

Implicancias clínicas de metiltransferasas de moléculas pequeñas

Clinical implications of small molecule-methyltransferases

Implicações clínicas de metiltransferases de pequenas moléculas

- Alicia Beatriz Pomilio^{1a,b}, Martín Gustavo Vitale^{2c},
Jorge Oscar Ciprian Ollivier^{3a}, Arturo Alberto Vitale^{4a,b}

¹ Doctora de la Universidad de Buenos Aires (Ph. D.), Investigadora Superior de CONICET.

² Médico. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

³ Doctor de la Universidad de Buenos Aires (Ph. D.), Médico Psiquiatra. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

⁴ Doctor en Ciencias Químicas (Ph. D.), Universidad de Buenos Aires.

^a Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL; UBA y CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Junín 956, C1113AAD Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. E-mail: pomilio@ffyb.uba.ar

^b Área Hematología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Av. Córdoba 2351, C1120AAR, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

^c Hospital Infante Juvenil "Dra. Carolina Tobar García". Dirección: Doctor Ramón Carrillo 315, C1275AHG. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Todos los autores contribuyeron de igual manera a este trabajo.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Resumen

Se encaran las metilaciones naturales y aquellas patológicas relacionadas con disfunciones en el metabolismo de un carbono (C₁) correspondiente a los ciclos de folato y de metionina. Dado que las enzimas que intervienen en este tipo de reacciones son las metiltransferasas, se analizan las correspondientes a humanos, y mamíferos en general, dependientes de S-adenosil-L-metionina (SAMe). Un papel importante corresponde a las llamadas metiltransferasas de moléculas pequeñas, las cuales fueron dejadas de lado durante años, pero han resurgido pues algunas intervienen en procesos de alteración de la percepción en humanos. En este trabajo se pone énfasis en la importancia clínica de la activación y/o inhibición de algunas metiltransferasas de moléculas pequeñas, con ejemplos referidos a: feniletanolamina-N-metiltransferasa, catecol-O-metiltransferasa (COMT), histamina-N-metiltransferasa, 5-hidroxiindol-O-metiltransferasa (HOMT) e indoletilamina-N-metiltransferasa (INMT). Se hace un análisis histórico de las metiltransferasas que actúan sobre sustratos indólicos, con énfasis en indol-N-metiltransferasas, en particular indoletilamina-N-metiltransferasa, con sus características y localización, así como su importancia en esquizofrenia. A continuación se analiza la posible etiología de la esquizofrenia, destacando las disfunciones y deterioros generados en los ciclos de folato y de metionina. En este aspecto se analizan las implicancias clínicas de la metilación, con énfasis en la disfunción serotoninérgica en esquizofrenia, ejemplificando con investigaciones de este laboratorio en pacientes y en conejos.

Palabras clave: metilación * metiltransferasas de moléculas pequeñas * metabolismo de un carbono * indoletilamina-N-metiltransferasa * disfunción serotoninérgica * esquizofrenia.

Summary

Natural methylations, and those pathological related with dysfunctions in one-carbon metabolism involving the folate and methionine cycles are addressed herein. Since the enzymes that catalyze these reactions are methyltransferases, we analyze those S-adenosyl-L-methionine (SAMe)-dependent

enzymes occurring in humans, and mammals in general. An important role is played by the so-called small-molecule methyltransferases, which were neglected for years, but have reappeared as some of them are involved in altering perception in humans. In this work the clinical importance of the activation and/or inhibition of some small-molecule methyltransferases is emphasized, illustrated by reference to phenylethanolamine N-methyltransferase, catechol O-methyltransferase (COMT), histamine N-methyltransferase, 5-hydroxyindole O-methyltransferase (HOMT), and indoleethylamine N-methyltransferase (INMT). A historical analysis of methyltransferases acting on indole substrates is carried out, with emphasis on indole N-methyltransferases, particularly characteristics and location as well as importance in schizophrenia of indoleethylamine N-methyltransferase. Then, the possible etiopathology of schizophrenia is discussed, highlighting malfunctions and damages arising from folate and methionine cycles. In this regard clinical implications of methylation are discussed, with emphasis on serotonergic dysfunction in psychiatric disorders and schizophrenia, exemplifying with research of this laboratory in patients and rabbits.

