

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Evaluación de los efectos neurofisiopatológicos de la mezcla de cocaína con hidroxicina, como agente de corte en ratones machos cepas BIOU: NMRI

Hugo Portilla¹, Yasmin Morales², María Di Bernardo³, José Gregorio Salazar³, Alexis Morales³, Custodio González³, Solymar Colmenares⁴.

1. Médico-Toxicólogo. Cátedra de Toxicología y Farmacología. Universidad de Pamplona-Colombia.
2. Farmacéutica. Ciencias Médicas Fundamentales. Centro de Microscopia Electrónica. Facultad de Medicina. ULA- Mérida-Venezuela.
3. Farmacéuticos. Departamento de Toxicología y Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.
4. Médico- Toxicólogo. Postgrado de Toxicología Médica. Facultad de Medicina. ULA- Mérida-Venezuela.

Correspondencia: Dra. María Luisa-Di Bernardo Navas. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Toxicología y Farmacología. Universidad de Los Andes-Mérida-Venezuela.

Correo: girard@ula.ve, marydi32@gmail.com

Resumen

El consumo de cocaína es un problema de interés mundial, por las graves repercusiones a la salud y a nivel social. El SNC es el más afectado por el consumo de cocaína, debido a las alteraciones en los receptores y neuromoduladores que conllevan a graves consecuencias en el funcionamiento cognitivo del paciente. La cocaína por poseer anillos hidrofílicos e hidrofóbicos, es muy vulnerable a ser mezclada con sustancias que tienen actividad terapéutica, bien sea para generar efectos sinérgicos o antagónicos. El objetivo general de este trabajo es determinar los efectos neurofisiopatológicos, causados por la cocaína adulterada con Hidroxicina, en ratones machos cepas BIOU: NMRI. Este estudio se realizó en 40 ratones machos NMRI en etapa joven-adulto, los cuales se dividieron en 4 grupos con un n=10, clasificados grupo A control al que se le suministro solución salina 0,9%, grupo B se le administro 20mg cocaína/kg peso, grupo C hidroxicina 25mg hidroxicina/kg peso y grupo D cocaína adulterada con hidroxicina 20mg cocaína-hidroxicina/kg de peso, esta sustancia es proveniente de incautaciones la cual se le realizó el perfil químico forense previamente. El volumen de inyección fue de 0.5 cc vía intraperitoneal diariamente por 30 días. Se realizaron análisis hematológico y bioquímico antes y final del experimento, observaciones conductuales después del suministro de dosis, la actividad locomotora se realizó después de la primera semana de las drogas una vez a la semana. Después de cuatro semanas los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Los cerebros fueron extraídos rápidamente y colocados en una solución buffer fosfato 0,7 molar, inmediatamente se disecciono el cerebelo para estudio de neurotransmisores (NTS) aminoacídicos, el cual se realizó mediante la técnica de HPLC. Los resultados obtenidos en los cambios conductuales observamos un aumento en tiempo-efecto de la actividad psicomotora con una significancia $p > 0,05$ en el grupo D, los NTS en la relación excitación/inhibición demostraron un estado de sobre excitación mayor en el grupo de cocaína adulterada con hidroxicina con $p > 0,001$, lo que pudiera estar prolongando el tiempo de los efectos de la cocaína.

Palabras clave: cocaína, Dopamina, hidroxicina, cerebelo, neurotransmisores aminoacídicos, ratones NMRI

Summary***Assessment of the neurophysiopathological effects of the mixture of cocaine with hydroxyzine, as a culling agent in male mice strain mouse: NMRI***

The use of cocaine is a global interest's issue due to the serious implications on health and social consequences. The central nervous system (CNS) is the most affected by the use of cocaine due to the alterations in receptors and neuromodulators that lead to serious consequences on the patient's cognitive functioning. Since cocaine has hydrophilic and hydrophobic rings, it is very vulnerable to be mixed with substances with therapeutic activity, either to produce synergistic or antagonistic effects. The general objective of this research is to determine the neurophysiopathological effects caused by the mixture of cocaine with hydroxyzine in NMRI mice. Methods This research studied the neurotoxic effects of cocaine mixed with hydroxyzine as a cutting agent with therapeutic activity on forty (40) NMRI male mice in young-adult stage, which were divided in four groups of ten individuals each, classified in: group A as control group received 0.9% of saline solution; group B received 20mg cocaine per kilogram body weight, group C received 25mg hydroxyzine per kilogram body weight and group D, 20mg of cocaine mixed with hydroxyzine per kilogram body weight. This substance comes from different drug seizures which were previously submitted to forensic chemical analysis. The injection volume of 0.5 cc was administered via the intraperitoneal route during 30 days. Haematological and biochemical analyses before and after the experiment and behavioral observations after doses supply were executed, locomotor activity was conducted after the first week of drugs once a week. After four weeks, mice were slaughtered due to cervical dislocation. Mice brains were quickly removed and placed in a 0.7 molar phosphate buffer solution and the cerebellum was immediately dissected for the study of amino acid neurotransmitters (NTS) with the High-performance liquid chromatography technique. On the basis of the results obtained from the behavioral changes, we observed a reaction time increase of the psychomotor activity with a significance of $p > 0.05$ in group D. Neurotransmitters in the excitatory- inhibitory relationship showed a higher overexcitement state in the group of cocaine mixed with hydroxyzine with a $p > 0.05$ value suggesting that this could be extending the time of cocaine's effects.

Key words: cocaine, Dopamine, hydroxyzine, cerebellum, amino acid neurotransmitters, NMRI mice.

Introducción

Actualmente el consumo de drogas se presenta como uno de los problemas más importantes a los que se enfrenta la sociedad, tanto la magnitud del fenómeno como por las consecuencias personales y sociales derivadas del mismo. Además, ha dejado de ser algo exclusivo de una minoría para configurarse como una dificultad de magnitudes sociales, comunitarias y de salud pública. Es preocupante el uso indiscriminado de sustancias en periodos como la adolescencia, etapa en la que se ha incrementado en gran medida y en la que toma en especial relevancia si se toma en cuenta a la adolescencia como periodo vital de especial riesgo para uso/abuso de drogas, en la que se llevan a cabo los primeros acercamientos a las sustancias adictivas y el mantenimiento de patrones de consumo que, en gran parte de los casos, se consolidan en la vida adulta.

En la cocaína es posible encontrar gran cantidad de compuestos que se pueden clasificar como impurezas de la misma, producto de su proceso de obtención, entre los cuales podemos tener: precursores químicos, impurezas alcaloidales (otros alcaloides diferentes de la cocaína presentes naturalmente en las hojas de coca) [1]. Pero debido a la característica química de la cocaína de poseer núcleos hidrofílicos-hidrofóbicos es muy vulnerable a ser mezclada con sustancias que tienen actividad terapéutica, bien sea para generar efectos sinérgicos o antagónicos, que pudieran causar mayor adicción a la droga o potenciando la acción de la misma. Los agentes de mezclas, cortes o adulterantes usados en la cocaína, han sido de distinta naturaleza química, desde sustancias farmacológicamente inactivas (diluyentes) para aumentar volumen como el talco, ácido bórico, almidón, azúcares, etc., hasta sustancias con actividad terapéutica que simulen el efecto de la cocaína, que se asemeja a la droga de abuso y son agregados con el fin de potenciar el efecto o hacerlo más duradero, en algunos casos pueden llegar a ser más peligrosos que la misma cocaína como la ketamina, lidocaína, procaína, fenacetina y más recientemente levamisol, diltiazem y hidroxicina [1,2,3].

Di Bernardo et al, evaluaron los efectos tóxicos de la mezcla de cocaína con levamisol, en 120 ratones NMRI machos en etapa adulto-joven, donde observaron aumento en tiempo-efecto de la actividad psicomotora, conductas agresivas, ingesta excesiva de agua, baja ingesta de alimentos y marcado daño a nivel de piel, llegando a putrefacción de la misma en la semana 4 y 5 del estudio [2]. Investigación realizada por Garzón informa que recientemente, recogió 373 muestras de cocaína en 13 ciudades con alta población universitaria en Colombia, encontró que para hacer rendir la droga y menguar o potencializar sus efectos, sus productores están adulterando su composición química con otras sustancias. En el 77% de estas muestras se encontró cafeína, un estimulante del sistema nervioso central; en el 53% fenacetina, un analgésico, y en el 22% levamisol, un

fármaco que fue retirado hace más de 10 años de los mercados de EE.UU. y Canadá debido al riesgo de efectos secundarios graves en humanos y que hoy es utilizado por los veterinarios para desparasitar el ganado. Otros de los compuestos encontrados fueron la aminopirina (analgésico que alivia dolores musculares), la lidocaína (anestésico), el diltiazem (medicamento contra la hipertensión) y la hidroxicina (fármaco para reducir las náuseas y disminuir la ansiedad). Textualmente refiere William Garzón jefe del Área Química del CTI " Se desconoce qué consecuencias extras puede estar trayendo esa combinación entre la pasta de coca y estos fármacos para la salud de quien la consume", quien además hizo un llamado a la comunidad científica para investigar los efectos [4].

