creese y col. 1977) se tiene información acerca de la participación de

otros sistemas de neurotransmisión, como el adrenérgico (Lloyd y col., 1981), el serotoninérgico (Stachowiak y col.,1984), el purinérgico (Criswell y col.1988), el opioidérgico (Fratta y col., 1987) y los peptidérgicos (Sivam, 1989) en la generación de la CAM.

Por desconocerse los detalles de la neurobiología implicada en la automutilación no se conoce un tratamiento específico para prevenirla y por ende se recurre a métodos paliativos para su control como el uso de guantes, bozal, extracción de los dientes o amarrar a la cama a los niños. Los diferentes fármacos que existen para su control, como los neurolépticos, no son efectivos en todos los pacientes y tienen efectos secundarios tan desastrosos como la llamada hipertermia maligna que en 10% de los casos resulta mortal. Se han probado con poco éxito otros tratamientos como con la naloxona (antagonista de los receptores a morfina).

SUPERSENSIBILIDAD DEL RECEPTOR DA-D₁ y CAM

El fenómeno de supersensibilidad o hipersensibilidad se refiere al aumento en la respuesta fisiológica, conductual o bioquímica a un agonista. Katz y Thesleff (1957) y Miledi (1960) fueron los primeros en demostrar este fenómeno al mostrar que la desnervación del músculo esquelético inducía un estado de hipersensibilidad a la aplicación de acetilcolina.

En 1971 Ungerstedt reportó que los agonistas del receptor para DA inducen rotación contralateral en ratas con lesión unilateral de la vía nigroestriatal. Esta respuesta se debe a una respuesta mayor del agonista en el lado lesionado por el fenómeno adaptativo llamado supersensibilización del receptor.

La destrucción de las neuronas dopaminérgicas en ratas neonatas

produce sensibilización de la actividad oral inducida por agonistas D_1 a DA, de la conducta estereotipada inducida por agonistas dopaminérgicos y la sensibilización latente de la conducta locomotora y estereotipada inducida por agonistas D_1 (Casas-Brüge y col., 1985). Esto último se desenmascara con la administración de agonistas del receptor D_1 ("priming" homólogo) o del D_2 ("priming" heterólogo). Es interesante señalar que la supersensibilidad del receptor D_1 no se acompaña de cambios en el número o en la afinidad de los receptores como sucede con el D_2 (Kostrzewa, 1995).

ANFETAMINAS

Las anfetaminas (estructura en el APÉNDICE I) y la cocaína pertenecen a la clasificación farmacológica de estimulantes mayores del SNC. Los estimulantes menores son el chocolate, el té y el café. Con ambos se produce una sensación de gran energía, disminución del sueño y de la fatiga aunque su abuso se ha asociado con agitación, ansiedad, irritabilidad, insomnio, sudoración, taquicardia, náusea, vómito, diarrea y cefaleas.

Los estimulantes mayores producen además anorexia, y con altas dosis inquietud, mareos, temblor, reflejos aumentados, delirio, estados de pánico y tendencias suicidas u homicidas.

Los efectos de las anfetaminas, a diferencia de otros fármacos, se modifican en forma importante por la personalidad, el estado de ánimo, el estado mental, la exposición previa a las mismas o a la cocaína y por supuesto la vía de administración y la dosis.

En el año de 1887 las anfetaminas se sintetizaron por primera vez cuando los químicos buscaban una sustancia broncodilatadora semejante a la efedrina aislada de una planta usada en la medicina tradicional China

"Ma Huang" que pudiera sustituir a la adrenalina y que pudiera administrarse por vía oral.

En 1930 las anfetaminas se utilizaron como sustitutos de la noradrenalina y de la efedrina para la dilatación de los bronquios y se descubrió circunstancialmente una mejoría en el estado de ánimo y una sensación de mayor energía que origina a partir de ese momento el abuso en su consumo.

Las anfetaminas aumentan la neurotransmisión dopaminérgica, actúan a nivel de las vesículas de almacenamiento de DA. Causan la redistribución de la DA hacia el citosol y promueven su transporte reverso y su liberación hacia el exterior neuronal (También aumentan la neurotransmisión de otras monoaminas pero con menor potencia).

Las anfetaminas utilizan al transportador de dopamina para introducirse a las neuronas y a las vesículas de almacenamiento y compiten con ella por los protones, reduciendo el gradiente de pH vesicular, e incrementando la DA citoplásmica lo cual promueve el transporte reverso de la DA hacia el espacio extracelular (Sulzer y col., 1993 y 1995 y Mintz y col., 1994). Además de aumentar la liberación de DA (Tanaka y col., 1995 y Iwata y col. 1997) también disminuyen su recaptura y su metabolismo via la inhibición de la MAO.

Algunos efectos de las anfetaminas se inician en las neuronas dopaminérgicas del estriado aunque los efectores no se han identificado . El sistema dopaminérgico, el glutamatérgico y el GABAérgico se encuentran neuroanatómicamente relacionados, y el efecto de los agonistas y ,antagonistas de estos sistemas modifican la acción de las anfetaminas.

Parece que la activación del sistema dopaminérgico activa al glutamatérgico que a su vez activa al GABAérgico. Las principales vías eferentes del estriado son GABAérgicas y se piensa que los efectos estimulantes de las anfetaminas resultan de la desinhibición de los

sistemas inhibitorios en el talamo (Karler y col., 1995).

Recientemente se describió el efecto de las anfetaminas (metanfetamina) en la translocación de la calmodulina de la fracción citosólica a la fracción membranal en algunas regiones del cerebro de rata (Shimizu y col. 1997).

La administración repetida de anfetaminas produce sensibilización a los efectos conductuales como consecuencia del incremento en la liberación de dopamina (Ridley y col., 1982, Robinson y col. 1988, Wolf y col., 1993 y Paulson y Robinson 1995).

La administración repetida de anfetaminas produce cambios en el sistema de neurotransmisión dopaminérgico y repercute en otros sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico, el gabaérgico el colinérgico etc. (Karler, 1995).

En algunos adictos a las anfetaminas y a la cocaína se pueden presentar conductas estereotipadas que pueden llegar a la autoagresión durante los brotes psicóticos (Nielsen y col. 1980a y 1980b). Las conductas estereotipadas inducidas por anfetaminas se han descrito también en animales de experimentación como ratones (Brien y col. 1977).

En un principio se pensó que la psicosis paranoide provocada por la anfetamina era causada por su efecto en las neuronas dopaminérgicas del caudado (Nwanze y Jonsson, 1981). Sin embargo Ellison y Switzer, 1993 y Ellison, 1994 administraron d-anfetamina (13 mg/kg/día) o cocaína (68 mg/kg/día) en "pellets" de silicón a ratas durante 5 días (simulando el tiempo que dura en promedio una "corrida" de los adictos) y sus resultados mostraron degeneración importante en el núcleo caudado cuando se administró la anfetamina, pero muy poca degeneración en esta misma región con la cocaína.

Un hallazgo inesperado fue sin embargo la gran degeneración (fibras infladas, distendidas, abultadas, axones varicosos y deformes y

terminales nerviosas enrolladas) que se observó en la habénula lateral, y en el fascículus retroflexus (Fig. 8) en los animales tratados con cualquiera de las dos aminas.

Por lo anterior se piensa que la toxicidad en esta región es la que se relaciona con la psicosis paranoide en los consumidores de la droga. Hay evidencia de la participación de radicales libres durante la neurodegeneración por anfetaminas (Cadet y col., 1995)

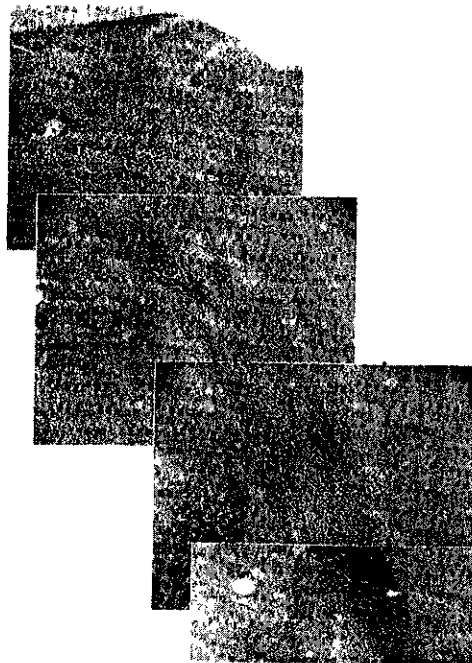


Figura 8 .- Fotografía del fascículus retroflexus donde se observan fibras nerviosas infladas, distendidas, abultadas, axones varicosos y deformes y terminales nerviosas enrolladas.

SÍNDROME DE LESCH-NYHAN

De las alteraciones en los NB, el síndrome que describieron Lesch y Nyhan (Lesch-Nyhan, 1964) y que lleva su nombre, es el más estudiado dentro del grupo asociado a manifestaciones hiperkinéticas por conocerse la deficiencia enzimática que lo origina. Los pacientes tienen ausencia de la actividad de la enzima hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT). Esta enzima cataliza la transferencia de un residuo fosforribosil del fosforribosilpirofosfato a la hipoxantina o a la guanina para formar IMP o GMP respectivamente, el gene que codifica para la enzima HGPRT está en el brazo largo del cromosoma X, y lo padecen hijos de madre portadora. Los pacientes presentan retardo mental y del crecimiento, espasticidad y coreoatetosis y conducta de automutilación que se inicia entre los 6 meses y los 2 años. El síndrome alcanza su máxima manifestación a los 10 años y disminuye con el tiempo hasta desaparecer si los pacientes alcanzan la edad adulta.

La mayoría de los pacientes muere por los problemas renales originados por el exceso de ácido úrico formado a partir de guanina ya que la actividad de la enzima, encargada de su reincorporación a nucleótidos, está ausente.

En pacientes con el síndrome de Lesch-Nyhan el análisis postmortem (Lloyd y col., 1981 y Jankovic y cols., 1988) mostró una disminución de DA en el estriado y en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET por sus siglas en inglés) se encontró una disminución de la acumulación de F18 fluorodopa en las vías dopaminérgicas de los pacientes (Fig.9 y 10), indicando la existencia de una denervación dopaminérgica y sugiriendo la existencia de receptores hipersensibles a dopamina los cuales al activarse por una vía desconocida inician la CAM (Ernst y col., 1996).



A

B

Figura 9.-Tomografía por emisión de positrones a nivel de los núcleos basales en un hombre de 20 años con la enfermedad de Lesch-Nyhan (A) y en un hombre saludable de 20 años (B). Ernst y col., 1996.

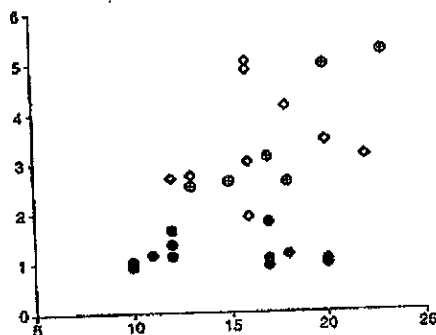


Figura 10.- Valores individuales de la actividad de Fluorodopa F18 en los núcleos basales de pacientes con la enfermedad de Lesch-Nyhan (●) y sujetos control hombres (◇) y mujeres (⊕) en función de la edad. Ernst y col., 1996.

MODELOS ANIMALES DE CAM

Se han desarrollado métodos para inducir CAM en animales de experimentación y poder estudiar mas ampliamente las características bioquímicas y moleculares del fenómeno y aumentar el conocimiento de la fisiopatología, la farmacología y la terapéutica de padecimientos que cursan con esta conducta (Jinnah y col., 1990).

Los modelos del síndrome de Lesch-Nyhan incluyen la destrucción de las neuronas dopaminérgicas del tegmento mesencefálico con neurotoxinas del tipo de la 6-hidroxidopamina, procedimientos quirúrgicos que destruyen las vías dopaminérgicas o métodos de genética molecular que producen cepas transgénicas de ratones con deficiencia de los genes que codifican para la enzima hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (Jinnah y col.,1994).

El modelo de Parkinson propuesto por Ungerstedt en 1968 fue el antecedente del modelo de Lesch-Nyhan propuesto por Breese y col. en 1984. Ungerstedt encontró que la destrucción unilateral de las neuronas dopaminérgicas en el estriado de una rata adulta causaba hipersensibilidad de los receptores D2 a dopamina y lo propuso como modelo para el estudio de la enfermedad de Parkinson.

Breese encontró que la destrucción bilateral de las neuronas dopaminérgicas en una rata de menos de 3 días de nacida y la administración de agonistas dopaminérgicos cuando es adulta inducía la conducta de automutilación. Adicionalmente Breese describió por primera vez la hipersensibilidad del receptor D1 a la dopamina y su relación con la conducta de automutilación (Breese y col., 1990).

Farmacológicamente, la administración diaria de dosis altas de anfetamina o metanfetamina induce CAM en ratas intactas (Jinnah y col., 1990 y Pérez de la Mora y col., 1990) y en ratones (Brien y col., 1977). La administración de agonistas del receptor para dopamina (DA) para los

subtipos D_1/D_2 a ratas adultas (Breese y col., 1990) o a monos de 10-12 años (Goldstein y col. 1986) cuyo estriado fue denervado con 6-hidroxidopamina (6-OH-DA) al nacer (o por destrucción quirúrgica del área tegmental ventral a los 2 años de edad) causó la aparición de la CAM. En monos con denervación unilateral, resultó de interés que la CAM se limitó a la mutilación de los dedos de las extremidades contralateral a la lesión (Goldstein y col. 1986). Finalmente la administración de antagonistas del receptor para dopamina D_1 o D_1/D_2 previene o bloquea la CAM en ratas y monos (Breese y col., 1990 y Goldstein y col. 1986).

Los resultados anteriores en conjunto indican que como en el caso de los pacientes con el síndrome de Lesch-Nyhan la denervación dopaminérgica producida en los primeros días de la vida del animal induce un estado de hipersensibilidad del receptor dopaminérgico D_1 que al ser activado por drogas específicas desencadena la CAM.

La relación entre la falta de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa y la hipersensibilidad dopaminérgica D_1 no es sin embargo evidente pues en los animales transgénicos deficientes en esta enzima no se observa CAM (Dunnett y cols., 1989 y Jinnah y col., 1994) y las alteraciones del sistema dopaminérgico son menos aparentes que las observadas en los pacientes con síndrome de Lesch-Nyhan.

1.2. SUEÑO MOR (SMOR) Y PRIVACIÓN DE SUEÑO MOR (PSMOR)

Los procesos fisiológicos en el humano cambian constantemente, algunos en forma cíclica como el sueño y la vigilia donde a diferencia de otros ritmos biológicos resulta muy fácil distinguir los dos componentes, los cambios se regulan por "relojes internos" en su mayoría desconocidos.

Cuando se inventó el encefalógrafo se observó una actividad eléctrica

cerebral característica en cada fase del ciclo sueño –vigilia y al estudiar el registro electroencefalográfico únicamente de la fase de sueño se observaron diferencias periódicas en la actividad cerebral y se concluyó que tenía dos componentes : el sueño **no MOR** y el sueño **SMOR** (MOR son las iniciales de movimientos oculares rápidos, evento que se presenta en esta parte del sueño) .

El sueño no MOR se presenta al inicio de la fase de sueño y se mantiene durante 70 a 100 minutos seguido del sueño MOR excepto en los pacientes con narcolepsia que pueden tener SMOR en cualquier momento sin tener que pasar por sueño no MOR.

SUEÑO MOR

En el humano se presentan de 4 a 6 periodos de SMOR (llamado también sueño paradójico) que en los adultos representa el 25% y en los recién nacidos el 50 % del tiempo total de sueño.

El SMOR se ha observado en los mamíferos y en las aves y se caracteriza por: Movimientos oculares rápidos, actividad cerebral rápida , de bajo voltaje, irregular y paradójicamente semejante a la que se presenta durante el estado de alerta, un incremento en el umbral para despertar por estímulos sensoriales o por la estimulación de la formación reticular, potenciales fásicos grandes (potenciales en espiga pontogeniculoccipitales (PGO), en grupos de 3 a 5 que se originan en la protuberancia y pasan al cuerpo geniculado lateral y de ahí a la corteza occipital, una disminución del tono del músculo esquelético ya que las espigas PGO activan el área inhibidora reticular del bulbo raquídeo y se disminuyen los reflejos de estiramiento y los polisinápticos.

El paso siguiente fue investigar la participación de los sistemas de neurotransmisión en la generación, el mantenimiento y la suspensión del

SMOR (Jouvet y col., 1964) y se ha encontrado que el sistema dopaminérgico participa ya que el SKF38393 (agonista de receptor D₁ para DA) disminuye el SMOR y el SCH23390 (antagonista del mismo receptor) lo aumenta (Trampus y Ongini, 1990; Trampus y col. 1991).