Keywords: methylation * small-molecule methyltransferases * one-carbon metabolism * indoleethylamine N-methyltransferase * serotonergic dysfunction * schizophrenia

Resumo

Metilação naturais, e aquelas patológicas relacionadas com disfunções no metabolismo de um carbono que envolvem os ciclos de folato e metionina são aqui abordados. Como as enzimas envolvidas nestas reacções são metiltransferases, analisamos as enzimas dependentes de S-adenosil-L-metionina (SAME) que ocorrem nos humanos e mamíferos em geral. Um papel importante é desempenhado pelos chamadas metiltransferases de pequenas moléculas, as quais foram negligenciadas por anos, mas ressurgiram como alguns deles estão envolvidos em processos de alterações de percepção em seres humanos. Neste trabalho, a importância clínica da activação e/ou inibição de algumas metiltransferases de pequenas moléculas são enfatizados, ilustrado por referência aos phenylethanolamine N-metiltransferase, catecol O-metiltransferase (COMT), histamina N-metiltransferase, 5-hidroxi-indole O-metiltransferase (HOMT) e indoletilamina N-metiltransferase (INMT). A análise histórica do methyltransferases que actuam em substratos de indole é realizada, com ênfase em indole N-metiltransferases, principalmente indoletilamina N-metiltransferase, com suas características e localização, bem como a sua importância na esquizofrenia. Em seguida, a possível etiologia da esquizofrenia é discutido, destacando as avarias e danos gerados nos ciclos de folato e metionina. Neste aspecto são discutidas as implicações clínicas de metilação, com ênfase na disfunção serotoninérgica em esquizofrenia, exemplificando com a investigação deste laboratório em pacientes e coelhos.

Palavras-chave: metilação * metiltransferases de pequenas moléculas * metabolismo de um carvão • indoletilamina N-metiltransferase • disfunção serotoninérgica • esquizofrenia

Introducción

En el organismo existe un proceso de metilación natural y necesario para el mantenimiento de las macromoléculas. Así, la metilación juega un papel importante en numerosos sistemas biológicos, como transducción de señales, biosíntesis, reparación de proteínas, silenciamiento de genes y regulación de la cromatina (1). La metilación se realiza mediante metiltransferasas que transfieren un grupo metilo de un donador a un aceptor; estas enzimas utilizan un grupo metilo reactivo unido a azufre como S-adenosil-L-metionina (SAME, también conocida como AdoMet o SAM). La metilación es fundamental para la regulación de muchos procesos biológicos: más de 50 metiltransferasas dependientes de SAME metilan un amplio espectro de compuestos celulares, como: ácidos nucleicos, proteínas y lípidos (2). Se conocen ADN-metiltransferasas, ARN-metiltransferasas, lípidos-metiltransferasas, proteínas-metiltransferasas y metiltransferasas de moléculas pequeñas. En muchos casos, se han descrito el gen y la enzima. En otros, la presencia

de una metiltransferasa está sólo inferida por un producto metilado bien caracterizado. Variantes creadas por reacciones de *splicing* de ARN y otros procesos aumentan aún más la diversidad de las metiltransferasas (3).

Asimismo, se conoce el proceso de transmetilación patológica asociado a trastornos neuropsiquiátricos, que este grupo de investigación viene estudiando desde hace un tiempo (4-15), en el que están implicadas metiltransferasas de moléculas pequeñas, que serán tratadas en este trabajo.

Metiltransferasas de humanos, y mamíferos en general, dependientes de S-adenosil-L-metionina (SAME)

Hay más de 150 enzimas metiltransferasas documentadas, muchas de ellas con muy diferentes estructuras generales, pero con propiedades muy similares dentro del sitio activo. La transferencia de metilo es un buen ejemplo de evolución convergente con más del 95% de estas enzimas que utilizan SAME como donante del gru-

po metilo y es una vía importante en el metabolismo de compuestos tanto xenobióticos como endógenos. SAME es el segundo cofactor enzimático más comúnmente utilizado después de ATP.

Muchos fármacos sufren metilación, como lo hacen los neurotransmisores, las hormonas, las proteínas, los lípidos, los polisacáridos y los ácidos nucleicos; la metilación es fundamental para el control de la transcripción de genes (16).