La hidroxicina es un fármaco comercializado como ansiolítico, antihistamínico y tranquilizante de baja potencia, su acción puede ser debida a una supresión de la actividad en determinadas regiones clave del área subcortical del SNC.

En consonancia con sus principales indicaciones terapéuticas, posee actividad antihistamínica, broncodilatadora, antiemética, antipruriginosa y antisecretora y analgésica leve, así como efectos antiespasmódicos y simpaticolíticos y un perfil ansiolítico-sedativo. Sus reacciones adversas que incluyen mareos y somnolencia se relacionan principalmente con una depresión del SNC o con una estimulación paradójica del mismo, así como su actividad anticolinérgica o reacciones de hipersensibilidad. Este fármaco se adiciona posiblemente a la cocaína en la última etapa del proceso de síntesis de clorhidrato de cocaína a partir de cocaína base pudiendo, su determinación, arrojar cierta luz sobre el país de origen de la droga y sus rutas de distribución. Sin embargo, se desconocen las razones de su uso como adulterante, más allá de como agente de carga y para incrementar beneficios. Si bien no se han descrito interacciones entre la cocaína y la hidroxicina, ambos compuestos son inhibidores de la isoforma CYP2D6 del citocromo P450, por lo que una menor detoxificación podría potenciar los efectos adversos de ambos. Asimismo, el carácter potencialmente arritmogénico de la cocaína podría aumentar el riesgo de prolongación del intervalo QT y Torsades de Pointes secundarios a la administración de hidroxicina. Se desconoce el perfil farmacocinético del adulterante tras su administración intranasal [5].

Hace cuatro décadas se describió un circuito neural que sería el substrato neuroanatómico y neurobioquímico del placer, la recompensa y la drogodependencia. Algunos animales de experimentación son capaces de autoestimularse eléctricamente o de autoadministrarse sustancias de abuso en las áreas de este sistema de una manera compulsiva, produciendo manifestaciones que se interpretan como conducta placentera. En esta situación, los animales son capaces de abandonar totalmente otras actividades placenteras como la alimentación y el sexo. El núcleo accumbens, el hipocampo, la corteza prefrontal y la amígdala, son las áreas cerebrales más importantes de este

circuito; se considera que el núcleo accumbens es el centro crítico de la iniciación y del mantenimiento del refuerzo de la conducta y del abuso de drogas [6,7].

Es muy conocido que la cocaína es una droga estimulante del sistema nervioso central (SNC), actúa incrementando las concentraciones de dopamina y otras monoaminas en el espacio sináptico mediante un bloqueo de su recaptación en el pie terminal axónico, a nivel de proteínas transportadoras específicas. Las propiedades estimulantes en animales de laboratorio (euforizantes, adictivas, cambios de conducta) tratan de explicarse por la acción de la cocaína sobre los sistemas dopaminérgicos, importante a nivel de las principales vías dopaminérgicas del SNC, las vías meso-cortico-límbicas y nigro estriadas [6, 8,9]. Sin embargo, la acción sobre este NTS no explica todos los efectos toxicocinéticos de la cocaína, la activación serotoninérgica, adrenérgica, GABAérgica, glutamatérgica, histaminérgica, acetilcolinérgica y feniletilaminérgica están también implicadas, aunque los detalles de las mismas son menos conocidos, junto a los efectos psicológicos sobre el ánimo, la cognición, los instintos y la conciencia [10].

Por otro lado investigaciones reciente ofrecen diferentes evidencias sobre la posible contribución del cerebelo a funciones no-motoras, entre las que se incluyen la cognición, la emoción o la conducta; funcionando como un coordinador de procesos cognitivos y emocionales, ya que esta estructura presenta amplias conexiones con regiones corticales y subcorticales que no se dirigen únicamente hacia áreas motoras [11]. Por lo que se hace necesario realizar estudios con sustancias que modifican la conducta en la región de cerebelo.

El cerebelo destaca por ser un centro de coordinación y organización del movimiento. En conjunto, funciona comparando las órdenes y las respuestas motoras. A través de sus conexiones recibe la información motora elaborada a nivel cortical y de la ejecución de los planes motores y se encarga de comparar y corregir el desarrollo y evolución de los actos motores. Además, también actúa reforzando el movimiento para mantener un tono muscular adecuado ante los cambios de posición [12].

Morales y Di Bernardo, informaron recientemente que en incautaciones de cocaína, encontraron que la misma se estaba siendo mezclada con hidroxicina, las investigadoras refieren que dicho fármaco tiene actividad terapéutica con acción depresora sobre SNC, lo que teóricamente les hizo presumir y concluir que usar sustancias antagónicas (estimulante-depresor) pueden dar lugar a interacciones, en las cuales se pueden alterar la cinética de un producto al modificar sus tasas de absorción, el grado de unión a proteínas, o los ritmos de biotransformación o excreción de uno o ambos productos interactuantes. Adicionalmente expusieron que la dinámica de las sustancias puede alterarse al competir estas por el receptor; por otra parte también hay interacciones dinámicas cuando las dos sustancias poseen diferentes mecanismos de acción. Por tanto la reacción a sustancias tóxicas en combinación llega a ser igual, mayor o menor, que la

suma de los efectos de cada una de ellas. El antagonismo al nivel del receptor de la sustancia química comprende el bloqueo del efecto de un agonista con un antagonista apropiado que compite por el mismo sitio de acción. Más, sin embargo, no elucidaron cuales podrían ser los efectos de este agente de mezcla a nivel de los NTS [1].

Wang ha reportado que la combinación de cocaína y antihistamínicos H1 como la difenilhidramina se describe como súper aditiva de los efectos reforzadores (aumenta el auto consumo) en simios. Se describe que la interacción puede implicar al sistema dopaminérgico en el SNC [13]. Como se puede percibir además de ser importante la posible interacción de otros compuestos con el principio activo de la cocaína, es importante los efectos de la sustancia en sí misma, ya que el empleo de la sustancia desconocida para el consumidor da lugar a efectos no esperados en su salud. Es por esto que el abordaje de los resultados de la presente investigación parte de los efectos aislados de las sustancias encontradas y luego las posibles interacciones entre ellas.

PARTE EXPERIMENTAL

Población de estudio

Se utilizaron 40 ratones machos NMRI provenientes del Bioterio Central de la Universidad de los Andes, que fueron ambientados en sala N° 2 del Bioterio durante una semana antes de comenzar los experimentos. Los animales estaban mantenidos en condiciones de temperatura controlada ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$), con ciclos de 12 horas de luz-oscuridad y suministro de comida y agua ad libitum. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética del Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida, bajo el número C BIOULA/097 del 26 09 2017.

Administración de drogas

La Administración de cocaína se realizó vía intraperitoneal (vip) una vez al día continuo por 4 semanas dosis de 20mg/kg de peso corporal de cocaína, hidroxicina 25mg/Kg de peso corporal, y cocaína- hidroxicina 20mg/Kg peso. Las dosis suministradas fueron ensayadas previamente en estudio piloto considerando la dosis letal tanto de la droga como la del fármaco. Para tal fin se partió de soluciones madres de 2 mg cocaína/ml, preparadas en solución salina al 0,9%. El volumen de inyección fue 0,5 (cc) con inyectadoras para insulina con una aguja N° 26G. Finalmente los animales fueron sacrificados y sometidos a estudios anatomopatológicos y neuroquímicos.

