

881225

3  
2y

UNIVERSIDAD ANAHUAC  
LA ESCUELA DE PSICOLOGIA  
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA U.N.A.M.



**INTERACCIONES ENTRE ENCEFALINA Y DOPAMINA  
EN EL CONTROL DE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA  
DE LA RATA: UNA NUEVA HIPOTESIS**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**  
**LICENCIADA EN PSICOLOGIA**  
**PRESENTA LA ALUMNA**

**NYDIA EDITH DE AVILA JIMENEZ**

**MEXICO D.F., 1987**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## I N D I C E

1	RESUMEN DE LA TESIS . . . . .	1
2	INTRODUCCION . . . . .	2

### CAPITULO 1 ENDORFINAS

1.1	HISTORIA . . . . .	4
1.2	CLASIFICACION . . . . .	5
1.3	DISTRIBUCION . . . . .	7
1.4	RECEPTORES . . . . .	8
1.5	EFECTOS FISIOLÓGICOS . . . . .	9
1.5.1	Efectos Electrofisiológicos . . . . .	9
1.5.2	Efectos Cardiovasculares. . . . .	10
1.5.3	Efectos Respiratorios . . . . .	11
1.5.4	Efectos Termoregulatorios. . . . .	11

### CAPITULO 2 INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

2.1	INTERACCION ENTRE DOPAMINA Y GABA . . . . .	14
2.2	INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y DOPAMINA . . . . .	19
2.3	INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y GABA . . . . .	21
2.4	INTERACCION ENTRE ENCEFALINA, GABA Y DOPAMINA. . . . .	22

### CAPITULO 3 RELEVANCIA CLINICA DE LAS ENCEFALINAS . . . . . 27

### CAPITULO 4 TRABAJO DE INVESTIGACION

4.1	PLANTEAMIENTO E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA . . . . .	31
4.1.1	Planteamiento . . . . .	31
4.1.2	Importancia . . . . .	32
4.2	METODO . . . . .	34
4.2.1	Sujetos . . . . .	34
4.2.2	Diseño Experimental . . . . .	34
4.2.3	Procedimiento . . . . .	38
4.2.4	Drogas . . . . .	39
4.2.5	Análisis Estadístico. . . . .	39
4.3	RESULTADOS . . . . .	40
4.3.1	Efectos De DALA Sola . . . . .	40
4.3.2	Efectos De DALA Combinada Con Anfetamina. . . . .	40
4.3.3	Efectos De DALA Combinados Con Pimozide . . . . .	43
4.4	DISCUSION Y CONCLUSIONES . . . . .	45
4.5	RECOMENDACIONES . . . . .	49

3	BIBLIOGRAFIA . . . . .	50
---	------------------------	----

## 1 RESUMEN DE LA TESIS

En el presente trabajo se investigó la influencia de un péptido-opioide, a saber D-Ala<sup>2</sup>-met<sup>5</sup>-encefalinamida (DALA), sobre la actividad locomotora de la rata y su interacción con otro neurotransmisor, la dopamina. Se encontró que DALA no tuvo efecto sobre la motilidad cuando se inyectó intracerebralmente (icv) en dosis de 10 a 40µg. Cuando se combinó una inyección icv de DALA con una inyección subcutánea (sc) de anfetamina, DALA provocó un aumento considerable en el efecto estimulante de la anfetamina. Los efectos de DALA + anfetamina fueron parcialmente antagonizados por naloxona. El efecto normal del pimozide de reducir la locomoción no se afectó con la administración concurrente de DALA.

Los resultados obtenidos nos hacen suponer que existe una compleja interacción entre los opiáceos y la dopamina, y que los efectos de DALA podrían explicarse mejor bajo la hipótesis de que los opiáceos ejercen su acción sobre el sistema dopaminérgico de una manera indirecta, es decir, inhibiendo la neurotransmisión gabaérgica.

## 2 INTRODUCCION

Desde que John Hughes y col. (1975) reportaron la purificación, identificación y síntesis de dos encefalinas (Metionina-encefalina y Leucina-encefalina), ha sido de gran interés para los investigadores el estudio de éstos y otros opiáceos endógenos. A partir de entonces se han hecho varios descubrimientos sobre los efectos de dichas sustancias en el control nervioso de la percepción del dolor, los fenómenos de adicción y tolerancia, los mecanismos de acción de los narcóticos, así como de varias respuestas fisiológicas (respiración, circulación, alimentación, temperatura, respuesta sexual) y conductas tanto normales como patológicas.

Sin embargo, a pesar de los grandes avances que se han logrado, aún existen muchas dudas y controversias sobre la manera precisa en que estas drogas actúan en el sistema nervioso. Este trabajo está dirigido a aclarar una de tantas incógnitas, esto es, pretende por un lado, investigar la existencia de una posible interacción entre dos neurotransmisores putativos: encefalina y dopamina, en el control de la actividad motora de la rata, y en caso de que dicha interacción exista explicar el modo en que se realiza ésta.

Existen algunas evidencias que demuestran que los opiáceos afectan la actividad motora. Por ejemplo, se ha visto que la morfina en dosis alta deprime inicialmente la conducta motora para después estimularla (Oka y Hosoya, 1977; Smee y Overstreet, 1976). La beta-endorfina causa inmovilidad y rigidez muscular similar a la catalepsia que se observa en la esquizofrenia (Bloom et al., 1976). Además la D-Ala<sup>2</sup>-Met<sup>5</sup>-encefalinamida tiene efectos similares a los de la morfina (Brady y Holtzman, 1981; Harston et al., 1980). Inyecciones directas de DALA en el área ventral tegmental o en núcleo accumbens producen un aumento en la motilidad (Broekkamp et al., 1979; Joyce et al., 1981; Pert y Sivit, 1977). Como sabemos dichas estructuras son primordiales en el sistema dopaminérgico mesolímbico, el cual, se ha demostrado que es el responsable del control de la locomoción. Además, hay evidencias de que la naloxona, que es antagonista de los opiáceos, reduce la motilidad en ratas y ratones (Castellano y Puglisi-Allegra, 1982; Holtzman, 1974; Walker et al., 1981).

Existen también algunos datos que nos sugieren la interacción entre los opiáceos y la dopamina en el control de la conducta motora. Por ejemplo, el aumento en la motilidad que provoca la morfina es antagonizado por el inhibidor de la síntesis de catecolamina  $\alpha$ -metil-p-tirosina (Hitzemann et al., 1982). La naloxona,

por otra parte, disminuye el incremento en la actividad motora producido por anfetamina y dosis moderadas de apomorfin (Hitzemann et al.,1982)

Todos estos datos nos hacen suponer que la encefalina, de alguna manera, afecta la neurotransmisión dopaminérgica para producir un cambio en la motilidad. Por tal motivo, se pensó en la importancia de estudiar los efectos de D-Ala<sup>2</sup>-Met<sup>5</sup>-encefalinamida (péptido opioide sintético sustituto de la metionina encefalina natural) sobre la actividad motora de la rata después de la estimulación e inhibición de la neurotransmisión dopaminérgica. En la presente investigación se estudiaron los efectos de DALA sola o en combinación con otras dos drogas: anfetamina, que es un inhibidor de la recapturación de dopamina y así mismo provoca la liberación de dicho transmisor, y pimozide, que es un bloqueador del receptor dopaminérgico.

## CAPITULO 1

### ENDORFINAS

#### 1.1 HISTORIA

Inquietud constante de los hombres a través de los siglos, ha sido conocer el misterio que envuelven aquellas sustancias que alteran su estado mental. Mucho tiempo antes de la Grecia Preclásica, el hombre utilizaba ya el opio como una droga con potentes efectos narcóticos, analgésicos y euforizantes; sin embargo y a pesar de su uso tan extendido y frecuente, se desconocía la manera en que dicha droga provocaba su acción en el organismo. Hasta 1806, un farmacéutico alemán, Friedrich Sertuner, logró aislar a la morfina (un alcaloide) del opio y la bautizó con dicho nombre, por morfeo dios griego del sueño. A mediados del siglo XIX era bien conocido que la morfina era el agente causante de los efectos más notables del opio. Por mucho tiempo hubo muy pocos avances en el conocimiento de la droga, pero aproximadamente hacia 1969 se sabía que la efectividad de los opiáceos dependía, además de su estructura química elemental, de las disposiciones espaciales que sus moléculas pudieran adoptar, por ejemplo, sólo la forma levógira de la morfina es farmacológicamente activa.

Las observaciones anteriores y el hecho de que los opiáceos aún en dosis mínimas eran capaces de tener un efecto farmacológico sobre el organismo, hicieron suponer a los investigadores que debían existir receptores para tales sustancias. Tras un arduo trabajo, Snyder y Pert (1973) demostraron la existencia de receptores específicos para los opiáceos en el sistema nervioso. Ante tal evidencia, hubo la necesidad de buscar aquel "ligando endógeno" que debía unirse a los receptores encontrados; dicho "ligando" debía ser una sustancia con características análogas a la morfina, pero que estuviera presente en el cerebro en forma natural, ya que los alcaloides del opio no se producen ni se encuentran en ningún tejido animal.

## ENDORFINAS

Dos años más tarde, John Hughes et al. (1975) descubrieron tales sustancias y las llamaron encefalinas. Dichas encefalinas, metionina-encefalina y Leucina-encefalina (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met y Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, respectivamente) eran pentapéptidos, es decir, moléculas formadas por cadenas de cinco aminoácidos. En 1976, el grupo de Roger Guillemin encontró en la hipófisis y el hipotálamo otras sustancias cuyos efectos se parecían también a los de la morfina, a las que denominaron endorfinas:  $\alpha$ -endorfina, formada por 16 aminoácidos;  $\beta$ -endorfina, formada por 31 aminoácidos y  $\gamma$ -endorfina, por 17 aminoácidos (Guillemin et al., 1976). De esta manera se probaba, pues, que los receptores cerebrales de la morfina en realidad son receptores de las encefalinas y de las endorfinas. Cabe mencionar que la morfina es capaz de unirse al receptor de los opiáceos endógenos debido a que en ambos casos la forma que sus moléculas adoptan en el espacio es muy semejante, aunque su estructura química sea diferente.

### 1.2 CLASIFICACION

Hasta la fecha se han encontrado más de una docena de "opiáceos endógenos" y parece que la lista sigue creciendo. Para fines prácticos, mencionaré aquí la clasificación que Bloom (1983) ha elaborado de la "Super Familia de las Endorfinas". Dentro de esta clasificación caen todos los péptidos endógenos cuyas secuencias incluyen al menos una cadena de aminoácidos de la Met-encefalina o de la Leu-encefalina y que comparten algunas acciones comunes con los receptores opiáceos. Se distinguen tres ramas principales:

#### 1. Péptidos de la serie pro-opio-melano-cortina

##### 1. Péptidos opioides

1.  $\beta$ -endorfina
2.  $\alpha$ -endorfina
3.  $\gamma$ -endorfina

##### 2. No opioides

1.  $\gamma$  MSH ( $\gamma$  melanotrofina)
2.  $\beta$  MSH

## ENDORFINAS

### 3. $\alpha$ MSH

#### 2. Encefalinas

1. Met<sup>5</sup>-encefalina
2. Leu<sup>5</sup>-encefalina
3. Met<sup>5</sup>-Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>7</sup>-encefalina

#### 3. Encefalinas Alargadas

1. Dinorfina
2.  $\alpha$ -neo-endorfina
3.  $\beta$ -neo-endorfina

#### 4. Otras

1. Kiotorfina
2. Dermorfina
3. Casei-morfina (esta sustancia es mas bien "exorfina", ya que se extrae de la caseína de la leche).

Es importante hacer notar que aunque en un principio se creía que las encefalinas y las endorfinas eran análogas, ahora es bien conocido que existen varias diferencias, por ejemplo, tienen diferentes precursores: las endorfinas provienen de una proteína que contiene una cadena de 264 aminoácidos, llamada proopiomelanocortina, la cual contiene las cadenas de la  $\beta$ -lipotropina, de la corticotropina y de las 3 hormonas melanotropas:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Las encefalinas, por su parte, están contenidas en otra proteína llamada proencefalina, formada de 239 aminoácidos y localizada en las células cromafinas de la médula adrenal, sistema nervioso central e intestino, que a su vez contiene las cadenas de aminoácidos de la dinorfina,  $\alpha$ -neoendorfina, heptapéptido adrenal-cerebral y del péptido triptico adrenal (Bayón, 1981). Otras diferencias entre las las endorfinas y las encefalinas son su período de actividad y su localización en el sistema nervioso. Las encefalinas tienen una vida activa muy corta, solo algunos

## ENDORFINAS

minutos, mientras que las endorfinas son estables durante varias horas (Bayón, 1981).

### 1.3 DISTRIBUCION

Las encefalinas se encuentran prácticamente en todo el sistema nervioso central, principalmente en globo pálido (relacionado con los sistemas programadores del movimiento), núcleo central de la amígdala (forma parte de los sistemas que controlan la conducta emocional), cerebro medio y médula espinal, particularmente en las astas dorsales donde parecen moderar el paso de los impulsos dolorosos provenientes de los nervios sensitivos. Se encuentra también encefalina en la substancia nigra, locus coeruleus y el núcleo de raphé, los cuales son núcleos en los que existe gran cantidad de monoaminas. En ratas, changos y gatos se ha encontrado un circuito encefalinérgico que se extiende de los núcleos paraventricular y supraóptico al lóbulo neural. Es probable que exista otro circuito que va de núcleo caudado y putamen a globo pálido. Se encuentra además encefalina en el sistema nervioso periférico, incluida la retina y en las células cromafinas de la médula adrenal. Por su parte la  $\beta$ -endorfina se localiza en la zona tuberal del hipotálamo (lóbulo intermedio) y en las células corticotrofas del lóbulo anterior; y se ha visto que allí se libera en situaciones de tensión junto con la hormona corticotrófica. Es posible que una vez en la sangre, las endorfinas pudieran actuar como analgésicos, componentes de la reacción aguda de la tensión. La  $\beta$ -endorfina también se distribuye en el núcleo arcuato, en la base del hipotálamo; de ahí se extiende hacia la porción frontal del encéfalo, area anterior hipotalámica-preóptica y a través de la línea media dorsal del tálamo al tallo cerebral. Estas fibras se extienden luego hacia el locus coeruleus y el núcleo parabraquial, llegando en dirección caudal hasta el tracto solitario. Este largo trayecto parece formar parte, por su localización, del sistema límbico, relacionado con las experiencias emocionales; aunque su función ahí se desconoce, pudiera ser parte analgésica, ya que la liberación de endorfina del cerebro medio, puede disminuir el dolor crónico de ciertos pacientes.

Existen además otros núcleos específicos en los que se encuentran extensivas arborizaciones de fibras  $\beta$ -endorfina; son los núcleos periventricular, paraventricular, ventromedial y dorsomedial del hipotálamo, el núcleo paraventricular del tálamo, amígdala medial, séptum y el núcleo ventral de la estria terminal.

## ENDORFINAS

Algunos estudios realizados indican que las Leu-enkefalinas alargadas son independientes de las endorfinas derivadas de la proopiomelanocortina y de la Met-enkefalina. Estas (dinorfina y  $\alpha$ -neo-endorfina) se distribuyen en los circuitos magnocelulares de la hipófisis posterior y en el hipocampo. La dinorfina del núcleo hipotalámico magnocelular existe también junto con neuronas de vasopresina.

Una diferencia importante, además de las ya mencionadas, entre las neuronas encefalinérgicas y endorfinérgicas es su morfología, que podría tener una significación funcional. Las neuronas encefalinérgicas son pequeñas, con axones cortos y finos, que se encuentran esparcidos en todo el sistema nervioso. En cambio, las neuronas endorfinérgicas y en general las derivadas de la proopiomelanocortina son más largas y fusiformes, y sus axones se encuentran principalmente siguiendo una vía hacia el núcleo paraventricular. Por tales razones, es posible sostener que el sistema neuronal endorfinérgico es un componente de la red peptidérgica endócrina en el hipotálamo paraventricular; por otra parte, la neuroanatomía y heterogénea morfología de las neuronas encefalinérgicas sugiere que las enkefalinas pueden mediar eventos sinápticos de significancia para muchas áreas diversas y funciones del sistema nervioso.

Para una revisión más amplia de los datos mencionados en el transcurso de este punto, ver las referencias incluidas en los trabajos de Bloom (1983), Rossier y Chapouthier (1981) y Bayón (1981).