Cada una de las metiltransferasas dependientes de SAME cataliza una reacción, dando lugar a dos productos: S-adenosil-L-homocisteína y uno de una variedad de biomoléculas metiladas, como: ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y moléculas pequeñas. La S-adenosil-L-homocisteína es subsiguientemente descompuesta a adenosina y homocisteína mediante la enzima S-adenosil-L-homocisteína-hidrolasa (3) (Fig. 1).

Las metiltransferasas dependientes de SAME, que actúan sobre varios sustratos que aceptan grupos metilo (Fig. 1), son inhibidas mediante S-adenosil-L-homocisteína (17), que se acumula en presencia de homocisteína debido a que el equilibrio de la reacción de S-adenosilhomocisteína-hidrolasa favorece su formación.

La homocisteína formada puede ser metilada nuevamente para dar metionina, o bien, convertida en cisteína *vía* cistationina (18). Por lo tanto, estas metiltransferasas son bifuncionales; constituyen una parte esencial de la vía para la conversión de metionina en cisteína, además de generar productos metilados (3).

Niveles anormales de SAME se han relacionado con diversas patologías, como por ejemplo: depresión de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, insuficiencia hepática y cáncer (19).

Común a todas las reacciones de metiltransferasas dependientes de SAME es la liberación del fuerte inhibidor S-adenosil-L-homocisteína, como subproducto de la reacción (Fig. 1). La S-adenosil-L-homocisteína-hidrolasa es la única enzima eucariótica capaz de la hidrólisis reversible de S-adenosil-L-homocisteína en adenosina y homocisteína, disminuyendo la inhibición de las metiltransferasas provocada por ese compuesto. El deterioro de la actividad de S-adenosil-L-homocisteína-hidrolasa en humanos causa la acumulación de S-adenosil-L-homocisteína y consecuencias patológicas graves (20). La hiperhomocisteinemia, que se caracteriza por niveles elevados de homocisteína en sangre, también exhibe un fenotipo similar

de acumulación de S-adenosil-L-homocisteína debido a la inversión de la dirección de la reacción de S-adenosil-L-homocisteína-hidrolasa (Fig. 1). La inhibición de esta enzima también está relacionada con efectos antivirales. Recientemente se han discutido las patologías asociadas a la acumulación de S-adenosil-L-homocisteína (20).

Metiltransferasas de moléculas pequeñas

Las metiltransferasas de moléculas pequeñas son cruciales para inactivar hormonas y neurotransmisores y transformar otro tipo de pequeñas moléculas endógenas y xenobióticas para su eliminación corporal. Se conocen unas siete enzimas de esta clase que participan en reacciones de *N*-, *O*- y *S*-metilación.

La *N*-metilación *in vivo* no es fácilmente reversible y los aminoácidos blanco son: lisina, histidina, arginina, glutamina y asparagina. Las reacciones de *N*-metilación juegan un rol metabólico importante en la terminación de la acción de histamina y en la formación de epinefrina (adrenalina) a partir de norepinefrina (noradrenalina). Entre las *N*-metiltransferasas que catalizan la inactivación de neurotransmisores/hormonas se encuentran: **histamina-*N*-metiltransferasa** (HNMT, EC 2.1.1.8) que actúa sobre histamina (21), **feniletanolamina-*N*-metiltransferasa** (PNMT, EC 2.1.1.28; gen *PNMT*) que actúa sobre feniletanolamina como sustrato y cataliza la síntesis de epinefrina (22) y que también posee actividad de β -carbolina-²*N*-metiltransferasa (β C-2-NMT, EC 2.1.1.28; gen β C-2-NMT) que convierte β -carbolicinas, como norharmalano y harmalano, en cationes de β -carbolicinio ²*N*-metilados que son análogos estructurales y funcionales de la toxina catión 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) inductora de Parkinson (23) (24) y, por último, **indoletilamina-*N*-metiltransferasa** (INMT, EC 2.1.1.49; gen *INMT*) (nombre sistemático: S-adenosil-L-metionina:amina-*N*-metiltransferasa; sinónimos: amina-*N*-metiltransferasa; nicotina-*N*-metiltransferasa, triptamina-*N*-metiltransferasa, arilamina-*N*-metiltransferasa) que participa en el metabolismo de triptofano, teniendo como sustratos a la triptamina y otras indoletilaminas relacionadas (25) (26). La nicotina-*N*-metiltransferasa (NMT, EC 2.1.1.49) aparentemente involucrada en la eliminación del exceso de compuestos de piridina de las células (27-29) perteneció al grupo EC 2.1.1.81 hasta