METODOLOGÍA ANALÍTICA

Materiales y reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico y los solventes de grado HPLC. El estándar de cocaína utilizado fue de laboratorio Sigma-Aldrich y la muestra de cocaína adulterada con hidroxicina fue obtenido de decomiso en el Estado Mérida caracterizada previamente [1], suministrada a través de la Oficina Nacional Antidrogas (ONA), la hidroxicina comercial utilizada de laboratorio Sanofi-Aventis. Los solventes para HPLC: metanol, acetonitrilo y acetona fueron suministrados por J.T. Baker. El tartrato de sodio y potasio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), fosfato de sodio monobásico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 99%), el fosfato de sodio bibásico dodecahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 99%), el tetraborato disódico ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 98%), el carbonato de sodio (Na_2CO_3 , 99,5%) y el cloruro de sodio (NaCl , 99,5%) y el ácido perclórico ($\text{H}_2\text{Cl}_2\text{O}_7$, 70%) fueron suministrados por MERCK. El cloruro de manganeso (MnCl_2 , 99%), cloruro de dansilo (DnsCl , 99,5%), el dodecil sulfato de sodio (SDS; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$, 98,5%) y el Reactivo de Folin (Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent, 2,0 Normal) fueron suministrados por SIGMA; el hidróxido de sodio (NaOH , 99%) fue suministrado por Riedel-de Haen; el sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 99,5%) fue suministrado por AnalaR.

Procedimiento Experimental

Los 40 ratones machos, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos experimentales con $n=10$ por grupo identificados de la siguiente manera **grupo control (A)** bajo administración solución salina (NaCl al 0,9%), **grupo (B)**, bajo administración de cocaína 20mg Cocaína/kg peso corporal (p.c) **Grupo (C)** bajo administración de hidroxicina 25mg de hidroxicina /Kg p.c, **grupo (D)** bajo administración de cocaína-hidroxicina incautada 2mg Cocaína Hidroxicina Incautada/Kg p.c el inicio de las dosis fue a P48, la vía de administración fue peritoneal con un volumen de inyección fue de 0,5 cc con un total de 30 inyecciones.

Los ratones fueron sometidos antes y al fin del experimento a pruebas bioanalíticas, peso y talla, evaluación de la actividad locomotora una vez a la semana, alimento y agua. Transcurridas los 30 días del experimento los animales se sacrificarán por la técnica de dislocación cervical.

Medición de parámetros como indicadores de desarrollo Físico: Se realizó el peso corporal, ingesta de alimento, consumo de agua de los animales semanal del grupo control y los expuestos a la cocaína, cocaína-hidroxicina, hidroxicina. Con la finalidad de hacer un análisis comparativo entre el grupo control y los grupos expuestos a las drogas.

La evaluación de estos parámetros nos permitió obtener indicios sobre el efecto de la intoxicación en el desarrollo general de los animales en estudio.

Evaluación de Actividad Locomotora: La actividad locomotora se comenzó la segunda semana de exposición a las drogas, tanto horizontal como vertical. Para tal fin empleamos la metodología utilizada por Thiruchelvam 2000[14].

Muestras parámetros bioanalíticos: Las muestras de sangre para los análisis bioanalíticos (hematología y bioquímica) fueron tomadas de cada animal vía retro orbital con un capilar, la cantidad fue aproximadamente 2 ml de sangre, antes y fin del ensayo se almacenaron en tubos ependorft, etiquetados y rotulados, y enviados al laboratorio de bioanalítica para su procesamiento.

Muestras para análisis de neurotransmisores aminoacídicos: Para el análisis de neurotransmisores aminoacídicos, se tomaron los grupos de ratones control y los sometidos a drogas cocaína, cocaína mezclada con hidroxicina, hidroxicina en etapa de adulto joven. El sacrificio se realizó mediante la dislocación cervical, rápidamente se extrajo el encéfalo, el cual se colocó en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,2, a 4°C, y se diseccionó el cerebelo. Las muestras fueron colocadas en tubos ependorft y guardadas a -70°C hasta el día del análisis.

Análisis de Neurotransmisores Aminoacídicos mediante HPLC.

El análisis de los neurotransmisores aminoacídicos Asp, Glu, Gly, Tau y GABA se realizó mediante HPLC-DAD, después de derivatización con cloruro de dansilo. Las muestras fueron homogeneizadas en 200µl de ácido perclórico 0,05N y luego se tomaron alícuotas de 10µl para la determinación de proteínas totales. Los homogeneizados fueron centrifugados a 4°C durante 15 min en una centrifuga ependorft a 10.000 g, del sobrenadante se tomó una alícuota de 50 µl, a la cual se le añadieron 250 µl de Borato de Sodio, 50 mM, pH 9,5, y 80 µl de cloruro de dansilo, 2,5 mg/ml en acetonitrilo, luego se calentó en un baño de María a 60°C, durante 15 min. Posteriormente se enfrió en hielo y se agregaron 20 µl de NaOH, 0,4 N. El producto de la derivatización fue filtrado en una membrana Millipore de 0,45 µm. Del filtrado se tomó una alícuota de 25 µl que fue inyectada en el HPLC.

RESULTADOS y DISCUSION

Análisis de resultados.

Para la organización de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 22, aplicando estadística descriptiva y utilizando gráficos y cuadros, así como medidas de tendencia central y dispersión; para la comparación se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba T, y las relaciones mediante el coeficiente de correlación de Pearson, la significancia se estableció con un $P < 0,05$.

Comparación del peso y el consumo de agua por grupos experimentales.

Al comparar el peso de los animales en las distintas semanas por los grupos experimentales, se observó diferencias significativas con $P < 0,05$ para el peso promedio de los ratones al compararlos con el grupo control; para las semanas uno y dos los pesos fueron mayor en los grupos cocaína sola, hidroxicina sola y cocaína + hidroxicina incautada; para la semana tres los grupos hidroxicina sola y cocaína+hidroxicina incautada presentaban un peso mayor que el grupo control, no se observó diferencias con el grupo cocaína; para la semana cuatro se tiene diferencias significativas, pero en este caso los grupos cocaína sola, hidroxicina sola y cocaína + hidroxicina presentaron un peso menor al del grupo control. (Ver tabla Nº 1)

En el gráfico Nº 1 se presenta la correlación entre el peso de los animales y las semanas por grupo experimental, donde para todos los grupos se tiene coeficientes de correlación de Pearson $> 0,9$ y $P < 0,05$, lo que indica una correlación lineal directa entre el peso de los ratones y las semanas; quiere decir al transcurrir las semanas el peso de los animales aumento; ahora bien, entre las semanas uno y dos el peso de los ratones creció más rápido en los grupos cocaína, hidroxicina y cocaína + hidroxicina incautada; no obstante al culminar la semana cuatro el grupo control presentó mayor peso que los demás.

En cuanto al consumo de agua también se observó diferencias significativas $P < 0,05$ entre los grupos cocaína, hidroxicina y cocaína + hidroxicina incautada con relación al grupo control, donde en las semanas dos, tres y cuatro, los animales de los grupos cocaína, hidroxicina y cocaína + hidroxicina incautada consumieron menos agua que el control. (ver Tabla Nº 2).

En el gráfico Nº 2 se presenta la correlación entre el consumo de agua y las semanas por grupo experimental; donde se observa que los coeficientes de correlación son negativos, lo que indica que disminuye el consumo de agua al transcurrir las semanas, para la hidroxicina y la cocaína + hidroxicina incautada se tiene un valor de $P < 0,05$, lo que indica que dicha relación es lineal.

Comparación de la actividad locomotora de los ratones en relación con los movimientos horizontales y verticales por grupos experimentales.

En cuanto a la locomoción de los animales se observó diferencias significativas $P < 0,05$ para las siguientes semanas. En la tabla 3 se muestran los resultados.

La comparación dentro de los grupos, antes y después de la intervención se presentan en los gráficos subsiguientes.

Para el grupo control no se observó diferencias significativas en la locomoción horizontal y vertical antes y después de la intervención. (gráfico N° 3)

Para el grupo cocaína se observó diferencias significativas $P < 0,05$ en la locomoción horizontal (*) antes y después de la intervención para todas las semanas del estudio, donde se incrementó el número de movimientos luego del suministro de cocaína; para la locomoción vertical (**) las diferencias se observaron en la cuarta semana; en general se tiene mayor afectación de la locomoción horizontal. (ver gráfico N° 4)

Para el grupo hidroxicina se observó diferencias significativas $P < 0,05$, para la semana dos y cuatro en la locomoción vertical (**), donde disminuyeron los movimientos luego de suministrada la hidroxicina; para la locomoción horizontal (*) se observaron diferencias en las semanas tres y cuatro disminuyendo los movimientos de los animales luego de la intervención. (gráfico N° 5)

El grupo cocaína + hidroxicina incautada fue el único que presentó diferencias significativas $P < 0,05$, tanto para los movimientos horizontales como los verticales en todas las semanas del estudio, donde los movimientos se incrementaron luego de la intervención. (ver Figura gráfica N° 6)

Al comparar la ubicación de los animales por grupo experimental antes y después de la intervención, se observó diferencias significativas $P < 0,05$; antes y después de la intervención las diferencias se presentaron en los grupos hidroxicina y cocaína + hidroxicina incautada que presentaron menos tiempo que los controles. (ver Tabla N° 4)

En cuanto a la comparación dentro de los grupos del tiempo que tardan en salir del laberinto, solo se observó diferencias antes y después de la intervención en el grupo cocaína, los cuales disminuyeron el tiempo una vez suministrada la cocaína. (ver Figura gráfico N° 7)

Evaluaciones de parámetros hematológicos y bioquímicos

El análisis estadístico aplicado a los valores obtenidos en las pruebas de diagnóstico hematológicas durante el desarrollo de esta investigación, reveló diferencias significativas para las variables hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), y formula blanca (Fb) en la interacción Grupo-Tiempo.