PRIVACIÓN DE SMOR (PSMOR)

La PSMOR en el humano y en animales de experimentación causa cambios espontáneos y en la respuesta a algunos fármacos (Vimont-Vicary y col., 1966, Albert y col., 1993, Mark y col., 1969 y Vogel, 1975). Hay reportes del efecto de la PSMOR en los diferentes sistemas de neurotransmisión como en el noradrenérgico y en el serotoninérgico (Stern y col., 1971), algunos investigadores no encuentran cambios en los receptores colinérgicos (Ling-Ling y col., 1994) y otros reportes indican una disminución en los receptores muscarínicos (Nunes y col., 1994b). Se estudió también el efecto de la PSMOR en el sistema opioidérgico y tampoco se encontraron cambios (Fadda y col., 1993). Hay evidencia de que el sistema dopaminérgico parece estar principalmente afectado por la privación de esta fase del sueño:

Las ratas sometidas a PSMOR muestran un incremento en la actividad locomotora, en la actividad exploratoria (Longuski y col., 1976), y un incremento en los receptores D₁ para DA y en la actividad de la adenilato ciclasa en el sistema límbico y no en el estriado. El efecto conductual disminuyó con el antagonista D₁ SCH23390 pero no con el antagonista D₂ sulpiride y aumentó con el agonista D₁ SKF38393 (Demontis y col., 1990).

Las ratas lesionadas con 6-OHDA mostraron un incremento en la conducta de giro inducida por apomorfina cuando se les sometió a PSMOR, dicho incremento se previno con SCH23390 pero no con sulpiride (Drucker-Colín y col., 1996 y Durán-Vazquez y Drucker-Colín,

1997).

Tras la PSMOR se ha reportado tanto la ausencia de cambios en la conducta sexual (Hicks y col., 1991) como un incremento en el número de montas, del número de intromisiones, de la latencia de eyaculación y de un decremento de la frecuencia de eyaculación (Velazquez y col., 1996).

En ratas con PSMOR (4 días) se incrementó 39% la unión específica de SCH23390 en la corteza entorrinal (estudiaron 30 diferentes regiones cerebrales), y se incrementó 45% la unión de spiperona en el núcleo accumbens y 13 y 23 % en el caudado-putamen (Nunes y col., 1994a).

- En otro estudio no se encontraron cambios en la afinidad y en el número de receptores para spiperona en la corteza y en el estriado ratas con PSMOR (Farber y col., 1983).
- En el estriado de ratas sometidas a 24, 48, 72 y 96 horas de PSMOR se reportó una disminución en la densidad de los sitios de unión para DA (Zwicker y Calil, 1986).

Los datos anteriores sugieren que la PSMOR induce un estado de hipersensibilidad dopaminérgica que se manifiesta en presencia de agonistas. Dicho estado de hipersensibilidad puede ser la consecuencia de un cambio en la síntesis, degradación y/o liberación de DA (Gosh y col., 1976 y Sinha y col., 1973), de un cambio en el número y/o afinidad en los receptores para dopamina (pre o postsinápticos) o sus agonistas (Tufik y col., 1978, Serra y col., 1981, Demontis y col., 1990 y Hamdi y col., 1993) o de un cambio en los mecanismos de transducción relacionados con la activación de los receptores para DA

II HIPOTESIS

Es posible aumentar la CAM inducida por d-anfetamina en ratas al privarlas de la fase MOR del sueño debido a que se induce un estado de hipersensibilidad dopaminérgica que se manifiesta por la administración de agonistas directos o indirectos (apomorfina o anfetaminas) del receptor a dopamina y que se demuestra por el bloqueo con antagonistas para los mismos receptores.

III OBJETIVO

Con base en lo señalado anteriormente consideramos de interés para el entendimiento de la fisiopatología de la CAM, estudiar si la privación de sueño MOR era capaz de aumentar la CAM producida en ratas por la administración repetida de d-anfetamina. Así como de estudiar su posible mecanismo en caso de encontrar alguna modificación en dicha conducta.

IV MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En los experimentos realizados se usaron ratas Wistar , con 220 a 240g de peso corporal . Se colocaron de 6-10 ratas en cada caja. Todas las ratas recibieron comida "chow" y agua *ad libitum* y se mantuvieron en un ciclo de luz /obscuridad 12/12h (la luz se prendió a las 7:00 a.m.) y la temperatura ambiente se mantuvo a 22-23°C. Durante la privación de sueño las ratas permanecieron sin comida y agua excepto por un intervalo de 45 min. a la mitad del período de privación durante el cual se

transfirieron a sus cajas y se les permitió comer y beber *ad libitum*.

FÁRMACOS

El sulfato de d-anfetamina se obtuvo de Sigma Chemical Co. (St.Louis, MO), (±)-sulpiride de Research Biochemical International (Natick, MA) y el haloperidol de Janssen Pharmaceutical (México D.F., México). Las dosis de los fármacos fueron calculados como mg del fármaco (base)/kg de peso corporal; las soluciones se ajustaron para inyectar un volumen de 0.1 ml/100g . Los fármacos fueron preparados en solución salina isotónica e inyectados intraperitonealmente (i.p.) excepto el sulpiride que se disolvió en 20µl de ácido acético glacial 1.0 M, y se diluyó a la concentración deseada con una solución de glucosa al 5 % y se administró por vía subcutánea. [³H]DA (con actividad específica de 11.7 Ci/mMol) "New England Nuclear" (Boston, MA).

Los solventes usados para la determinación de DA fueron grado "HPLC". Los demás reactivos utilizados fueron adquiridos de "Sigma Chemical Co." O de diversos proveedores nacionales.

PROCEDIMIENTO DE PSMOR

Las ratas se privaron de sueño MOR con el método llamado: del florero o de la plataforma invertida, en el que las ratas se colocan en plataformas individuales de 6 cm diámetro x 12 cm de alto colocadas en contenedores de plástico de 30 cm de diámetro con agua hasta un nivel de 2 cm. En todos los casos las ratas se mantuvieron en las plataformas durante 48 horas. Bajo estas condiciones, aunque el animal presenta sueño de ondas lentas al presentarse la fase MOR del sueño y la pérdida del tono

muscular la rata despierta al caer al agua (Mendelson y col. 1974).

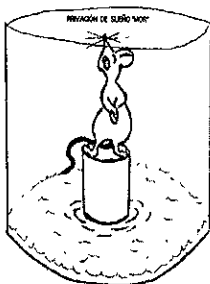


Figura 10 .- Método de la plataforma invertida para privar de sueño MOR a una rata (Mendelson y col. 1974).

Como control, otro grupo de ratas se colocó en el mismo ambiente pero en plataformas de 14 cm de diámetro en las que presentan un ciclo normal de sueño/vigilia . Dicho grupo será designado grupo plataforma grande (PG).

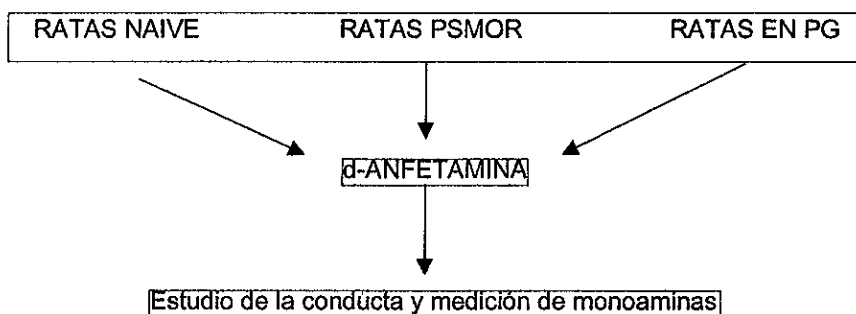
ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS Y ESTUDIO DE LA CONDUCTA

La d-anfetamina (5, 7.5 o 10 mg/kg) se administró una vez al día (10:00 AM) por vía i.p. durante 6 días consecutivos a ratas privadas y no privadas de sueño MOR. Los antagonistas de los receptores dopaminérgicos (ver estructuras en el Apéndice I) preparados como ya se indicó anteriormente, fueron administrados 15 minutos antes de la administración de la d-anfetamina. Después de la cada inyección de d-anfetamina las ratas se colocaron en cajas individuales y la CAM se

calificó cada 15 min. durante 3 h. La CAM fue calificada de acuerdo a la siguiente escala: 0 ; sin CAM; 1 ; mordidas compulsivas sin sangrado o pérdida de alguna parte del cuerpo (CAM media). 2 ; CAM con sangrado y/o pérdida de un dígito (CAM completa). Las ratas se calificaron cada día de acuerdo al máximo grado de CAM presentado.

GRUPOS EXPERIMENTALES:

A un grupo de 3-6 ratas se les administró d-anfetamina, 6 ratas se privaron de sueño MOR y posteriormente se les administró la d-anfetamina y 6 ratas se colocaron en una plataforma grande y posteriormente se les administró la d-anfetamina. Lo anterior se realizó varias veces y con ratas diferentes (naive) para cada nivel de dosis de d-anfetamina (5, 7.5 y 10 mg/kg).



En los experimentos con antagonistas únicamente se usaron ratas privadas de sueño MOR y tratadas con d-anfetamina 7.5 mg/kg y cada antagonista se administró a cada grupo de 6 ratas 15 minutos antes de la administración de la d-anfetamina.

MEDICIÓN DE LAS MONOAMINAS

La DA, noradrenalina (NA) y 5-hidroxitriptamina (5-HT) (ver estructuras

en el APÉNDICE 1) se midieron en el neoestriado y en la corteza frontoparietal de animales privados o no de sueño MOR, en los animales tratados con d-anfetamina y en los animales privados de sueño MOR y tratados con d-anfetamina. Los animales se sacrificaron por decapitación (13 hrs.) justo al terminar el periodo de privación o 3 hrs. después de la administración de la d-anfetamina. Los cerebros fueron sacados del cráneo y colocados en solución salina isotónica fría (en hielo). El neoestriado fue disecado de una rebanada del cerebro anterior obtenido mediante una cuchilla especial, formada por dos navajas paralelas separadas 2mm, colocada en el borde rostral del quiasma óptico como lo describió Pérez de la Mora y col. (1977). Un pedazo de la corteza cerebral frontoparietal fue manualmente recortada de la misma rebanada.

El tejido se pesó en cuadritos de papel aluminio previamente pesados y su peso fue obtenido por diferencia. Las monoaminas fueron extraídas por sonicación en ácido perclórico 0.05 M enfriado con hielo (500 μ l/0.01g de tejido). Los homogenados se centrifugaron durante 2 minutos en una microfuga Eppendorf y los sobrenadantes se colocaron a -80 °C hasta el momento de ser analizados.

La DA, la NA y la 5HT se midieron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como lo describió Taylor y col.,(1983) con un sistema "Gilson" equipado con dos bombas (305-306) y con un detector electroquímico (mod 141). La columna (150 X 4.6mm) y las precolumnas (30 X 4.6 mm) usadas, fueron Nucleosil C18 (100 A, 5 μ m), Phenomenex). Todos los solventes usados fueron grado HPLC. Una alícuota de 20 μ l del extracto de tejido filtrado, se inyectó directamente en la columna por una válvula Reodyne 7125 y el sistema corrió a una velocidad de 1.0 ml/min. Para la detección se usó un potencial de operación de 0.7 V en relación a un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata. La cantidad de NA, DA y 5-HT se calculó con una curva estándar basada en 5 niveles de concentración.

LIBERACIÓN DE [³H]DA

La liberación de [³H]DA se midió en rebanadas del neocórtex y de la corteza frontoparietal, como lo describieron Pérez de la Mora y col. (1993) pero preincubando las rebanadas con [³H]DA e introduciendo algunas modificaciones: Para obtener las rebanadas de cerebro las ratas se decapitaron y sus cerebros inmediatamente se colocaron en solución salina isotónica enfriada con hielo. Después de algunos segundos el neocórtex y la corteza cerebral frontoparietal se disecó como se describió previamente. Las rebanadas (300 μ m) se obtuvieron usando un rebanador de tejidos "McIlwain".

Las rebanadas de cerebro se incubaron a 37 °C en un medio Krebs-Ringer (118 mM NaCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 4.7 mM KCl, 1.17 mM MgSO₄, 2.5 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃ y 5.6 mM de glucosa, pH 7.4) burbujeado continuamente con una mezcla de 95% O₂ + 5% CO₂. Después de 15 min. [³H]DA (con actividad específica de 11.7 Ci/mM) se agregó para dar una concentración final de 1.0 μ M, y la incubación continuó por otros 15 min para permitir una suficiente captación de [³H]DA.

Al final de la incubación las rebanadas fueron transferidas a cámaras especiales en donde se perfundieron con el mismo medio a una velocidad de flujo de 1 ml/min. Después de 35 min. el medio fue temporalmente sustituido (2 min.) por otro conteniendo d-anfetamina a una concentración de 10 μ M. Al final de este periodo la perfusión se continuó por 10 minutos adicionales. Las fracciones se colectaron cada 2 minutos y al final del experimento se procedió a digerir las rebanadas con dodecil sulfato de sodio 1.0 M.

La radioactividad (desintegraciones por minuto (dpm)) en rebanadas y fracciones se contó por espectrometría de centelleo, en viales con 5.0 ml de Tritosol (Fricke 1975). La liberación de [³H]DA se expresó como el

porcentaje de la radioactividad para lo cual se midieron las dpm del tejido marcado con [^3H]DA antes de estimular su liberación con d-anfetamina y se consideró como 100% (radioactividad total) posteriormente se contó la radioactividad (dpm) presente en las rebanadas de cerebro después de la estimulación con d-anfetamina y se calculó el porcentaje respecto a las dpm antes de la estimulación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron evaluados con el análisis de varianza para datos no paramétricos de Friedman para medidas repetidas seguido cuando fue necesario de la prueba post hoc de Dunn para comparaciones múltiples. La CAM fue adicionalmente analizada usando las tablas de contingencia de 2x2 de la prueba exacta de "Fisher" (de dos colas) considerando en el análisis aquellos grupos calificados como 0 y 1 en nuestra escala (ver administración de fármacos y estudio de la conducta) como un grupo único y el grupo con calificación de 2 (CAM completa) como el segundo grupo. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico para IBM (SPS/PC+; SPSS Inc.).

V. RESULTADOS

EFECTO DE LA d-ANFETAMINA EN LA CAM

En la Fig.12 B se puede ver que la administración diaria de d-anfetamina 7.5 mg/kg causó la aparición de la CAM ($F= 19.7$; $p<0.005$). La CAM se presentó hasta el 3er día de la administración de la d-anfetamina, y permaneció estable durante los siguientes días del experimento. La CAM se presentó también en las ratas del grupo tratado con 10 mg/kg de d-anfetamina ($F=11.1$; $p<0.05$) pero a diferencia de las ratas del grupo anterior, la CAM observada fue evidente desde el primer día de la administración de la d-anfetamina y desapareció después del tercer día de tratamiento. (Fig.12 C). La dosis de 5 mg/kg de d-anfetamina no fue capaz de inducir la CAM (Fig. 12 A).

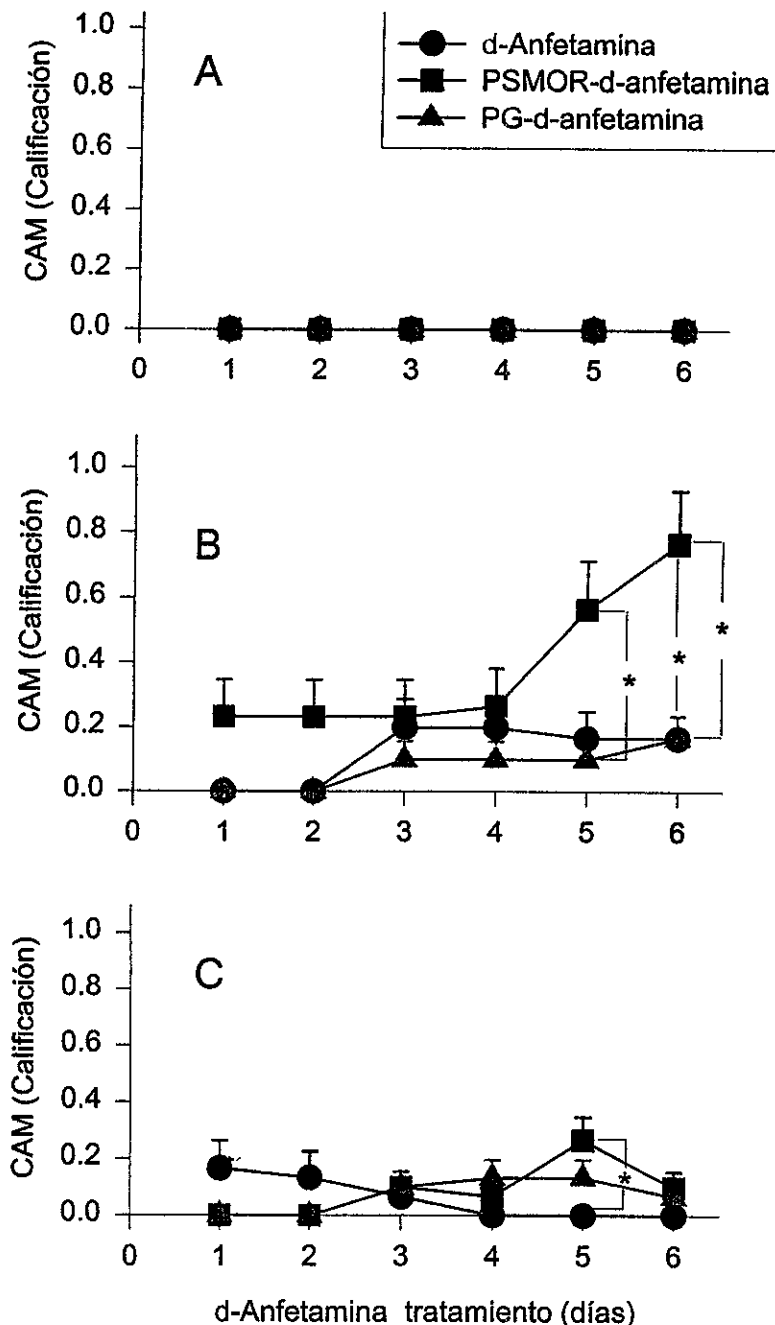
En ratas del grupo PG (colocadas en las plataformas grandes) la administración diaria de d-anfetamina 7.5 y 10 mg/kg , causó la aparición de una CAM que fue para ambas dosis similar en su intensidad y en su patrón de aparición y desaparición. Sin embargo mientras que en las ratas tratadas con 7.5 mg/kg de d-anfetamina el patrón de presentación de la CAM fue muy parecido al observado en las ratas, no privadas de sueño "MOR" y tratadas con d-anfetamina, el patrón de automutilación que presentaron las ratas tratadas con 10 mg/kg fue diferente (Fig. 12 B y C). Como en el caso de las ratas del grupo, no privado de sueño "MOR" el tratamiento con 5 mg/kg de d-anfetamina no produjo ninguna conducta automutilatoria (Fig. 12 A).