### 1.4 RECEPTORES

Existen múltiples formas de receptores opioides. Los tres tipos básicos definidos por Martin y col. (1976) son: mu o receptor morfina, kappa o receptor ketociclazocina y sigma o receptor SKF-10047. En vivo las drogas agonistas del receptor kappa se distinguen de las agonistas del receptor mu por la ausencia, después de una dosis aguda, de bradicardia y por no precipitar o suprimir el síndrome de abstinencia en perros dependientes de morfina. En contraste, una dosis de SKF 10047 produce una activación general del sistema nervioso central incluyendo dilatación pupilar, taquipnea, taquicardia y manía (Martin et al., 1976). En 1977, al aislar e identificar Leu y Met-enkefalina se reveló un receptor delta o receptor encefalina y un receptor mu o receptor alcaloide, presentes en órganos periféricos y sistema nervioso central (Lord et al., 1977). Similarmente, el aislamiento de la

beta-endorfina y su demostración en el cerebro sugirió otro receptor nombrado epsilon o receptor  $\beta$ -endorfina en el tejido cerebral y periférico (Akil et al., 1980; Schultz et al., 1979). Posteriores estudios de unión con el receptor sigma sugieren que éste puede no ser un típico receptor opioide, puesto que no muestra la estereoespecificidad clásica de un receptor opioide (tanto D y L SKF10047 son equipotentes) (Akil et al., 1984).

La existencia de múltiples receptores opioides ha incitado a los investigadores a la búsqueda de una posible relación receptor-ligando única, es decir, la existencia de un receptor específico para cada péptido opioide. Aunque algunos estudios in vitro sugieren tal relación entre las encefalinas y los receptores delta y la dinorfina y los receptores kappa, esto no significa que esta "segregación" ocurra en circuitos intactos bajo condiciones fisiológicas (Akil et al., 1984). La existencia de varios receptores opioides no requiere lógicamente una relación receptor-ligando única, como lo muestran los hallazgos de múltiples receptores para la acetilcolina, dopamina, noradrenalina, serotonina, histamina y GABA.

## 1.5 EFECTOS FISIOLÓGICOS

### 1.5.1 Efectos Electrofisiológicos

El lugar (o lugares) en el que las encefalinas interactúan con los circuitos neuronales no está claro. Los estudios de liberación sugieren que los opiáceos suprimen la liberación de los neurotransmisores periféricamente (Dingledine y Goldstein, 1976; Henderson y Hughes, 1976) y centralmente (Loh et al., 1976; Montel et al., 1974; Smith, 1972), probablemente a nivel presináptico. Esta hipótesis se fundamenta en algunos estudios autoradiográficos (Atweh y Kuhar, 1977; Pert et al., 1975) y de lesión (Atweh et al., 1978; Lamotte et al., 1976). Sin embargo, otros experimentos fisiológicos parecen apoyar la localización postsináptica de los receptores opiáceos (Barker et al., 1978; Zieglgansberger y Bayerl, 1976). En términos de los efectos fisiológicos de los opiáceos, parece haber un consenso general en que, a excepción de las células Renshaw de la médula espinal (Davies et al., 1976; Duggan y Curtis, 1977) y las neuronas piramidales del hipocampo (Nicoll et al., 1977; Zieglgansberger et al., 1978) el efecto de las interacciones agonistas con el receptor opioide estereoespecífico (Nicoll et al., 1977) es reducir el disparo neuronal espontáneo y evocado (Bradley et al., 1976; Frederickson y Norris, 1976; Hill et al., 1976; Korf et al., 1974). El efecto único de los opioides en estas células es

## ENDORFINAS

particularmente interesante, pues sugiere que el receptor opioide puede acoplarse funcionalmente a más de un tipo de mecanismo fisiológico efector o bien que los circuitos locales y/o la localización de los receptores opioides sean tales que los efectos excitatorios pueden ser mediados a través de la inhibición de otros elementos neuronales.

### 1.5.2 Efectos Cardiovasculares.

Existen algunos datos que nos hacen suponer que existe una posible interacción entre los opioides y el sistema cardiovascular. Se ha visto que para determinar el efecto de los agonistas y antagonistas opiáceos sobre la presión arterial y el pulso cardiaco es muy importante tomar en cuenta el tipo de receptor involucrado, la dosis empleada y el estado en el que se encuentra el animal, es decir, si está o no anestesiado.

Un hallazgo relativamente consistente es que los agonistas opioides tienden a elevar la presión arterial y el pulso cardiaco en animales conscientes (Feuerstein and Faden, 1983 a; Giles y Sander, 1983) y tienden a disminuirlos en animales anestesiados (Faden y Feuerstein, 1983; Kiang y Wei, 1983). Sin embargo, la dosis empleada, como ya se dijo, afecta los resultados, puesto que una dosis aumentada de dermorfina eleva la respuesta cardiovascular mientras que una baja la suprime (Feuerstein, 1983 b). El péptido que se utilice también determina la efectividad en la respuesta, ya que  $D-Ala^2-MePhe^4-Gly^3-Ol$  encefalina (DAGO) que es un agonista del receptor  $\mu$ , eleva la presión arterial y tiene un efecto bifásico en el pulso cardiaco, y una encefalina tetrapéptida dimérica ( $DTE^{1,2}$ ), que es un agonista del receptor delta, no tiene efecto (Pfeiffer et al., 1983). Resultados similares a los de DAGO se han encontrado utilizando morfina, con un decremento inicial del pulso cardiaco, seguido de un marcado incremento.

Se ha observado también que la naloxona en animales anestesiados incrementa la presión arterial (Giles y Sander, 1983), sin embargo, en animales conscientes no tiene efecto, ni tampoco la naltrexona (Byrd, 1983; Freye et al., 1983). Existen algunos reportes clínicos en los que se ha utilizado naloxona en el tratamiento de la hipotensión y se ha visto que esta droga provoca un incremento transitorio en la presión arterial (Higgins et al., 1983; Pasi et al., 1983 b).

## ENDORFINAS

### 1.5.3 Efectos Respiratorios

La mayoría de las investigaciones realizadas en esta área reportan que los agonistas opiáceos tienen un efecto depresivo en la respiración, lo cual no es sorprendente ya que desde hace tiempo se conoce que una sobre dosis de morfina es capaz de producir la muerte por paro respiratorio. Observaciones recientes indican que la Met-enkefalina (Lagamma et al., 1983) y análogos de la enkefalina como DAGO, D-Ala<sup>2</sup>-D-Leucinencefalinamida (DADL), FK33-824 y Tir-D-Ser-Fe-Leu-Tur (Faden y Feuerstein, 1983; Pazos y Flors, 1983), y dermorfina (Feuerstein, 1983 a) suprimen la respiración tanto o más que la morfina. Los efectos de la dermorfina, sin embargo, dependen de la dosis, ya que una dosis alta suprime la respiración pero una dosis baja la incrementa, lo cual es una curva bifásica típica de varias de estas sustancias.

Sólo hay un estudio que no coincide con los anteriores, el cual reporta que la respiración no es afectada por DAGO o DADL (Feuerstein et al., 1983 b). En este estudio las ratas estaban conscientes mientras que en los otros estaban anestesiadas (Freye et al., 1983; Wheeler y Farber, 1983). En otro estudio (Long y Lawson, 1983) se vio que la naloxona mejoró dramáticamente la respiración de cerdos neonatos cuando éstos tenían menos de 10 días de edad, pero la mejoría fue menor cuando los cerdos tenían de 20 a 34 días de nacidos, indicando esto que los opioides tienen una menor influencia sobre la respiración conforme aumenta la maduración. Pudiera ser que los péptidos opioides endógenos sólo son capaces de regular la respiración en la fase temprana del desarrollo.

Si siguiendo esta línea de investigación, se ha propuesto que los opioides endógenos podrían estar involucrados en el síndrome de la "muerte en la cuna", puesto que las complicaciones respiratorias parecen ser las principales responsables de la muerte de estos niños. Se ha encontrado un nivel elevado de  $\beta$ -endorfina en el tallo cerebral de los niños víctimas de este síndrome, por lo que se ha sugerido una posible interacción entre la alta concentración de opioides endógenos en el tallo cerebral y la respiración severamente deprimida asociada con dicho síndrome (Pasi et al., 1983 a).

### 1.5.4 Efectos Termoregulatorios.

Es bien conocido que la morfina tiene un efecto bifásico sobre la temperatura, aunque los mecanismos involucrados no son claros. Se ha visto que la dosis es una

## ENDORFINAS

variable importante sobre los efectos que produce la morfina; por ejemplo, una dosis baja produce hipertermia mientras que una alta induce hipotermia, y ambos efectos son reversibles con naloxona (Geller et al., 1983). El estado de stress que produce la situación de prueba también parece afectar los resultados, puesto que las ratas que han sido manipuladas antes de la prueba tienen hipertermia monofásica después de la administración de morfina, en cambio, en las ratas que no han tenido una previa manipulación, la morfina tiene un efecto bifásico hipo-hipertérmico (Benedek y Obal, 1983). Se ha observado que la morfina no tiene efecto sobre la temperatura en ratas hipertiroideas (Kasson y George, 1983), indicando ésto la importancia de la tiroides en los efectos opioides en la termoregulación. La  $\beta$ -endorfina y Met-enkefalina producen hipertermia la cual es antagonizada por naloxona a niveles comparables con los producidos por pequeñas dosis de morfina (Kandasamy y Williams, 1983). La hipertermia inducida por  $\beta$ -endorfina es parcialmente dependiente de la edad, ya que los monos arañas mayores de 9 años fueron más afectados que los jóvenes, lo cual supone la posibilidad de una mayor sensibilidad a los opioides con la edad (Murphy y Lipton, 1983).



## INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

Algunas fibras ascendentes que contienen dopamina, se originan en los cuerpos celulares en la zona compacta de la sustancia nigra (SN) y terminan en el núcleo caudado y putamen (estriado). Estas terminales dopaminérgicas pueden formar sinapsis axodendríticas con interneuronas estriadas (colinérgicas y gabaérgicas) y también sinapsis axoaxónicas con proyecciones aferentes a la corteza (glutamato). Las terminales de las neuronas que contienen encefalina en el estriado pueden formar sinapsis axoaxónicas con terminales dopaminérgicas, y también pueden interactuar mutuamente con interneuronas gabaérgicas estriadas, formando un circuito local de retroalimentación en el estriado. Las diversas vías aferentes del estriado (corticales, talámicas nigrales y del rafe) convergen en las interneuronas estriadas colinérgicas y gabaérgicas, las cuales de vuelta actúan en las vías estriadonigrales y estriadopalidales. Se han identificado vías estriadonigrales que contienen GABA así como vías que contienen sustancia P. El globo pálido recibe proyecciones gabaérgicas del estriado y envía proyecciones gabaérgicas a la SN.

La estimulación de los receptores dopaminérgicos en el estriado está asociada con la inhibición de interneuronas estriadas colinérgicas y posiblemente gabaérgicas (estas neuronas probablemente están conectadas en serie) y con un incremento en la transmisión inhibitoria (probablemente gabaérgica) en SN. Contrariamente, la reducción o bloqueo de la transmisión dopaminérgica estriada está asociada con un incremento en la transmisión excitatoria (posiblemente subst. P). Las terminales gabaérgicas en SN pueden terminar directamente en las dendritas de las neuronas dopaminérgicas, y además pueden formar conexiones sinápticas con interneuronas, terminales aferentes a la SN, y proyecciones nigrales eferentes a tálamo, colículo superior (técum) y formación reticular tegmental (Gale, 1981 (referencias incluidas en su artículo)).

### 2.1 INTERACCION ENTRE DOPAMINA Y GABA

El tracto gabaérgico estriado-nigral está bajo el control de terminales dopaminérgicas en el estriado. Algunos autores proponen que las terminales dopaminérgicas ejercen una influencia inhibitoria sobre interneuronas gabaérgicas del estriado, las cuales a su vez hacen sinapsis con otras neuronas gabaérgicas provocando una influencia desinhibitoria en la actividad GABA estriadonigral (Gale y Casu, 1981; Roberts, 1976; Mao et al., 1977). Desde este punto de vista la actividad sináptica mediada por GABA en sustancia nigra está aumentada por la influencia de neuronas dopaminérgicas. Es probable, por tanto, que muchas de las

acciones conductuales de estimulantes dopaminérgicos sean expresadas a través de la liberación de GABA en substancia nigra. Está de acuerdo con este supuesto, la similitud observada entre las conductas estereotipadas inducidas por agonistas de dopamina y las conductas inducidas por la activación bilateral de receptores GABA en substancia nigra (Scheel-Kruger et al., 1977). Además las respuestas conductuales a la estimulación unilateral de receptores estriados de dopamina es cualitativamente similar a la estimulación unilateral de receptores nigrales GABA: ambas manipulaciones causan rotación contraversiva (Arnt y Scheel-Kruger, 1979; Oberlander et al., 1979). Lo que es más, el bloqueo de receptores nigrales GABA puede atenuar el comportamiento estereotipado inducido por el agonista de dopamina, apomorfina (DeMontis et al., 1979), apoyando esto la idea de que algunos de los efectos conductuales de la estimulación de dopamina pueden depender de la transmisión GABA en SN.

Es posible entonces, que alteraciones crónicas de GABA en SN podrían contribuir a algunos de los cambios conductuales observados después de un tratamiento prolongado con antagonistas de dopamina (Gale y Casu, 1981). Es bien sabido, por ejemplo, que una respuesta conductual aumentada (supersensibilidad) a estimulantes de dopamina puede observarse cuando los animales son sometidos a prueba 5-10 días después de la terminación de un tratamiento crónico con neurolépticos (Tarsy y Baldessarini, 1974). Se ha demostrado que el tratamiento crónico con drogas neurolépticas da como resultado un incremento en la densidad de los receptores GABA en SN, así como una respuesta conductual aumentada ante la estimulación de estos receptores (Gale, 1980 b). Así, es posible especular que la respuesta aumentada a agonistas de dopamina después de un bloqueo crónico de receptores DA es en realidad debida al hecho de que los receptores GABA de la SN que median esta respuesta se han vuelto supersensibles (Gale y Casu, 1981).

Un argumento similar puede usarse para explicar el movimiento rotatorio contralateral inducido por la apomorfina en ratas unilateralmente lesionadas con 6-hidroxi dopamina (6-OH DA) (Ungerstedt, 1977). De nuevo, tenemos una situación en la que los receptores GABA muestran una respuesta supersensible en la SN del hemisferio lesionado. Estos receptores serían, entonces, más sensitivos a GABA liberada en SN como un resultado indirecto de la estimulación del receptor de dopamina en el estriado; se esperaría que las ratas tuvieran un movimiento rotatorio contraversivo al lado supersensible (Gale y Casu, 1981).

Otra forma en que la estimulación del receptor de dopamina puede influir sobre la actividad GABA nigral es mediante la acción directa en SN. Hay evidencia de que adenilciclase sensible a dopamina puede estar localizada en las terminales de las aferentes gabaérgicas a SN (Gale, 1980 c) y es posible que la activación de estos receptores podría aumentar la liberación de GABA en SN. Bajo este contexto, es interesante que Kozolowski y col. (1980) pudieran provocar una rotación contralateral inyectando apomorfina directamente en la SN de ratas lesionadas con 6-OHDA, más aún, que esta rotación fuera suspendida al quitar previamente las aferentes GABA a SN. Así, algunas de las acciones de los estimulantes de dopamina pueden ser ejercitadas a través de receptores presinápticos en las terminales gabaérgicas en SN, y esta acción puede ser revelada o exagerada bajo condiciones (ejem. lesiones con 6-OHDA) que inducen supersensibilidad del receptor.

Si una alteración de los receptores GABA en la SN puede explicar cambios en las respuestas conductuales ante los estimulantes de dopamina, ¿qué rol juega la supersensibilidad de los receptores de dopamina?. Por varios años se había asumido que el aumento en las respuestas conductuales ante los agonistas de dopamina (después de bloquear el receptor de dopamina o de lesionar con 6-OHDA) era un resultado directo de la supersensibilidad del receptor de dopamina. El hecho de que lesiones unilaterales con 6-OHDA o que el tratamiento crónico con neurolépticos causara un incremento en la unión de antagonistas de dopamina marcados radioactivamente era una fuerte evidencia para apoyar la supersensibilidad del receptor de dopamina. Los estudios de unión y los estudios conductuales fueron a partir de entonces considerados como reflexivos del mismo fenómeno y se infirió una relación de causalidad (List y Seeman, 1980). Recientemente, sin embargo, esta relación ha sido cuestionada, principalmente porque el curso temporal para el desarrollo de la supersensibilidad conductual y el aumento en la unión de <sup>3</sup>H-spiperona (antagonista de dopamina), no es consistente uno con otro (Staunton et al., 1981). Además, se ha reportado una marcada supersensibilidad conductual a los agonistas de dopamina bajo condiciones en las que no se ha detectado ninguna alteración de los receptores de dopamina en el estriado (Mailman et al., 1981). Otra evidencia que apoya el rol crítico que ejercen los receptores GABA sobre el desarrollo de las respuestas supersensibles a los agonistas de dopamina, proviene de estudios con neurolépticos crónicos en los cuales se hubo administrado concurrentemente un agonista del receptor GABA. Primero, debe hacerse notar que la administración crónica de agonistas GABA es improbable que prevenga la proliferación

de receptores de dopamina en el estriado (Bartholini et al., 1980); por el contrario, se ha observado que estos agentes en realidad causan un incremento en los receptores dopaminérgicos estriados, probablemente como resultado indirecto de la depresión en la actividad de las neuronas nigroestriadas. Sin embargo, Lloyd y Worms (1980) encontraron que la supersensibilidad conductual a la apomorfina, que es normalmente producida por el tratamiento crónico con haloperidol, fué significativamente reducida en ratas que habían sido tratadas crónicamente con un agonista de GABA concurrentemente con el tratamiento de haloperidol. Esto sugiere que previniendo el desarrollo de receptores GABA supersensibles, la estimulación crónica de receptores GABA puede atenuar el desarrollo de la supersensibilidad conductual a los agonistas de dopamina (Gale y Casu, 1981).