Los valores obtenidos en las pruebas de diagnóstico hematológicas, perfil hepático (transaminasas) y renal (creatinina) durante los muestreos realizados a cada una de los animales controles (A), fueron comparados con los valores de los animales de los grupos B, C, y D, usando un análisis de varianza para efectos fijos y prueba de Dunnett. Las diferencias en el promedio \pm desviación estándar (DE) de cada variable según los grupos y tiempos fueron consideradas estadísticamente significativas con valores de $p < 0,05$ y $p < 0,01$.

Comparación del perfil hematológico de los animales por grupos experimentales.

En la tabla 5, se detallan los valores hematológicos reportados como normales por la literatura [15,16] y los resultados obtenidos, los cuales se discuten a continuación. Al inicio del experimento todos mostraron niveles dentro de lo reportado como normal por la literatura, sin embargo, a la semana siguiente de administración de las respectivas dosis, se evidenciaron alteraciones hematológicas con diferencias significativas con respecto al grupo control, siendo estadísticamente significativo ($p=0,002$) en los grupos cocaína-hidroxicina incautada.

Se observaron diferencias significativas ($P<0,05$) en el perfil hematológico por grupo experimental; para los hematocritos (Hto) estos valores fueron mayor en hidroxicina (50,63%) y cocaína+hidroxicina incautada (44,20%) con respecto al grupo control (38,30%); la hemoglobina presentó diferencias, siendo menor en los grupos cocaína (11,90 g/dl), hidroxicina (12,93 g/dl) y cocaína + hidroxicina incautada (10,98 g/dl) y mayor en el control (15,90 g/dl); en los leucocitos la diferencia se presentó en los grupos hidroxicina ($9,24 \times 10^3/\mu/L$) y cocaína +hidroxicina incautada ($8,98 \times 10^3/\mu/L$) siendo mayor estos valores que el control ($4,47 \times 10^3/\mu/L$). (ver Tabla N° 6).

Comparación del perfil bioquímico de los animales por grupos experimentales.

Los parámetros bioquímicos evaluados fueron urea, creatina y transaminasas. Las transaminasas constituyen un excelente marcador de lesión hepatocelular. Participan en la gluconeogénesis al catalizar la transferencia de grupos amino del ácido aspártico o alanina del ácido cetoglutárico para producir ácido oxalacético y pirúvico, respectivamente. Su valor normal de referencia en ratones machos adultos es de 21.7-46.5 mg/dl. La creatinina está en el cuerpo principalmente en forma de fosfato de alta energía. La creatinina es una sustancia muy difusible y distribuida de manera uniforme en el agua corporal. Se elimina del plasma aproximadamente en la tasa de filtración glomerular. Estudiar la excreción de creatinina, tiene valor el hecho de que los niveles séricos de creatinina casi no son afectados por la creatinina exógena de los alimentos,

por la edad, el sexo, el ejercicio o la dieta. Por lo tanto los niveles elevados solamente se presentan cuando se altera la función renal [17,18].

Las causas de creatinina alta incluyen enfermedades renales e insuficiencia renal, con disminución de la filtración glomerular; obstrucción del tracto urinario; reducción en el flujo sanguíneo que incluye infarto y fallo cardíaco, shock y deshidratación [19,20].

La medición de los niveles de creatinina en sangre proporciona la misma información para el diagnóstico y pronóstico de la función renal que la obtenida por la medición del nitrógeno ureico. Su valor de referencia en ratones adultos machos es de 0,7 - 1,3 mg/dl.

El perfil bioquímico de los animales presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) al compararlos por grupo experimental; para la urea se tiene que la cocaína (63,26 mg/dl) y cocaína+hidroxicina incautada (63,81 mg/dl) presentaron valores más elevados que el control (17,33 mg/dl); la creatinina fue mayor en los grupos cocaína (1,02 mg/dl), hidroxicina (1,30 mg/dl) y cocaína+hidroxicina incautada (1,50 mg/dl) con relación al control (0,55 mg/dl); para el TGO se tiene que la cocaína (154,27 U/L) y cocaína+hidroxicina incautada (187,00 U/L) presentaron valores más elevados que el control (42,40 U/L); el TGP presentó diferencias para la cocaína (136,30 U/L) y cocaína+hidroxicina incautada (158,23 U/L) con relación al control (97,53 U/L). (ver Tabla N° 7)

Relación Excitación/Inhibición de la Niveles de neurotransmisores aminoacídicos en la región de Cerebelo. La relación Excitación/Inhibición (E/I) es la relación entre las concentraciones de neurotransmisores excitatorios aspartato y + Glutamato (Asp + Glu) e inhibitorios Glycina + GABA (Gly + GABA). En la Tabla 8 y grafica 8, se muestran los cambios en la relación E/I del cerebelo de los grupos (B,C,D) ratones machos expuestos a dosis de cocaína, hidroxicina, cocaína adulterada con hidroxicina y el grupo control (A), el grupo experimentales expuesto a cocaína (B) registro una relación E/I = 1,18 lo que resulta un incremento muy significativo ($p = 0,0001$) en el de neurotransmisores excitatorios en cerebelo, siendo más marcado el incremento en el grupo experimental D expuesto a la cocaína adulterada con hidroxicina con relación E/I = 1,23 con un $p < 0,0001$, observando una disminución significativa en el grupo (C) expuestos a hidroxicina con relación E/I = 0,89 con $p = 0,05$, Estos grupos mostraron un desbalance entre excitación e inhibición, comparable con la E/I de los ratones normales después de 30 veces de exposición a las drogas.

Hallazgos Anatomopatológicos

Los hallazgos encontrados mostraron que los ratones bajo administración de cocaína-hidroxicina mostraron daños marcados a nivel cardiovascular, hepático, renal y bazo, mostrando estos tres últimos órganos hipertrofia. En su mayoría revelaron atrofia de los órganos genitales y presencia de tumores.

DISCUSIONES

El presente trabajo se reportan evidencias neuroquímicas y fisiológicas de comportamiento de los ratones machos expuestos experimentalmente a dosis de cocaína, hidroxicina, cocaína con hidroxicina, comparados con un grupo control.

Los resultados obtenidos en la variación de peso de los grupos experimentales, se encontró un aumento de peso durante las dos primeras semanas, los grupos expuestos a cocaína y cocaína adulterada con hidroxicina, disminuyeron el peso durante las dos últimas semanas de tratamiento todos los grupos experimentales, lo que coincide con lo reportado por Di Bernardo et al [2] donde encontraron, pérdidas de peso, estados de desnutrición y deficiencias de vitaminas y nutrientes vitales en ratones expuestos a dosis crónicas de cocaína, así mismo Morales en el 2009 reporto una disminución de los bioelementos esenciales como calcio y magnesio en personas adictas a cocaína quienes estaban en proceso de inicio de terapias de rehabilitación en la fundación José Félix Rivas de Estado Mérida, lo que coincide con Tellez y Cote [21], donde expone que el uso agudo y crónico de la cocaína producen alteraciones metabólicas, alterando los sistemas de regulación del hambre y sed.

En cuanto a los parámetros hematológicos y bioquímicos con los resultados obtenidos en los grupos encontramos una disminución de la hemoglobina y hematocrito en los grupos experimentales cocaína y cocaína adulterada con hidroxicina, la cual ha sido reportado Di Bernardo et al [2,21], en estudio realizado sobre los efectos tóxicos de la mezcla de cocaína levamisol en modelos farmacológicos y en ratones inducidos experimentalmente a adicción a la cocaína, esta disminución de la hemoglobina y el hematocrito, sabiendo que el hematocrito da información del porcentaje ocupado por glóbulos rojos del volumen total de la sangre. La disminución de glóbulos rojos en la sangre produce una anemia, existiendo numerosos factores que pueden contribuir a desarrollar una anemia, como la baja ingesta de hierro y carencia de bioelementos esenciales reportado por Morales [1], lo que pudiera estar relacionado con la disminución del peso de los animales en la última semana del experimento.