EFFECTO DE LA PSMOR EN LA CAM INDUCIDA POR LA d-ANFETAMINA

La CAM también se observó en el grupo de ratas privadas de sueño MOR y tratadas diariamente con 7.5 mg/kg de d-anfetamina ($F=40.6$ $p<0.001$) pero a diferencia del grupo de ratas control PG, la CAM apareció desde el primer día y fue mucho mas intensa al final del tratamiento (Fig.12 B). El análisis de varianza practicado indicó que hubo efectos estadísticamente significativos entre los grupos ($F=76.0$; $p<0.001$) debidos en parte a diferencias (Prueba de Dunn; $p<0.05$) entre el grupo privado de sueño MOR y tratado con d-anfetamina y los grupos no privados de sueño MOR y PG (Fig.12 B).

La CAM en ratas tratadas con 10 mg/kg de d-anfetamina fue también observada en el grupo privado de sueño MOR ($F=30.00$; $p<0.001$) pero este efecto nunca alcanzó en alguna rata la calificación de 2 (CAM completa) y la diferencia fue significativa solo cuando este grupo se comparó con el grupo de ratas no privadas de sueño "MOR" hacia el 5º día del tratamiento como se puede ver en la Tabla 1 y en la Fig.12. Como en los otros casos la d-anfetamina 5.0 mg/kg también fue incapaz de producir CAM (Fig.12 A).

Para profundizar en el análisis estadístico de los efectos de la privación de sueño MOR en la CAM inducida por d-anfetamina, con los resultados obtenidos se hicieron tablas de contingencia en las que los animales que no presentaron CAM o presentan una CAM media (calificación de 1) se consideraron un solo grupo y los que tuvieron CAM completa otro grupo (calificación de 2). Los resultados se analizaron con la prueba exacta de Fisher y como se muestra en la tabla 1, un aumento significativo de la CAM se observó cuando la d-anfetamina (7.5 mg/kg) se administró a las ratas privadas de sueño MOR.



d-Anfetamina tratamiento (días)

Figura 12.- Efecto de la PSMOR en la CAM inducida por la d-anfetamina 5 mg/kg (A) 7.5 mg/kg (B) y 10 mg/kg (C) en la rata. Los resultados se expresan como la media \pm EEM de la calificación para cada grupo de ratas en cada día. El número de ratas para cada grupo se encuentra en la tabla 1. La diferencia entre los tratamientos fue evaluada con la prueba post-hoc de Dunn (* < 0.05) y ANOVA de Friedman.

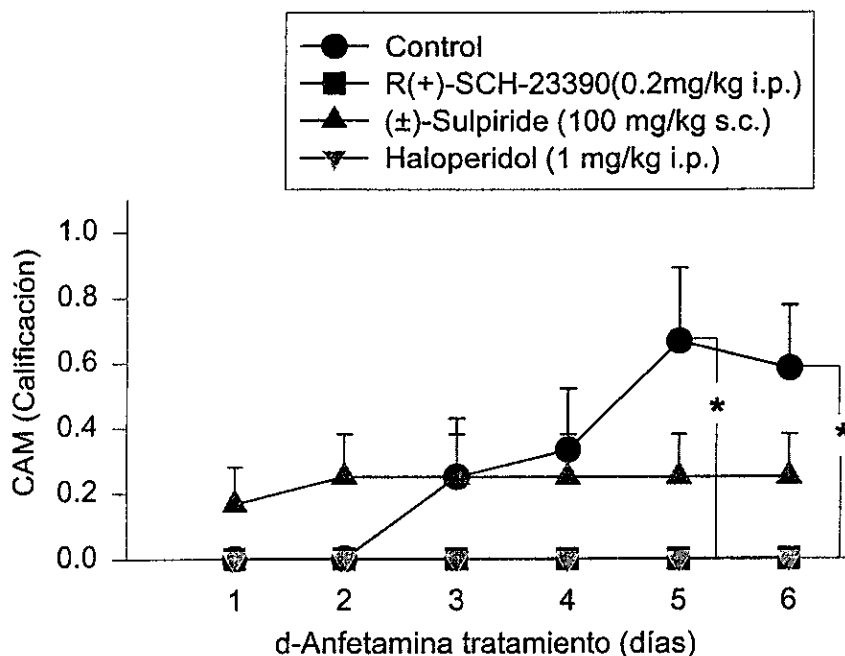


Figura 13.- Efecto de los antagonistas de los receptores para dopamina en el incremento inducido por la PSMOR en la CAM inducida por la d-anfetamina en la rata. Los resultados se expresan como la media \pm EEM de la calificación para cada grupo de ratas en cada día. La diferencia entre los tratamientos fue evaluada con la prueba post-hoc de Dunn (* <0.05) y ANOVA de Friedman.

Tabla 1

Efecto de la PSMOR en la CAM inducida por la d-anfetamina en la rata.

Grupo	d-anfetamina (mg/kg)		
	5	7.5	10
d-Anfetamina	0/30	1/46	2/30
PSMOR-d-anfetamina	0/30	9/30 *	0/30
PG-d-anfetamina	0/30	0/30	0/30

Se observó la CAM en cada grupo de ratas durante 3 horas después de la administración de la d-anfetamina. En esta tabla se consideraron únicamente las ratas que obtuvieron la máxima calificación de automutilación (pérdida de un segmento corporal y/o lesiones hemorrágicas cutáneas). Los resultados se expresaron como número de ratas con CAM/total de ratas. * $p < 0.05$ Prueba exacta de Fisher.

EFFECTO DE LOS ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES PARA DA EN EL INCREMENTO CAUSADO POR LA PSMOR EN LA CAM INDUCIDA POR LA d-ANFETAMINA

Para explorar la posibilidad de que la privación de sueño MOR aumentara la CAM inducida por d-anfetamina a través de una acción sobre la neurotransmisión dopaminérgica, se administraron antagonistas de los receptores para DA 15 min. antes de la inyección de d-anfetamina (7.5 mg/kg) a las ratas privadas de sueño MOR. Como se muestra en la Fig.13, el R(+)-SCH-23390 y el haloperidol previnieron completamente la aparición de la CAM mientras que el (±) sulpiride solo causó bloqueo parcial. De considerable interés resultó el hecho de que, la administración de R (+)-SCH-23390 a ratas que sufrían de un episodio de automutilación les suprimió de inmediato y en forma total la CAM (datos no mostrados).

EFFECTO DE LA PSMOR Y DE LA d-ANFETAMINA EN LOS NIVELES DE MONOAMINAS EN EL CUERPO ESTRIADO Y EN LA CORTEZA CEREBRAL

Como se muestra en la Fig.14 y 15 , tras un periodo de 48 hrs de privación de sueño MOR los niveles de DA se incrementaron tanto en el neostriado como en la corteza cerebral frontoparietal . No se observó en cambio, ningún efecto en los niveles de DA después de 6 días de la administración de d-anfetamina a ratas privadas y no privadas de sueño MOR (Fig.14). En ratas control (PG) se observó sin embargo una disminución en los niveles de DA en la corteza cerebral pero no en el neostriado de las ratas control PG (Fig.14). Los niveles de NA y 5-HT neostriatal y cortical no se modificaron bajo ninguna de las condiciones experimentales estudiadas (Fig.15 y 16).

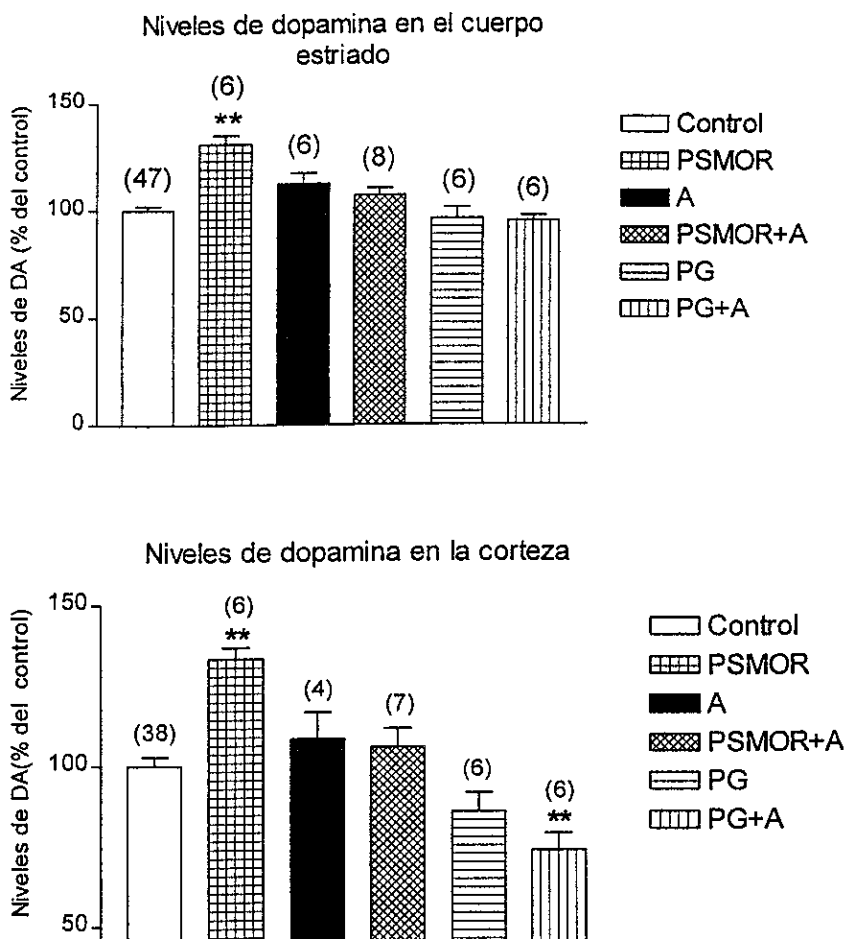


Figura 14.- Efecto de la PSMOR en los niveles de DA en el cuerpo estriado (gráfica superior) y en la corteza (gráfica inferior) de ratas tratadas con d-anfetamina. Se graficó la media \pm EEM como porcentaje del grupo control (tratadas con SSI). El nivel de DA para el grupo control fue de 9.7 ± 2.06 ng/g de tejido en el cuerpo estriado y de 0.036 ± 0.001 ng/g, en la corteza. Los datos se analizaron con el ANOVA de una vía seguido por la prueba de Dunnet ** $p < 0.01$.

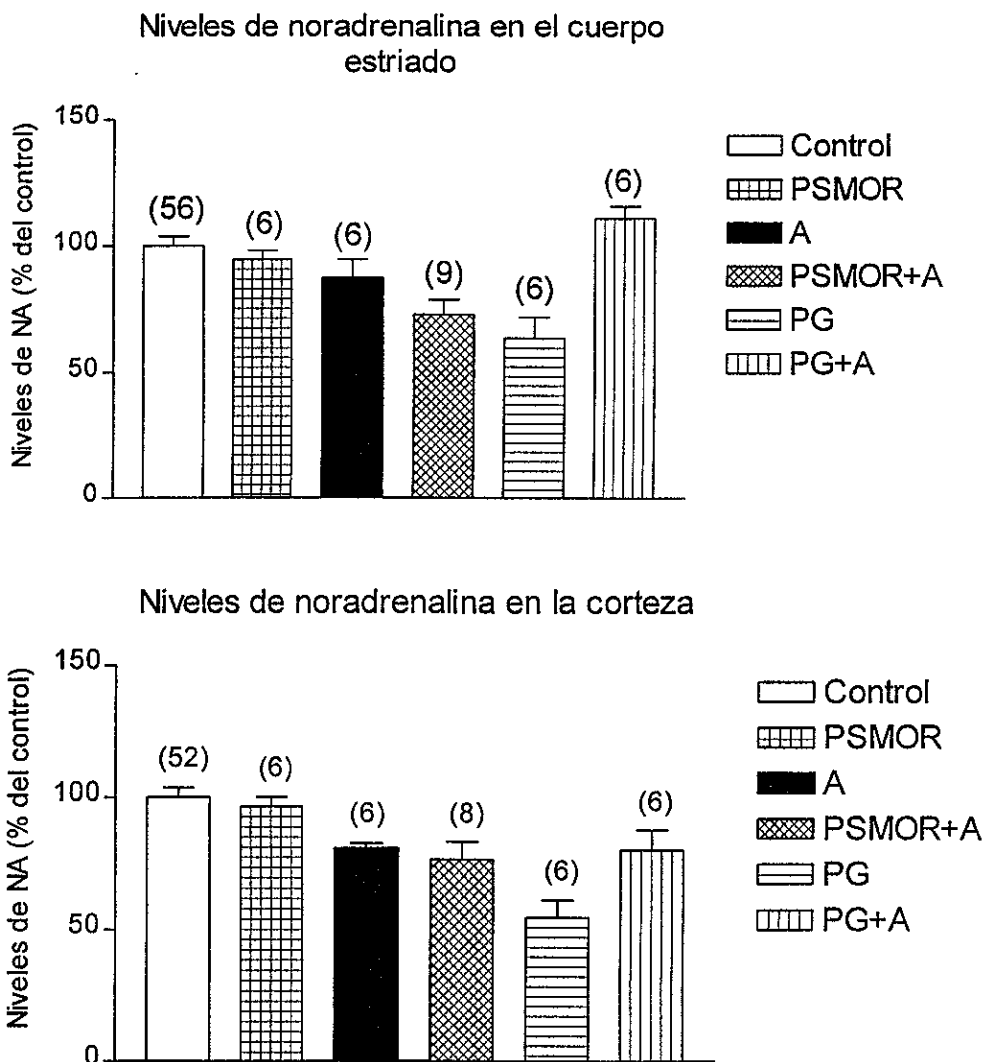


Figura 15.- Efecto de la PSMOR en los niveles de NA en el cuerpo estriado (gráfica superior) y en la corteza (gráfica inferior) de ratas tratadas con d-anfetamina. Se graficó la media \pm EEM como porcentaje del grupo control (tratadas con SSI). El nivel de NA para el grupo control fue de 0.55 ± 0.02 ng/g de tejido en el cuerpo estriado y de 0.57 ± 0.02 ng/g, en la corteza. Los datos se analizaron con el ANOVA de una vía seguido por la prueba de Dunnet ** $p < 0.01$.