Al mismo tiempo que la información fluye del estriado a la SN y después a tálamo, colículos y tegmento, una cierta cantidad de esta información regresa al estriado a través de la vía nigroestriada. En este contexto, las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas podrían verse como una vía de retroalimentación: responsable de monitorear la actividad de relevo que pasa por la SN, y conformemente ajustando la armonía en el estriado. La información que converge en el estriado proveniente de toda la corteza debe ser integrada, condensada e inevitablemente canalizada a través de impulsos de salida nigrales y palidales. Quizás la dopamina participa en este proceso convergente controlando el patrón y la velocidad del flujo de información a través del estriado, haciendo esto en coordinación con la actividad neural proveniente de la SN (Gale y Casu, 1981).

Hasta aquí nos hemos referido sólo al aspecto neurofisiológico de la interacción entre estos dos neurotransmisores. Ahora nos referiremos a sus efectos sobre la actividad motora.

La hiperactividad en ratones inducida por morfina, anfetamina y apomorfina es un fenómeno bien estudiado. Esta estimulación está asociada con un incremento en la liberación de catecolaminas, y agentes que reducen la actividad funcional de neuronas catecolaminérgicas (reduciendo la liberación de catecolaminas o bloqueando los receptores catecolaminérgicos postsinápticos) pueden antagonizar esta elevada actividad (Costa y Grattini, 1970; Engel y Carlsson, 1976; Kuschinsky, 1976). Evidencias experimentales han mostrado que drogas gabaérgicas, incluyendo el congénere de GABA  $\gamma$ -butirolactona (GBL) y el inhibidor de la transaminasa de GABA, ácido aminooxiacético (AOAA), pueden inhibir el disparo de las neuronas que contienen dopamina, tanto en el sistema mesolímbico como en

## INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

el estriado (Anden y Wachtel, 1977; Fuxe et al., 1975; Kaariainen, 1976). Otros hallazgos indican que las drogas gabaérgicas pueden suprimir selectivamente la estimulación locomotora inducida por etanol (Cott et al, 1976) y por la hormona liberadora de tirotrofina (Cott y Engel, 1977 b). Estos estudios enfatizan la importancia de la posible interacción entre las drogas gabaérgicas y el sistema dopaminérgico neuronal para el mecanismo responsable del efecto supresivo en la motilidad. Además, da soporte a este mecanismo, la observación de que pequeñas dosis de GABA administrada intraperitonealmente, selectivamente inhibe la hiperactividad inducida por etanol y causa una correspondiente inhibición de las neuronas que contienen dopamina (Carlsson y Biswas, 1976). Así pues, el mecanismo por el cual las drogas gabaérgicas son capaces de inhibir la hiperactividad inducida por las drogas catecolaminérgicas, puede ser debido a la inhibición presináptica de las neuronas dopaminérgicas ocasionada por la habilidad de las drogas gabaérgicas para suprimir la frecuencia de disparo de estas neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, es posible también que estén involucrados mecanismos postsinápticos, ya que en un experimento en el que se eliminaron las posibles influencias presinápticas con el tratamiento previo de reserpina y  $\alpha$ -metiltirosina, las drogas gabaérgicas tuvieron el mismo efecto (Cott y Engel, 1977a). Existen otros datos que apoyan esta suposición. Por ejemplo, la inyección bilateral de O-sultato de etanolamina (EOS, inhibidor de la transaminasa de GABA) en globo pálido antagoniza la estimulación locomotora inducida por la aplicación directa de dopamina en el núcleo accumbens (Pycocck, 1976 b). Además, la inyección unilateral de GABA en el núcleo caudado elimina la rotación contralateral inducida por dopamina o apomorfina (Cools y Janssen, 1976), mientras que la inyección bilateral de EOS en el núcleo accumbens previene la estimulación locomotora inducida por aplicación directa de dopamina en el núcleo accumbens y por administración periférica de anfetamina (Pycocck, 1976 a). Aún más, la liberación de dopamina en el núcleo caudado es aumentada por la aplicación local de antagonistas GABA, bicuculina y picrotoxina, y es disminuida por la aplicación de GABA (Bartholini y Stadler, 1975). En resumen, todos estos datos nos hacen suponer que la hiperactividad inducida por drogas catecolaminérgicas puede ser selectivamente antagonizada por el aumento de la actividad funcional de los sistemas neuronales que contienen GABA a través de la inhibición de neuronas catecolaminérgicas pre y postsinápticas.

## 2.2 INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y DOPAMINA

Por medio de técnicas autoradiográficas y de radioinmunoensayo se ha visto que los receptores opiáceos y las encefalinas endógenas están asociadas con las neuronas dopaminérgicas. Existen altas concentraciones de Leu-encefalina y Met-encefalina en regiones cerebrales que contienen cuerpos y terminales catecolaminérgicas. En particular fibras que contienen encefalinas se han encontrado en moderada a alta densidad en el área ventral tegmental (AVT) y núcleo accumbens (Sar et al., 1978; Wamsley et al., 1980). El AVT, llamada también región A-10, contiene alta densidad de cuerpos dopaminérgicos y tiene proyecciones axónicas ascendentes a una variedad de estructuras límbicas, formando los sistemas dopaminérgicos mesocorticales (área medial prefrontal, corteza cingulada y entorrinal) y mesolímbicas (septum, tubérculo olfatorio, núcleo accumbens, complejo amigdaloides y corteza piriforme (Moore y Bloom, 1978). Este último sistema tiene una función importante en la regulación de las conductas exploratorias y locomotoras (Fink y Smith, 1980).

Una variedad de estudios conductuales y bioquímicos han dado evidencias de que el sistema cerebral encefalinérgico puede influir la función de neuronas dopaminérgicas mesolímbicas. Micro inyecciones de morfina o de DALA en el AVT del cerebro de rata producen un incremento en la actividad motora espontánea parecida a la que se observa después de provocar farmacológicamente la liberación de dopamina en mesolímbio (con anfetamina, por ejemplo) (Joyce et al., 1981; Broekkamp et al., 1979; Kelley et al., 1980), y este efecto es antagonizado por la inyección sistémica de naloxona y haloperidol. Pert y Sivit (1977) observaron que la administración de morfina o DALA en el núcleo accumbens produce un aumento en la actividad locomotora y este efecto puede ser bloqueado por una inyección sistémica de naloxona, o de haloperidol en núcleo accumbens o bien, después de una lesión previa en las neuronas A10 con 6HO-DA. Además, receptores opiáceos identificados con  $^3\text{H}$  naloxona, están localizados en terminales dopaminérgicas en el núcleo accumbens (Pollard et al., 1977) y Hong y col. (1978) demostraron que la administración crónica de antagonistas de dopamina produce un aumento en Met-encefalina inmunoreactiva en el núcleo accumbens.

El globo pálido también recibe innervación dopaminérgica de las neuronas A9 de la sustancia nigra y tiene una de las más altas concentraciones de receptores opiáceos (Bradley et al., 1976; Atweh y Kuhar, 1977) y terminales encefalinérgicas (Wamsley et al., 1980). Esta innervación encefalinérgica presumiblemente surge de neuronas en el estriado que forman una gran proyección

estriadopalidal (Cuello y Paxinos, 1978). En esta región se ha encontrado que los opiáceos también inducen cambios en la locomoción. Inyecciones de DALA y D-Ala<sup>2</sup>-D-Leu<sup>5</sup>-encefalina producen un incremento en la respuesta motora, dosis-dependiente, el cual es antagonizado con naloxona (Joyce et al., 1981). Varios estudios apoyan la idea de que los péptidos opioides afectan la actividad de las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas. Por ejemplo, se conoce que el tratamiento agudo con opiáceos incrementa el recambio de dopamina (Algeri et al., 1977; Kuschinsky y Hornykiewicz, 1974), que se refleja por un aumento en los niveles de ácido homovanílico y ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) en el estriado. Se ha encontrado también que en la vía dopaminérgica nigro-estriada los opiáceos provocan efectos conductuales que coinciden con la activación de neuronas dopaminérgicas (Iwatsubo y Clouet, 1977). Además, en este sistema Iwatsubo y Clouet encontraron que la administración sistémica de morfina produce un aumento en el disparo de neuronas dopaminérgicas, y Biggio y col. (1978) reportaron un aumento en la síntesis de dopamina en el estriado después de una infusión intraventricular de DALA. De acuerdo con estas observaciones, se han encontrado receptores opiáceos en las terminales de dopamina del estriado (Pollard et al., 1977 b).

Todos estos datos nos harían suponer que los opiáceos ejercen una acción facilitadora sobre las neuronas dopaminérgicas. La manera en que lo hacen ha sido muy discutida y aún no está clara. Pollard y col. (1977 b) proponen que la morfina ejerce su acción a nivel presináptico mediante la interacción con receptores opiáceos localizados en las terminales dopaminérgicas estriadas. Según Kuschinsky y Hornykiewicz (1974) la acción que produce la morfina es un desplazamiento, ("diversión") de la dopamina nueva, sintetizada en los sitios de almacenamiento (vesículas) a los sitios de catabolismo. Así esta "diversión" resulta en una deficiencia de la dopamina disponible para ser liberada en los receptores, dando catalepsia como su correlato farmacológico, y después un aumento en la síntesis de dopamina como una medida bioquímica compensatoria. En resumen, el papel que juega aquí la morfina es el de un modulador de la liberación de dopamina, de una manera inhibitoria, y el aumento en la síntesis de dopamina es sólo su efecto secundario.

Otros estudios (Nicoll et al., 1980; Lee et al., 1980; Zieglgansberger et al., 1979) sugieren que las encefalinas no hacen sinapsis directa con cuerpos celulares dopaminérgicos, sino que ejercen su acción inhibiendo neuronas inhibitorias (probablemente gabaérgicas) que hacen sinapsis con las neuronas dopaminérgicas. Tal mecanismo se propone para explicar la excitación de las neuronas

## INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

piramidales del hipocampo resultante de una inyección de encefalina (Dunwiddie et al., 1980).

### 2.3 INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y GABA.

La manera en que los opioides interactúan con neuronas gabaérgicas es poco conocida; sin embargo, existen datos que suponen que las encefalinas tienen un efecto inhibitorio en la neurotransmisión gabaérgica. Por ejemplo, se ha demostrado que los opiáceos disminuyen el recambio de GABA en el núcleo caudado después de una inyección sistémica o intracaudal de morfina (Moroni et al. 1979). Así mismo, se ha visto que la metionina-encefalina en dosis bajas ( $10^{-12}$  a  $10^{-6}$  M) inhibe la liberación de  $^3\text{H}$ -GABA estimulado por  $\text{K}^+$  de sinaptosomas cerebrales de rata de una manera dosis-dependiente y esta inhibición se puede prevenir con naloxona (Brennan et al, 1980). Este hallazgo implica la existencia de receptores opiáceos en las terminales nerviosas gabaérgicas a través de las cuales la liberación de GABA podría ser modulada. Por esto se ha sugerido que la excitación de ciertas neuronas (ejemplo: neuronas CA1 piramidales del hipocampo y células Renshaw de la médula espinal) provocada por los péptidos opiáceos sea consecuencia de la inhibición de la liberación de GABA de las interneuronas inhibitorias adyacentes (Dunwiddie et al., 1980; Lee et al., 1980). Sin embargo, aunque la mayoría de los estudios realizados coinciden en que la excitación inducida por los opioides en estas neuronas es debida a un bloqueo de las vías inhibitorias gabaérgicas, hay desacuerdo en la manera en que lo hacen. Así tenemos que Dunwiddie y col. (1980) encontraron que DALA no pudo bloquear el efecto depresivo de GABA sobre el disparo de las neuronas piramidales CA1. Por el contrario, cuando se usaron niveles subefectivos de GABA y DALA, se sumaron los efectos depresivos, en vez de anularse. Empero, al administrar DALA iontoforéticamente en preparaciones de rebanadas del hipocampo se vió un efecto depresivo en el disparo de las interneuronas inhibitorias. Este hallazgo sugiere que la respuesta excitatoria de las neuronas piramidales reportadas in situ (Zieglansberger et al., 1978) y en rebanadas de hipocampo (Dunwiddie et al., 1980) es debido a una desinhibición. Dichos datos se correlacionan con los de Zieglansberger (1978) en los que la excitación en las células piramidales fue bloqueada por iontoforesis de magnesio o bicuculina.

Recientemente Agmo y col. (1985) estudiaron la interacción entre naloxona y GABA en el control de la actividad locomotora de la rata. Ellos proponen que mecanismos gabaérgicos participan en la inhibición de la

## INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

locomoción causada por la naloxona. En sus experimentos se encontró que la bicuculina y picotroxina (antagonistas del receptor GABA) son capaces de inhibir los efectos depresivos causados por naloxona (la naloxona no tuvo efecto sobre la actividad ya que estaban bloqueados los receptores GABA). Además se vió que esta última potenció el efecto del baclofen (agonista del receptor de GABA) reflejándose en una fuerte inhibición de la conducta motora. Así mismo, naloxona fue capaz de potenciar el efecto inhibitor del  $\gamma$ -acetilenoGABA (inhibidor de la transaminasa de GABA). Estos datos sugieren que la naloxona facilita la neurotransmisión gabaérgica y dado que la naloxona es el antagonista del receptor opiáceo, cabe suponer que la encefalina, de alguna manera, bloquea la neurotransmisión gabaérgica, lo cual, como ya hemos visto es una posibilidad fundamentada.

### 2.4 INTERACCION ENTRE ENCEFALINA, GABA Y DOPAMINA.

Es importante hacer notar que recientemente se ha identificado al sistema mesolímbico, en particular el núcleo accumbens, como el responsable de la iniciación del movimiento y la locomoción (Carey, 1983; Johnels, 1982), mientras que el cuerpo estriado parece ser necesario en el control del tono muscular y la postura (Anden y Johnels, 1978; Barbeau, 1978). Así mismo, se ha sugerido que la akinesia (inmovilidad total) podría depender de la liberación insuficiente de dopamina en el área mesolímbica, y la rigidez y catalepsia podría ser provocada por la falta de transmisión en el área nigroestriada de estas vías dopaminérgicas (Johnels, 1982). Aunque más adelante veremos que algunos investigadores no están de acuerdo en atribuir a las neuronas dopaminérgicas la responsabilidad de la rigidez muscular, si concuerdan en que sea el estriado el causante de ésta (Havemann et al., 1980). Por esta razón analizaremos separadamente los efectos de la encefalina en el sistema nigro-estriado y en el mesolímbico.

#### Sistema nigro-estriado

Las vías aferentes más importantes que llegan al estriado provienen del núcleo talámico intralaminar de la corteza (glutamato), del núcleo dorsal del raphé (serotonina) y principalmente de la substancia nigra, pars compacta (dopamina). Esta última ha sido muy estudiada ya que se encuentra alterada o interrumpida en la enfermedad de Parkinson o después de la administración de neurolepticos. Principalmente existen dos sistemas de salida del estriado, uno que va del globo pálido vía tálamo y otro que llega a la

## INTERACCION ENTRE ENCEFALINA Y OTROS NEUROTRANSMISORES

substancia nigra. En ambos sistemas parecen estar involucradas neuronas gabaérgicas. Además, algunas de las neuronas gabaérgicas parecen inhibir neuronas dopaminérgicas nigrales (Iwamoto y Way, 1977), sugiriendo 'esto un circuito de retroalimentación nigro-estriado-nigral al que ya nos hemos referido en el capítulo 2-1.