Con respecto a los parámetros bioquímicos se obtuvo un aumento de la urea, creatinina TGO, Y TGP en los grupos de cocaína y cocaína adulterada con hidroxicina, lo cual también ha sido reportado por Di Bernardo [2,21] y Picazo [22], lo que pudiera estar

ocasionando alteración o daño a nivel renal y hepático que pudiera explicarse muy bien por los procesos de metabolización de la cocaína.

Por otra parte, en este trabajo, encontramos alteraciones en las actividades locomotoras, horizontal y vertical y cambios neuroquímicos significativos en el cerebelo del ratón macho después de 7 dosis, los ratones expuestos a cocaína y cocaína hidroxicina mostraron una hiperactividad locomotora tanto horizontal como vertical, siendo más evidenciada en el grupo de cocaína adulterada con hidroxicina, siendo el efecto contrario con el grupo de hidroxicina que presentaron una hipoactividad en el plano horizontal y vertical (Grafico 5).

Estudio realizado [23], en ratas inducidas a la administración aguda de pasta base de cocaína, reportando que la cocaína pasta base indujo a un aumento significativo en la actividad locomotora horizontal y vertical el cual no encontraron diferencias significativas con el grupo que le administraron cocaína, coincidiendo con lo observado en nuestro trabajo. Demostraron que los cambios en la actividad motora, con aumento en el contenido de DA estriatal y alteraciones menores de las funciones cognitivas involucrando los trayectos nigroestriatal y mesolímbico que pudiera explicar el estado alteración en los movimientos horizontales y verticales de los ratones expuestos a cocaína, lo que también se pudiera explicar con la relación excitación/Inhibición de los NTS aminoacídicos en la región de cerebelo.

Con respecto a la relación Excitación e Inhibición los NTS aminoacídicos en la región de cerebelo encontramos un aumento significativo en los neurotransmisores excitatorios Asp y Glu para los grupos expuestos a cocaína y cocaína adulterada con hidroxicina, con una disminución de los neurotransmisores inhibitorios para este grupo, resultando en un estado de sobreexcitación en ambos grupos siendo más marcada en el grupo de la cocaína adulterada con hidroxicina,, lo cual puede explicar el estado de hiperactividad locomotora de ambos grupos experimentales, sin embargo se evidencio una disminución de los neurotransmisores excitatorios para el grupo de hidroxicina, con aumento de los neurotransmisores inhibitorios (GABA, Gly, Taurina) lo que podría demostrar el efecto depresor de la hidroxicina, que cambia su comportamiento cuando está mezclada con cocaína quien es estimulante del SNC, tomando la hidroxicina cuando está mezclada con cocaína un comportamiento competitivo antagónico que se puede convertir en una mayor tiempo de competencia por los receptores de estos neurotransmisores lo que generar un mayor tiempo de duración de los efectos. El aumento de NTS excitatorios coincide con lo reportado por Ulloque [8], quien estudio los efectos agudos y crónicos de la cocaína sobre los niveles de GABA, Glu, Asp en ratas expuestas intraperitonealmente a dosis de cocaína de 30mg/Kg por cuatro días, encontrando un aumento de los NTS Asp y Glu con disminución de GABA en el hipocampo y núcleo accumbens, estos resultados evidencian los efectos excitatorios de la cocaína.

En nuestro trabajo la relación Excitación/Inhibición grafica N° 8 demuestra los estados de híper excitabilidad de los grupos expuestos a cocaína y cocaína adulterada con hidroxicina, con un predominio de inhibición para el grupo de hidroxicina lo que se explica por su acción depresora.

CONCLUSIONES

- 1.-Los resultados obtenidos refuerzan el concepto sobre la necesidad de conocer la composición química de las sustancias ilícitas que se incautan, lo que permite mejor control y tomar medidas de prevención sanitaria en los consumidores eventuales.
- 2.- La cocaína adulterada con la hidroxicina produce en estado de sobreexcitación, que indica un aumento de neurotransmisores aminoácidos excitatorios (Aspartato y Glutamato) en la región de cerebelo con una disminución de los NTS inhibitorios principalmente GABA, lo que conlleva a un desequilibrio en la relación Excitación/Inhibición, que se pudo observar con los resultados de la actividad locomotora horizontal
- 3.-La hidroxicina al ser mezclada con la cocaína prolonga el efecto de la cocaína generando mayor adicción, siendo entonces un adulterante de bajo costo económico que aumenta la toxicidad de la droga. Esta prolongación de los efectos de la cocaína es un daño que debe poner en alerta a la comunidad médica y a los propios consumidores.
- 4.- La adulteración de cocaína con hidroxicina produce daños hematológicos, así como también daños a nivel renal y hepático. La hidroxicina no sólo podría actuar aumentando la vida media de la cocaína, sino que también podría reforzar su uso a través de un sistema adicional de neurotransmisores.
- 5.-Los resultados presentados constituyen la primera caracterización pre-clínica en Venezuela sobre cocaína adulterada con hidroxicina.

RECOMENDACIONES

Alertar a la comunidad en general el conocimiento de la composición de las drogas de abuso y así conocer acerca de la toxicidad potencial de sus componentes y aumentar la percepción del riesgo. Siendo esta información útil para la comunidad científica, del área de la salud y para las comunidades terapéuticas.

Tabla N° 1. Comparación del peso de los animales por grupos experimentales.

Peso /semana	Grupo				P
	Control	Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada	
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Peso semana 1 (gr)	20,58 (1,79)	23,27 (2,67)*	25,05 (1,57)*	23,33 (1,00)*	0,000*
Peso semana 2 (gr)	22,44 (0,83)	24,84 (0,60)*	26,11 (1,13)*	25,66 (0,68)*	0,000*
Peso semana 3 (gr)	26,11 (0,25)	26,01 (0,39)	26,91 (0,31)*	26,51 (0,68)	0,001*
Peso semana 4 (gr)	28,66 (0,53)	26,56 (0,42)*	27,53 (0,42)*	27,27 (0,81)*	0,000*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05, DE: desviación estándar

Fuente: Portilla y Morales 2017

Tabla N° 2. Comparación del consumo de agua de los animales por grupos experimentales.

Consumo de agua /semana	Grupo				P
	Control	Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada	
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Consumo semana 1 (ml)	55,01 (3,89)	62,42 (2,82)*	45,04 (2,03)*	40,86 (1,35)*	0,000*
Consumo semana 2 (ml)	45,73 (0,73)	33,28 (0,6)*	35,44 (1,24)*	37,74 (1,35)*	0,000*
Consumo semana 3 (ml)	47,86 (0,43)	23,11 (0,83)*	21,47 (0,64)*	35,14 (1,64)*	0,000*
Consumo semana 4 (ml)	44,67 (1,51)	22,13 (1,56)*	20,14 (0,62)*	32,39 (1,22)*	0,000*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05, DE: desviación estándar

Fuente: Portilla y Morales 2017

Tabla N° 3. Comparación de la actividad locomotora de los animales por grupos experimentales.

Locomoción/semana	Control	Grupo			P	
		Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada		
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)		
Semana 2	Antes horizontal	29,00 (5,20)	69,00 (22,07)*	51,00 (13,89)	56,33 (9,29)	0,046*
	Después horizontal	32,33 (6,81)	172 (22,54)*	37,67 (15,82)	80,67 (9,29)*	0,000*
	Antes vertical	41,33 (4,16)	29,33 (5,77)	51,67 (1,53)	38,67 (13,58)	0,055
	Después vertical	44,33 (4,04)	36,33 (5,69)	29,33 (9,02)	70,67 (9,45)*	0,001*
Semana 3	Antes horizontal	30,33 (3,06)	58,67 (5,03)	70,33 (27,14)*	69,33 (9,02)*	0,032*
	Después horizontal	35,00 (5,00)	101,67 (12,58)*	32,00 (17,09)	91,00 (4,58)*	0,000*
	Antes vertical	39,33 (4,04)	28,00 (14,73)	33,67 (9,29)	40,00 (14,00)	0,562
	Después vertical	41,33 (6,11)	47,33 (15,53)	24,33 (5,13)	70,00 (10,00)*	0,004*
Semana 4	Antes horizontal	37,67 (6,03)	55,00 (10,44)	102,5 (3,54)*	118,33 (29,3)*	0,002*
	Después horizontal	44,33 (8,14)	213,33 (111,06)*	32 (16,97)	140,67 (36,9)*	0,036*
	Antes vertical	41,33 (6,11)	22,00 (14,8)	29,5 (6,36)	33,33 (4,62)	0,168
	Después vertical	45,00 (5,00)	59,67 (13,65)	16,5 (2,12)	76,33 (16,44)*	0,005*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05, DE: desviación estándar

Fuente: Portilla y Morales 2017.