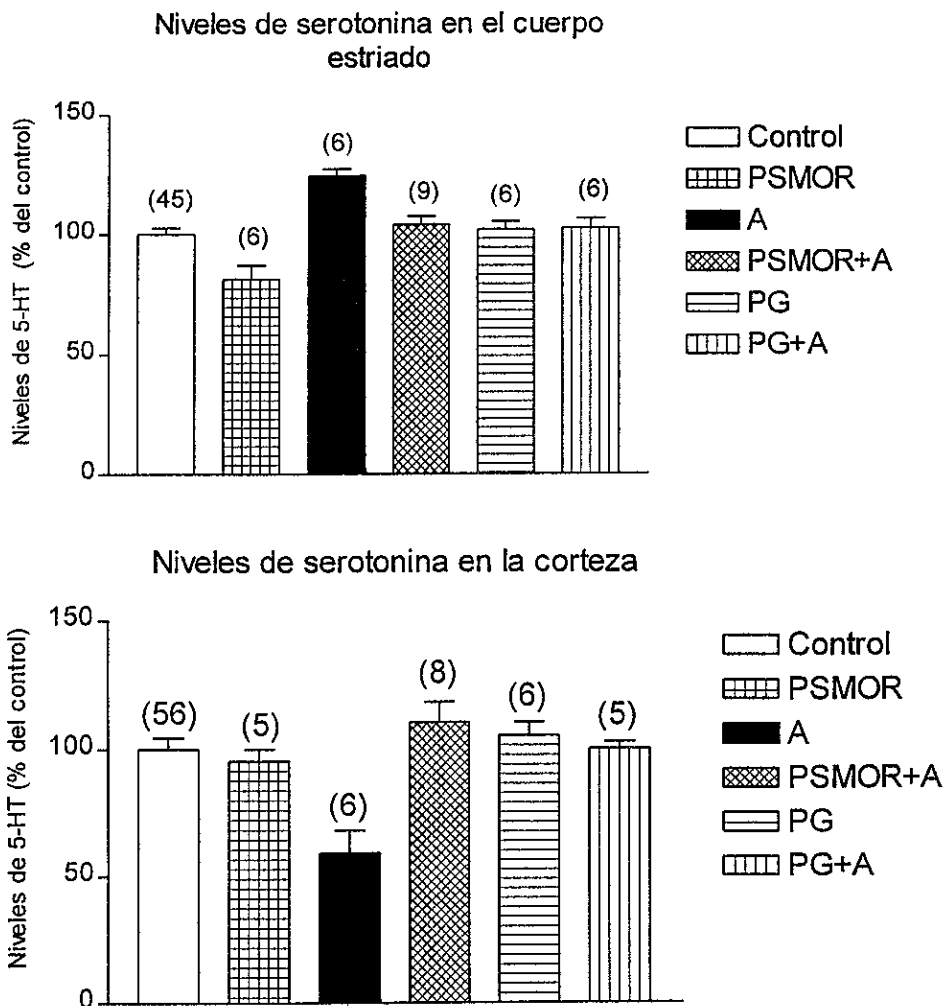


Figura 16.- Efecto de la PSMOR en los niveles de 5-HT en el cuerpo estriado (gráfica superior) y en la corteza (gráfica inferior) de ratas tratadas con d-anfetamina. Se graficó la media \pm EEM como porcentaje del grupo control (tratadas con SSI). El nivel de 5-HT para el grupo control fue de 0.7 ± 0.02 ng/g de tejido en el cuerpo estriado y de 0.22 ± 0.01 ng/g, en la corteza. Los datos se analizaron con el ANOVA de una vía seguido por la prueba de Dunnet ** $p < 0.01$.

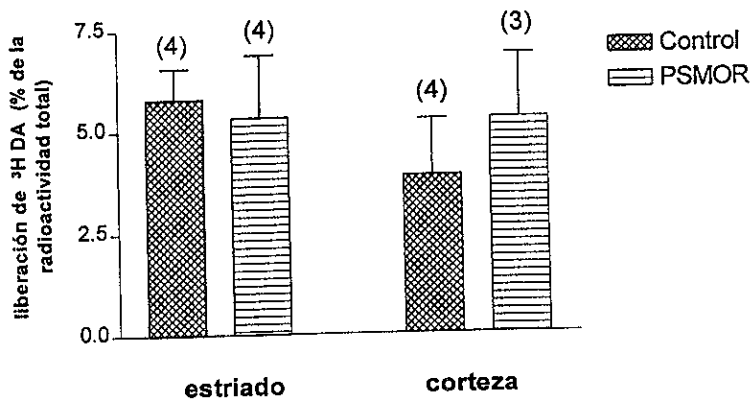


Figura 17.- Efecto de la privación de sueño MOR en la liberación de [^3H]DA inducida por d-anfetamina. Las rebanadas de cerebro fueron preincubadas 15 min. con [^3H]DA (actividad específica de 11.7 Ci/mMol. 1.0 μM) y estimuladas con d-anfetamina 10 μM . La liberación de [^3H]DA (media \pm EEM, el número de superfusiones independientes se muestra entre paréntesis) se expresó como porcentaje de la actividad total presente en las rebanadas estimuladas con d-anfetamina.

EFFECTO DE LA PSMOR EN LA LIBERACIÓN DE [³H]DA INDUCIDA POR LA d-ANFETAMINA EN EL CUERPO ESTRIADO Y EN LA CORTEZA CEREBRAL

Como se muestra en la Fig. 17, la liberación de [³H]DA de rebanadas del neostriado y de corteza cerebral en ratas privadas y sin privar de sueño MOR fue casi idéntica.

VI. DISCUSIÓN

De acuerdo con lo encontrado por otros grupos de investigación (Jinnah y col., 1990 y Pérez de la Mora y col.1990) la administración diaria de d-anfetamina a ratas no privadas de sueño MOR causó una CAM caracterizada por episodios compulsivos de mordidas autodirigidas, las cuales dependiendo de su intensidad produjeron lesiones cutáneas muy leves, hemorrágicas o un verdadero proceso de automutilación caracterizado por la pérdida de algún dedo o extremidad. La aparición de la CAM fue dependiente de la dosis de d-anfetamina fue necesaria la administración repetida de la droga y aun así dicha conducta solo la presentaron algunos animales.

Los resultados obtenidos muestran que un periodo previo de privación de sueño MOR (48 hrs.) aumenta la CAM inducida por la d-anfetamina (7.5 mg/kg) pues la CAM observada se presenta desde el primer día de la administración de d-anfetamina, y en comparación con los grupos GPG o únicamente tratados con d-anfetamina es mucho más intensa al final del tratamiento (Fig.12B).

Los efectos de la privación de sueño MOR en la CAM inducida por d-anfetamina fue dependiente de la dosis utilizada, ya que en estas condiciones solo la administración diaria de 7.5 mg/kg de d-anfetamina

EFFECTO DE LA PSMOR EN LA LIBERACIÓN DE [³H]DA INDUCIDA POR LA d-ANFETAMINA EN EL CUERPO ESTRIADO Y EN LA CORTEZA CEREBRAL

Como se muestra en la Fig. 17, la liberación de [³H]DA de rebanadas del neostriado y de corteza cerebral en ratas privadas y sin privar de sueño MOR fue casi idéntica.

VI. DISCUSIÓN

De acuerdo con lo encontrado por otros grupos de investigación (Jinnah y col., 1990 y Pérez de la Mora y col.1990) la administración diaria de d-anfetamina a ratas no privadas de sueño MOR causó una CAM caracterizada por episodios compulsivos de mordidas autodirigidas, las cuales dependiendo de su intensidad produjeron lesiones cutáneas muy leves, hemorrágicas o un verdadero proceso de automutilación caracterizado por la pérdida de algún dedo o extremidad. La aparición de la CAM fue dependiente de la dosis de d-anfetamina fue necesaria la administración repetida de la droga y aun así dicha conducta solo la presentaron algunos animales.

Los resultados obtenidos muestran que un periodo previo de privación de sueño MOR (48 hrs.) aumenta la CAM inducida por la d-anfetamina (7.5 mg/kg) pues la CAM observada se presenta desde el primer día de la administración de d-anfetamina, y en comparación con los grupos GPG o únicamente tratados con d-anfetamina es mucho mas intensa al final del tratamiento (Fig.12B).

Los efectos de la privación de sueño MOR en la CAM inducida por d-anfetamina fue dependiente de la dosis utilizada, ya que en estas condiciones solo la administración diaria de 7.5 mg/kg de d-anfetamina

fue claramente inductora de automutilación (Fig.12). Lo escaso de la automutilación observada tras la administración de 10 mg/kg a ratas privadas de sueño MOR resulta en extremo extraña, sin embargo una pérdida en la especificidad de la acción de la d-anfetamina pudiera estar involucrada pues ha sido reportado que con dosis tan altas (10 mg/kg) se presentan otros efectos tales como la desagregación de los polisomas y una disminución de la síntesis de proteínas cerebrales (Moskowitz y col., 1977 y Roel y col., 1978).

Como consecuencia de lo anterior, si en estas condiciones la d-anfetamina esta en realidad produciendo un decremento en la síntesis de proteínas, la ausencia de CAM observada al final del tratamiento con 10 mg/kg de d-anfetamina en ratas no privadas de sueño MOR y los escasos efectos observados con la misma dosis en ratas privadas de sueño MOR indicarían que se requiere de una correcta síntesis de proteína para que se exprese la CAM y para que los efectos de "priming" o sensibilización de la privación de sueño MOR en la aparición de la conducta se hagan evidentes.

Alternativamente la tolerancia a los efectos automutilantes provocados por la administración diaria de dosis altas de d-anfetamina podría haberse producido e influenciado la expresión de la CAM en las ratas privadas de sueño MOR pues la CAM inducida por 10 mg/kg de d-anfetamina en ratas no privadas de sueño MOR al inicio del tratamiento, como se puede ver en la Fig.12, desapareció completamente al continuar las inyecciones subsecuentes (ver Fig.12 C).

Dado que se podría argumentar que las mordidas compulsivas, consideradas como CAM de intensidad media y calificada como 1 en el análisis mostrado en la Fig.12, no representan una auténtica CAM analizamos, utilizando tablas de contingencia de 2X2, la CAM inducida por d-anfetamina, tomando en cuenta en este nuevo análisis solo 2 grupos de ratas; aquellas con CAM completa (pérdida de extremidades,

de dedos y o producción de lesiones sangrantes) y el resto de los animales (calificaciones de 1 y de 0). Como se muestra en la tabla 1 la administración diaria de d-anfetamina (7.5 mg/kg a ratas privadas de sueño MOR) aumentó la CAM completa sugiriendo que la privación previa de sueño MOR estaba teniendo un efecto de "priming" o sensibilización en la presentación de la CAM inducida por d-anfetamina.

La posibilidad de que el estrés y que inevitablemente se produce durante el procedimiento de privación de sueño MOR, pudiera ser el responsable del aumento de la CAM inducida por d-anfetamina es poco probable ya que el grado de CAM observado en las ratas PG (7.5 mg/kg) es comparable al observado en ratas no privadas de sueño MOR tratadas con d-anfetamina y es significativamente inferior al registrado en la ratas privadas de sueño MOR y tratadas con d-anfetamina (ver Fig.12B).

El mecanismo por el que la privación de sueño MOR incrementa la CAM observada durante la administración diaria de d-anfetamina se desconoce. Sin embargo el hallazgo de que el R(+)-SCH-23390 (un antagonista D_1) y el haloperidol (un antagonista D_1/D_2) bloqueara completamente y que el (\pm)sulpiride (antagonista D_2) bloqueara solo parcialmente la CAM inducida por d-anfetamina en ratas privadas de sueño MOR (Fig.13) sugiere que los receptores para dopamina (particularmente los de tipo D_1) están involucrados en la presentación de este fenómeno. Mas aún, hay que mencionar que la administración de R(+)-SCH-23390 a las ratas privadas de sueño MOR durante el episodio de automutilación suprimió completamente y en segundos esta conducta.

Esta posibilidad encuentra apoyo en los resultados de Breese y col. (1990) y Goldstein y col. (1986) que muestran que la CAM causada por la administración de L-dopa +carbidopa en ratas y en monos con receptores dopaminérgicos supersensibles se logró prevenir o abolir completamente con la administración de antagonistas D_1 o D_1/D_2 del receptor para DA y solo se reduce por el tratamiento previo con el antagonista D_2 . Será

necesario sin embargo realizar experimentos de unión a receptores para confirmar esta sugerión.

Desde un punto de vista clínico es de interés que los episodios de CAM se observan frecuentemente en adictos a las anfetaminas (Kratofil y col., 1996). Ya que largos periodos de insomnio son comunes en estos individuos, y en algunos casos el insomnio precede la CAM observada (Kratofil y col. 1996). En ellos podría sugerirse que un decremento en el tiempo de sueño MOR podría predisponerlos a tener episodios severos de CAM.

Se ha reportado que la privación de sueño MOR incrementa las respuestas conductuales a los agonistas dopaminérgicos D_1 y D_2 (Drucker-Colín y col. 1996 y Tufik y col. 1978) podría sugerirse que el incremento en la CAM inducida por d-anfetamina en las ratas privadas de sueño MOR resulta de la activación de receptores D_1 hipersensibles y de que tal hipersensibilidad esta ligada a un incremento en la actividad del receptor D_1 dopaminérgico acoplado a la adenilato ciclasa pues ha sido observado que la actividad de dicho receptor se encuentra aumentada en ratas lesionadas al nacimiento con 6-OHDA y en las cuales un reto con agonistas dopaminérgicos D_1 o D_1/D_2 resulta en la aparición de CAM (Breese y col. 1990 y Goldstein y col. 1986).

Por otro lado ya que niveles elevados de DA se han encontrado asociados a una disminución en el disparo y en la liberación de DA es tentador especular que los niveles elevados de DA encontrados en el estriado y en la corteza cerebral de las ratas privadas de sueño MOR (Gosh y col.) podría resultar de una disminución en la función dopaminérgica la cual a su vez podría llevar a un aumento en la actividad del receptor dopaminérgico D_1 acoplado a la adenilato ciclasa.

La ausencia de cambios en la liberación de DA estimulada por d-anfetamina en ratas privadas de sueño MOR (Fig.17) junto con la falta de efectos sobre los niveles de DA al final del tratamiento con 7.5 mg/kg de

d-anfetamina a ratas privadas de sueño MOR sugiere que en el efecto de la privación de sueño MOR sobre la CAM inducida por d-anfetamina no están involucrados cambios presinápticos evidentes.

Así mismo la participación de los sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos sobre este efecto podría eliminarse por la falta de efectos en los niveles de estas aminas en la corteza cerebral y el estriado de la rata privada de sueño MOR y tratada con d-anfetamina (Fig.15 y 16).

VII. CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que la privación de sueño MOR aumenta la CAM observada durante la administración de d-anfetamina al inducir un probable estado de supersensibilidad dopaminérgica que involucra la activación de los receptores D_1 y sugieren que tal supersensibilidad pudiera ser producida por un decremento en la actividad dopaminérgica presináptica la cual podría ocasionar a su vez un aumento en la actividad del receptor de dopamina D_1 localizado postsinápticamente acoplado a la adenilato ciclasa.

d-anfetamina a ratas privadas de sueño MOR sugiere que en el efecto de la privación de sueño MOR sobre la CAM inducida por d-anfetamina no están involucrados cambios presinápticos evidentes.

Así mismo la participación de los sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos sobre este efecto podría eliminarse por la falta de efectos en los niveles de estas aminas en la corteza cerebral y el estriado de la rata privada de sueño MOR y tratada con d-anfetamina (Fig.15 y 16).

VII. CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que la privación de sueño MOR aumenta la CAM observada durante la administración de d-anfetamina al inducir un probable estado de supersensibilidad dopaminérgica que involucra la activación de los receptores D_1 y sugieren que tal supersensibilidad pudiera ser producida por un decremento en la actividad dopaminérgica presináptica la cual podría ocasionar a su vez un aumento en la actividad del receptor de dopamina D_1 localizado postsinápticamente acoplado a la adenilato ciclasa.

VIII BIBLIOGRAFÍA

- Albert, I., Cicala, G. A. y Siegel, J., The behavioral effects of REM sleep deprivation in rats, *Psychophysiol.*, 7 (1970) 552-560.
- Alexander, G. E. y Crutcher, M. D., Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing, *Trends Neurosci.*, 13 (1990) 266-71.
- Aman, M.J., Efficacy of psychotropic drugs for reducing self-injurious behavior in the developmental disabilities, *Ann.Clin.Psychiatry.*, 5 (1993) 171-188.
- Andersen, P. H., Gingrich, J. A., Bates, M. D., Deary, A., Falardeau, P., Senogles, S. E. y Caron, M. G., Dopamine receptor subtypes: beyond the D₁/D₂ classification, *TIPS*, 11 (1990) 231-236.
- Arriaga, F., Dugovic, C. y Wauquier, A., Effects of lithium on dopamine behavioural supersensitivity induced by rapid eye movement sleep deprivation, *Neuropsychobiology*, 20 (1988) 23-27.
- Brailowsky, S. Las sustancias de los sueños: Neuropsicofarmacología: Fondo de cultura económica, México. (1995) 79-80.
- Brasic, J. R., Barnett, J. Y., Ahn, S.C. Nadrich, R.H., Will, M. V. y Clair, A., Clinical assessment of self-injurious behavior, *Psychol.Rep.*, 80 (1997) 155-160.

- Breese, G. R., Baumeister, A. A., McCown, T. J., Emerick, S. G., Frye, G. D. y Mueller, R. A., Neonatal 6-hydroxydopamine treatment: model of susceptibility for self-mutilation in the Lesch-Nyhan syndrome, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 21 (1984) 459-461.
- Breese, G. R., Criswell, H. E., Duncan, G. E. y Mueller, R. A., A dopamine deficiency model of Lesch-Nyhan disease the neonatal-6-OHDA-lesioned rat, *Brain Res.*, 25 (1990) 477-484.
- Brien, J. F., Peachy, J. E. y Kitney, J. C., Amphetamine-induced stereotyped behaviour and brain concentrations of amphetamine and its hydroxylated metabolites in mice, *J. Pharm. Pharmacol.*, 29 (1977) 49-50.
- Cadet, J. L., Alis, S. y Epstein, Ch., Involvement of oxygen-based radicals in methamphetamine-induced neurotoxicity: Evidence from the use of CuZnSOD transgenic mice, *Ann. of New York Acad. of Sci.*, 738 (1995) 389-391.
- Casas-Bruge, M., Almenar, C., Grau, I. M., Jane, J., Herrera-Marschitz, M. y Ungerstedt, U., Dopaminergic receptor supersensitivity in self-mutilation behavior of Lesch-Nyhan disease, *Lancet.*, 1 (1985) 991-992.
- Creese, I., Burt, D. R. y Snyder, S. H., Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity, *Science*, 197 (1977) 596-598.