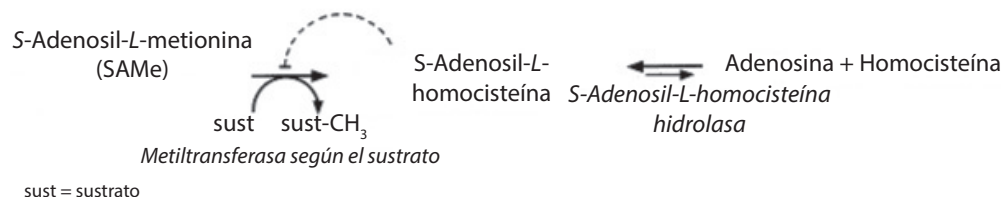


Figura 1. Relación metabólica entre S-adenosilmetionina (SAME), S-adenosil-L-homocisteína y homocisteína en células de mamíferos. |---: Indica inhibición.

1990, época en que se la incluyó en EC 2.1.1.49, como INMT. La pérdida de la actividad de inactivación de neurotransmisores podría afectar la función cerebral.

Los blancos de la *O*-metilación son catecoles, hidroxiindoles y los grupos carboxilo de las proteínas; estas reacciones pueden ser reversibles. Por lo tanto, la *O*-metilación reversible de glutamatos y aspartatos produce ésteres metílicos de una vida finita, que se relacionan a la función de la proteína. La *O*-metiltransferasa más importante es **catecol-*O*-metiltransferasa** (COMT, EC 2.1.1.6) que actúa sobre dopamina, norepinefrina y epinefrina, catalizando la inactivación de estos neurotransmisores/hormonas. Otro ejemplo de este grupo es **hidroxiindol-*O*-metiltransferasa** (HIOMT, EC 2.1.1.1; gen *HIOMT*) (30), también llamada *N*-acetilserotonina-*O*-metiltransferasa (ASMT, EC 2.1.1.1; gen *ASMT*) que transfiere un grupo metilo a *N*-acetilserotonina dando melatonina (*N*-acetil-5-metoxitriptamina). La pérdida de actividad de estas metiltransferasas causará también niveles anormales de neurotransmisores y malfuncionamiento neurológico.

La función principal de la *S*-metilación es la detoxificación de xenobióticos. En realidad se conocen unas cuatro metiltransferasas que participan en el metabolismo celular no sólo de compuestos que contienen azufre, sino también de aquellos que poseen selenio y arsénico. Los aceptores de metilo de estas enzimas pueden representar productos normales del metabolismo (como sulfuro de hidrógeno) o compuestos xenobióticos. Entre las enzimas que reconocen especies que

contienen sulfhidrilos (-SH) se encuentran **tiol-*S*-metiltransferasa** (TMT, EC 2.1.1.9) unida a membrana y **tiopurina-*S*-metiltransferasa** soluble (TPMT, EC 2.1.1.67) (21, 31). Esta última desempeña un papel clave en el metabolismo de los fármacos de tiopurina contra el cáncer e inmunosupresores; no se conoce el sustrato endógeno. El rol desempeñado por el polimorfismo genético de *TPMT* en la profunda mielotoxicidad inducida por medicamentos tiopurínicos, como azatioprina, mercaptopurina (MP) y tioguanina (TG), es un ejemplo bien validado de la importancia clínica de la farmacogenética; un ejemplo clásico de la investigación farmacogenómica aplicada (16).

Importancia clínica de la activación y/o inhibición de algunas metiltransferasas de moléculas pequeñas

- FENILETANOLAMINA-N-METILTRANSFERASA:

La epinefrina (adrenalina) está presente en el cerebro a niveles más bajos que las otras catecolaminas y es sintetizada por metilación del grupo amino de la cadena lateral de la norepinefrina (noradrenalina) mediante la enzima feniletanolamina-*N*-metiltransferasa, con SAMe como cofactor (32) en el citosol de las neuronas adrenérgicas y de las células cromafínicas de la médula adrenal. La formación de epinefrina es la reacción fundamental en el mecanismo del estrés (Fig. 2).