En el estriado, los opioides alteran tanto los mecanismos de entrada como los de salida. La entrada a través de neuronas dopaminérgicas es alterada al provocar un incremento en el recambio de dopamina (Kuschinsky, 1976; Algeri et al, 1977). La salida también parece ser alterada ya que después de la administración de opioides aparece akinesia, catalepsia y rigidez muscular. El incremento en la síntesis y recambio de dopamina inducido por los opioides podría ser debido, como proponen Biggio y col. (1978) y Kuschinsky (1976), a un mecanismo compensatorio inducido localmente en las terminales nerviosas dopaminérgicas contra la inhibición de la liberación de dopamina causada por los opiáceos. Biggio encontró un incremento en síntesis y recambio de dopamina en el estriado después de inyectar DALA en esta región, aún después de haber destruido los cuerpos celulares estriados con ácido kaínico, sugiriendo esto un proceso local y no una activación de las neuronas dopaminérgicas a través del circuito nigro-estriado. Otra alternativa sería que las neuronas dopaminérgicas nigro-estriadas fueran activadas directa o indirectamente a través de los receptores opiáceos localizados en la substancia nigra. Esta suposición está fundamentada por la observación de que al inyectar varios opioides unilateralmente en la substancia nigra se produce una conducta de rotación contralateral (Iwamoto y Way, 1977), mientras que al inyectarlos bilateralmente se produce un incremento en la actividad locomotora (Biggio et al., 1978) y una conducta estereotipada (Iwamoto y Way, 1977), además, inyecciones de morfina en la substancia nigra incrementaron la concentración de DOPAC en el núcleo caudado. Havemann y col. (1980) proponen que los receptores opioides que median esta activación de las neuronas dopaminérgicas están localizados en neuronas aferentes a la substancia nigra, cuyos cuerpos celulares se localizan en el núcleo caudado y que son muy probablemente gabaérgicas.

En resumen, existen dos posibles mecanismos por medio de los cuales los opioides producen un aumento en el recambio de dopamina: uno rápido, que refleja un proceso presináptico regulatorio contra un decremento inicial de la liberación de dopamina, (que se manifiesta conductualmente como inmovilidad) y otro más lento debido a una activación de las neuronas dopaminérgicas nigro-estriadas a través de los receptores opiáceos localizados en las terminales nerviosas gabaérgicas de la substancia nigra (Havemann et

al., 1980).

Ahora bien, ¿cómo explicar la rigidez muscular producida después de inyectar morfina y encefalina en el estriado?, Havemann y col. (1980) encontraron que en el momento en que la rigidez (actividad EMG registrada en el músculo gastroquémus soleus ipsilateral) alcanza su máxima expresión, el recambio de dopamina (medida por la concentración de DOPAC) no se encuentra disminuida, por el contrario, hay una elevación de ésta. Ellos proponen que la rigidez es inducida por receptores opioides localizados en los cuerpos celulares de neuronas gabaérgicas en el núcleo caudado, y esta suposición se apoya en la observación de que los opiáceos decrementan el recambio de GABA en el núcleo caudado (Moroni et al., 1979). La manera en que la inhibición de las neuronas gabaérgicas puede mediar la rigidez y catalepsia producidas ha sido estudiada por algunos investigadores. Moroni y col. (1978) sugieren que esta inhibición puede ser el resultado de una activación de una segunda serie de neuronas gabaérgicas, con las cuales hacen sinapsis las primeras. Puesto que GABA es un transmisor inhibitorio la inhibición de las neuronas eferentes del globo pálido resultaría en catalepsia. Por otra parte, DiChiara y Gessa (1979) sugieren que la activación de las neuronas en la substancia nigra, pars reticulata, son responsables de la catalepsia, y que las neuronas gabaérgicas estriado-nigrales inhiben estas neuronas eferentes en la substancia nigra. La inhibición de las neuronas gabaérgicas estriadonigrales resultaría entonces en una activación de las neuronas eferentes nigrales, provocando catalepsia.

En el siguiente esquema se ilustra la probable localización de los receptores opioides en el sistema estriado nigral y las posibles vías responsables de la catalepsia (Tomado de Haveman et al., 1980).



solos, no cambiaron los niveles de GABA. Por lo que parece improbable que los efectos de apomorfina fueran mediados a través de una acción directa en el catabolismo de GABA. Sino que es probable que la acción de la apomorfina fuese mediada a través del incremento en la actividad del receptor de dopamina, ya que el incremento en el recambio de GABA inducido por apomorfina fue bloqueado por el tratamiento previo con pimizide (Pérez de la Mora et al, 1975). Otros reportes que indican una reducción de niveles de GABA después del tratamiento con haloperidol apoyan la existencia de la posible interacción entre las neuronas gabaérgicas y dopaminérgicas (Collins, 1973; Kim y Hassler, 1975).

Por otra parte, como ya se ha dicho, experimentos neurofarmacológicos han atribuido al núcleo accumbens y a sus aferentes dopaminérgicas mesencefálicas el papel en la iniciación de la locomoción. Inyecciones de dopamina, o de su precursor L-DOPA, en el núcleo accumbens aumentan la actividad motora. También se ha observado un aumento en la actividad motora después de inyectar picrotoxina (antagonista del receptor de GABA) en el área ventral tegmental (Mogenson et al, 1979; Mogenson et al, 1980). Puesto que microiontoforesis de picrotoxina aumenta el disparo de las neuronas dopaminérgicas en el área ventral tegmental (Yim y Mogenson, 1979), supuestamente al bloquear la sinapsis gabaérgica inhibitoria, se ha sugerido que estas neuronas desinhibidas liberan más dopamina de sus terminales axónicas en el núcleo accumbens. Experimentos similares han dado evidencias de que hay una proyección gabaérgica del núcleo accumbens al globo pálido y han implicado esta proyección en la iniciación de la actividad locomotora (Jones y Mogenson, 1980; Pycock y Norton, 1976 b). Se ha visto que inyecciones de picrotoxina en el globo pálido incrementan la actividad motora, mientras que inyecciones de GABA en el globo pálido disminuyen la locomoción iniciada por inyecciones de dopamina en el núcleo accumbens (Jones y Mogenson, 1980). Así mismo, se ha visto que la actividad locomotora iniciada por inyecciones de picrotoxina en el área ventral tegmental es disminuida después de inyectar GABA en el globo pálido (Mogenson et al, 1980). Esto nos sugiere que las proyecciones dopaminérgicas del área ventral tegmental-núcleo accumbens y las proyecciones gabaérgicas del núcleo accumbens-globo pálido funcionan juntas en la iniciación de las respuestas locomotoras.

### CAPITULO 3

#### RELEVANCIA CLINICA DE LAS ENCEFALINAS

Existe un consenso general que supone que la esquizofrenia tiene su raíz en una compleja interacción entre el funcionamiento de algunos neurotransmisores cerebrales y el medio psicosociocultural del individuo. Aunque es un tema un tanto desconocido, desde hace algunas décadas se ha hecho un gran esfuerzo por conocer el componente biológico de la esquizofrenia. La primera hipótesis para explicar la esquizofrenia fue propuesta por Carlsson y Lindqvist's (1963), quienes proponían como un factor crítico en le desarrollo de la esquizofrenia el aumento en la actividad dopaminérgica cerebral.

En efecto, observaciones clínicas han confirmado que las drogas que activan la dopamina en el cerebro producen conductas psicóticas en voluntarios normales y en pacientes esquizofrénicos (Garbutt y Van Kammen, 1983). Así mismo, se ha demostrado que las tradicionales drogas antiesquizofrénicas bloquean los receptores de dopamina en el cerebro (Creese et al, 1976). Empero, esta hipótesis tiene sus debilidades. Una de ellas es que en pacientes psicóticos, aún bloqueando los receptores de dopamina con neurolepticos no siempre se aminoran los síntomas. 95% de pacientes esquizofrénicos muestran alguna respuesta al tratamiento neuroleptico inicial, mientras que sólo 50% parece tener moderada o excelente respuesta (Cole, 1964). Sin embargo, 30% de los pacientes tienen recaídas después de un año de tratamiento (Davis, 1975) y muchos pacientes cuyos síntomas psicóticos han disminuido, empero, permanecen severamente disturbados. Además, se ha visto que la administración de D-anfetamina no empeora consistentemente los síntomas esquizofrénicos (Van Kammen et al, 1982).

Estos y otros hallazgos condujeron a la búsqueda de nuevos componentes de la patofisiología de la esquizofrenia. En 1972 Roberts planteó la hipótesis que niveles bajos de GABA en el cerebro, podrían conducir a un estado de desinhibición que, en consecuencia, produciría los síntomas

## RELEVANCIA CLINICA DE LAS ENCEFALINAS

vistos en la esquizofrenia. Los estudios clínicos y fisiológicos que se han realizado al respecto son un tanto contradictorios. Por ejemplo, se ha reportado que hay deficiencia de GABA en el tálamo y en el núcleo accumbens de cerebros de esquizofrénicos (Perry et al., 1979) y un agonista de GABA (baclofen) es eficaz como antipsicótico (Frederiksen, 1975; Schopf y Hucker, 1977). Sin embargo, otros estudios no confirman este efecto terapéutico del baclofen. De 103 pacientes esquizofrénicos, solo 27 mejoraron, 36 empeoraron y el resto continuó en las mismas condiciones (Davis et al., 1976; Gulman et al., 1976; Beckmann et al., 1977; Bigelow et al., 1977; Schopf y Hucker, 1977; Simpson et al., 1978).

Otros estudios han hecho varios intentos por medir la cantidad de GABA en el líquido cerebro-espinal de esquizofrénicos y los resultados han sido inconsistentes. Los estudios de Kammen y col. (1980) sugieren que hay una disminución de GABA en el líquido cerebro-espinal durante la fase temprana de la esquizofrenia y un aumento conforme avanza la enfermedad. Su estudio es apoyado por el de McCartly y col. (1981), pero no es consistente con el de Hare y col. (1980) quienes reportaron no encontrar diferencias entre 11 pacientes esquizofrénicos y 29 sujetos normales. Para poder entender estas inconsistencias es importante considerar y controlar algunas variables que afectan los resultados en la medición de GABA y sus efectos conductuales, tales como: duración de la enfermedad, edad, género y diagnóstico, así como localización anatómica donde se inyecte la droga, duración de la acción y dosis empleada.

En la búsqueda por resolver este complejo problema, y a raíz del descubrimiento de las endorfinas, los investigadores han intentado encontrar una relación entre éstas y los desordenes psicopatológicos, en particular la esquizofrenia. En general los hallazgos encontrados nos hacen suponer que existe un mal funcionamiento del sistema endorfinérgico debido probablemente a un exceso de actividad. Se ha encontrado, por ejemplo, que un gran número de pacientes esquizofrénicos tiene aumentado el nivel de endorfinas en el líquido cerebro espinal (Lindstrom et al., 1978; Rimón et al., 1980; Terenius et al., 1976), en particular los pacientes esquizofrénicos agudos tuvieron un marcado aumento, mientras que los esquizofrénicos crónicos, solo tuvieron un nivel por encima del normal. El tratamiento con neurolépticos disminuyó significativamente el nivel de endorfinas en esquizofrénicos agudos. Cabe hacer notar que esta actividad anormal de los opiáceos no es exclusiva de los esquizofrénicos, ya que también se ha encontrado un aumento de nivel de endorfina en la psicosis maniaco depresiva, particularmente en su fase maniaca (Lindstrom et al., 1978; Terenius et al., 1976; Naber et

## RELEVANCIA CLINICA DE LAS ENCEFALINAS

al., 1981).

El primer estudio en el que se administró naloxona a pacientes esquizofrénicos fue hecho por Gunne, Lindstrom y Terenius (1977). En él se encontró que una simple dosis intravenosa de 0.4 mg de naloxona redujo los síntomas psicóticos, particularmente las alucinaciones auditivas, en 4 de 6 pacientes esquizofrénicos crónicos. Este estudio fue seguido al menos por 15 más, en los que un total de 200 esquizofrénicos fueron tratados con una sola inyección intravenosa de naloxona (0.4 a 20 mg), o recibieron tratamiento oral con naltrexona (50-80 mg diariamente) durante 1 a 3 semanas (Terenius, 1978; Davis et al., 1979). Se encontró que hubo una reducción de síntomas psicóticos, en particular de alucinaciones auditivas, que duró hasta 7 horas después de la inyección en un 30% de los pacientes. Así podemos decir que el bloqueo de receptores opiáceos está asociado con un decremento en alucinaciones auditivas en un subgrupo de pacientes esquizofrénicos sensibles a la naloxona.

Algunos estudios farmacológicos revelan que altas dosis de  $\beta$ -endorfina causan rigidez muscular e inmovilidad similar a los síntomas de la esquizofrenia catatónica, y tales efectos pueden ser bloqueados por naloxona (Smee y Overstreet, 1976). De igual manera opiáceos agonistas parciales (como ciclazocina y nalorfina) inducen síntomas parecidos a la esquizofrenia, como alucinaciones y desrealización, en pacientes no psicóticos (Haertzen, 1970), y estos efectos pueden ser antagonizados por naloxona (Jasinski et al., 1967). También se ha encontrado que la metadona, opiáceo agonista, empeora los síntomas esquizofrénicos (Judd et al., 1981).

Recientemente, Van Ree y De Wied (1981), propusieron una hipótesis sobre la etiología de la esquizofrenia basada en lo siguiente: en condiciones normales la  $\beta$ -endorfina es convertida por el tejido cerebral en  $\gamma$ -endorfina y subsecuentemente en des-tyr- $\gamma$ -endorfina (DT $\gamma$ E) o en  $\alpha$ -endorfina y des-tyr- $\alpha$ -endorfina (DT $\alpha$ E), dependiendo de la actividad de diferentes enzimas (B). Deficiencia en  $\alpha$ -endorfina puede ser causada por diferentes mecanismos y puede conducir a una perturbación en la homeostasis de la  $\beta$ -endorfina. Suponiendo que la generación de  $\gamma$ -endorfina o uno de sus fragmentos sea el marcador límite para la neurotransmisión de  $\beta$ -endorfina, un nivel disminuido de  $\gamma$ -endorfina podría resultar en una excesiva producción de  $\beta$ -endorfina. Grandes cantidades de esta endorfina en e síntomas catatónicos. Un exceso de  $\alpha$ -endorfina podría relacionarse con la esquizofrenia paranoide, puesto que estos péptidos inducen efectos en animales que son en

## RELEVANCIA CLINICA DE LAS ENCEFALINAS

algunos aspectos comparables a los producidos por anfetamina (Van Ree et al., 1980). Esta amina puede desencadenar y exagerar la esquizofrenia paranoide (Meltzer y Stahl, 1976).

En resumen, de Wied propone que el balance entre  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  endorfina es fisiológicamente importante para la función cerebral y un desbalance puede ocasionar la psicopatología de la esquizofrenia.

Posteriormente, el mismo autor intenta dar un enfoque más amplio y completo a su hipótesis y la relaciona con la antigua hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia. Esta nueva hipótesis propone que las endorfinas  $\gamma$  actúan como moduladoras en la liberación de dopamina cerebral. Como ya hemos dicho, se supone que la esquizofrenia está asociada con un incremento de la actividad dopaminérgica en estructuras cerebrales específicas, como el núcleo accumbens (Meltzer y Stahl, 1976; Crow, 1979). Recientemente se ha visto que la  $\gamma$ -endorfina interviene con el sistema dopaminérgico en el núcleo accumbens mediando la hipomotilidad. Este sistema puede estar localizado presinápticamente en neuronas dopaminérgicas (Van Ree y Wolterink, 1981). De hecho, el tratamiento crónico con des-encefalin- $\gamma$ -endorfina (DEYE) inyectado en el núcleo accumbens conduce a hipoactividad y el tratamiento crónico con antisuero de  $\gamma$  endorfina a hiperactividad. Así, las  $\gamma$ -endorfinas que están presentes en este núcleo (Dorsa et al., 1981) pueden modular la actividad de cierto sistema dopaminérgico en esta región. Una deficiencia de  $\gamma$ -endorfina puede resultar en una liberación sostenida de dopamina en las neuronas equipadas con sistemas receptores dopaminérgicos sensitivos a endorfinas tipo  $\gamma$ , y en consecuencia se presentarían los síntomas esquizofrénicos.

## CAPITULO 4

### TRABAJO DE INVESTIGACION

#### 4.1 PLANTEAMIENTO E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA

##### 4.1.1 Planteamiento

Como ya hemos visto existen algunos datos que indican la involucración de los opiáceos en el control de la motilidad. Por ejemplo, la morfina y la encefalina, después de tener inicialmente un efecto depresivo, estimulan la actividad motora y la conducta de exploración de la rata (Harston et al., 1980), mientras que la naloxona inhibe estas actividades (Amir et al., 1981; Walker et al., 1981). Lo que es más, una inyección directa de DALA en el área ventral tegmental o en el núcleo accumbens provoca un incremento de la actividad motora, dependiendo éste de la dosis empleada (Pert y Sivit, 1977). Estos efectos estimulantes son antagonizados por naloxona, lo cual sugiere una acción al nivel del receptor opiáceo. El área ventral tegmental contiene los cuerpos celulares del sistema mesolímbico dopaminérgico, y las terminales axónicas del núcleo accumbens pertenecen a este mismo sistema. Esto nos podría hacer suponer que los efectos estimulantes de la motilidad causados por la encefalina se deben a una facilitación de la neurotransmisión dopaminérgica. En efecto, se ha descubierto que la morfina incrementa el recambio de dopamina en los sistemas nigroestriado y mesolímbico (Alper et al., 1980), e incrementa el disparo de las neuronas en los pars compacta de la sustancia nigra y en el área ventral tegmental (Nowycky et al., 1978).