- Criswell, H., Mueller, A. y Breese, G.R., Assesment of purine-dopamine interactions in 6-hydroxydopamine-lesioned rats: Evidence for pre- and postsynaptic influences by adenosine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 244 (1988) 493-500.
- Demontis, M. G., Fadda, P., Devoto, P., Martellotta, M. C. y Fratta, W., Sleep deprivation increase dopamine D1 receptor antagonist [³H]-SCH23390 binding and dopamine-stimulated adenylate cyclase in the rat limbic system, *Neurosci, Lett.*, 117 (1990) 224-227.
- Durán-Vázquez, A. y Drucker-Colín, R., Differential role of dopamine receptors on motor asymmetries of nigro-striatal lesioned animals that are REM sleep deprived, *Brain Res.*, 744 (1997) 171-174.
- Durand, V. M. y Crimmins, D. B., Identifying the variables maintaining self-injurious behavior, *J. Autism Dev. Disord.*, 18 (1988) 99-117.
- Dunnett, S.B., Sirinathsinghji, D.J. Heaven, R., Rogers, D.C. y Kuehn, M.R. , Monoamine deficiency in a transgenic (Hprt-) mouse model of Lesch-Nyhan syndrome, *Brain. Res.*, 5011989 401-406.
- Drucker-Colín, R., Durán, V. A., Salín, P. R. J., Verdugo, D. L., Mendoza, R. J. L. y Jiménez, A. A., Rapid eye movement (REM) sleep deprivation in 6-OHDA nigro-striatal lesioned rats with and without transplants of dissociated chromaffin cells , *Brain Res.*, 729 (1996) 170-175.

- Ellison, G., Stimulant-induced psychosis, the dopamine theory of schizophrenia and the habenula, *Brain Res. Rev.* 19 (1994) 223-239.
- Ellison, G. y Switzer, R. C., Dissimilar patterns of degeneration in brain following four different addictive stimulants, *NeuroReport* 5 (1993) 17-20.
- Ernst, M., Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Pascualvaca, D., Jons, P. H., Hardy, B. A., Hankerson, J.G., Doudet, D.J. y Cohen, R.M., Presynaptic dopaminergic deficits in Lesch-Nyhan disease, *N.Engl.J.Med.*, 334 (1996) 1568-1572.
- Fadda, P., Martellotta, M. C., Gessa, G. L. y Fratta, W., Dopamine and opioid interactions in sleep deprivation, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 17 (1993) 269-278.
- Farber, J., Miller, J. D., Crawford, K. A. y McMillen, B. A., Dopamine metabolism and receptor sensitivity in rat brain after REM sleep deprivation, *Pharmacol.Biochem. Behav.*, 18 (1983) 509-513.
- Fratta, W., Collu, M., Martellotta, M. C., Pichiri, M., Muntoni, F. y Gessa, G. L., Stress-induced insomnia: opioid-dopamine interactions, *European J. Pharmacol.*, 142 (1987) 437-440.
- Fricke, U. , Tritosol: A new scintillation cocktail based on Triton X-100., *Anal. Biochem.*, 63 (1975) 555-559.

- George, M. S., Robertson, M. M., Costa, D. C., Ell, P. J., Trimble, M. R., Pilowsky, L. y Verhoeff, N. P., Dopamine receptor availability in Tourette's syndrome, *Psychiatry Res.*, 55 (1994) 193-203.
- Goldstein, M., Kuga, S., Kusano, N., Meller, E., Dancis, J. y Schwarcz, R., Dopamine agonist induced self-mutilative biting behavior in monkeys with unilateral ventromedial tegmental lesions of the brain stem: Possible pharmacological model for Lesch-Nyhan syndrome, *Brain Res.*, 367 (1986)114-120.
- Gosh, P. K., Hrdina, P. D. y Ling, G. M., Effects of REMS deprivation on striatal dopamine and acetylcholine in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 4 (1976) 401-405.
- Hamdi, A., Brock, J., Ross, K. y Prasad, Ch., Effects of rapid eye movement sleep deprivation on the properties of striatal dopaminergic system, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 642 (1993) 95-103.
- Hicks, R. A., Bautista, J., Phillips, N., REM deprivation does not increase the sexual behaviors of male rats., *Percept. Motor Skills* 73 (1991) 127-130.
- Iwata, S. I., Hewlitt, G. H., Ferrell, S. T., Kantor, L. y Gnegy, M. E., Enhanced dopamine release and phosphorylation of synapsin I and neuromodulin in striatal synaptosomes after repeated amphetamine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 283 (1997) 1445-1452.

- Jaber, M., Jones, S., Giros, B. y Caron, M. G., The dopamine transporter: A crucial component regulating dopamine transmission, *12* (1997) 629-633.
- Jankovic, J., Caskey, T. C. , Stout, J. T. y Butler, I. J., Lesch-Nyhan syndrome: A study of motor behavior and cerebrospinal fluid neurotransmitters, *Ann. Neurol.*, *23* (1988) 466-469.
- Jinnah, H. A., Gage, F. H. y Friedmann, T., Animal models of Lesch-Nyhan syndrome, *Brain Res. Bull.*, *25* (1990) 467-475.
- Jinnah, H. A., Wojcik, B. E., Hunt, M., Narang, N., Lee, K. Y., Goldstein, M., Wamsley, J. K. Langlais, P.J. y Friedmann, T., Dopamine deficiency in a genetic mouse model of Lesch-Nyhan disease, *J. Neurosci.* *14* (1994) 1164-1175.
- Juvet, P., Vimont, P., Delorme, F., Juvet, M. Etude de la privation selective de la phase paradoxale de sommeil chez le chat. *CR Soc. Biol. (Paris)* *158* (1964) 756-759.
- Karler, R., Calder, L. D. Thai, L. H. y Bedingfield, J. B., The dopaminergic, glutamatergic, GABAergic bases for the action of amphetamine and cocaine, *Brain Res.*, *671* (1995) 100-104.
- Katz, B. y Thesleff, S., On the factors which determine the amplitude of the "miniature end-plate potential", *J. Physiol.*, *137* (1957) 267-278.

- Kebabian, J.W. y Calne, D.B., Multiple receptors for dopamine, *Nature*, 277 (1979) 93-96.
- Kostrzewa, R., Dopamine receptor supersensitivity, *Neurosci. Behav. Rev.*, 19 (1995) 1-17.
- Kratofil, P. H., Baberg, H. T. y Dimsdale, J. E., Self-mutilation and severe self-injurious behavior associated with amphetamine psychosis, *General Hospital Psychiatry*, 18 (1996) 117-120.
- Lesch, M. y Nyhan, W. L., A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function, *Am. J. Med.*, 36 (1964) 561-570.
- Ling-Ling, T., Bergmann, B. M., Perry, B.D. and Rechtschaffen, A., Effects of chronic sleep deprivation on central cholinergic receptors in rat brain, *Brain Res.*, 642 (1994) 95-103.
- Lloyd, K. G., Hornykiewicz, O., Davidson, L., Shannak, K., Farley, I., Goldstein, M., Shibuya, M., Kelley, W. N. y Fox, I. H., Biochemical evidence of dysfunction of brain neurotransmitters in the Lesch-Nyhan syndrome, *N. Engl. J. Med.*, 305(1981)1106-1111.
- Longuski, P. A., Cudillo, C. A., Stern, J. J., Effects of estradiol on feeding and locomotion in REMd rats., *Physiol. Behav.* 16 (1976) 97-99.

- Madrazo, I., Drucker-Colín, R., Díaz, V., Martínez-Mata, J., Torres, C. Y Becerril, J.J. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable parkinson's disease. *New England J. Med.* 316 (1987) 831-834.
- Mark, J., Heiner, L., Mendel, P y Godin, Y., Norepinephrine turnover in brain and stress reactions in rats during paradoxical sleep deprivation, *Life Sci.* 8 (1969) 1085-1093.
- Matson, J. L., Hamilton, M. Duncan, D., Bamburg, J., Smirolfo, B., Anderson, S. y Baglio, C., Characteristics of stereotypic movement disorder and self-injurious behavior assessed with the diagnostic assessment for the severely handicapped (DASH-II), *Res. Dev. Disabil.*, 18 (1997) 457-469.
- Mendelson , W. B., Guthrie, R. D., Frederick, G. y Wyatt, R. J., The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2 (1974) 553-556.
- Miledi, R. The acetylcholine sensitivity of frog muscle fibres after complete or partial denervation, *J. Physiol*, 151 (1960) 1-23.
- Mintz, M., Gordon, I., Roz, N. Y Rehavi, M., The effect of repeated amphetamine treatment on striatal DA transporter and rotation in rats, *Brain Res.* 668 (1994) 239-242.

- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M. y Caron, M. G., Dopamine receptors: from structure to function, *Physiol. Rev.* 78 (1998) 189-225.
- Moskowitz, M. A., Rubin, D., Liebschutz, J., Munro, H. N., Nowak, T. S. Jr y Wurtman, R. J., The permissive role of hiperthermia in the disaggregation of brain polysomes by L-DOPA or d-amphetamine, *J. Neurochem.*, 28 (1977) 779-782.
- Mueller, K. y S. Hsaio., Pemoline-induced self biting in rats and self-mutilation in the de Lange syndrome, *Pharmac. Biochem. Behav.*, 13(1980) 627-631.
- Nielsen, E., Nielsen, M. M., Ellison, G. and Braestrup, E., Decreased spiroperidol and LSD binding in rat brain after continuous administration d-amphetamine, *Eur.J. Pharmacol.*, 66 (1980a) 149-154.
- Nielsen, E., Lee, T. y Ellison, G., Following several days of continuous administration d-amphetamine acquires hallucinogen-like properties, *Psychopharmacology*, 68 (1980b) 197-200.
- Nomura, Y., Segawa, M. y Higurashi, M., Rett syndrome. An early catecholamine and indolamine deficient disorder ?, *Brain Dev.* ,7(1985) 334-341.
- Nunes, G. P., Tufik, S. y Nobrega, J. N., Autoradiographic analysis of D1 and D2 dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation, *Brain Res.*, 34 (1994a) 453-456.

- Nunes, G. P., Tufik, S. y Nobrega, J. N., Decreased muscarinic receptor binding in rat brain after paradoxical sleep deprivation: an autoradiographic study, *Brain Res.*, 645 (1994b) 247-252.
- Nwanze, E. y Jonsson, G., Amphetamine neurotoxicity on dopamine nerve terminals in the caudate nucleus of mice, *Neurosci. Letters*, 26 (1981) 163-168.
- Paulson, P. E. y Robinson, T. E., Amphetamine- induced time-dependent sensitization of dopamine neurotransmission in the dorsal and ventral striatum: a microdialysis study in behaving rats, *Synapse* 19 (1995) 56-65.
- Pérez de la Mora, M. y Fuxe, K., Brain GABA, dopamine and acetylcholine interactions. I. Studies with oxotremorine., *Brain Res.*, 135 (1977) 107.
- Pérez-de la Mora, M., López Quiroz, D., Méndez-Franco, J. y Drucker-Colín, R., Chronic administration of amphetamine increases glutamic acid decarboxylase activity in the rat substantia nigra, *Neuroscience Letters.*, 109 (1990) 315-320.
- Pérez de la Mora, M., Hernández Gómez, A. M., Méndez, F. J. y Fuxe, K., Cholecystokinin-8 increases K⁺-evoked [³H] γ -aminobutyric acid release in slices from various brain areas, *Eur. J. Pharmacol.*, 250 (1993) 423.
- Ridley, R. M., Baker, H. F., Owen, F., Cross, A. J. y Crow, T. J., Behavioural and biochemical effects of chronic amphetamine treatment in the Vervet Monkey, *Psychopharmacol.* ,78 (1982) 245-251.

- Robinson, T. E., Jurson, P. A., Bennett, A. y Bentgen, K. M., Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats, *Brain Res.*, 462 (1988) 211-222.
- Roel, L. E., Moskowitz, M. A., Rubin, D., Markovitz, D., Lytle, L.D., Munro, H. N. y Wurtman, R. J., In vivo inhibition of rat brain protein synthesis by d-amphetamine, *J. Neurochem.*, 31 (1978) 341-345.
- Sandyk, R., Cholinergic mechanisms in Gilles de la Tourette's syndrome, *Int.J. Neurosci.*, 81 (1995) 95-100.
- Seeman, P. y Van Tol, H.H.M., Dopamine receptor pharmacology, *TIPS*, 15 (1994) 264-270.
- Serra, G.M., Melis, R., Argiolas, A., Fadda, F. y Gessa, L., REM sleep deprivation induces subsensitivity of dopamine receptors mediating sedation in rats, *Eur. J. Pharmacol.*, 72 (1981) 131-135.
- Shimizu, Y., Akiyama, K., Kodama, M., Ishihara, T. Hamamura, T. Y Kuroda, S. Alterations of calmodulin and its mRNA in rat brain after acute and chronic administration of methamphetamine, *Brain Res.*, 765 (1997) 247-258.
- Sinha, A.K., Ciaranello, R.D., Dement, W.C. y Barchas, Tyrosine hydroxylase activity in rat brain following "REM" sleep deprivation, *J. Neurochem.*, 20 (1973) 1289-1290.

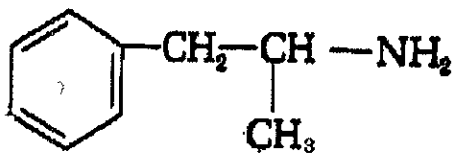
- Sivam, S.P., D₁ dopamine receptor-mediated substance P depletion in the striatonigral neurons of rats subjected to neonatal dopaminergic denervation: implications for self-injurious behavior, *Brain Res.*, 500 (1989) 119-130.
- Snyder, S.H., Banerjee, Sh.P., Yamamura, H.I. y Greenberg, D., *Drugs, Neurotransmitters, and schizophrenia*, *Science* 184 (1974) 1243-1253.
- Stachowiak, M.J., Bruno, J.P., Snyder, A.M., Stricker, E.M. y Zigmond, M.J., Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats, *Brain Res.*, 291 (1984) 164-167.
- Stern, W.C., Miller, F.P., Cox, R.H. y Maickel, R.P., Brain norepinephrine and serotonin levels following REM sleep deprivation in the rat, *Psychopharmacologia*, 22 (1971) 50-55.
- Sulzer, D., Maidment, N.T. y Stephen Rayport, Amphetamine and other weak bases act to promote reverse transport of dopamine in ventral midbrain neurons, *J. Neurochem.*, 60 (1993) 527-535.
- Sulzer, D., Chen, T.K., Lau, Y.Y., Kristensen, H., Rayport, S. y Ewing, A., Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport, *J. Neurosci.*, 15 (1995) 4102-4108.
- Tanaka, T., Yoshida, M., Yokoo, H., Mizoguchi, K. Y Tanaka, M., The role of ATP-sensitive potassium channels in striatal dopamine release: An in vivo microdialysis study, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 52 (1995) 831-835.

- Taylor, R. B., Reid, R., Kendle, K.E. Geddes, C. y Curle., Assay procedures for the determination of biogenic amines and their metabolites in rat hypothalamus using ion-pairing reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatography*, 277 (1983)101.
- Trampus, M. y Ongini, E., The D1 dopamine receptor antagonist SCH 23390 enhances REM sleep in the rat, *Neuropharmacol*, 29 (1990) 889-893.
- Trampus, M., Ferri, N., Monopoli, A. y Ongini, E. The dopamine D1 receptor is involved in the regulation of REM sleep in the rat, *European. J. Pharmacol*, 194 (1991) 189-194.
- Tufik, S., Lindsey, C. J. y Carlini, E. A., Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain?, *Pharmacol.*, 16 (1978) 98-105.
- Ungerstedt, U., Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system, *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)*, 367 (1971) 69-93.
- Urwyler, S y Markstein, R., Identification of dopamine "D3" and "D4" binding sites, labelled with [³H]2-amino-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene, as high agonist affinity states of the D1 and D2 dopamine receptors, respectively, *J. Neurochem.*, 46 (1986) 1058-1067.

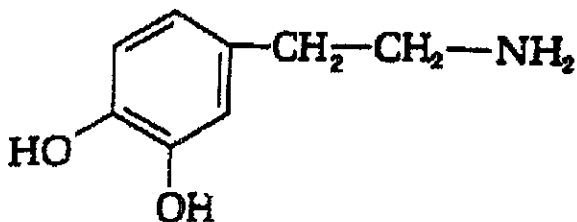
- Velazquez, M.J., Domínguez, S.E. y Retana, M.S., Effects of short- and long-term REM sleep deprivation on sexual behavior in male rats, *Physiol & Behav.*, 59 (1996) 277-281.
- Vimont-Vicary, P., Jouvet, D. y Delorme, F., Effets EEG and comportementaux des privations de sommeil paradoxale chez le chat, *EEG. Clin. Neurophysiol.*, 20 (1966) 439-449.
- Vogel, G.A., Review of REM sleep deprivation, *Arch. Gen. Psychiatry*, 32 (1975) 749-761.
- Wolf, M.E., White, F.J., Nassar, R., Broderson, R.J. y Khansa, R., Differential development of autoreceptor subsensitivity and enhanced dopamine release during amphetamine sensitization, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 264 (1993) 249-264.
- Zwicker, A.P. y Callil, H.M., The effects of REM sleep deprivation on striatal dopamine receptor sites, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 24 (1986) 809-812.