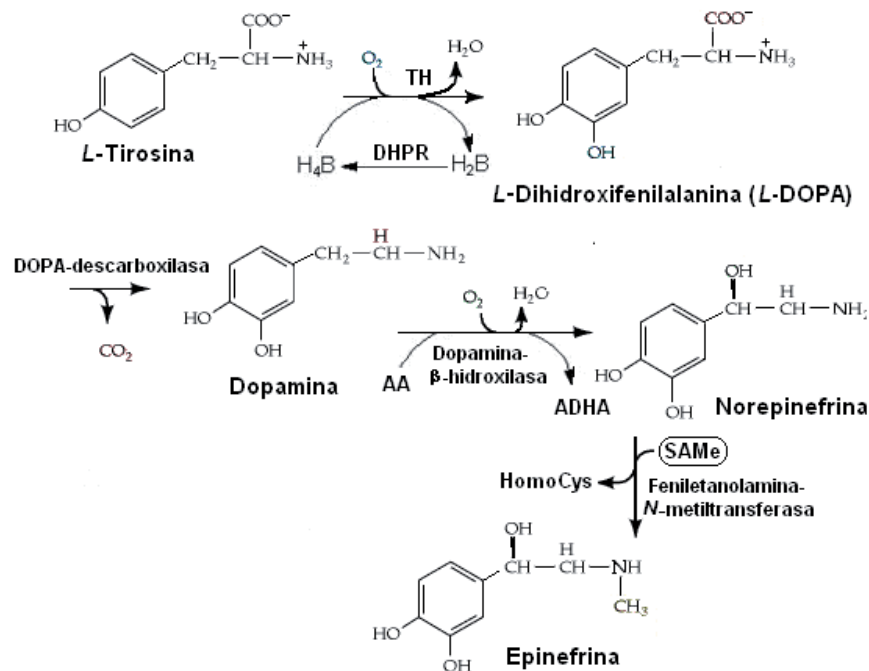


Figura 2. Biosíntesis de las catecolaminas neurotransmisoras. El aminoácido L-tirosina es el precursor de las tres catecolaminas. El primer paso en esta vía de reacción está catalizado por la enzima tirosina-hidroxilasa (TH), que es limitante de la velocidad.

Abreviaturas: TH = tirosina-hidroxilasa, DHPR = dihidropterina-reductasa, H₂B = dihidrobiopterina, H₄B = tetrahidrobiopterina, AA = ácido ascórbico, ADHA = ácido deshidroascórbico, SAMe = S-adenosilmetionina, HomoCys = homocisteína.

Para que la norepinefrina sirva como sustrato de la enzima feniletanolamina-*N*-metiltransferasa en el citosol, primero debe ser trasladada fuera de los gránulos de las células cromafínicas a través del intercambiador catecolaminas-H⁺, o sea el transportador VMAT₁ (del inglés: *vesicular monoamine transporter 1*: transportador vesicular de monoaminas I), el cual también es responsable de transportar la epinefrina recién sintetizada de vuelta del citosol a los gránulos de las células cromafínicas, desde donde es liberada fuera de la célula.

En las células hepáticas, la epinefrina se une al receptor adrenérgico β, que se combina y ayuda a las proteínas G_s, un tipo de proteínas G, que intervienen a través de varios mecanismos en la conversión de ATP en AMP cíclico (AMPC). El AMP cíclico se une a una subunidad reguladora de la proteín-kinasa A y la proteín-kinasa A fosforila a la fosforilasa-kinasa, la cual fosforila a su vez a la glucógeno-fosforilasa, que luego fosforila el glucógeno y lo convierte en glucosa-6-fosfato (33). Este es el mecanismo por el cual el hígado libera glucosa en situaciones de estrés, que de prolongarse pueden ocasionar un desequilibrio funcional como la hipoglucemia por hiperactividad pancreática.

- CATECOL-O-METILTRANSFERASA (COMT):

Las dos enzimas principales implicadas en el catabolismo de las catecolaminas (Fig. 3) son: monoaminoxidasa (MAO) y catecol-*O*-metiltransferasa (COMT). Tanto las neuronas como la glía contienen MAO mitocondrial y COMT citoplasmática.