Tabla N° 4. Comparación de la ubicación de los animales por grupos experimentales.

Ubicación	Grupo				P
	Control	Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada	
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Antes (sg)	33,67 (7,77)	36,00 (2,00)	1,06 (0,06)*	1,66 (0,47)*	0,000*
Después (sg)	32,00 (9,00)	23,33 (3,06)	1,21 (0,12)*	1,17 (0,05)*	0,000*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05, DE: desviación estándar

Fuente: Portilla y Morales 2017

Tabla 5. Valores hematológicos normales en ratones y obtenidos en nuestro estudio desglosado por grupo.

MUESTRA	Hto%	Hb%	Leucx10 ³ / μ/L	UREA mg/dl	CREATININA mg/dl	TGO U/L	TGP U/L
*Normal	35-45	10-20	8-10	12-20	0.7-1,3	21.7-46.5	54-184
Ratón 1 Control	38.1	16.1	4,2	15,1	0,48	40,8	101
Ratón 2 Control	38.3	15.7	5,1	19,4	0,62	46,5	96,5
Ratón 3 Control	38.5	15.9	4,1	17,5	0,56	39,9	95,1

*Normales de referencia: tener en cuenta que hay influencias considerables de raza, sexo y edad en estas cifras y hay que utilizar animales de la misma edad y sanos como controles.

Tabla Nº 6. Comparación del perfil hematológico de los animales por grupos experimentales.

Perfil hematológico	Grupo				P
	Control	Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada	
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Hto (%)	38,3 (0,20)	37,23 (0,31)	50,63 (0,50)*	44,2 (1,10)*	0,000*
Hb (g/dl)	15,9 (0,20)	11,9 (1,38)*	12,93 (0,65)*	10,98 (0,20)*	0,000*
Leucocitos (x 10 ³ /μ/L)	4,47 (0,55)	4,93 (0,81)	9,24 (0,04)*	8,98 (0,40)*	0,000*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05, DE: desviación estándar. *Normales de referencia: tener en cuenta que hay influencias considerables de raza, sexo y edad en estas cifras y hay que utilizar animales de la misma edad y sanos como controles.

Fuente: Portilla y Morales 2017

Tabla N° 7. Comparación del perfil bioquímico de los animales por grupos experimentales.

Perfil bioquímico	Grupo				P
	Control	Cocaína	Hidroxicina	Cocaína + Hidroxicina incautada	
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Urea (mg/dl)	17,33 (2,15)	63,26 (0,95)*	17,83 (1,67)	63,81 (2,00)*	0,000*
Creatinina (mg/dl)	0,55 (0,07)	1,02 (0,07)*	1,30 (0,10)*	1,50 (0,10)*	0,000*
TGO (U/L)	42,40 (3,58)	154,27 (1,01)*	45,27 (3,84)	187 (13,19)*	0,000*
TGP (U/L)	97,53 (3,08)	136,3 (14,48)*	105,07 (5,25)	158,23 (3,41)*	0,000*

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control P<0,05; DE: desviación estándar. *Normales de referencia: tener en cuenta que hay influencias considerables de raza, sexo y edad en estas cifras y hay que utilizar animales de la misma edad y sanos como controles.

Fuente: Portilla y Morales 2017.

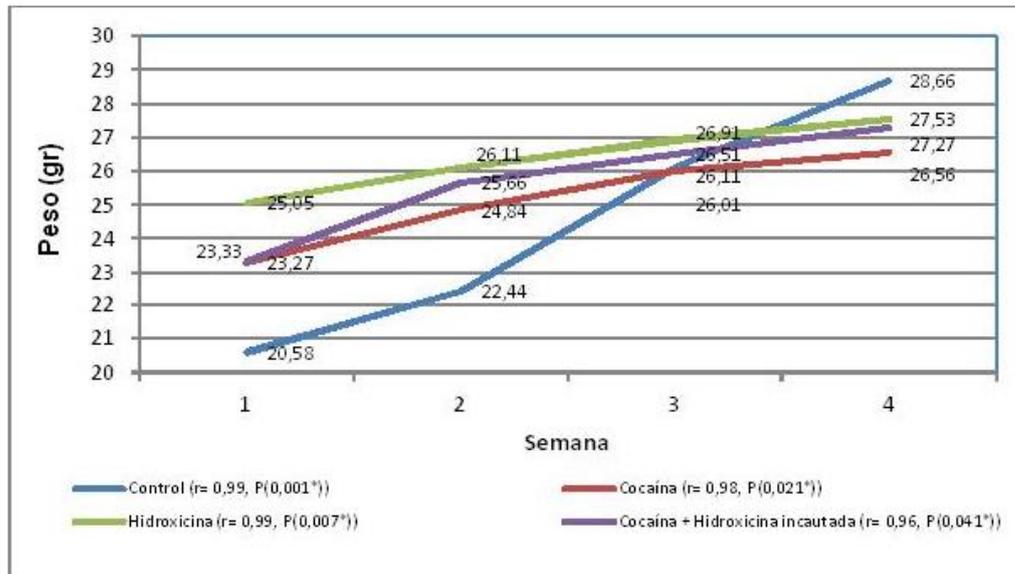
Tabla N° 8 Relación Excitación/Inhibición de los neurotransmisores aminoacídicos en cerebelo de grupos experimentales.

GRUPO	Aspartato	Glutamato	Glicina	GABA	TAURINA	E/I
CONTROL	1,81±0,76 1,66± 2,13	2,65±1,47 3,32±4,54	2,27±1,46 1,93±5,41	1,00±0,32 0,52±0,69	2,51±4,27 2,2 ± 0,83	1,02±0,15 1,18±0,09
COCAINA	0,28±0,06	0,41±0,11	0,39±0,19	2,19±0,18	0,55±0,23	0,89±0,42
HIDROXICINA	1,38±1,83	3,38±4,68	2,39±6,46	0,36±0,41	2,61±1,39	1,23±0,49
COC/HIDRO						

Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control *P<0,05, ** P=0,001, ***P <0,0001DE

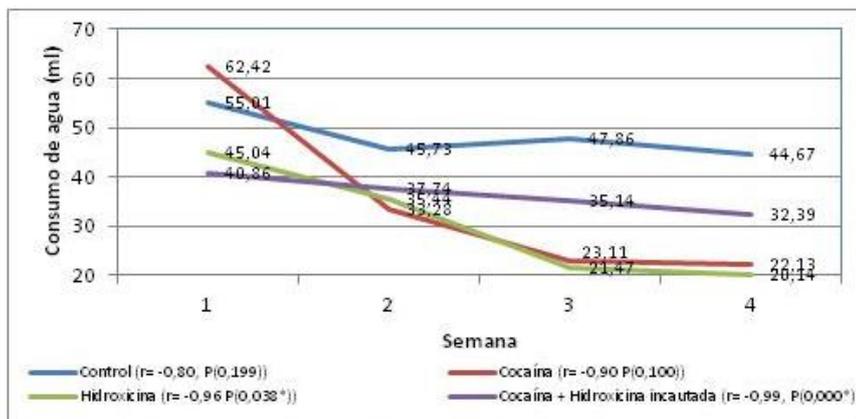
Fuente: Portilla y Morales 2017.

Gráfico N° 1. Correlación entre el peso de los animales y las semanas por grupo experimental.