APENDICE I

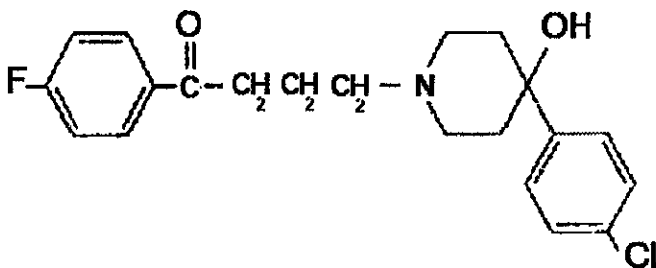
Anfetamina



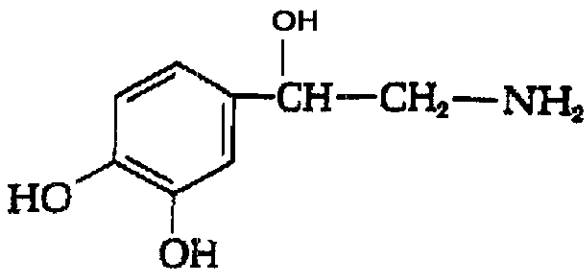
Dopamina



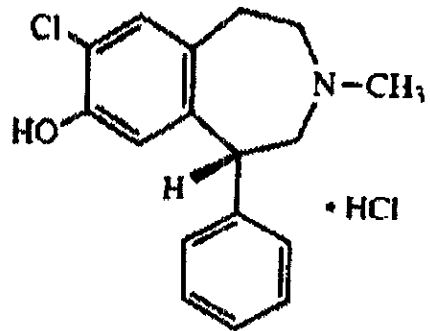
Haloperidol



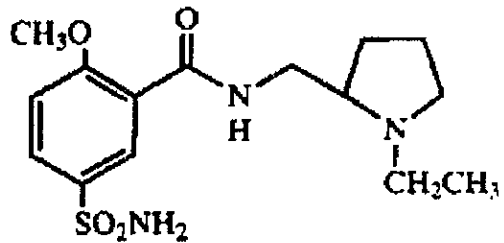
Noradrenalina



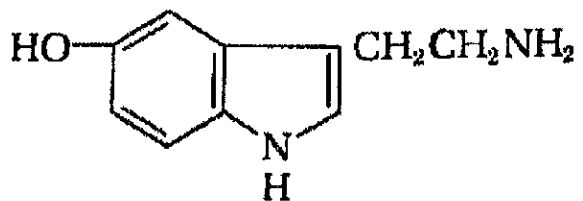
SCH-23390



Serotonina



Sulpiride



Research report

Effects of REM sleep deprivation on the *d*-amphetamine-induced self-mutilating behavior

A. Lara-Lemus^a, M. Pérez de la Mora^{b,*}, J. Méndez-Franco^b, M. Palomero-Rivero^b,
R. Drucker-Colín^{b,c}

^a Departamento de Ciencias de la Salud, UAM-Iztapalapa, México D.F., México

^b Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, México D.F., México

^c Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F., México

Accepted 3 June 1997

Abstract

It is well known that self-mutilating behavior (SMB) is developed in rats and humans during the daily treatment with *d*-amphetamine. Accordingly, in this work it was found that the daily treatment with 7.5 mg/kg *d*-amphetamine induced in rats a progressive appearance of SMB. Lower doses (5.0 mg/kg) were unneffective and higher doses (10 mg/kg) produced a pattern of SMB in which the mutilation induced at the beginning of the *d*-amphetamine administration disappears completely as the treatment progresses. Interestingly, it was also found that REM sleep deprivation (48 h) potentiated significantly the SMB induced by the daily administration of 7.5 mg/kg *d*-amphetamine, and to lesser extent, the SMB induced by the daily treatment with 10 mg/kg *d*-amphetamines. *R*(+)-SCH-23390 a D₁ dopamine (DA) receptor antagonist blocked completely or abolished the SMB induced by 7.5 mg/kg *d*-amphetamine in REM sleep deprived rats while (±)-sulpiride a D₂ DA receptor antagonist had only a partial blocking effect. Haloperidol a D₁/D₂ DA receptor antagonist behaved as a D₁ antagonist. Our results indicate that REM sleep deprivation enhances the SMB induced by the daily administration of *d*-amphetamine and suggest the involvement of D₁ DA receptors in the mechanism underlying the SMB. A role of REM sleep deprivation is also suggested in the appearance of self-mutilating episodes in *d*-amphetamine addicts. © 1997 Elsevier Science B.V.

Keywords. Self-mutilating behavior; *d*-Amphetamine; *R*(+)-SCH-23390; (±)-Sulpiride; Haloperidol; Dopamine; Rat

1. Introduction

The neurochemical mechanisms underlying the self-mutilating behavior (SMB), a common feature of some neurological and psychiatric disorders such as Lesch-Nyhan's [15], Gilles de la Tourette's [9], Cornelia de Lange [19] and Rett's [20] syndromes, as well as *d*-amphetamine addiction [14] are not well understood. Some experimental evidence indicates however the involvement of the catecholaminergic [2,10,12,16,22], serotonergic [25], purinergic [5], cholinergic [24] and opioid [1] systems in its appearance. Disturbances within the dopaminergic system seem to play a major role. Thus, it has been shown that the daily administration of high doses of *d*-amphetamine or methamphetamine induces SMB in both intact rats [12,22]

and mice [3]. In addition, treatment with a D₁/D₂ dopamine (DA) receptor agonist of adult rats [2] or of 10–12 years old monkeys [10], whose striata were denervated with 6-hydroxydopamine (6-OH-DA) at birth or by surgical destruction of the ventral tegmental area at 2 years of age, resulted in the appearance of SMB. Interestingly in monkeys with a unilateral denervation, the SMB was confined to the forelimb digits contralateral to the lesion [10]. Moreover, the SMB observed in both species could be prevented or blocked by the administration of either D₁ or D₁/D₂ DA receptor antagonists [2,10]. Finally, post-mortem analyses [16] and positron emission tomography with fluorodopa F18 as a tracer [7] have shown that DA levels and other markers of DA terminals were diminished in the striata and in other cerebral areas of patients with Lesch-Nyhan's syndrome indicating a DA denervation and suggesting the existence of hypersensitive DA receptors which might be activated in an unknown way to induce the appearance of SMB [4,26].

* Corresponding author. Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-600, 04510 México D.F., México. Fax: +52 (5) 6225607.

On the other hand, in rats rapid eye movement (REM) sleep deprivation has been reported to enhance the behavioral responses (i.e. rotational, sexual, aggressive, stereotypical, biting) to DA receptor agonists, including *d*-amphetamine [6,26], to increase the striatal DA levels [11], and to increase [21], decrease [27] or produce no changes [8] on the number and affinity of DA receptors. In view of the above, we considered it of interest to explore whether REM sleep deprivation had any effect on the *d*-amphetamine-induced SMB and to determine if such effect could be linked to any alteration in dopaminergic function.

2. Materials and methods

2.1. Experimental animals and drugs

Male Wistar rats, weighing 220–240 g were used. Animals were caged in groups of 6–10. All the rats received chow pellets and water ad libitum and were maintained on a 12/12 h light/dark cycle (light on at 7:00 h) at a controlled temperature (22–23°C). During the sleep deprivation procedure, the rats remained without food and water except for an interval of 45 min during the middle of the REM sleep deprivation period in which they were transferred to their cages and allowed to eat and drink ad libitum. *d*-Amphetamine sulfate was obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), *R*(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-3-benzazepine hydrochloride (*R*(+)-SCH-23390) and (\pm)-5-(aminosulfonyl)-*N*-[(1-ethyl-2-pyrrolidiny)methyl]-2-methoxybenzamide ((\pm)-sulpiride) came from Research Biochemical International (Natick, MA, USA), and 4-[4-(4-chlorophenyl)-4-hydroxy-1-piperidiny]-1-(4-fluorophenyl)-1-butanone (haloperidol) from Janssen Pharmaceutical (México city, México). Drug dosages were calculated as mg drug (base)/kg body weight; and they were diluted so as to inject a volume of 0.1 ml/100 g body weight. Drugs were prepared in isotonic saline solution and injected intraperitoneally (i.p.) except for sulpiride, which was dissolved in a small volume (20 μ l) of 1.0 M glacial acetic acid, diluted to the desired concentration with a 5% glucose solution and given subcutaneously.

2.2. REM sleep deprivation procedure

REM sleep deprivation was achieved by using the so-called 'inverted flower pot' or 'platform' technique [17] in which the rats are placed on individual platforms (6 cm diameter \times 12 cm height) located within plastic containers (30 cm diameter) filled with water up to a level of 2 cm. In all cases rats were maintained on the platforms for about 48 h.

As control a different group of rats were placed within the same environment but on larger platforms (LP) of 14 cm diameter which allows them to have a normal sleep cycle [17].

2.3. Drug treatment and behavioral study

d-Amphetamine (5, 7.5 and 10 mg/kg) was administered as a single daily (10:00 h) i.p. injection for 6 consecutive days to either naive or to REM sleep deprived rats. When DA receptor antagonists were used they were injected as described above but 15 min before *d*-amphetamine administration. After each *d*-amphetamine injection rats were placed in individual plastic cages and the SMB was assessed every 15 min for 3 h. The SMB was scored according to the following scale: 0, no SMB; 1.0, compulsive self-biting without any bleeding or the loss of any part of the body (mild SMB); 2.0, SMB accompanied by bleeding and/or loss of any digit or limb (overt SMB). Rats were scored every day according to the highest degree of SMB attained within the whole period of observation.

2.4. Statistical analysis

Results were evaluated by repeated measures non-parametric ANOVA (Friedman's, test) followed when needed by the post-hoc Dunn's test for multiple comparisons. SMB was further analyzed using 2×2 contingency tables by the Fisher's exact test (two tail) considering in the analysis those groups scored as 0 and 1 in our scale (see drug treatment and behavioral studies) as a single group and the group scored as 2 and having an overt SMB as the second group. The statistical package for IBM PC (SPS/PC+; SPSS Inc) was used to perform all the statistical analysis.

3. Results

3.1. Effects of REM sleep deprivation on *d*-amphetamine-induced SMB

As shown in Fig. 1B daily *d*-amphetamine administration at a dose of 7.5 mg/kg induced in naive rats the appearance of SMB ($F = 19.7$; $P < 0.005$). The effect required at least 3 days of treatment to appear and remained stable thereafter. SMB was developed also in the group of naive rats treated with 10 mg/kg *d*-amphetamine ($F = 11.1$; $P < 0.05$) but unlike the former group the SMB observed in these rats was evident since the first day of the *d*-amphetamine administration and vanished completely after the third day of treatment (Fig. 1C) No effect was seen at a dose of 5.0 mg/kg *d*-amphetamine (Fig. 1A). In LP rats, the daily *d*-amphetamine administration of 7.5 and 10 mg/kg resulted in the appearance of SMB which was similar both in intensity and pattern. However while in the rats treated with 7.5 mg/kg *d*-amphetamine the SMB pattern was nearly identical to that observed in the naive-*d*-amphetamine treated rats, the SMB pattern displayed by the rats treated with 10 mg/kg *d*-amphetamine was differ-

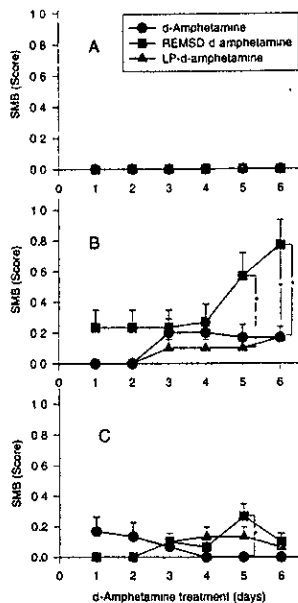


Fig. 1 Effects of REM sleep deprivation (REMSD) on the *d*-amphetamine-induced SMB. Rats were either REM sleep deprived for 48 h or placed on larger platforms (LP) to control for stress effects as described in Section 2. *d*-Amphetamine was then administered daily i.p. at a dose of 5.0 (A), 7.5 (B) and 10 (C) mg/kg, and their behavior was analyzed for the subsequent 3 h. SMB was scored according to the following scale, 0 = no SMB, 1.0 = compulsive biting (mild SMB) and 2.0 = cutaneous haemorrhagic lesions, loss of a limb or some of their digits (overt SMB). Each rat was scored by the highest degree of SMB attained during the observation period and the daily average for the whole group was then obtained. The average SMB is shown on the ordinates. The overall differences among groups for each dose of *d*-amphetamine administered as well as the effects of the *d*-amphetamine along the time for each individual treatment were analyzed by the Friedman's non-parametric test for analysis of variance. Overall effects, 7.5 mg/kg *d*-amphetamine ($F = 76.0$, $P < 0.001$), 10 mg/kg ($F = 47.7$; $P < 0.001$). Temporal effects: 7.5 mg/kg *d*-amphetamine: *d*-amphetamine ($F = 19.6$, $P < 0.001$), REMSD-*d*-amphetamine ($F = 40.5$; $P < 0.001$), LP-*d*-amphetamine ($F = 17.0$; $P < 0.005$), 10 mg/kg *d*-amphetamine: *d*-amphetamine ($F = 11.1$; $P < 0.05$), REMSD-*d*-amphetamine ($F = 30.0$, $P < 0.001$), LP-*d*-amphetamine ($F = 11.8$; $P < 0.005$). The difference between treatments at specific time points was evaluated by the post-hoc Dunn's test for multiple comparisons (* $P < 0.05$). See Table 1 for the number of rats used in each group and Section 2 for further details.

ent (see Fig. 1B,C). As in the case of the naive group no statistically significant SMB was observed following daily administration of 5.0 mg/kg *d*-amphetamine (Fig. 1A).

Self-mutilation behavior was also observed in REM sleep deprived rats treated daily with 7.5 mg/kg *d*-amphetamine ($F = 40.6$, $P < 0.001$) but, unlike to naive and control LP rats, the SMB was apparent from the first

Table 1
Effect of REM sleep deprivation (REMSD) on the *d*-amphetamine-induced self-mutilating behavior

Group	<i>d</i> -Amphetamine (mg/kg)		
	5	7.5	10
<i>d</i> -Amphetamine	0/30	1/46	2/30
REMSD- <i>d</i> -amphetamine	0/30	9/30*	0/30
LP- <i>d</i> -amphetamine	0/30	0/30	0/30

The effect of *d*-amphetamine on the SMB was observed in each group of rats for 3 h after its daily administration. Only those rats which showed a loss of a corporal segment and/or presented haemorrhagic cutaneous lesions were considered as having SMB. The results are expressed as a ratio: number of rats showing SMB over total number of rats treated on each group. * $P < 0.05$ (Fisher's exact test). For further details see Fig. 1 and Section 2.

day and was much more intense at the end of the treatment (Fig. 1B). Two way analysis of variance (Friedman's non-parametric test) indicated that there were statistically significant effects between groups ($F = 76.0$; $P < 0.001$) attributable in part to differences (Dunn's test; $P < 0.05$) between the REMSD-*d*-amphetamine group and either the naive or the LP-*d*-amphetamine treated group (Fig. 1B).

When rats were treated with 10 mg/kg *d*-amphetamine SMB was also observed in the REM sleep deprived group ($F = 30.00$; $P < 0.001$) but this effect never reached, in any rat a score of 2 (overt SMB) and was significantly different as compared to the naive group only on the fifth day of treatment (see Table 1 and Fig. 1). As in the other cases 5.0 mg/kg *d*-amphetamine was also unable to elicit SMB (Fig. 1A).

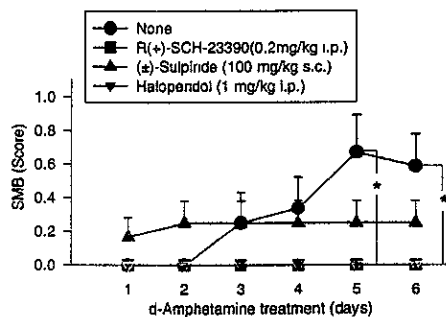


Fig. 2 Effects of dopamine receptor antagonists on the REM sleep deprivation (REMSD) enhancement of the *d*-amphetamine induced SMB. Dopamine receptor antagonists were injected as indicated into REM sleep deprived rats 15 min before the administration of *d*-amphetamine (7.5 mg/kg) and the SMB was scored as described in Fig. 1 and within Section 2. Overall differences among groups and differences along the time for each individual treatment was analyzed by the Friedman's non-parametric test for analysis of variance followed by the post-hoc Dunn's test for multiple comparisons (* $P < 0.05$). Overall effects ($F = 73.7$, $P < 0.001$). Temporal effects, none ($F = 23.2$; $P < 0.001$).

In order to analyze further the effects of REM sleep deprivation on the *d*-amphetamine-induced SMB, 2 × 2 contingency tables containing the proportion of animals having no or mild SMB, and the proportion of animals having an overt SMB were built and analyzed with the Fisher's exact test. As shown in Table 1, a significant enhancement of overt SMB was observed when *d*-amphetamine (7.5 mg/kg) was given to REM sleep deprived rats.