MAO es una enzima localizada en su mayor parte en la membrana externa de las mitocondrias, que cataliza la desaminación oxidativa de las catecolaminas (34). Las principales funciones de esta enzima consisten en metabolizar las aminas de la dieta, las catecolaminas intraneuronales, las circulantes y sus metabolitos *O*-metilados. MAO se encuentra principalmente en el tejido neuronal, aunque también está presente en otros tejidos extraneuronales. En base a la especificidad de sustrato, sensibilidad a inhibidores, análisis genético y anticuerpos monoclonales se han descrito dos formas de MAO, los subtipos MAO-A y MAO-B (34). El subtipo A tiene mayor afinidad por la norepinefrina (noradrenalina), mientras que la dopamina es buen sustrato para ambas formas de la enzima (34).

COMT (35) es una enzima citoplasmática presente en tejidos neuronales o extraneuronales que transfiere grupos metilo de SAME al grupo hidroxilo de la posición *meta* de las catecolaminas y otros compuestos catecólicos y que requiere Mg⁺² para actuar. La enzima COMT metaboliza las catecolaminas circulantes en el hígado y riñón, y las localmente liberadas en el tejido efector (35). Ha sido demostrada la importancia de la *O*-metilación en el metabolismo de las catecolaminas circulantes y las liberadas localmente respecto de la desaminación oxidativa.

El metabolismo de inactivación de las catecolaminas liberadas se produce mediante tres mecanismos, no excluyentes entre sí, que son: recaptación, transformación metabólica (desaminación, metilación y conjugación) y excreción renal (36) (37).

La inactivación por captación de la norepinefrina liberada es particularmente importante en las terminaciones nerviosas simpáticas post-ganglionares, siendo el rol de recaptación menos importante en la inactivación de la epinefrina (adrenalina) circulante. Este proceso de captación neuronal o *captación 1* es un proceso muy rápido, cuya eficiencia en los tejidos es proporcional a la densidad de la inervación simpática. Es un proceso de transporte a través de membrana, saturable y que requiere energía. Tiene gran afinidad por norepinefrina, pero puede incorporar otras sustancias de estructura similar. En la *captación 1*, interviene una Na⁺/K⁺-ATPasa, por lo que este proceso puede ser disminuido por inhibidores de esta enzima, como ouabaína. Es inhibido específicamente por cocaína y antidepresivos tricíclicos como desipramina (36-38).

Las catecolaminas también pueden ser captadas por tejidos extraneuronales (*captación 2*); es un proceso que carece de especificidad, es independiente de la presencia de Na⁺ y Ca⁺² extracelulares y no es inhibido por cocaína. Todas las catecolaminas son sustratos aptos para este tipo de captación que no se relaciona directamente con el SNC, sino con otras células: músculo cardíaco, músculo liso, células glandulares, etc. Es bloqueado por corticosteroides (por lo que se lo denomina también corticoide-sensible), por los metabolitos *O*-metilados de las catecolaminas y por β-haloalquilaminas, un grupo de drogas bloqueantes irreversibles de los receptores α-adrenérgicos (36) (37).

La vida media biológica de las catecolaminas circulantes oscila entre 10 y 100 segundos. La concentración plasmática de las catecolaminas fluctúa ampliamente debido a su labilidad durante su determinación y, además, a que cerca del 50% de estos compuestos en plasma se encuentra asociado débilmente con la albúmina (39).

Las catecolaminas y sus metabolitos pueden ser conjugados con sulfatos o ácido glucurónico, permitiendo su excreción renal por tratarse de compuestos hidrosolubles. En el hombre predomina la conjugación a sulfatos por acción de la enzima fenolsulfotransferasa que se encuentra en altas concentraciones en plaquetas, cerebro, hígado e intestino. La epinefrina y la norepinefrina circulan en forma conjugada en aproximadamente un 60%, mientras que la dopamina plasmática está conjugada en un 99-100% (40).