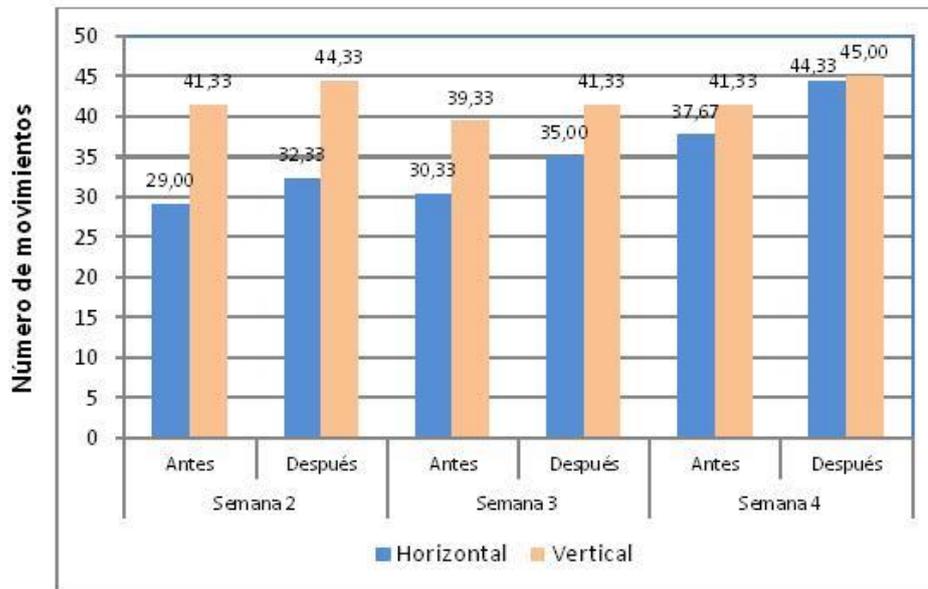
Nota: r=coeficiente de correlación de Pearson; * correlación lineal.
Fuente: Portilla y Morales 2017.

Gráfico N° 2. Correlación entre consumo de agua de los animales y las semanas por grupo experimental.



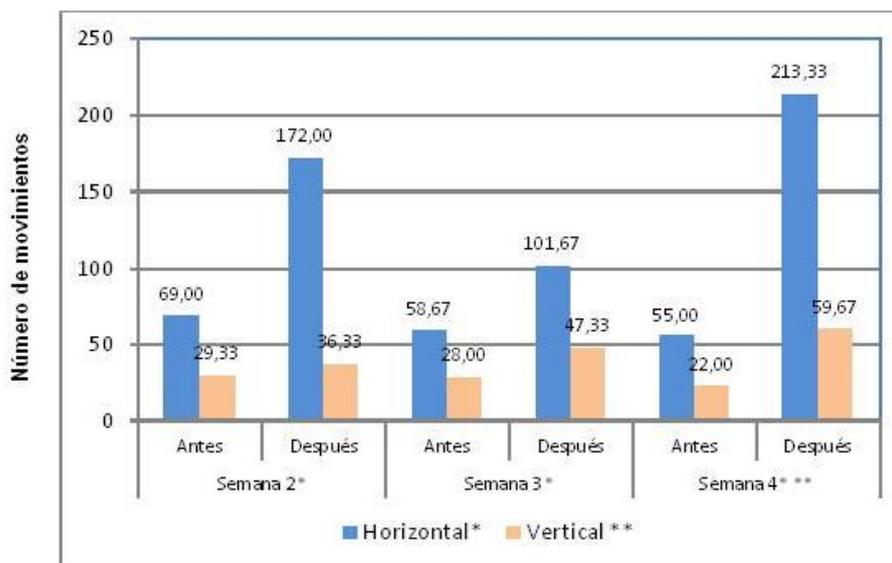
Nota: r=coeficiente de correlación de Pearson; * correlación lineal.
Fuente: Portilla y Morales 2017

Gráfico N° 3. Comparación de la actividad locomotora en el grupo control antes y después de la intervención.



Fuente: Portilla y Morales 2017.

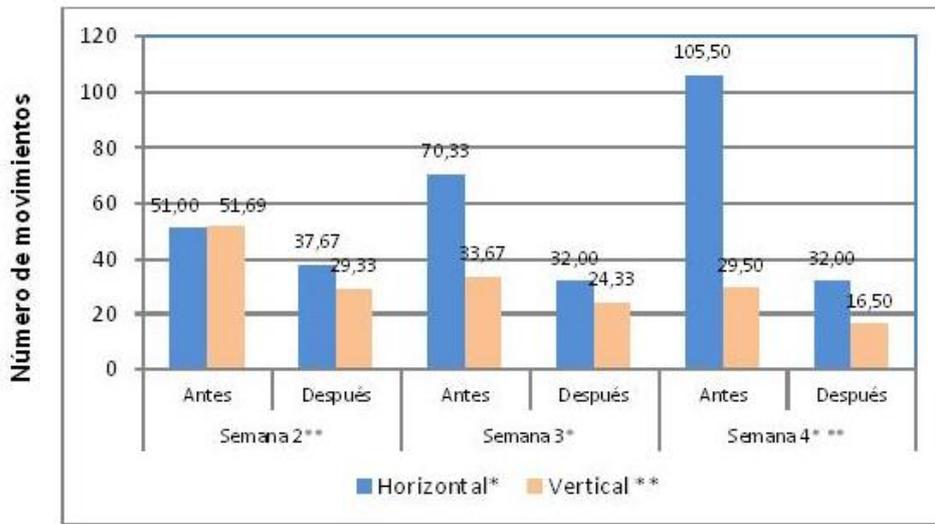
Gráfico N° 4. Comparación de la actividad locomotora en el grupo cocaína antes y después de la intervención.



Nota: basada en la prueba T muestras relacionadas; * diferencias significativas locomoción horizontal, ** diferencias significativas locomoción vertical

Fuente: Portilla y Morales 2017.

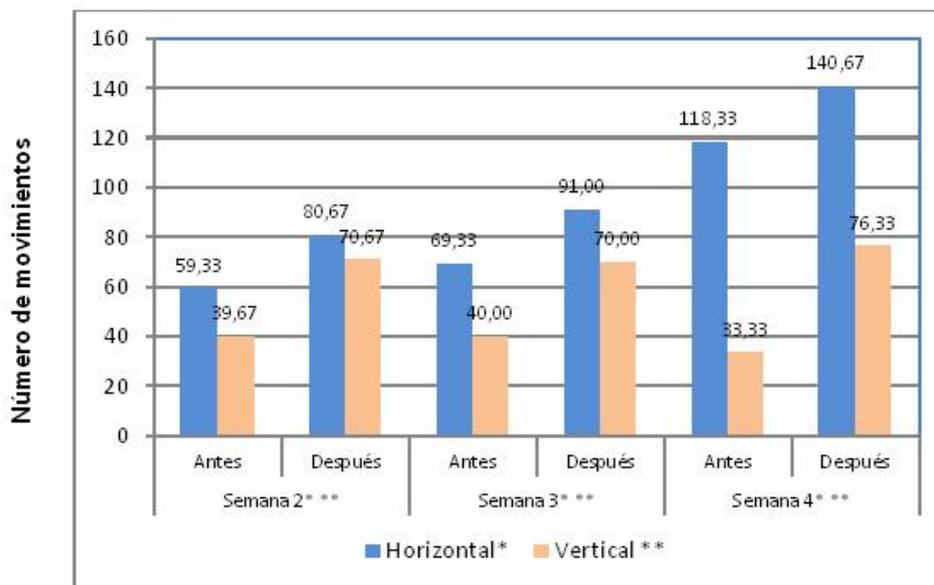
Gráfico N° 5. Comparación de la actividad locomotora en el grupo hidroxicina antes y después de la intervención.



Nota: basada en la prueba T muestras relacionadas; * diferencias significativas locomoción horizontal, ** diferencias significativas locomoción vertical

Fuente: Portilla y Morales 2017.

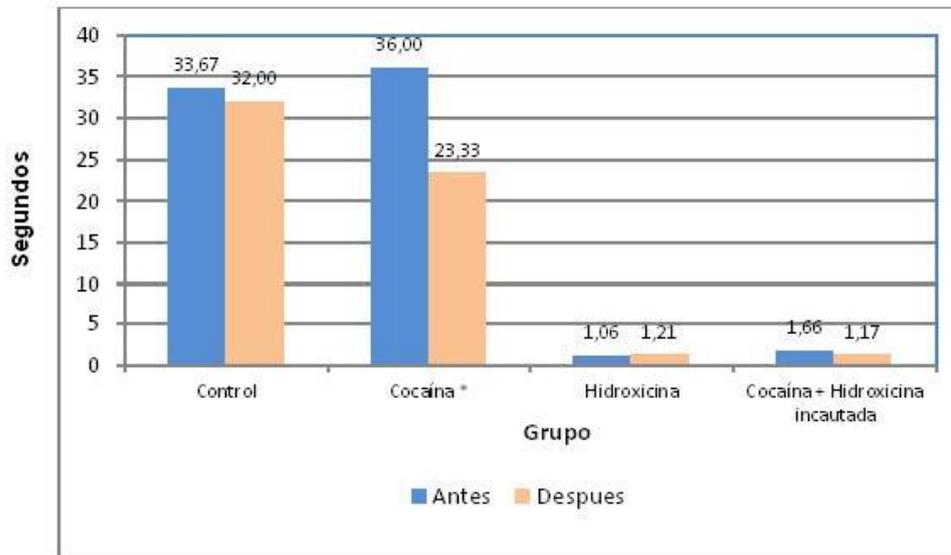
Gráfico N° 6. Comparación de la actividad locomotora en el grupo cocaína+hidroxicina incautada antes y después de la intervención.