Sin embargo, también se ha dicho que los opiáceos ejercen generalmente una acción inhibitoria, excepto en las células de Renshaw de médula espinal y en las células piramidales del hipocampo (North, 1979). En el hipocampo, el efecto estimulante de la encefalina es causado aparentemente por la inhibición de interneuronas inhibitorias, probablemente gabaérgicas (Dunwiddie et al., 1980 Lee et al., 1980) y se ha sugerido que esta acción

## TRABAJO DE INVESTIGACION

podría ser uno de los efectos más importantes de los opiáceos in vivo (Nicoll et al., 1980). Ciertamente, se ha demostrado que la metionina encefalina reduce la liberación de GABA en los sinaptosomas del cerebro de la rata (Brennan et al, 1980) y que los opiáceos disminuyen el recambio de GABA en el estriado (Moroni et al., 1978; Moroni et al., 1979). Finalmente, se ha sugerido que los receptores opiáceos en los cuerpos celulares GABAérgicos del estriado son responsables de la rigidez observada después de inyectar morfina o encefalina (Havemann et al., 1980).

Ahora bien, el sistema dopaminérgico nigroestriado está bajo el control del sistema gabaérgico estriadonigral, y hay muchas razones para creer que las neuronas dopaminérgicas del sistema mesolímbico están también bajo el control inhibitorio gabaérgico (Arnt y Scheel-Kruger, 1979; Bartholini et al., 1981; Pycock y Norton, 1976 a). Así, podríamos decir que el efecto estimulante en la conducta motora de las encefalinas podría deberse a una inhibición de las neuronas gabaérgicas, mientras que los efectos inhibitorios del naloxona podrían deberse a una desinhibición de estas mismas neuronas.

En este trabajo se investigó la posible interacción entre la encefalina y la dopamina, y su manifestación en la conducta motora de la rata, para lo cual se estimuló y bloqueó la neurotransmisión dopaminérgica. Al intentar relacionar la encefalina y la dopamina se supone que se está considerando indirectamente a GABA, es decir, basándonos en el ya conocido sistema de retroalimentación entre estos dos neurotransmisores, al aumentar la actividad dopaminérgica excitatoria se aumentaría también la gabaérgica inhibitoria, y al disminuirla se disminuiría también esta última.

### 4.1.2 Importancia

Como ya se ha dicho, una de las hipótesis bioquímicas más aceptadas que explican la esquizofrenia, es la que sostiene que existe una actividad excesiva de las neuronas dopaminérgicas del sistema límbico que provoca las manifestaciones de esta enfermedad. Se ha discutido mucho si esta hiperactividad es debida a una deficiencia de neuronas inhibitorias gabaérgicas, y aunque los resultados parecen ser inconsistentes hay un acuerdo en que de alguna forma GABA se encuentra alterada. Por otra parte, hemos visto que algunos casos de esquizofrenia se asocian con niveles elevados de endorfina en el líquido cerebro-espinal (Lindstrom et al., 1978) y que tienden a disminuir con el tratamiento de neurolépticos (Rimón et al., 1980), que como sabemos actúan inhibiendo la dopamina. Además, la naloxona

## TRABAJO DE INVESTIGACION

es capaz de reducir las alucinaciones de esquizofrénicos (Gunne et al., 1977). Es posible suponer que la encefalina modula la actividad inhibitoria gabaérgica sobre la dopaminérgica y que en la esquizofrenia podría existir una falla en esta modulación, provocando una alteración en todo el mecanismo.

Sería muy ambicioso pensar que con los resultados obtenidos de esta investigación, se pudiera aclarar el complejo problema de la esquizofrenia. Sin embargo, estos datos pueden servir de guía para futuras investigaciones que en conjunto arrojarían mayores evidencias para la solución de este enigma.

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.2 METODO

#### 4.2.1 Sujetos

Se utilizaron un total de 77 ratas macho de la cepa Wistar (350-450 gr.) de una colonia local para todos los experimentos. Los animales fueron mantenidos bajo un ciclo artificial de 12 horas luz/obscuridad y con libre acceso a agua y comida. Del número total de ratas, 36 fueron implantadas y el resto permanecieron intactas. Los animales fueron escogidos al azar.

#### 4.2.2 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental de cuadro latino para administrar las drogas o las combinaciones de éstas, de tal manera que todos los sujetos recibieron todas las dosis de una droga dada o fueron usados como su propio control. El intervalo entre los tratamientos de drogas fue de 48 horas cuando se inyectó DALA únicamente y de 7 días para todos los demás tratamientos. Estos intervalos, supuestamente, son lo suficientemente largos para evitar el desarrollo de tolerancia o de efectos residuales de tratamientos previos. Ningún animal fue tratado con más de una droga o combinación de drogas.

Para entender mejor la manera en que se administraron las drogas, en las siguientes tres páginas se ilustran una serie de tablas, que constituyen cuadros latinos. Los primeros cuatro cuadros se refieren a las ratas implantadas, y los siguientes a las intactas.

ADMINISTRACION DE DALA SOLA

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>	<u>SESION III</u>	<u>SESION IV</u>
1,2	SALINA	DALA 40 $\mu$ g	DALA 20 $\mu$ g	DALA 10 $\mu$ g
3,4	DALA 10 $\mu$ g	SALINA	DALA 40 $\mu$ g	DALA 20 $\mu$ g
5,6	DALA 20 $\mu$ g	DALA 10 $\mu$ g	SALINA	DALA 40 $\mu$ g
7-9	DALA 40 $\mu$ g	DALA 20 $\mu$ g	DALA 10 $\mu$ g	SALINA

ADMINISTRACION DE DALA + ANFETAMINA

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>
10-13	SALINA + ANFET 1.5mg/kg	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg
14-18	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg	SALINA + ANFET 1.5mg/kg

ADMINISTRACION DE DALA + ANFETAMINA + NALOXONA

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>
19-22	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg + SALINA	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg + NLX 0.8mg/kg
23-27	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg + NLX 0.8mg/kg	DALA 20 $\mu$ g + ANFET 1.5mg/kg + SALINA

ADMINISTRACION DE DALA + PIMOZIDE

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>
28-31	SALINA + PIMOZIDE 0.5 mg/kg	DALA 20 µg + PIMOZIDE 0.5 mg/kg
32-36	DALA 20µg + PIMOZIDE 0.5 mg/kg	SALINA + PIMOZIDE 0.5 mg/kg

ADMINISTRACION DE ANFETAMINA SOLA

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>	<u>SESION III</u>	<u>SESION IV</u>
37-39	SALINA	ANFET 3.0 mg/kg	ANFET 1.5 mg/kg	ANFET 0.75mg/kg
40-42	ANFET 0.75mg/kg	SALINA	ANFET 3.0 mg/kg	ANFET 1.5 mg/kg
43-46	ANFET 1.5 mg/kg	ANFET 0.75mg/kg	SALINA	ANFET 3.0 mg/kg
47-50	ANFET 3.0 mg/kg	ANFET 1.5 mg/kg	ANFET 0.75mg/kg	SALINA

ADMINISTRACION DE ANFETAMINA + NALOXONA

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>	<u>SESION III</u>
51-55	ANFET 1.5mg/kg + SALINA	ANFET 1.5mg/kg + NLX 3.2mg/kg	ANFET 1.5 +NLX 0.8mg/kg
56-60	ANFET 1.5mg/kg + NLX 0.8mg/kg	ANFET 1.5mg/kg + SALINA	ANFET 1.5+ NLX 0.8mg/kg
61-65	ANFET 1.5mg/kg + NLX 3.2mg/kg	ANFET 1.5mg/kg +NLX 0.8mg/kg	ANFET 1.5 + SALINA

ADMINISTRACION DE PIMOZIDE SOLO

<u>RATA</u>	<u>SESION I</u>	<u>SESION II</u>	<u>SESION III</u>	<u>SESION IV</u>
66-68	SALINA	PIM 1.5 mg/kg	PIM 0.5 mg/kg	PIM 0.25mg/kg
69-71	PIM 0.25mg/kg	SALINA	PIM 1.5 mg/kg	PIM 0.5 mg/kg
72-74	PIM 0.5 mg/kg	PIM 0.25mg/kg	SALINA	PIM 1.0 mg/kg
75-77	PIM 1.0 mg/kg	PIM 0.5 mg/kg	PIM 0.25mg/kg	SALINA

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.2.3 Procedimiento

#### Operación Quirúrgica

Las ratas a las que se inyectó DALA fueron implantadas estereotáxicamente con una cánula guía de número 21 gauge en el ventrículo cerebral izquierdo. Las coordenadas fueron: 0.1 mm anterior a bregma, 1 mm lateral a la línea media y 4.5 mm debajo de dura madre. La cabeza se sostuvo de manera que la lamnda quedó 1 mm más abajo que bregma. Fueron anestesiadas con pentobarbital (50 mg/kg) y con ether cuando fue necesario. Después de la operación los animales tuvieron un período de recuperación de 5 días. En el momento del sacrificio se verificó la correcta implantación de la cánula, utilizando una inyección de 5  $\mu$ l de azul de metileno. Posteriormente se extrajo el cerebro, se cortó y examinó bajo un microscópio de disección.

#### Observación Conductual

A groso modo, los animales fueron observados en sus cajas de acrílico durante 15 minutos después de la inyección icv. Se registraron los siguientes cambios conductuales: Inmovilidad (ausencia completa de movimiento por más de 60 segundos consecutivamente), sacudidas de perro (sacudidas rápidas de la cabeza, miembros anteriores, torax y abdomen superior).

La actividad motora se midió utilizando una caja de acero cilíndrica (24 pulgadas de diámetro y 15 de altura) equipada con 6 fotoceldas cubiertas por filtros infrarrojos, situadas 2.5 cm. arriba del piso de rejillas. La actividad de la rata se reflejó como interrupciones del rayo, y se registró por medio de un contador colocado fuera del cuarto de observación. Después de la operación y antes del tratamiento, los animales fueron habituados al aparato durante 3 sesiones de 10 minutos cada una. Para entonces, su actividad había alcanzado un nivel estable. Durante los experimentos los animales fueron observados por un período de 10 minutos, en los casos en que no se inyectó DALA, o 30 minutos cuando se inyectó DALA. En el último caso la actividad fué registrada cada 10 minutos. Los animales fueron observados uno por uno. Todos los experimentos se realizaron entre la segunda y sexta horas del período de oscuridad.

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.2.4 Drogas

Se utilizaron las siguientes sustancias:

Acetato de D-ala<sup>2</sup>-met<sup>5</sup>-encefalinamida (SIGMA chemical Co., St. Louis, Mi.) se disolvió en suero fisiológico inmediatamente antes de usarse, y se inyectó icv en un volumen de 5 µl durante 60 seg. La punta de la cánula de inyección quedó 0.3 mm aproximadamente más larga que la cánula guía. La primera permaneció durante 60 seg después de la inyección, y luego fue reemplazada por una cánula falsa (tapón). Durante la inyección los animales fueron detenidos manualmente. La droga se administró 60 minutos antes del período de observación.

Sulfato de Dl-anfetamina (SSA, México) se disolvió en suero fisiológico y se inyectó subcutáneamente (sc) en un volumen de 1 ml/kg, 40 minutos antes del período de observación. Como ya se ha dicho, el efecto de esta droga es el de inhibir la recaptura de dopamina y provocar la liberación de dicho neurotransmisor.

HCL Naloxona (Endo, Garden City, New York y Endo de México, Méx. D.F.) se disolvió en suero fisiológico y se inyectó ip en un volumen de 1 ml/kg, 15 minutos antes del período de observación. Como se dijo anteriormente, esta droga es un antagonista de los opioides.

Pimozide (Janssen de México, Mex. D. F.) se disolvió en unas gotas de ácido acético glacial y luego se diluyó en suero fisiológico caliente a una concentración adecuada. El PH se ajustó a 5.5 aproximadamente con 1 M NaCl antes de la inyección. Esta droga se inyectó en un volumen de 5 ml/kg, 60 minutos antes del período de observación. Como ya se mencionó, esta sustancia bloquea el receptor dopaminérgico.

### 4.2.5 Análisis Estadístico.

Se utilizó un análisis de varianza para medidas repetidas, seguida de una prueba de rango múltiple de Duncan para comparaciones entre grupos en experimentos con más de dos tratamientos. Se usó una prueba T para evaluar los experimentos con 2 tratamientos. En este último caso, los niveles de significancia dados son para pruebas de 2 colas.

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1 Efectos De DALA Sola

La actividad motora observada entre los 60 y 90 minutos después de la inyección icv de DALA, 10, 20 o 40 $\mu$ g no fue significativamente diferente de la observada con animales inyectados con NaCl (fig 1). Con la dosis más alta, 7 de los 9 animales mostraron inmovilidad durante los 15 minutos posteriores a la inyección, y 5 de los animales mostraron intensas sacudidas de perro. Con la dosis de 20 $\mu$ g, 6 de los 9 animales inyectados exhibieron inmovilidad y 8 de ellos sacudidas de perro. De los 9 animales inyectados con 10 $\mu$ g, uno mostró sacudida de perro, pero ninguno de ellos inmovilidad. Se decidió usar para los siguientes experimentos la dosis de 20 $\mu$ g, puesto que fue la dosis más baja que indujo claros cambios conductuales.

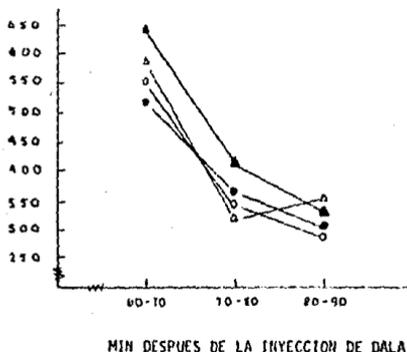


FIGURA 1. Efectos de DALA sobre la actividad locomotora. Círculos blancos, solución salina; círculos negros, DALA 10 $\mu$ g; triángulos blancos, DALA 20 $\mu$ g; triángulos negros, DALA 40 $\mu$ g. N=9. ANOVA reveló no diferencias entre grupos, ni tampoco interacciones grupo-tiempo.

#### 4.3.2 Efectos De DALA Combinada Con Anfetamina.

En la tabla 1 se muestran los efectos de diferentes dosis de dl-anfetamina sobre la locomoción. Se puede ver que una dosis de 1.5 mg/kg causa una estimulación

## TRABAJO DE INVESTIGACION

intermedia. Esta dosis se usó en todos los experimentos posteriores.

TABLA 1

ACTIVIDAD LOCOMOTORA DESPUES DEL TRATAMIENTO CON  
ANFETAMINA SOLA O ANFETAMINA COMBINADA CON NALOXONA

Tratamiento (mg/kg)	Conteo/10 min (media $\pm$ ES)	N
Salina	611 $\pm$ 78	14
Anfetamina 0.75	812 $\pm$ 128*	14
Anfetamina 1.5	983 $\pm$ 106**	14
Anfetamina 3.0	1070 $\pm$ 121**	14
Anfetamina 1.5 + NaCl	753 $\pm$ 64	15
Anfetamina 1.5 + Naloxona 0.8	694 $\pm$ 67	15
Anfetamina 1.5 + Naloxona 3.2	635 $\pm$ 66	15

Los animales se observaron durante 10 min.

\*Diferente de salina ( $p < 0.05$ , DMRT).

\*\*Diferente de salina ( $p < 0.001$ , DMRT).

Dala + D1-anfetamina causó significativamente una mayor estimulación de la locomoción que la debida a NaCl + anfetamina. Esto se aplica al total del período de actividad de la rata, esto es, del minuto 60 al 90 posterior a la inyección de DALA. También se sostuvo durante el minuto 70-80 y 80-90 posterior a la inyección. Sin embargo, durante los primeros 10 minutos del período de observación no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (fig 2).

## TRABAJO DE INVESTIGACION

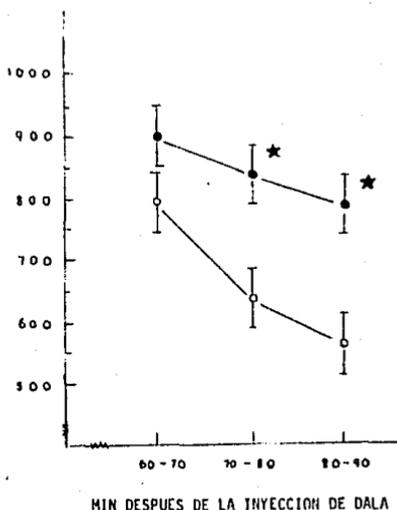


FIGURA 2. Efectos de DALA (20mg) combinados con anfetamina (1.5 mg/kg) sobre la actividad locomotora. Círculos blancos, solución salina ICV + anfetamina IP; círculos negros, DALA ICV + anfetamina IP. N=9. \*Significativamente diferente de salina + anfetamina ( $p < 0.05$ , prueba t).

Se intentó inhibir el efecto de DALA con una dosis baja de naloxona. Debido a que la naloxona, por sí misma, puede reducir la actividad locomotora e inhibir los efectos de la anfetamina, se estudiaron los efectos de la naloxona en una dosis subefectiva después de inyecciones de DALA + anfetamina.