En la periferia, el ácido vainillilmandélico (VMA) es el metabolito principal de las catecolaminas (Fig. 3) y se excreta no conjugado en orina. Un metabolito menor (aunque es el metabolito principal en el SNC) es el MHPG o MOPEG (Fig. 4), que se conjuga parcialmente con sulfato o derivados de glucurónidos y se excreta en

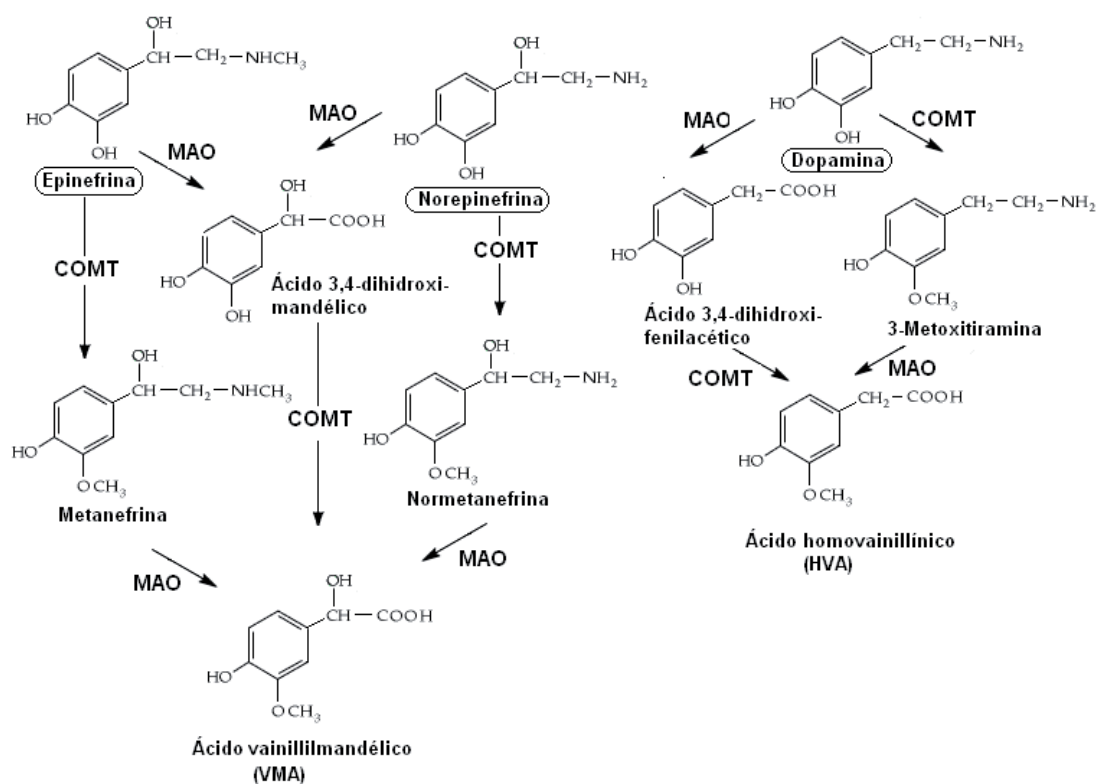


Figura 3. Catabolismo de las catecolaminas. Enzimas participantes: MAO = monoamino-oxidasa; COMT = catecol-O-metiltransferasa.