In order to explore the possibility that the REM sleep deprivation enhancement of *d*-amphetamine induced SMB was mediated through an action on a DA receptor, DA receptor antagonists were injected 15 min before the administration of *d*-amphetamine (7.5 mg/kg) to REM sleep deprived rats. As shown in Fig. 2, *R*(+)-SCH-23390 and haloperidol prevented completely the appearance of *d*-amphetamine induced SMB while (±)sulpiride had only a partial effect. Interestingly, the administration of *R*(+)-SCH-23390 to rats having an episode of overt *d*-amphetamine induced SMB suppressed completely and within a few seconds this behavior (data not shown).

4. Discussion

In agreement with the work of several laboratories [12,13,22] the daily administration of *d*-amphetamine to naive rats resulted in the appearance of a SMB characterized by episodes of compulsive self-biting which depending upon its intensity could produce either no visible consequences, hemorrhagic lesions of the skin or even a true mutilatory injury such as the loss of a limb or at least of some of its digits. This SMB is dependent on the dose used, required at moderate *d*-amphetamine doses, several days of treatment to show up and seems to affect only a small proportion of the animals treated.

The results of this work show that a previous period of REM sleep deprivation (48 h) enhances the SMB induced by a moderate dose of *d*-amphetamine (7.5 mg/kg), since the SMB observed under these conditions is apparent from the first day of the *d*-amphetamine administration, and in comparison to the LP-*d*-amphetamine and the *d*-amphetamine only treated groups is much more intense at the end of the *d*-amphetamine treatment (Fig. 1B).

The effects of the REM sleep deprivation on the *d*-amphetamine-induced SMB seem to be dependent on the dose used, since under these conditions only the daily administration of 7.5 mg/kg *d*-amphetamine was clearly mutilagenic (Fig. 1). The paucity of the effects with 10 mg/kg *d*-amphetamine in REM sleep deprived rats is rather surprising, however a loss in the specificity of the *d*-amphetamine action may be involved since it has been shown, for example, that *d*-amphetamine in doses greater than 7.5 mg/kg is able in the rat to disaggregate polysomes and to decrease brain protein synthesis *in vivo* [18,23]. In consequence, if under these conditions the administration

of *d*-amphetamine is producing indeed such a decrease in protein synthesis, the lack of SMB observed at the end of the treatment with 10 mg/kg *d*-amphetamine in naive rats and the paucity of the effects observed with the same doses of *d*-amphetamine in REM sleep deprived rats may indicate that an unimpaired protein synthesis is required for the expression of the SMB and for the 'priming' effects of the REM sleep deprivation on the appearance of this behavior. Alternatively, tolerance toward the effects of daily treatment with high doses of *d*-amphetamine may have been developed and have influenced the expression of the SMB since the SMB induced by 10 mg/kg *d*-amphetamine in the naive rats at the beginning of the treatment (see Table 1 and Fig. 1) disappeared completely as the administration of *d*-amphetamine went on (see Fig. 1C).

Since it could be argued that the compulsive biting (considered as mild SMB and scored as 1.0 in the analysis shown on Fig. 1) does not actually represent a kind of SMB, but a stereotyped response to *d*-amphetamine administration we further analyzed, by using 2 × 2 contingency tables, the *d*-amphetamine induced SMB, taking into account in this new analysis only two groups of rats, those having an overt SMB (loss of a limb, digits and/or the production of bleeding lesions) and all the rest of the animals. As shown on Table 1 the daily *d*-amphetamine administration (7.5 mg/kg) to REM sleep deprived rats enhanced the *d*-amphetamine induced overt SMB suggesting that the previous REM sleep deprivation is having a 'priming' action on the *d*-amphetamine-induced SMB. The possibility that stress, which is an unavoidable side-effect in our REM sleep deprivation paradigm could be responsible for the enhancement of SMB seems unlikely, since the degree of SMB scored in LP rats (7.5 mg/kg) is comparable to that observed in naive *d*-amphetamine treated rats and significantly lower than the score registered in the REM sleep deprived rats treated with the same dose of *d*-amphetamine (see Fig. 1B).

The mechanism by which a previous REM sleep deprivation period increases the SMB observed during the daily *d*-amphetamine administration is unknown. However the finding that *R*(+)-SCH-23390 (D₁ antagonist) and haloperidol (D₁/D₂ antagonist) blocked completely and (±)sulpiride (D₂ antagonist) only partially the *d*-amphetamine induced SMB observed in REM sleep deprived rats (Fig. 2) suggests that DA receptors, and particularly the D₁ type, are involved in this effect. Furthermore it is worth mentioning that the administration of *R*(+)-SCH-23390 to REM sleep deprived rats having a *d*-amphetamine induced episode of SMB results within seconds in the total suppression of this behavior (data not shown). This possibility find support in the results of Breese et al. [2] and Goldstein et al. [10] who showed that the SMB elicited by the administration of L-dopa + carbidopa in rats and monkeys having a DA receptor supersensitivity was prevented or abolished by the admin-

istration of either D_1 or D_1/D_2 DA receptor antagonists and only reduced by previous treatment with D_2 DA receptor antagonists, and the work of Tufik et al. [26] and Drucker-Colin et al. [6] which indicates that REM sleep deprivation gives rise to an enhancement of the behavioral responses to D_1 and D_2 DA-receptor agonists. It is clear however that more experimental work and particularly receptor binding experiments, will be needed to test this suggestion.

From a clinical point of view it is of considerable interest that episodes of SMB are frequently seen in *d*-amphetamine addicts [14]. Since long-lasting periods of total insomnia are common in these individuals and in some cases such periods precede the SMB observed [14] it might be suggested that a decrease on the REM sleep time in these subjects may predispose them to have severe episodes of SMB.

In conclusion, our results suggest that REM sleep deprivation enhances the SMB observed during daily administration of *d*-amphetamine by inducing a possible state of dopaminergic supersensitivity which may involve the activation of the D_1 receptor.

Acknowledgements

This work was supported in part by Grant No. IN208194 from DGAPA, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and FIDRESIN, FIDEICOMISO UNAM.

References

- [1] M.J. Aman, Efficacy of psychotropic drugs for reducing self-injurious behavior in the developmental disabilities, *Ann. Clin. Psychiatry* 5 (1993) 171-188.
- [2] G.R. Breese, H.E. Criswell, G.E. Duncan, R.A. Mueller, A dopamine deficiency model of Lesch-Nyhan disease - the neonatal-6-OHDA-lesioned rat, *Brain Res.* 25 (1990) 477-484.
- [3] J.F. Brien, J.E. Peachy, J.C. Kimey, Amphetamine-induced stereotyped behaviour and brain concentrations of amphetamine and its hydroxylated metabolites in mice, *J. Pharm. Pharmacol.* 29 (1977) 49-50.
- [4] M. Casas-Bruga, C. Almenar, I.M. Grau, J. Jane, M. Herrera-Marschitz, U. Ungerstedt, Dopaminergic receptor supersensitivity in self-mutilation behavior of Lesch-Nyhan disease, *Lancet* 1 (1985) 991-992.
- [5] H. Criswell, A. Mueller, G.R. Breese, Assessment of purine-dopamine interactions in 6-hydroxydopamine-lesioned rats: evidence for pre- and postsynaptic influences by adenosine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244 (1988) 493-500.
- [6] R. Drucker-Colin, V.A. Durán, P.R.J. Salín, D.L. Verdugo, R.J.L. Mendoza, A.A. Jiménez, Rapid eye movement (REM) sleep deprivation in 6-OHDA nigro-striatal lesioned rats with and without transplants of dissociated chromaffin cells, *Brain Res.* 729 (1996) 170-175.
- [7] M. Ernst, A.J. Zaretzky, J.A. Matocik, D. Pascualyva, P.H. Jones, B.A. Hardy, J.G. Hankerson, D.J. Doudet, R.M. Cohen, Presynaptic dopaminergic deficits in Lesch-Nyhan disease, *New Engl. J. Med.* 334 (1996) 1568-1572.
- [8] J. Farber, J.D. Miller, K.A. Crawford, B.A. McMullen, Dopamine metabolism and receptor sensitivity in rat brain after REM sleep deprivation, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 18 (1983) 509-513.
- [9] M.S. George, M.M. Robertson, D.C. Costa, P.J. Eil, M.R. Trimble, L. Pilowsky, N.P. Verhoeff, Dopamine receptor availability in Tourette's syndrome, *Psychiatry Res.* 55 (1994) 193-203.
- [10] M. Goldstein, S. Kuga, N. Kusano, E. Meller, J. Dancis, R. Schwarcz, Dopamine agonist induced self-mutilative biting behavior in monkeys with unilateral ventromedial tegmental lesions of the brain stem possible pharmacological model for Lesch-Nyhan syndrome, *Brain Res.* 367 (1986) 114-120.
- [11] P.K. Gosh, P.D. Hrdina, G.M. Ling, Effects of REMS deprivation on striatal dopamine and acetylcholine in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 4 (1976) 401-405.
- [12] H.A. Jinnah, F.H. Gage, T. Friedmann, Animal models of Lesch-Nyhan syndrome, *Brain Res.* Bull. 25 (1990) 467-475.
- [13] R. Kostreza, Dopamine receptor supersensitivity, *Neurosci. Behav. Rev.* 19 (1995) 1-17.
- [14] P.H. Kratochil, H.T. Baberg, J.E. Dimsdale, Self-mutilation and severe self-injurious behavior associated with amphetamine psychosis, *Gen. Hosp. Psychiatry* 18 (1996) 117-120.
- [15] M. Lesch, W.L. Nyhan, A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function, *Am. J. Med.* 36 (1964) 561-570.
- [16] K.G. Lloyd, O. Hornykiewicz, L. Davidson, K. Shannak, J. Farley, M. Goldstein, M. Shubuya, W.N. Kelley, I.H. Fox, Biochemical evidence of dysfunction of brain neurotransmitters in the Lesch-Nyhan syndrome, *New Engl. J. Med.* 305 (1981) 1106-1111.
- [17] W.B. Mendelson, R.D. Guthrie, G. Frederick, R.J. Wyatt, The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2 (1974) 553-556.
- [18] M.A. Moskowitz, D. Rubin, J. Liebschutz, H.N. Munro, T.S. Nowak Jr., R.J. Wurtman, The permissive role of hyperthermia in the disaggregation of brain polysomes by L-DOPA or *d*-amphetamine, *J. Neurochem.* 28 (1977) 779-782.
- [19] K. Mueller, S. Hsiao, Pemoline-induced self-biting in rats and self-mutilation in the de Lange syndrome, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 13 (1980) 627-631.
- [20] Y. Nomura, M. Segawa, M. Higurashi, Rett syndrome. An early catecholamine and indolamine deficient disorder?, *Brain Dev.* 7 (1985) 334-341.
- [21] G.P. Nunes, S. Tufik, J.N. Nobrega, Autoradiographic analysis of D_1 and D_2 dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation, *Brain Res.* 34 (1994) 453-456.
- [22] M. Pérez-de la Mora, D. López Quiroz, J. Méndez-Franco, R. Drucker-Colin, Chronic administration of amphetamine increases glutamic acid decarboxylase activity in the rat substantia nigra, *Neurosci. Lett.* 109 (1990) 315-320.
- [23] L.E. Roel, M.A. Moskowitz, D. Rubin, D. Markovitz, L.D. Lytle, H.N. Munro, R.J. Wurtman, In vivo inhibition of rat brain protein synthesis by *d*-amphetamine, *J. Neurochem.* 31 (1978) 341-345.
- [24] R. Sandyk, Cholinergic mechanisms in Gilles de la Tourette's syndrome, *Int. J. Neurosci.* 81 (1995) 95-100.
- [25] M.J. Stachowiak, J.P. Bruno, A.M. Snyder, E.M. Stricker, M.J. Zigmond, Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesions in neonatal rats, *Brain Res.* 291 (1984) 164-167.
- [26] S. Tufik, C.J. Lindsey, E.A. Carlini, Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain?, *Pharmacology* 16 (1978) 98-105.
- [27] A.P. Zwicker, H.M. Cali, The effects of REM sleep deprivation on striatal dopamine receptor sites, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 24 (1986) 809-812.

RESEARCH REPORT

BIOCHEMICAL EFFECTS INDUCED BY REM SLEEP DEPRIVATION IN NAIVE AND IN D-AMPHETAMINE TREATED RATS

LARA-LEMUS, A.,¹ DRUCKER-COLÍN, R.,^{2,3} MÉNDEZ-FRANCO, J.,²
PALOMERO-RIVERO, M.² and PÉREZ DE LA MORA, M.²

¹Depto. de Ciencias de la Salud, UAM-Iztapalapa,

²Depto. de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM and

³Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.

Summary. The neurochemical dysfunction present in patients showing self-mutilating behavior (SMB) is not well understood. In animal models, rapid eye movement (REM) sleep deprivation enhances the SMB induced by the chronic administration of d-amphetamine. To understand the mechanism underlying these effects the levels of dopamine (DA), noradrenaline (NA) and serotonin (5-HT) were measured in REM sleep deprived only, and in REM sleep deprived and d-amphetamine treated rats. DA levels were elevated (31%) after REM sleep deprivation (48 h) in the neostriatum and the cerebral cortex (33%), while the levels of NA and 5-HT remained constant. A 6-day treatment with d-amphetamine (7.5 mg/kg; i.p.) failed to affect, in REM sleep deprived rats, DA, NA and 5-HT levels. It was also found that REM sleep deprivation had no effects on the d-amphetamine induced [³H]DA release from slices of the same regions. Our results suggests that dopaminergic mechanisms are involved in the effects of REM sleep deprivation on SMB.

Keywords: self-mutilating-behavior, amphetamine, dopamine, noradrenaline, 5-HT, sleep-deprivation.

Correspondence should be addressed to:

Dr. M. Pérez de la Mora

Depto. de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Apartado Postal 70-600, 04510 México D.F., MEXICO

INTRODUCTION

SMB is a common feature of several neurological and psychiatric diseases such as Lesch-Nyhan's (Lesch and Nyhan, 1964), Gilles de la Tourette's (George et al., 1994), Cornelia de Lange's (Mueller and Hsaio, 1980) and Rett's syndrome (Nomura et al., 1985) as well as d-amphetamine addiction (Kratofil et al., 1996). Although several neurotransmitter systems seem to be involved in its appearance (Jinnah et al., 1990; Stachowiak et al., 1984; Criswell et al., 1988; Sandyk, 1995; Aman, 1993) the dopaminergic system seems to play a major role, since the chronic administration of d-amphetamine by eliciting most probably an increase in DA release results in SMB (Goldstein et al., 1986; Pérez de la Mora et al., 1990). Likewise, the treatment of rats and monkeys, exhibiting a long-lasting dopaminergic denervation of their striata, with D1/D2 DA receptor agonists results also in the appearance of SMB (Breese et al., 1990; Goldstein et al., 1986). Since recent findings from our laboratory have shown that REM sleep deprivation enhances the SMB induced by the chronic administration of d-amphetamine (Lara-Lemus et al., 1997) it seemed to us of interest to explore whether a change in either DA levels or release might be involved in the enhancing effect of the REM sleep deprivation on the d-amphetamine induced SMB. For the sake of comparison NA and 5-HT levels were also measured.

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals and drugs

Male Wistar rats, weighing 200–250 g were used. Animals were caged in groups of 6–10. All the rats received chow pellets and water ad libitum and were maintained on a 12/12 h light/dark cycle (light on at 7:00 h) at a controlled temperature (22–23 °C). During the sleep deprivation procedure, the rats remained without food and water except for an interval of 45 min during the middle of the REM sleep deprivation period in which they were transferred to their cages and allowed to eat and drink ad libitum. d-Amphetamine sulfate was obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The dose of d-amphetamine was calculated as mg d-amphetamine (base)/kg body weight, and was injected in a volume of 0.1 ml of an isotonic saline solution/100g body weight.

REM sleep deprivation procedure

REM sleep deprivation was achieved by using the so-called: "inverted flower pot" or "platform" technique (Mendelson et al., 1974) in which the rats are placed on individual platforms (6 cm diameter \times 12 cm height) located within plastic containers (30 cm diameter) filled with water up to a level of 2 cm. In all cases rats were maintained on the platforms for about 48 h. As a control, a different group of rats were placed within the same environment but on larger platforms (LP) of 14 cm diameter which allows them to have a normal sleep cycle (Mendelson et al., 1974).

Drug treatment

d-Amphetamine (7.5 mg/kg) was administered as a single daily (10:00 AM) i.p. injection for 6 consecutive days to either naive or to REM sleep deprived rats. Control rats were treated with 0.9% NaCl.

Monoamine determination

DA, NA, and 5-HT were measured in the neostriatum and the frontoparietal cerebral cortex in the all experimental conditions described below. Animals were killed by decapitation (13 h P.M.) either at the end of the sleep deprivation procedure or 3.0 h after the administration of d-amphetamine or saline. The brains were excised from the skull and transferred into cold saline. The neostriatum was dissected from a slice of forebrain obtained with the aid of a special knife containing two parallel sharp blades 2 mm apart and whose caudal blade was positioned at the level of the rostral border of the optic chiasma as described by Perez de la Mora and Fuxe (1977). A piece of frontoparietal cerebral cortex was dissected out manually from the same slice.