Nota: basada en la prueba T muestras relacionadas; * diferencias significativas locomoción horizontal, ** diferencias significativas locomoción vertical

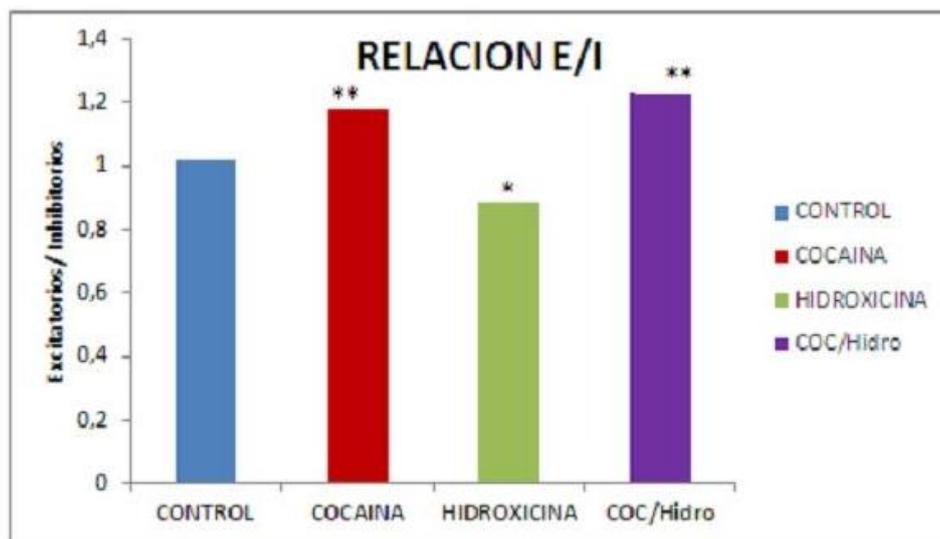
Fuente: Portilla y Morales 2017.

Figura Gráfico N° 7. Comparación de la ubicación de los animales entre los grupos antes y después de la intervención.



Nota: basada en la prueba T muestras relacionadas; * diferencias significativas
Fuente: Portilla y Morales 2017.

Gráfico N° 8. Relación Excitación/Inhibición de los neurotransmisores aminoacídicos en cerebelo de grupos experimentales



Nota: basada en análisis de varianza y prueba de Dunnett; * diferencias significativa de la media con el control *P<0,05, ** P=0,001, ***P <0,0001DE

Fuente: Portilla y Morales 2017

BIBLIOGRAFIA

1. Yasmin C Morales O; María L Di Bernardo N, Luis B Rojas F, Rosa L Aparicio Z Caracterización químico-forense de la cocaína incautada en la Región Andina-Mérida-Venezuela: peligros asociados a la adulteración con hidroxicina *RETEL/* nº46 [Marzo 16 - Julio 16].
2. Di Bernardo, M.L., Morales, Y. ONA-OVD, R., Gudiño, M., y Osorio, A. "Efectos tóxicos de la mezcla cocaína-levamisol en modelos farmacológicos". *RETEL/* nº36 [Agosto 11 - Noviembre 11].
3. Buchanan J.A, Oyer R.J, Patel N.R, Jacquel G.A, Bornikova L, Thienelt C, Shriver D.A, Shockley M.L, Wilson M.L, Huribut K.M, and Lavonas E.J. A confirmed case of agranulocytosis after use of cocaine contaminated with levamisole, vol. 6, no. 2. 2010, pp. 160–164.
4. Garzon M, William F; Parada A, Fabián and Florian R, Néstor M. "Análisis forense de muestras de cocaína producidas en Colombia: I. perfil cromatográfico de muestras de clorhidrato de cocaína". *Vitae*. 2009, vol.16, n.2, pp. 228-236.
5. Martindale, W. The Complete Drug Reference. Ed. By. Reynolds, J.E.F. 32 th Edition London, England. The Pharmaceutical Press.2009.
6. Ulloque, Rafael. "Sistema cerebral del placer y de la drogo dependencia". *Biomédica* (Bogotá). 1999, 19 (4).
7. Schwienbacher I, Fendt M, Richardson R, Schnitzler HU. "Temporary inactivation of the nucleus accumbens disrupts acquisition and expression of fear-potentiated startle in rats". *Brain Res*.2004, 1027 (1-2).
8. Rafael A, Ulloque. "Efectos de la cocaína sobre los niveles de Y-aminobutirato, glutamato y aspartato en el núcleo accumbens e hipocampo de ratas". *Biomédica*. 2001, 21(003).
9. Cabrera Bonnet R, Torrecilla Jiménez JM. *Manual de drogodependencias*. Madrid: Cauce, 1998.
10. Gawiny Ellinwood; Gawin; Platt, Meikle M, Urbanavicius J, Prunell G, Umpierrez E, Abin-Carraquiry A, Scorza M. Primer estudio pre-clínico de la acción de pasta base de cocaína en el sistema nervioso central. *Rev Psiquiatr Urug* 2009; 73(1):25-36.
11. Bellebaum C y Daum I. Cerebellar involvement in executive control. *Cerebellum*.2007; 6: 184–192.
12. Vázquez- Sanroman, D., Carbo-Gas, M., Leto, K. et al. Cocaine-induced plasticity in the cerebellum of sensitised mice *Psychopharmacology*. 2015 (232), pp 4455–4467.
13. Wang Z. y Woolverton W. "Super-additive interaction of the reinforcing effects of cocaine and H1-antihistamines in rhesus monkeys" *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2009; (91):590–595.

14. Thiruchelvam M, Brockel BJ, Richfield EK, Baggs RB, Cory-Slechta DA. Potentiated and preferential effects of combined paraquat and maneb on nigrostriatal dopamine systems: environmental risk factors for Parkinson's disease? Brain Res. 2000;873(2):225-234.
15. William Medway, D.V.M., James E. Prier, John S. Wilkinson. Patología Clínica Veterinaria. Editorial UTEHA, México. 1990.
16. Jubb K.V.F, Peter C. Kennedy. Patología de los animales domésticos. Editorial LABOR. 1973.
17. Furaz K, Bernis C, Cirugeda A, Pérez A, Sánchez JA. Infarto renal e insuficiencia renal aguda por consumo de cocaína. Nefrología (2008); 3:347-9.
18. Guillermo Burillo-Putze, Óscar Miró, Alberto Domínguez-Rodríguez, Santiago Nogué Xarau. Síndrome coronario agudo y cocaína: la punta del iceberg Medicina Clínica (2010); 135 (11), 9:527-29.
19. Bankole Johnson, Dennis Overton, Lynda Wells, Paul Kenny, David Abramson, Sukhjinder Dhothar, Y. Richard Chen, Patrick Bordnick. Effects of acute intravenous cocaine on cardiovascular function, human learning, and performance in cocaine addicts. Psychiatry Research.(1998): 77(1): 35-42.
20. Tellez J. y Cote M. "Efectos toxicológicos y Neuropsiquiátricos producidos por consumo de cocaína". Rev Fac Med Unic Nac Colomb 2005 vol.53 No.1:10-26.
21. Di Bernardo M, Castro A, Rondón C, Yépez J, Morales Y, González D. Evaluación de los parámetros bioanalíticos y pH salival en ratones inducidos experimentalmente a adicción a la cocaína y bajo tratamiento con agua de mar isotónica como terapia de "habilitación". RETEL. 2016:49-77.
22. M. Picazo Sánchez, M. Cuxart Pérez, F. Martín Romero, R. Sans Lorman. Consumo de cocaína, hipertensión arterial y enfermedad renal crónica. Nefrología (2010); 30(6):706-707.
23. Mogenson, G.J., Jones, D.L. y Yim, C.Y. (1980) "From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system" Prog Neurobiol. 14(2-3): 69-97.

Recibido: 23/07/18

Aceptado: 23/07/18

Disponible en Retel / nº53 [Junio 18 -] URL:

<https://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=980>