De la tabla 1 se puede ver que una dosis de 0.8 mg/kg de naloxona tiene sólo un efecto muy pequeño en la locomoción, mientras que una dosis de 3.2 mg/kg produce una reducción de significancia estadística.

En un experimento por separado, 9 ratas fueron inyectadas con DALA + dl-anfetamina + NaCl o DALA + dl-anfetamina + naloxona 0.8 mg/kg. Se encontró que la naloxona redujo la actividad durante los primeros 10 minutos del período de observación. Tanto el período total de

## TRABAJO DE INVESTIGACION

observación como el de 70-80 y 80-90 minutos posteriores a la inyección no fueron afectados por naloxona (fig 3)

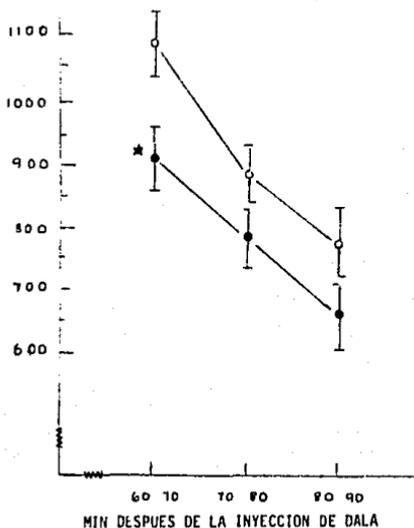


FIGURA 3. Efectos de DALA (20mg) + anfetamina (1.5 mg/kg) después de la administración de naloxona 0.8 mg/kg. Círculos blancos, DALA + anfetamina + solución salina; círculos negros, DALA + anfetamina + naloxona. N=9. \*Significativamente diferente de DALA + anfetamina + sol. salina ( $p < 0.05$ , prueba t).

### 4.3.3 Efectos De DALA Combinados Con Pimozide

En la tabla 2 se muestran los efectos de diferentes dosis de pimozide en la locomoción. Una dosis de 0.5 mg/kg se consideró la adecuada para los siguientes experimentos.

TABLA 2

ACTIVIDAD LOCOMOTORA DESPUES DEL TRATAMIENTO CON  
PIMOZIDE

Tratamiento (mg/kg)	Conteo/10 min. (media $\pm$ ES)
Salina	486 $\pm$ 31
Pimozide 0.25	481 $\pm$ 37
Pimozide 0.5	379 $\pm$ 40*
Pimozide 1.0	267 $\pm$ 29**

Los animales se observaron durante 10 min.

\*Diferente de salina ( $p < 0.01$ , DMRT).

\*\*Diferente de salina ( $p < 0.001$ , DMRT).

DALA 20  $\mu$ g inyectada inmediatamente antes del pimozide no tuvo efecto en la motilidad observada en el periodo de 60-90 minutos después de la inyección (fig 4).

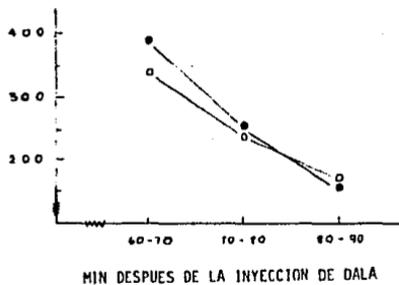


FIGURA 4. Efectos de DALA (20 $\mu$ g) combinados con pimozide (0.5 mg/kg) sobre la actividad locomotora.  
Círculos blancos, solución salina ICV + pimozide IP;  
círculos negros, DALA ICV + pimozide IP. N=9.

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.4 DISCUSION Y CONCLUSIONES

En contraste con experimentos anteriores (Brady y Holtzman, 1981; Harston et al., 1980), se encontró que DALA sola no tuvo efecto sobre la motilidad comparada con los animales que no recibieron tratamiento. Esto puede deberse a diferencias en el procedimiento experimental. Por ejemplo, en otros estudios los experimentos se realizaron durante la fase de luz del ciclo de luz/obscuridad. Es bien conocido que la rata presenta un ritmo circadiano de actividad, con un mínimo durante las primeras horas del período de luz y un máximo durante las primeras horas del período de obscuridad (Spiteri, 1982). La concentración de encefalina en el cerebro aparentemente muestra una variación circadiana similar, con un mínimo al principio del período de luz y un máximo al principio del período de obscuridad (Antón y Bayón, 1983). Es posible que la encefalina exógena estimula la actividad al ser administrada cuando la actividad espontánea así como el contenido cerebral de encefalina son mínimos. En el presente estudio, sin embargo, los experimentos se realizan durante las primeras horas del período de obscuridad, cuando la actividad espontánea así como el contenido de encefalina son máximos. La observación de que el efecto hiperalgésico de la naloxona es máximo en el momento en que la sensibilidad al dolor es mínima (avanzada la tarde) (Frederickson et al., 1977), es un ejemplo de drogas que actúan en receptores opiáceos y que dependen del tiempo de administración de la droga. Sin embargo, cabe hacer notar que en otro estudio Kalivas (1983) también encontró que la inyección de DALA en ventrículo lateral no tuvo efecto sobre la conducta motora, aun cuando sus experimentos se realizaron durante la fase de luz. Este hecho podría deberse también al sistema de retroalimentación entre dopamina y GABA, esto es, al inyectar encefalina habría una facilitación de la neurotransmisión dopaminérgica y en tal caso se esperaría que incrementara la conducta motora, pero al estar las neuronas dopaminérgicas bajo el control de las gabaérgicas habría entonces una inhibición de éstas y por tanto se anularía el efecto en la locomoción.

Se conoce que algunas sustancias son capaces de inducir sacudidas de perro en las ratas (Drust y Connor, 1983), entre estas sustancias se encuentran las encefalinas. Dichas sacudidas provocadas por encefalina son inhibidas por naloxona, lo cual nos hace suponer que los receptores opioides están involucrados en la acción de esta sustancia. Para dosis de encefalina dentro del rango de 5 a 40µg no existe una relación directa dosis-efecto (Cowan y Tortella, 1982). Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio. Sin embargo, no fue posible determinar si las sacudidas podrían ser inhibidas por naloxona, ya que la droga se inyectó cuando éstas habían

## TRABAJO DE INVESTIGACION

desaparecido espontáneamente.

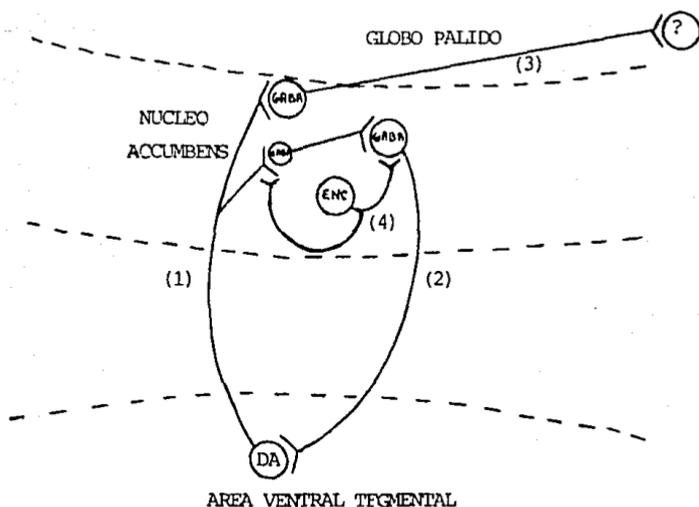
Cuando la neurotransmisión dopaminérgica fue estimulada por anfetamina, la administración conjunta de DALA demostró un claro efecto estimulante sobre la motilidad, en cambio, después del bloqueo de los receptores de dopamina con pimozide, DALA no tuvo efectos en la motilidad. Estos datos muestran que DALA no puede ser un agonista de dopamina, por que en ese caso debería haber estimulado la motilidad en ausencia de la anfetamina y reducido los efectos del pimozide. Tampoco DALA puede ser un antagonista de dopamina, porque entonces debería haber reducido los efectos de la anfetamina y reforzado los efectos del pimozide e inhibido la motilidad cuando se inyectó sola. Existen también datos bioquímicos mostrando que los agonistas opiáceos biológicamente activos no se unen a receptores de dopamina, excepto en concentraciones muy altas (Carlson y Segeer, 1984).

Se ha visto recientemente que los efectos inhibitorios de la naloxona sobre la motilidad pueden ser bloqueados por los antagonistas de GABA: biculina y picrotoxina y se ha sugerido que naloxona actúa desinhibiendo las neuronas gabaérgicas (Agmo y Tarasco, 1984). Si este fuera el caso, las encefalinas inhibirían la neurotransmisión gabaérgica, como ya se ha sugerido en algunos reportes (Nicoll et al., 1980). Es bien conocido que las neuronas dopaminérgicas en el estriado y áreas del límbico están bajo el control del sistema gabaérgico (Bartholini et al., 1981) y que la actividad de las neuronas gabaérgicas depende de la actividad dopaminérgica, de tal manera que un aumento en la última está asociado con un aumento de la actividad gabaérgica inhibitoria, al menos en algunas áreas cerebrales (Gale y Casu, 1981). Así, la administración de anfetamina incrementaría la actividad gabaérgica por un mecanismo de retroalimentación, y ese incremento sería bloqueado por la administración de DALA, quedando las neuronas dopaminérgicas libres de las influencias gabaérgicas inhibitorias.

Por otra parte, cuando se inyecta pimozide junto con DALA, DALA no tendría efecto, puesto que la inhibición de los receptores de dopamina inhibirían por sí mismos la actividad gabaérgica. De hecho, se ha demostrado que un tratamiento prolongado con un neuroléptico causa un incremento en los receptores GABA en sustancia nigra (Gale, 1980 a) supuestamente debido a una reducción sostenida en la actividad de las neuronas GABA.

Con el fin de clarificar esta posible interacción entre los neurotransmisores mencionados, a continuación se muestra el siguiente esquema.

TRABAJO DE INVESTIGACION



- (1) Proyección dopaminérgica AVT-NA (Sistema Mesolímbico).
- (2) Retroalimentación gabaérgica NA-AVT (Fuxe et al., 1975; Pycock y Norton, 1976 a).
- (3) Proyección gabaérgica NA-GP (Jones y Mogenson, 1980; Mogenson et al., 1979, Picock y Norton, 1976 b).
- (4) Interneurona encefalinérgica propuesta para explicar los resultados obtenidos en esta investigación. La existencia de receptores opioides en neuronas dopaminérgicas en el sistema mesolímbico ha sido propuesta por Pollard y col. (1977 a).

Podría ser arguido que DALA actúa como un antagonista del receptor de GABA. Sin embargo, al menos la Leu-enkefalina no tiene prácticamente ninguna actividad como inhibidora del receptor GABA, aún en concentraciones muy altas (Goldinger et al., 1981).

Finalmente podría decirse que DALA podría estar involucrada en el control de motilidad por sí sola, esto es, sin interactuar directamente con dopamina o GABA. Nuestros datos no apoyan tal posibilidad, pero esto no debería ser completamente descartado. Sin embargo, es más probable tratar de integrar las encefalinas con otros transmisores que sabemos que participan en el control de la motilidad.

## TRABAJO DE INVESTIGACION

Para atribuir un efecto de una droga a una acción en los receptores opiáceos usualmente se requiere que tal efecto sea inhibido con naloxona. La estimulación de la motilidad inducida por la inyección de DALA + anfetamina fue sólo parcialmente antagonizada. Esto puede ser debido a la dosis relativamente baja de naloxona que se empleó y al corto promedio de vida de la droga en vivo (0.4 hrs) (Misra et al., 1976). Desafortunadamente una dosis mayor de naloxona no se probó porque la naloxona por sí misma tiene efectos sobre la motilidad. Sin embargo, se ha disputado que aún un efecto antagonizado por naloxona no es una prueba suficiente de una acción a nivel del receptor opiáceo (Sawynock et al., 1979).

## TRABAJO DE INVESTIGACION

### 4.5 RECOMENDACIONES

Esta investigación se limitó al uso de drogas dopaminérgicas. En una línea de investigación más amplia sería conveniente utilizar drogas gabaérgicas, tanto agonistas como antagonistas, y combinarlas con drogas encefalinérgicas. Sería también interesante inyectar las drogas en estructuras específicas relacionadas directamente con el control del movimiento, tales como el área ventral tegmental, núcleo accumbens, núcleo caudado y substancia nigra. De esta manera se podría estar más cerca de evaluar lo que hasta ahora es una mera hipótesis

Claro está que esto no es posible de realizar en un sólo experimento, sino que se requiere de un trabajo prolongado, probablemente de varios años, y del esfuerzo conjunto de muchos investigadores.

## CAPITULO 5

### BIBLIOGRAFIA

1. Akil, H., Hewlett, W., Barchas, J. and Li, C. Binding of  $^3\text{H}$  beta-endorphin to rat brain membranes: Characterization of opiate properties and interaction with ACTH. *Eur. J. Pharmacol.* 64:1-8, 1980.
2. \_\_\_\_\_ Watson, S., Young, E., Lewis, M., Khachaturian, H. and Walker, M. "Endogenous Opioids: biology and function. *Ann. Rev. Neurosci.* 7:223-255, 1984.
3. Agmo, A. and Tarasco C. Interactions between naloxone and Gaba in the control of locomotor activity in the rat. *J. Neural Trans.* 61:137-149, 1985.
4. Algeri, S., Calderini, A., Consolazione, A. and Grattini, S. The effect of methionine-enkephalin and D-Alanine-Methionine-enkephalinamide on the concentration of dopamine metabolites in rat striatum. *Eur. J. Pharmacol.* 45:207-209, 1977.
5. Alper, R.H., Demarest, K.T. and Moore, K.E. Morphine differentially alters synthesis and turnover of dopamine in central nervous system. *J. Neural. Transm.* 48:157-165, 1980.
6. Amir, S., Solomon, W. and Amit, Z. The effect of acute and chronic naloxone administration on motor activation in the rat. *Pharmacol. Biochem Behav.* 14:113-116, 1981.
7. Anden, N.E. and Johnels, B. Some animal models of extrapyramidal disorders. In: *Neuro Psychopharmacology.* (P. Deniker, C. Radoueo-Thomas and A. VILLEMEUVE, eds.) Oxford: Pergamon Press, pp. 697-702, 1978.

8. \_\_\_\_\_ and Wachtel, H. Biochemical effects of baclofen on the dopamine and noradrenaline in the rat brain. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 40:310-320, 1977.
9. Antón, B. and Bayón, A. Ritmo diurno en la liberación in vivo de encefalina en el globus pallidus de la rata. Relación con los sistemas liberadores de GABA. XXXVI Congreso Mexicano de Fisiología, p. 65, 1983.
10. Arnt, J. and Scheel-Kruger, J. GABA in the ventral tegmental area: differential regional effects on locomotion, aggression and food-intake after microinjection of GABA agonists and antagonists. *Life Sci.* 25: 1351-1360, 1979 a.
11. \_\_\_\_\_ Gabaergic and glicinergetic mechanisms within the substantia nigra: pharmacological specificity of dopamine-independent contralateral turning behavior and interactions with other neurotransmitters. *Psychopharm.* 62:267-277, 1979 b.
12. Atweh, S.F. and Kuhar, M.J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. The telencephalon. *Brain Res.* 134:393-405, 1977.
13. \_\_\_\_\_ Murrin, L.C. and Kuhar, M.J. Presynaptic localization of opiate receptors in the vagal and accessory optic systems: an autoradiographic study. *Neuropharmacology*, 17: 65-71, 1978.
14. Barbeau, A. Biology of the striatum. In: *Biology of Brain Dysfunction*, Vol 2, (G.E. Gall ed.). New York. Plenum Press: pp 333-350, 1978.
15. Barker, J.L., Neale, J.H. Smith, T.G. and MacDonald, R.L. Opiate peptide modulation of amino acid responses suggests novel form of neuronal communication. *Science.* 199: 1451-1453, 1978.
16. Bartholini, G., Scatton, B., Worms, P., Zivkovic, B. and Lloyd, K.G. Interactions between GABA, dopamine, acetylcholine and glutamate containing neurons in the extrapyramidal and limbic systems. *Adv. Biochem. Psychopharmacol* 30:119-128, 1981.
17. \_\_\_\_\_ and Zivkovic, B. Effect of the new GABA agonist SL 76002 on striatal acetylcholine: relation to neuroleptic-induced extrapyramidal alterations. *Adv. Bioch. Psychopharm.* 24:207-213, 1980.