The tissue was weighted in preweighted pieces of aluminum foil. Monoamines were extracted by sonication in ice-cold 0.05 M perchloric acid (500 μ L/0.1g tissue). The homogenates were centrifuged for 2 min in an Eppendorff microfuge and the supernatants were kept at -80 °C until their analysis.

DA, NA and 5-HT were measured by ion-pairing reversed phase high performance liquid chromatography (HPLC) as described by Taylor *et al.*, (1983) with a Gilson chromatographic system equipped with two pumps (305 and 306) and with an electrochemical detector (mod 141). The column (150 \times 4.6 mm) and precolumn (30 \times 4.6 mm) used were Nucleosil C18 (100 A, 5 μ m, Phenomenex). All solvents used were HPLC grade. An aliquot of 20 μ l of the extract was injected directly into the column by means of a

Reodyne 7125 valve and the system was run at a flow rate of 1.0 ml/min. For detection an operating potential of 0.7 V relative to a silver/silver chloride reference electrode was used. The amount of NA, DA and 5-HT were calculated from their corresponding areas under the curve using a standard curve based on 5 concentration levels.

[³H]DA release

[³H]DA release was measured by triplicate in slices from the neostriatum and the frontoparietal cerebral cortex from control and REM sleep deprived rats essentially as described by Perez de la Mora *et al.* (1993) but preloading the slices with [³H]DA and introducing some slight modifications: To obtain the brain slices the rats were decapitated and their brains quickly removed from the skull and placed in an ice-cold saline solution. After some seconds the neostriatum and the frontoparietal cerebral cortex were dissected as described above. Slices (300 μm.) were obtained using a McIlwain tissue chopper. Brain slices were preincubated at 37 °C in 1.0 ml of a Krebs-Ringer medium (118 mM NaCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 4.7 mM KCl, 1.17 mM MgSO₄, 2.5 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃ and 5.6 mM glucose, pH 7.4) gassed with a mixture of 95% O₂ + 5% CO₂. After 15 min [³H]DA (11.7 Ci/mM specific activity) was added to give a final concentration of 1.0 μM, and the incubation was continued for further 15 min to allow for sufficient uptake of [³H]DA. At the end of the incubation the slices were transferred to superfusion chambers and superfused at a flow rate of 1.0 ml/min. with the same medium. After 35 min. the medium was briefly changed (2 min.) for a similar one but containing 10 μM d-amphetamine. At the end of this period the superfusion was continued for an additional 10 min. The fractions were collected every 2 min. and at the end of the experiment the slices were digested in 0.5 ml 1.0 M sodium dodecyl sulfate. The radioactivity in both slices and fractions was counted by scintillation spectrometry in vials containing 5.0 ml of Tritosol (Fricke, 1975). The release of [³H]DA was expressed as the percent of the radioactivity present in the brain slices at the onset of the d-amphetamine stimulation.

RESULTS

The chronic administration of 7.5 mg/Kg d-amphetamine to rats resulted in the appearance of SMB which ranged from compulsive biting to haemorrhagic lesions or even to the loss of a limb. A previous 48 h period of REM sleep

deprivation increased both the frequency and the intensity of the d-amphetamine-induced SMB. A detailed account of the recorded SMB has been published elsewhere (Lara-Lemus et al., 1997). As shown in Fig. 1 a 48 h period of REM sleep deprivation increased significantly the DA levels both in the neostriatum and the frontoparietal cerebral cortex. No effects were however observed on DA levels after 6 days of d-amphetamine administration to both naive and REM sleep deprived rats. A decrease in DA

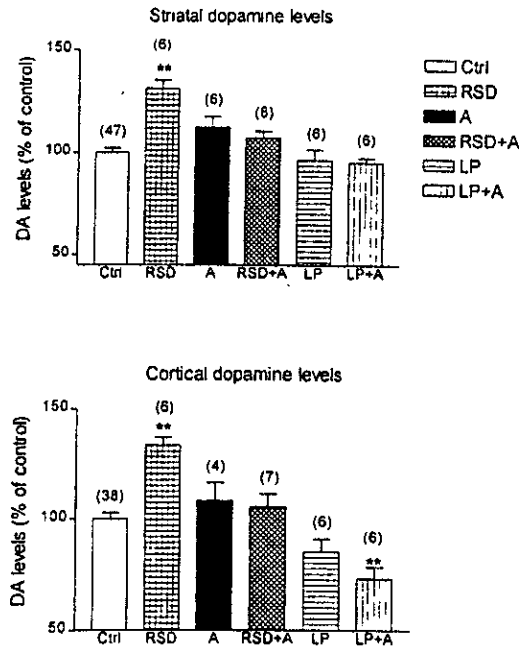


Fig. 1. Effects of the daily administration of d-amphetamine to REM sleep deprived (RSD) rats on DA levels. Rats were placed on top of elevated small individual platforms surrounded by water to keep them REM sleep free. In order to control for stress effects another group of rats was placed on larger platforms (LP) which keeps them in a similar stressful situation but allowed them to REM sleep. Means \pm SEM of the number of rats indicated in parenthesis are expressed in percent of a non-REM deprived saline treated group (control group). Absolute DA levels for this control group were for neostriatum: 9.7 ± 2.06 ng/g of wet tissue ($n=47$) and for cerebral cortex 0.036 ± 0.001 ng/g wet tissue ($n=38$). Since control monoamine levels were non-significantly different between experiments. We pooled all the control values into a single group. Data were analyzed by a one-way ANOVA procedure (two-tailed) followed by the Dunnet's test. For the ANOVA procedure F and p values were: neostriatum ($F=7.74; p<0.0001$), frontoparietal cerebral cortex ($F=12.48; p<0.0001$). Statistical significance (Dunnet's test) refer to the control group: ** $p<0.01$. For further details see Materials and Methods

levels was observed in the cerebral cortex but not in the neostriatum of control LP rats. Neostriatal and cortical NA and 5-HT levels were not modified in any experimental condition studied (Fig. 2). As it is shown in Fig 3 the d-amphetamine-induced [3 H]DA release from both neostriatal and cerebral cortical slices from either naive or REM sleep deprived rats was nearly identical.

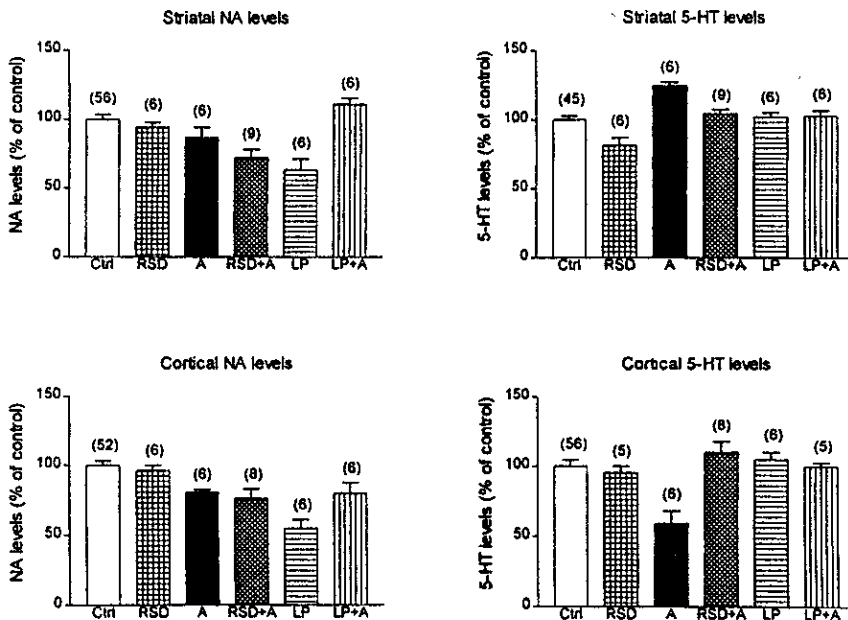


Fig. 2. Effects of the daily administration of d-amphetamine to RSD rats on NA and 5-HT levels. Means \pm SMB of the number of rats indicated in parenthesis are expressed in percent of a non-REM sleep deprived saline treated group (control group). Absolute NA and 5-HT levels for these control groups were 0.55 ± 0.02 ng/g wet tissue ($n=56$) and 0.57 ± 0.02 ng/g wet tissue ($n=52$) respectively. No statistically significant differences (one-way ANOVA) were found for NA and 5-HT levels. See the legend of Fig. 1 and Materials and Methods for further details

DISCUSSION

Data from several laboratories (Jinnah et al., 1990; Pérez de la Mora et al., 1990) indicate that the chronic administration of d-amphetamine induces in rats and mice the appearance of SMB. The SMB induced affects a relatively small proportion of animals, varies in its intensity and it is enhanced by a

previous period of REM sleep deprivation (Lara-Lemus et al., 1997). The neurobiochemical mechanism by which a previous period of REM sleep deprivation enhances the SMB induced by the chronic treatment with d-amphetamine is unknown. The results from this work indicate however that some dopaminergic mechanisms may play a role on this effect. Thus it was found that following a period of 48 hours of REM sleep deprivation the levels of DA increase within the neostriatum and the frontoparietal cerebral cortex (Fig. 1). Since high levels of DA have been found associated with a decrease in firing and release of DA (Roth and Suhr, 1970; Stock et al., 1973) it is tempting to speculate that the high levels of DA found in our REM sleep deprived rats may result from a decrease in DA function which *inter alia* might lead to an state of dopaminergic supersensitivity. The results of Tufik et al., (1978) and Drucker-Colin et al., (1997) showing that REM sleep

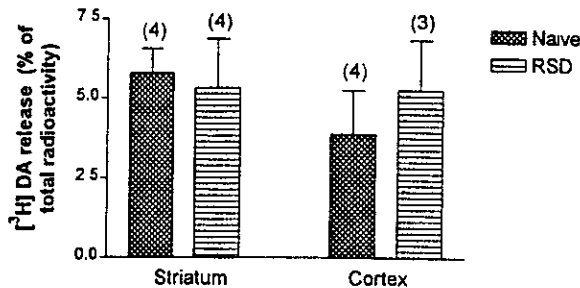


Fig. 3. Effects of REM sleep deprivation (REMSD) on the d-amphetamine-induced [^3H]DA release. Brain slices were preincubated 15 min. with [^3H]DA (specific activity: 11.7 Ci/mMol, 1.0 μM) and stimulated with 10 μM d-amphetamine. The release of [^3H]DA (mean \pm SEM of the number of independent superfusions shown in parenthesis) is expressed as the percent of the total radioactivity present within the slices at the moment of the d-amphetamine stimulation

deprivation gives rise to an enhancement of the behavioral responses to D1 and D2 DA receptor agonists suggest the presence of such state of dopaminergic supersensitivity and give feasibility to our above suggestion. The finding that REM sleep deprivation have failed to modify the d-amphetamine induced DA release (Fig. 3) supports indirectly the presence of supersensitive DA receptors rendering unlikely the possibility that the enhancing effect of REM sleep deprivation on the d-amphetamine induced SMB resulted from a stimulation of the d-amphetamine-induced DA release.

Furthermore, such DA receptor supersensitivity may be linked to an enhanced activity of the D₁ DA receptor-coupled adenylyl cyclase, as it has been observed that in rats having a neonatal 6-hydroxydopamine lesion a challenge with D₁ or D₁/D₂ receptor agonists results in the appearance of SMB (Breese et al., 1990), and it has been shown that D₁ receptor antagonists prevent or even suppress, in REM sleep deprived rats, the d-amphetamine induced SMB (Lara-Lemus et al., 1997).

The involvement of the noradrenergic and serotonergic systems on the enhancing effect of the REM sleep deprivation on the d-amphetamine-induced SMB seems to be ruled out by the lack of changes found in their respective levels both at the end of the REM sleep deprivation period, and finishing the d-amphetamine treatment of REM sleep deprived rats (Fig. 2).

In conclusion, our results support the idea that the enhancing effects of the REM sleep deprivation on the d-amphetamine induced SMB result from a decrease in DA function which *inter alia* may lead to an enhanced activity of the D₁ receptor-coupled adenylyl cyclase.

Acknowledgments. This work was supported in part by grant N° IN208194 from DGAPA, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and FIRESIN, FIDEICOMISO UNAM.

REFERENCES

- Aman, M.J. (1993) Efficacy of psychotropic drugs for reducing self-injurious behavior in the developmental disabilities. *Ann. Clin. Psychiatry* 5. 171.
- Breese, G.R., Criswell, H.E., Duncan, G.E. and Mueller, R.A. (1990) A dopamine deficiency model of Lesch-Nyhan disease the neonatal-6-OHDA-lesioned rat. *Brain Res.* 25. 477.
- Criswell, H., Mueller, A. and Breese, G.R. (1988) Assessment of purine-dopamine interactions in 6-hydroxydopamine-lesioned rats: Evidence for pre- and postsynaptic influences by adenosine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244. 293.
- Drucker-Colín, R., Durán, V.A., Salín, P.R.J., Verdugo, D.L., Mendoza, R.J.L. and Jiménez, A.A. (1996) Rapid eye movement (REM) sleep deprivation in 6-OHDA nigro-striatal lesioned rats with and without transplants of dissociated chromaffin cells. *Brain Res.* 729. 170.
- Fricke, U. (1975) Tritosol: A new scintillation cocktail based on Triton X-100. *Anal. Biochem.* 63. 555.

- George, M.S., Robertson, M.M., Costa, D.C., Ell, P.J., Trimble, M.R., Pilowsky, L. and Verhoeff, N.P. (1994) Dopamine receptor availability in Tourette's syndrome. *Psychiatry Res.* 55. 193.
- Goldstein, M., Kuga, S., Kusano, N., Meller, E., Dancis, J. and Schwarcz, R. (1986) Dopamine agonist induced self-mutilative biting behavior in monkeys with unilateral ventromedial tegmental lesions of the brain stem: Possible pharmacological model for Lesch-Nyhan syndrome. *Brain Res.* 367.114.
- Jinnah, H.A., Gage, F.H. and Friedmann, T. (1990) Animal models of Lesch-Nyhan syndrome. *Brain Res. Bull.* 25. 467.
- Kratofil, P.H., Baberg, H.T. and Dimsdale, J.E. (1996) Self-mutilation and severe self-injurious behavior associated with amphetamine psychosis. *General Hospital Psychiatry* 18.117.
- Lara-Lemus, A., Pérez de la Mora, M., Méndez-Franco, J., Palomero-Rivero, M. and Drucker-Colín, R. (1997) Effects of REM sleep deprivation on the d-amphetamine-induced self-mutilating behavior. *Brain Res.* (in press).
- Lesch, M. and Nyhan, W.L. (1964) A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *Am. J. Med.* 36. 561.
- Mendelson, W.B., Guthrie, R.D., Frederick, G. and Wyatt, R. J. (1974) The flower pot technique of rapid eye movement (REM) sleep deprivation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2. 553.
- Mueller, K. and Hsaio, S. (1980) Pemoline-induced self biting in rats and self-mutilation in the de Lange syndrome. *Pharmac. Biochem. Behav.* 13. 627.
- Nomura, Y., Segawa, M. and Higurashi, M. (1985) Rett syndrome. An early catecholamine and indolamine deficient disorder? *Brain Dev.* 7. 334.
- Pérez de la Mora, M. and Fuxe, K. (1977) Brain GABA, dopamine and acetylcholine interactions. I. Studies with oxotremorine. *Brain Res.* 135. 107.
- Pérez de la Mora, M., López Quiroz, D., Méndez-Franco, J. and Drucker-Colín, R. (1990) Chronic administration of amphetamine increases glutamic acid decarboxylase activity in the rat substantia nigra. *Neuroscience Letters.* 109. 315.
- Pérez de la Mora, M., Hernández Gómez, A.M., Méndez, F.J. and Fuxe, K. (1993) Cholecystokinin-8 increases K⁺-evoked [³H] γ -aminobutyric acid release in slices from various brain areas. *Eur. J. Pharmacol.* 250. 423.
- Roth, R.H. and Suhr, Y. (1970) Mechanism of the γ -hydroxybutyrate-induced increase in brain dopamine and its relationship to "sleep". *Biochem. Pharmacol.* 19. 3001.
- Sandyk, R. (1995) Cholinergic mechanism in Gilles de la Tourette's syndrome. *Int. J. Neurosci.* 81. 95.
- Stachowiak, M.J., Bruno, J.P., Snyder, A.M., Stricker, E.M. and Zigmond, M.J. (1984) Apparent sprouting of striatal serotonergic terminals after dopamine-depleting brain lesion in neonatal rats. *Brain Res.* 291. 164.

- Stock, G., Magnusson, T. and Andén, N.-E. (1973) Increase in brain dopamine after axotomy or treatment with gamma-hydroxybutyric acid due to elimination of the nerve impulse flow. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 278. 347.
- Taylor, R.B., Reid, R., Kendle, K.E., Geddes, C. and Curle. (1983) Assay procedures for the determination of biogenic amines and their metabolites in rat hypothalamus using ion-pairing reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography* 277. 101.
- Tufik, S., Lindsey, C.J. and Carlini, E.A. (1978) Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain? *Pharmacol.* 16. 98.