## BIBLIOGRAFIA

18. \_\_\_\_\_ and Stadler, H. Cholinergic and GABAergic influence on the dopamine release in extrapyramidal centers. In: Chemical Tools in Catecholamine Research, Vol II (Almgren, O., Carlsson, A. and Engel, J., eds.)pp 235-241. Amsterdam:North-Holland, 1975.
19. Bayón, A. Endorfinas y encefalinas, ¿opio en el cerebro? *Ciencia y Desarrollo*. 41:173-180. 1981.
20. Beckmann, H., Frische, M., Ruther, E. and Zimmer, K. Baclofen in schizophrenia. *Pharmakopsychiatrie*, 10:26-31, 1977.
21. Benedek, G. and Obal, F. Stress-related changes of opiate sensitivity in thermoregulation. *Life Science*. 33:591-593, 1983.
22. Bigelow, L., Nasrallah, H., Carman, J., Gillin, J.C. and Wyatt, R. Baclofen treatment in chronic schizophrenia: a clinical trial. *Am. J. Psychiatr.* 134:318-320, 1977.
23. Biggio, G., Casu, M., Corda, M.G., DiBello, C. and Gessa, G.L. Stimulation of dopamine synthesis in caudate nucleus by intrastriatal enkephalins and antagonism by naloxone. *Science*, 200:522-554, 1978.
24. Bloom, F. The endorphins: a growing family of pharmacologically pertinent peptides. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol* 23:151-170, 1983.
25. \_\_\_\_\_ Segal, D. Ling, N. and Guillemin R. Endorphins: profound behavioral effects in rats suggest new ethiological factors in mental illness. *Science* 194:630-632, 1976.
26. Bradley, P.B., Briggs, I., Gayton, R.J. and Lambert, L.A. Effects of microiontophoretically applied methionine-enkephaline on single neurons in rat brainstem. *Nature*. 261:425-426, 1976.
27. Brady, L.S. and Holtzman S.G.. Effects of intraventricular morphine and enkephalins on locomotor activity in nondependent, morphine-dependent and postdependent rats. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 218:613-620, 1981.
28. Brennan, M.J.W., Cantrill, R.C. and Wylie, B.A. Modulation of synaptosomal GABA release by enkephalin. *Life Sci*. 27:1097-1101, 1980.

## BIBLIOGRAFIA

29. Broekkamp, C.L.E., Phillips, A.C. and Cools A.R. Stimulant effect of enkephalin microinjection into the dopaminergic A10 area. *Nature* 278:560-562, 1979.
30. Burbach, J.P.H. Loeber, J.G. Verhoef, J. Wiegant, V.M. De Kloet, E.R. and De Wied, D. Selective conversion of beta-endorphin into peptides related to gamma- and alfa-endorphin. *Nature*. 283: 96-97. 1980.
31. Byrd, L.D. Cardiovascular effects of naloxone, naltrexone and morphine in the squirrel monkey. *Life Sci.* 32:391-398, 1983.
32. Carey, J. Differential effects of limbic versus striatal dopamine loss on motoric function. *Behav. Brain Res.* 7:283-296, 1983.
33. Carlson, K.R. and Segeer, T.F. Interactions of opiates with dopamine receptors: receptor binding and behavioral assays. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16: 119-124, 1984.
34. Carlsson, A. and Biswas, B. Effect of GABA, administered intracerebroventricularly or intraperitoneally, on brain monoamines and on locomotor activity. Paper presented at the International Symposium on "Interactions among putative neurotransmitters in the brain". Milan, Italy, October 26-28, 1976.
35. \_\_\_\_\_ and Lindqvist, M. Effects of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-metoxytryptamine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 21:140-144, 1963.
36. Castellano, C. and Puglisi-Allegra. Effects of naloxone and naltrexone on locomotor activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16:561-563, 1982.
37. Cole, J. Phentothiazine treatment in acute schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatr.* 10:246-261, 1964.
38. Collins, G.G.S. Effect of aminooxiacetic acid, thiosemicarbazide and haloperidol on the metabolism and half-lives of glutamate and GABA in rat brain. *Biochem. Pharmacol.* 22:101-111, 1973.
39. Cools, A.R. and Janssen, H.J. GABA: the essential mediator of behavior triggered by neostriatally applied apomorphine and haloperidol. *J. Pharm. Pharmacol.*

## BIBLIOGRAFIA

- 28: 70-74, 1976.
40. Costa, E. and Grattini, S. eds.: International Symposium on Amphetamines and Related Compounds. New York: Raven Press. 1970.
  41. Cott, J.M., Carlsson, A., Engel, J., Lindqvist, M. Suppression of ethanol- induced locomotor stimulation by GABA-like drugs. Naunyn-Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol. 295:203-209, 1976.
  42. \_\_\_\_\_ and Engel, J. Suppression by GABAergic drugs of the locomotor stimulation induced by morphine, amphetamine and apomorphine: evidence for both pre- and post-synaptic inhibition of catecholamine systems. J. Neural Transmission. 40:253-268, 1977.
  43. \_\_\_\_\_ Antagonism of the analeptic activity of thyrotropin- releasing hormone (TRH) by agents wich enhance GABA transmission. Psychopharmacology, 1977.
  44. Cowan, A. and Tortella. A quantitative analysis of the shaking behavior induced in rats by B-endorphin and d-ala2-met5-enkephalinamide. Life Sci. 30:171-176, 1982.
  45. Creese, I., Burt, D. and Snyder, S.H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. Science, 192:481-483, 1976.
  46. Crow, T.J. Dopaminergic mechanisms in schizophrenia: site and mechanisms of antipsychotic effect and postmortem studies. In: Neuroleptics and Schizophrenia (Simister, J.M. ed.). pp. 29-40. Lundbeck, Luton, 1979.
  47. Cuello, A.C. and Paxinos, G. Evidence for a long leu-enkephalin striopallidal pathway in rat brain. Nature. 271:178-180, 1978.
  48. Davies, J. Effects of morphine and naloxone and naloxone on Renshaw cells and spinal interneurons in morphine dependent and non dependent rats. Brain Res. 113:311-326, 1976.
  49. Davis, G.C. Buchsbaum, M.S. and Bunney, W.E. Research in endorphins and schizophrenia. Shizophrenia Bull. 5:244-250. 1979.

## BIBLIOGRAFIA

50. Davis, J. Overview: Maintenance therapy in psychiatry: I. Schizophrenia. *Am. J. Psychiatr.* 132:1237-1245, 1975.
51. Davis, K. Hollister, L. and Berger, P. Baclofen in schizophrenia. *Lancet*, I:1235, 1976.
52. DeMontis, G.M., Olians, M.C., Serra, G., Tagliamonte, A. and Scheel-Kruger, J. Evidence that a nigral GABAergic-cholinergic balance controls posture. *Eur. J. Pharmacol.* 53:181-190, 1979.
53. DiChiara, G. and Gessa, G.L. Ipsiversive cataleptogenic neurons of nigra pars reticulata: Output pathways of striatal dopaminergic responses. In: *Advances of Pharmacology and Therapeutics, Proceeding of the 7th. International Congress of Pharmacology, Paris 1978, Vol 5: Neuropsychopharmacology, (C. Dumont, ed.) Oxford, Pergamon Press: pp 219-229, 1979.*
54. Dingleline, R. and Goldstein, A. Effects of synaptic transmission blockade on morphine action in the guinea-pig myenteric plexus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 196:97-106, 1976.
55. Dorsa, D.M. Majumdar, L.A. and Chapman M.B. Regional distribution of gamma and beta-endorphin-like peptides in the pituitary and brain of the rat. *Peptides*. 1981.
56. Drust, E.G. and Connor, J.D. Pharmacological analysis of shaking behavior induced by enkephalins, Thyrotropin-releasing hormone on serotonin in rats: Evidence for different mechanisms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 224:148-154, 1983.
57. Duggan, A.W. and Curtis D.R. Morphine and the synaptic activation of Renshaw cells. *Neuropharmacology*. 11:189-196, 1977.
58. Dunwiddie T., Mueller, A., Palmer, M. Stewart, J., and Hoffer B. Electrophysiological interactions of enkephalins with neuronal circuitry in the rat hippocampus. I. Effects on pyramidal cell activity. *Brain Res.* 184:311-330, 1980.
59. Engel, J. and Carlsson, A.: Catecholamines and behavior. In: *Current Developments in Psychopharmacology (Valzelli, L., Essman, W.B., eds.)*, Vol 4 pp 2-32. New York: Spectrum Pub. Inc. 1976.

## BIBLIOGRAFIA

60. Faden, A.I. and Feuerstein, G. Hypothalamic regulation of cardiovascular and respiratory systems: role of specific opiate receptors. *Br. J. Pharmacol.* 79:997-1002, 1983.
61. Feuerstein, G. and Faden, A.I. Central autonomic effects of dermorphin in conscious rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 226: 151-156, 1983.
62. Zerbe, L. and Faden, A.I. Opiate receptors and cardiovascular control in conscious SHR and WKY rats. *Hypertension.* 5:663-671, 1983.
63. Fink, J.S. and Smith, G.P. Mesolimbocortical dopamine terminals fields are necessary for normal locomotor and investigatory exploration in rats. *Brain Res.* 199:359-385, 1980.
64. Frederickson, R.C.V., Burgis, V. and Edwards, J.D. Hiperalgesia induced by naloxone follows diurnal rhythm in responsivity to painful stimuli. *Science.* 198:756-758, 1977.
65. \_\_\_\_\_ and Norris, F.H. Enkephalin-induced depression of single neurons in brain areas with opiate receptors-antagonism by naloxone. *Science*, 194:440-442, 1976.
66. Frederiksen, P. Baclofen in the treatment of schizophrenia. *Lancet.* 1:702-703, 1975.
67. Freye, E., Hartung, E. and Schenk G.K. Effects of three narcotic antagonists (naltrexone, diprenorphine and S-20682) on blood pressure, heart rate and electrical cortical activity. *Pharmacology* 26:110-116, 1983.
68. Fuxe, K., Hokfelt, T., Agnati, L., Johansson, O., and Pérez de la Mora, M. Evidence for an inhibitory gabaergic control of the mesolimbic dopamine neurons: possibility of improving treatment of schizophrenia by combined treatment with neuroleptics and gabaergic drugs. *Med. Biol.* 53:175-183, 1975.
69. Gale, K. Alterations of GABA receptors in rat substantia nigra after chronic treatment with antischizophrenic drugs. *Brain Res. Bull.* 5:Suppl.2, 897-904, 1980 a.
70. \_\_\_\_\_ Chronic blockade of dopamine receptors by antischizophrenic drugs enhances GABA binding in substantia nigra. *Nature* 283:569-570, 1980 b.

## BIBLIOGRAFIA

71. \_\_\_\_\_ and Casu M. Dynamic utilization of GABA in substantia nigra: regulation by dopamine and GABA in the striatum, and its clinical and behavioral implications. *Mol. Cell.Biochem.* 39:369-405, 1981.
72. \_\_\_\_\_ Guidotti, A. and Costa, E. Dopamine-sensitive adenylylase: location in substantia nigra. *Science.* 195:503-505, 1980 c.
73. Garbutt, J.C. and van Kammen, D.P. The interaction between GABA and dopamine: implications for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 9:336-349, 1983.
74. Geller, E.B., Hawk, C., Keinath, S.H., Tallarida, R.J. and Adler, M.W. subclasses of opioids based on body temperature change in rats: acute subcutaneous administration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225:391-398, 1983.
75. Giles, T.D. and Sander G.E. Mechanism of cardiovascular response to systemic intravenous administration of leucine-enkephalin in the conscious dog. *Peptides* 4:171-185, 1983.
76. Goldinger, A., Muller, W.E. and Wollert, U.W. Inhibition of glycine and GABA receptor binding by several opiate agonists and antagonists. *Gen. Pharmacol.* 12:477-479, 1981.
77. Guillemin, R.N., Ling, N. and Burgus, R. Endorphines, peptides d'origine hypothalamique et neurohypophysaire a active morphinomimetique. Isolement et structure moleculaire de l'alpha-endorphine. *Comptes Rendues a la Academie des Sciences, D. Paris.* 283:783-785, 1976.
78. Gulman, N. Bahr, B., Andresen, B. and Eliassen, H. A double-blind trial of baclofen against placebo in the treatment of schizophrenia. *Acta Psychiatr. Escand.* 54:287-293, 1976.
79. Gunne, L.M., Lindstrom, L. and Terenius, L. Naloxone-induced reversal of schizofrenic hallucinations. *Neural. Transm.* 40:13-19, 1977.
80. Haertzen, C.A. Subjective effects of narcotic antagonists cyclazocine and nalorphine on the addiction research center inventory (ARCY). *Psychopharmacology.* 18:366-377, 1970.
81. Hare, T., Word, J., Bala-Manyam, N. Ballenger, J., Post, R. and Gerner, R. Selection of control populations for clinical cerebrospinal fluid GABA

- investigations based on comparison with normal volunteers. *Brain Res. Bull.* 5 Suppl. 2:721-724, 1980.
82. Harston, C.T., Spirtes, M.A., Dunlap, W.P. Coy, D.H. Naloxone reversible effects of d-ala<sup>2</sup>-met<sup>5</sup>-enkephalinamide-induced behavioral activity in rats. *Behav. Neural. Biol.* 30:1-19, 1980.
  83. Havemann, U., Winkler, M., Genc, E. and Kuschinsky, K. Opioid actions on motility: possible actions on GABAergic and dopaminergic neurons. *Brain Res. Bull.* 5: Suppl. 2, 891-895, 1980.
  84. Henderson, G. and Hughes, J. The effects of morphine on the release of noradrenaline from the mouse vas deferens. *Brit. J. Pharmacol.* 57: 551-557, 1976.
  85. Higgins, T.L., Sivak, E.D., Graves, J.W. and Foutch, D.G. Reversal of hypotension by continuous naloxone infusion in a ventilator-dependent patient. *Ann. Inter. Med.* 98: 47-48, 1983.
  86. Hill, R.G., Pepper, C.M. and Mitchell, J.F. Depression of nociceptive and other neurones in the brain by iontophoretically applied met-enkephalin. *Nature.* 262:604-606, 1976.
  87. Hitzemann, R., Curell, J. Hom, D. and Loh, P. Effects of naloxone on d-amphetamine- and apomorphine- induced behavior. *Neuropharmacology* 21:1005-1011, 1982.
  88. Holtzman, S.G. Behavioral effects of separate and combined administration of naloxone and d-amphetamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 189:51-60, 1974.
  89. Hong, J.S., Yang H.Y.T. Fratta, W. and Costa, E. Rat striatal methionine-enkephalin content after chronic treatment with cateleptogenic and noncateleptogenic antischizophrenia drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 205:141-147, 1978.
  90. Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Forthergill, L.A., Morgan, B.A. and Morris, R.H. Identification of two related pentapeptides from brain with potent opiate agonists activity. *Nature.* 258:577-579, 1975.
  91. Iwamoto, E.T. and Way, E.L. Circling behaviour and stereotypy induced by intranigral opiate microinjections. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 203:347-359, 1977.

## BIBLIOGRAFIA

92. Iwatsubo, K. and Clouet, D.H. Effects of morphine and haloperidol on the electrical activity of rat nigro-striatal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202:429-436, 1977.
93. Jasinski, D.R., Martin, W.R. and Haertzen, C.A. The human pharmacology and abuse potential of n-allyl-noroxymorphone (naloxone). *J. Pharm. Exp. Ther.* 157:420-426, 1967.
94. Johnels, B. Locomotor hipokinesia in the reserpine treated rat: drug effects from the corpus striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 17:283-289, 1982.
95. Jones, D.L. and Mogenson, G.J. Nucleus accumbens to globus pallidus GABA projection subserving ambulatory activity. *Amer. J. Physiol.* 238:R65-R68, 1980.
96. Joyce, E.M., Koob, G.F., Strecker, R., Iversen, F.D and Bloom, F.E. The behavioral effects of enkephalin analogues injected into the ventral tegmental area and globus pallidus. *Brain Res.* 221:359-370, 1981.
97. Judd, L.L. Janowsky, D.S., Segal, D.S., Parker, D.C. and Huey, L.Y. Behavioral effects of methadone in schizophrenic patients. *Am. J. Psychiatr.* 138:243-245, 1981.
98. Kaariainen, I. Effects of aminooxiacetic acid and baclofen on the catalepsy and the increase of mesolimbic and striatal dopamine turnover induced by haloperidol in rats. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 38:393-400, 1976.
99. Kalivas, P.W., Widerlov, E., Stanley, D., Breese, G. and Prange A.J. Enkephalin action on the mesolimbic system: a dopamine dependent and a dopamine independent increase in locomotor activity. *J. Pharm. Exp. Ther.* 227:229-237, 1983.
100. Kandasamy, S.B. and Williams, B.A. Peptide and nonpeptide opioid-induced hyperthermia in rabbits. *Brain Res.* 265:63-71, 1983.
101. Kasson, B.G. and George R. Thermoregulation in hyperthyroid rats: mechanism underlying the lack of hyperthermic response to morphine in hyperthyroid animals. *Life Science.* 33:1845-1852, 1983.
102. Kelley, A.E., Stinus, L. and Iversen, S.D. Interactions between D-Ala-Met-enkephalin, A10 dopaminergic neurons, and spontaneous behavior in the rat. *Behav. Brain Res.*

## BIBLIOGRAFIA

- 1:3-24, 1980.
103. Kiang, J.G. and Wei, E.T. Inhibition of an opioid-evoked vagal reflex in rats by naloxone SMS 201-995 and ICI 154-129. *Regul. Pept.* 6:225-262, 1983.
  104. Kim, J.S. and Hassler, R. Effects of acute haloperidol on the gamma-aminobutyric acid system in rat striatum and substantia nigra. *Brain Res.* 88:150-153, 1975.
  105. Bak, I.J. Hassler, R. and Okada, Y. Role of gamma-aminobutyric acid in extrapyramidal motor system. II. Some evidence for existence of a type of GABA-rich strionigral neurons. *Expl. Brain Res.* 14:95-104, 1971.
  106. Korf, J., Bunney, B.S. and Aghajanian, G.K. Noradrenergic neurons: Morphine inhibition of spontaneous activity. *Europ. J. Pharmacol.* 25:165-169, 1974.
  107. Koyama, S., Manugian, V. Ammons, W.S., Santiesteban, H.L. and Manning J.W. Effect of naloxone on baroreflex, sympathetic tone and blood pressure in the cat. *Eur. J. Pharmacol.* 90:367-376, 1983.
  108. Kozolowski, M.R., Sawyer, S. and Marshall, J.F. Behavioral effects and supersensitivity following nigral dopamine receptor stimulation. *Nature.* 287:52-54, 1980.
  109. Kuschinsky, K. Actions of narcotics on brain dopamine metabolism and their relevance for psychomotor effects. *Drug Res.* 26:563-567, 1976.
  110. and Hornykiewicz, O. Effects of Morphine on striatal dopamine metabolism: possible mechanism of its opposite effect on locomotor activity in rats and mice. *Eur. J. Pharmacol.* 26:41-50, 1974.
  111. Lagamma, E.F., Itskovitz, J. and Rudolph, A.M. Maturation of circulatory responses to methionine enkephalin. *Pediatr. Res.* 17:162-167, 1983.
  112. Lamotte, C. Pert C.B. and Snyder S.H. Opiate receptor binding in primate spinal cord: Distribution and changes after dorsal root section. *Brain Research,* 112:407-412, 1976.

## BIBLIOGRAFIA

113. Lee, H.K., Dunwiddie and Hoffer, B. Electrophysiological interactions of enkephalins with neuronal circuitry in the rat hippocampus. II. Effects on interneuron excitability. *Brain Res.* 184:331-342, 1980.
114. Lindstrom, L.H., Widerlow, E., Gunne, L.M., and Terenius, L. Endorphins in human cerebrospinal fluid: clinical correlations to some psychotic states. *Acta Psychiatr. Scand.* 57:153-164, 1978.
115. List, S. and Seeman, P. Neuroleptic/Dopamine receptors: elevation and reversal. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 24:95-101, 1980.
116. Lloyd, K.G. and Worms, P. Sustained gamma-aminobutyric acid receptor stimulation and chronic neuroleptic effects. *Adv. Biochem. Psychopharm.* 24:253-258, 1980.
117. Loh, H., Brase, D.A., Sampath-Kanna, S., Mar, J.B., Way, E.L. and Li, C.H. Beta-endorphin in vitro inhibition of striatal dopamine release. *Nature* 264:567-568, 1976.
118. Long, W.A., and Lawson, E.E. Developmental aspects of the effect of naloxone on control of breathing in piglets. *Respir. Physiol.* 51:119-129, 1983.
119. Lord, J.A., Waterfield, A., Hughes, J. and Kosterlitz, H. Endogenous opioid peptides: Multiple agonists and receptors. *Nature* 267:495, 1977.
120. Mailman, R.B., Kilts, C.D., Beamont, K. and Breese, G.R. Supersensitivity of dopamine systems: comparisons between haloperidol withdrawal, intracisternal and unilateral 6-hydroxidopamine treatments. *Fed. Proc.* 40:291, 1981.
121. Martin, W. Eades, C., Thompson, J., Huppler, R. and Gilbert, P. The effects of morphine and nalorphine-like drugs in nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197:517-532, 1976.
122. Mao, C.C., Cheney, D.L., Marco, E., Revuelta, A. and Costa, E. Turnover times of gamma-aminobutyric acid and acetylcholine in the nucleus caudatus, nucleus accumbens, globus pallidus and substantia nigra: effects of repeated administration of haloperidol. *Brain Res.* 132:375-379, 1977.

## BIBLIOGRAFIA

123. McCarethy, B.W., Gomes, U.R., Neethling, A.C., Shanley, B.C. Potgieter, L. and Roux, J.T. gamma-aminobutyric acid concentrations in cerebrospinal fluid in schizophrenia. *J. Neurochem.* 36:1406-1408, 1981.
124. Meltzer, H.Y. and Stahl, S.M. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophrenia Bull.* 2:19-76, 1976.
125. Misra, A.L., Pontani, R.B., Vadlamani, N.L. and Mulé, S.J. Physiological disposition and biotransformation of allyl-1'-3'-14C naloxone in the rat and some comparative observations of nalorphine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 196:257-268, 1976.
126. Mogenson, G.J., Wu, M. and Jones D.L. Locomotor activity elicited by injections of picrotoxin into the ventral tegmental area is attenuated by injections of GABA into the globus pallidus. *Brain Res.* 191:569-571, 1980.
127. \_\_\_\_\_ and Manchanda, S.K., Locomotor activity initiated by microinfusions of picrotoxina into the ventral tegmental area. *Brain Res.* 161:311-319, 1979.
128. Montel, H., Starke, K. and Weber, F. Influence of morphine and naloxone on the release of noradrenaline from rat brain slice. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmac.* 283:357-369, 1974.
129. Moore, R.Y. and Bloom, F.E. Central catecholamine neuron systems: anatomy and Physiology of the dopamine systems. *Annu. Rev. Neurosci.* 1:129-169, 1978.
130. Moroni, F., Peralta, E., Cheney, D.F. and Costa, E. Opiate receptors agonists as modulators of gamma-amino butiric acid turnover in the nucleus caudatus, globus pallidus and substantia nigra of the rat. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 207:870-877, 1978.
131. \_\_\_\_\_ On the regulation of gamma-amino-butyric acid neurons in caudatus, pallidus and substantia nigra: effects of opioids and dopamine agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 208:190-194, 1979.
132. Murphy, M.T. and Lipton J.M.  $\beta$ -Endorphin: effects on thermoregulation in aged monkeys. *Neuro. Aging.* 4:187-190, 1983.

## BIBLIOGRAFIA

133. Naber, D., Pickar, D., Post, R.M., van Kammen, D.P., Waters, R.N., Goodwin, F.K. and Bunney, W.E. Endogenous opioid activity and B-endorphin immunoreactivity in CSF of psychiatric patients and normal volunteers. *Am. J. Psychiatr.* 138:1457-1462, 1981.
134. Nicoll, R.A., Alger, and Jahr, C.E. Enkephalins blocks inhibitory pathways in the vertebrate CNS. *Nature* 287:22-25, 1980.
135. \_\_\_\_\_ Siggins, G.R., Ling, N., Bloom F. and Guillemin, R. Neural actions of endorphins and enkephalins among brain regions: a comparative microiontophoretic study. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 74:2584-2588, 1977.
136. North, R.A. Opiates, opioid peptides and single nerons. *Life Sci.* 24:1527-1546, 1979.
137. Nowycky, M.C., Walters, J.R. and Roth, R.H. Dopaminergic neurons: effects of acute and chronic morpine administration on single cell activity and transmitter metabolism. *J. Neural. Trans.* 42:99-116, 1978.
138. Oberlander, C., Dutont, C. and Boissier, J.R. Rotational behavior after unilateral intranigral injection of muscimol in rats. *Eur. J. Pharmac.* 43:389-390, 1979.
139. Oka, T. and Hosoya E. The different effect of humoral modulators on the morphine and central nervous system stimulant-induced hiperactivity of rats. *Neuropharmacology* 16:115-119, 1977.
140. Pasi, A. Foletta, D., Hartmann H., Gramsch, C. and Pedrinis E. Regional lebls of  $\beta$ -lipotropin and  $\beta$ -endorphin in the brain and the hypophysis of victims of sudden infant death syndrome. *Arch. Pathol. Luh. Med.* 107:336-337, 1983.
141. \_\_\_\_\_ Moccetti, T., Mueller, J., Hartmann, H. Elevation of blood levels of beta-endorphin-like immunoreactivity in patients with shock. *Res. Commun Chem. Pathol. Pharmacol.* 42:509-512; 1983.
142. Pazos, A. and Florz, J. Interaction of naloxone with  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid agonists on the respiration of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 87:309-314, 1983.

## BIBLIOGRAFIA

143. Pérez de la Mora, M. Fuxe, K. Hohfelt, T. and Ljungdahl, A. Effect of apomorphine on the GABA turnover in the dopamine cell group rich area of the mesencephalon. Evidence for the involvement of an inhibitory gabaergic feedback control of the ascending dopamine neurons. *Neuroscience Lett.* 1:109-114, 1975.
144. Perry, T.L., Buchanan, J., Kish, S.J. and Hanses, S. GABA deficiency in brain of schizophrenic patients. *Lancet*, 1: 237-239, 1979.
145. Pert, A. and Sivit C. Neuroanatomical locus for morphine- and enkephalin- induced hypermotility. *Nature* 265:645-647, 1977.
146. Pert, C.B., Kuhar, M.J. and Snyder, S.H. Autoradiographic localization of the opiate receptor in rat brain. *Life Science.* 16:1849-1854, 1975.
147. \_\_\_\_\_ and Snyder, S.H. Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue. *Science.* 179:1011-1014. 1973.
148. Pfeiffer, A., Feuerstein, G., Zerbe, I., Faden, A.I. and Kopin, I.J. M-receptors mediate opioid cardiovascular effects at anterior hypothalamic sites through sympatho-adrenomedullary and parasympathetic pathways. *Endocrinology.* 113:929-938, 1983.
149. Pollard, H., Llorens-Cortés., Bonnett, J.J. Costentin, J. and Schwartz, J.C. Opiate receptors on mesolimbic dopaminergic neurons. *Neurosci. Lett.* 7:295-299, 1977 a.
150. \_\_\_\_\_ Schwartz, J.C. Enkephalin receptors on dopaminergic neurons in rat striatum. *Neurosci. Lett.* 268:745-747, 1977 b.
151. Pycocock, C. and Norton, R. Possible GABA-mediated control of dopamine-dependent behavioural effects from the nucleus accumbens of the rat. *Psychopharmacology.* 49:173-178, 1976 a.
152. \_\_\_\_\_ Evidence for an accumbens-pallidal pathway in the rat and its possible gabaminergic control. *Brain Res.* 110:629-634, 1976 b.
153. Rimón, R., Terenius, L. and Kampaman, R. Cerebrospinal fluid endorphins in schizophrenia. *Acta. Psychiatr. Scand.* 61:395-403, 1980.

## BIBLIOGRAFIA

154. Roberts, E. An hypothesis suggesting that there is a defect in the GABA system in shizophrenia. *Neurosci. Res. Progr. Bull.* 10:468-481, 1972.
155. \_\_\_\_\_ Disinhibition as an organizing principle in the nervous system: the role of the Gaba system: application to neurologic and psychiatric disorders. In: *GABA in Nervous System Function*. Raven Press, New York, pp 515-540, 1976.
156. Rossier, J. y Chapouthier, G. Los opios del cerebro. *Mundo Científico.* 21:1296-1306, 1982.
157. Sar, M., Stumpf, W.E., Miller, R.J., Chang, K. and Ciatrecasas, P. Immunohistochemical localization of enkephalin in rat brain and spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 182:17-38, 1978.
158. Sawynock, J., Pinsky, C. and La Bella F.S. On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sci.* 25:1621-1632, 1979.
159. Scheel-Kruger, J., Arnt, J. and Magelund, G. Behavioral stimulation induced by muscimol and other GABA agonists injected into the substantia nigra. *Neurosci. Lett.* 4:351-356, 1977.
160. Schopf, J., and Hucker, H. Baclofen in the treatment of schizophrenia: a pilot study. *Pharmakopsychiatrie.* 10:89-91, 1977.
161. Schultz, R., Faase, E., Wuster, M. and Herz, A. Selective receptors for beta-endorphin on the rat vas deferens. *Life Sci.* 24:843-850, 1979.
162. Simpson, G., Lee, J., Shrivastava, R. and Branchey, M. Baclofen in the treatment of tardive dyskinesia and schizophrenia. *Psychopharmacol. Bull.* 14:16-18, 1978.
163. Smee, M.L. and Overstreet, D.H. Alterations in the effects of dopamine agonists and antagonists on general activity in rats, following chronic morphine treatment. *Psychopharmacology (Berlin)* 49:125-130, 1976.
164. Smith, C.M. The release of acetylcholine from rabbit hippocampus. *Brit. J. Pharmacol.* 45:17, 1972.
165. Spiteri, N.J. Circadian patterning of feeding, drinking and activity during diurnal food access in rats. *Physilo. Behav* 28: 39-147, 1982.

## BIBLIOGRAFIA

166. Staunton, D.A., Wolfe, B.B., Groves, P.M. and Moliinoff, P.B. Dopamine receptor changes following destruction of the nigrostriatal pathway: lack of a relationship to rotational behavior. *Brain Res.* 211:315-327, 1981.
167. Tarsy, D. and Baldessarini, R.J. Behavioral supersensitivity to apomorphine following chronic treatment with drugs which interfere with synaptic function of the catecholamines. *Neuropharm.* 13:927-940, 1974.
168. Terenius, L. The implications of endorphins in pathological states. In: *Characteristics and Function of Opioids* (van Ree, J.M. and Terenius, L. eds.) pp 143-158. Elsevier North Holland. Biomedical Press: Amsterdam. 1978.
169. \_\_\_\_\_ Wahlstrom, A., Lindstrom, L. and Widerlov, E. Increased CSF levels of endorphins in chronic psychosis. *Neurosc. Lett.* 3:157-162, 1976.
170. Ungerstedt, U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxidopamine induced regeneration of the nigro-striatal dopamine system in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* 82:Suppl.397:69-93, 1977.
171. Van Kammen, D.P., Bunney, W.E., Docherty, J. Marder, S., Ebert, M., Rossenblatt, J. and Rayner, J. d-Amphetamine-induced heterogeneous changes in psychotic behavior in schizophrenia. *Am J.Psychiatr.* 139:991-997, 1982.
172. \_\_\_\_\_ Stenberg, D.S., Hare, T. Ballenger, J. Marder, J., Post, R. and Bunney, W.E. Schizophrenia: low spinal fluid GABA levels? *Brain Res. Bull.* 5 Supp.2 :132-144, 1980.
173. Van Ree, J.M. Bohus, B. and De Wied, D. Similarity between behavioral effects of Des-Tyrosine-gamma-endorphin and haloperidol and of alfa-endorphin and amphetamine. In: *Endogenous and Exogenous Opiate Agonists and Antagonists* (Leong Way, E. ed.). pp. 459-462. Pergamon Press: New York. 1980.
174. \_\_\_\_\_ and De Wied, D. Endorphins in schizophrenia. *Neuropharmacology.* 20:1271-1277, 1981.
175. \_\_\_\_\_ and Wolterink, G. Injection of low doses of apomorphine into the nucleus accumbens of rats reduces locomotor activity. *Eur. J. Pharmac.* 11:107-111, 1981.

## BIBLIOGRAFIA

176. Walker, J.M., Bernston, G.G., Paulucci, T.S. and Champney T.C. Blockade of endogenous opiates reduces activity in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 14:113-116, 1981.
177. Wamsley, J.K., Scott, Young, W. and Kuhar, M.J. Immunohistochemical localizations of enkephalin in rat forebrain. *Brain Res.*190:153-174, 1980.
178. Young, W.S. and Kuhar, M.J. Immunohistochemical localization of enkephalin in rat forebrain. *Brain Res.* 190:153-174, 1980.
179. Wheeler, M.E. and Farber J.P. Naloxone administration and ventilation in awake cats. *Brain. Res.* 258:343-346, 1983.
180. Yim, C.Y. and Mogenson, G.J. Electrophysiological studies of neurons in the ventral tegmental area of Tsai. *Brain Res.* 181:301-313. 1979.
181. Zieglgansberger, W. and Bayerl, H. The mechanism of inhibition of neuronal activity by opiates in the spinal cord of cat. *Brain Res.* 115:118-128, 1976.
182. French, E.D., Siggings, G.R. and Bloom F.E. Opioid peptides may excite hippocampal pyramidal neurons by inhibiting adjacent inhibitory interneurons. *Science.* 205:415-417, 1979.
183. Siggins, G., French E. and Bloom, F. Effects of opioids on single unit activity. In J.M. van Ree and L. Terenius (Eds.). *Characteristics and Function of Opioid, Developments in Neuroscience, Vol 4, Elsevier/North-Holland, Biomedical Press, Amsterdam, pp. 75-86, 1978.*