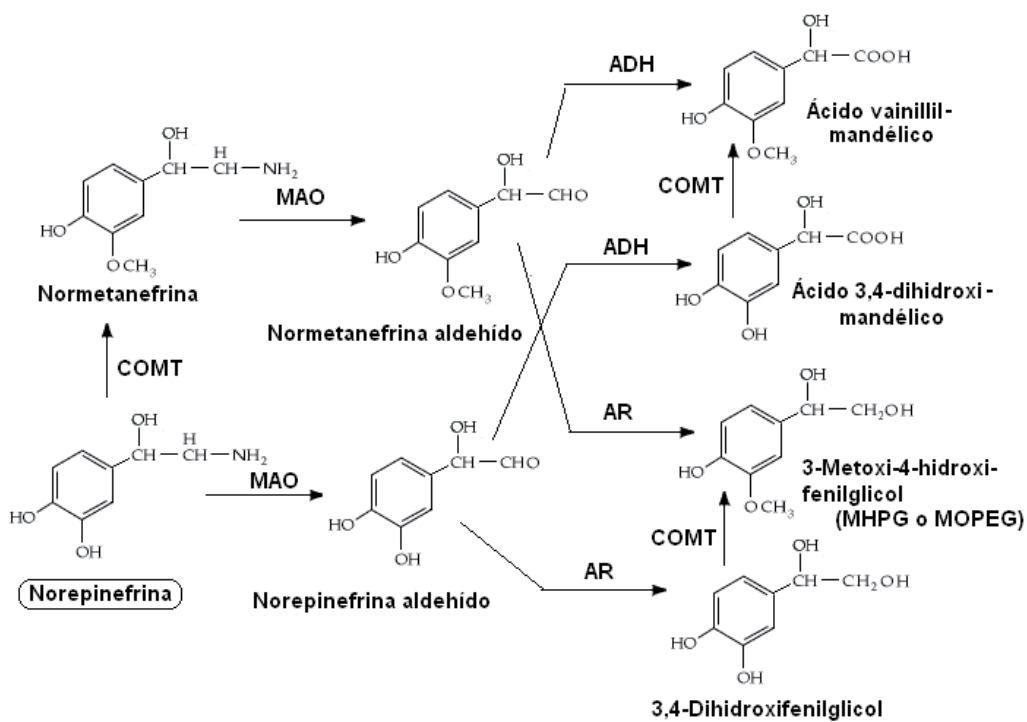


Figura 4. Catabolismo de norepinefrina que muestra la formación de glicoles como 3,4-dihidroxifenilglicol y 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG o MOPEG). Enzimas participantes: ADH: aldehído-deshidrogenasa; AR: aldehído-reductasa; COMT: catecol-O-metiltransferasa; MAO: monoamino-oxidasa.

orina (41), considerándose como un marcador de un subtipo de depresiones y tendencia a trastornos bipolares cuando sale de rango en menos o en más.

Fenómeno muy semejante es la excreción del ácido homovainillínico (también llamado en el medio médico: ácido homovanílico; HVA) en orina, metabolito de dopamina (Fig. 3), que expresa otro tipo de depresión; en varios de estos casos incluso precede la aparición de un Parkinsonismo. Ambos catabolitos, MOPEG y HVA, y sus disfunciones son orientativos en la elección de la terapéutica correcta.

Se conocen datos que sugieren que las anomalías heredables de la función dopaminérgica prefrontal son características de la esquizofrenia y pueden estar relacionadas con la enzima catecol-*O*-metiltransferasa (COMT) en el procesamiento de la información prefrontal, mediado por dopamina, en la memoria operativa (42). Los inhibidores de COMT pueden mejorar la memoria operativa tanto en roedores como en humanos (43). En este aspecto, en el año 2001 se demostró que en esquizofrénicos se produce a tasas altas un polimorfismo de *COMT* (un residuo de valina en una posición de una metionina: Val/Met) que da una enzima COMT cuatro veces más activa. Este alelo de alta actividad perjudica la cognición y la fisiología prefrontal, y se manifiesta una activación cerebral ineficiente por resonancia magnética funcional (fMRI). Sin embargo, un estudio reciente en 2.800 personas

excluye una relación simple entre esquizofrenia y la variante Val/Met que se pensaba anteriormente que dominaba la función de COMT. Existen controversias al respecto (44-46).

- HISTAMINA-N-METILTRANSFERASA:

La histamina se produce a partir del aminoácido *L*-histidina mediante la enzima histidina-decarboxilasa y se metaboliza por la acción combinada de histamina-*N*-metiltransferasa y MAO (Fig. 5) (47). Altas concentraciones de histamina e histamina-decarboxilasa se encuentran en las neuronas del hipotálamo que envía proyecciones escasas, pero extendidas, a casi todas las regiones del cerebro y de la médula espinal. Las proyecciones centrales de histamina median la excitación y la atención, siendo similar a la acetilcolina (ACh) central y a las proyecciones de norepinefrina (48). Esto explica en parte por qué los antihistamínicos que cruzan la BHE, como difenhidramina (Benadryl®), actúan como sedantes. La histamina también se libera de los mastocitos en respuesta a reacciones alérgicas o daño tisular. La estrecha proximidad de los mastocitos a los vasos sanguíneos, junto con la acción potente de histamina sobre los mismos, aumenta la posibilidad de que este compuesto pueda influir en el flujo sanguíneo cerebral (47). Modernos antipsicóticos tienen una indiscutida acción sobre los receptores histamínicos.

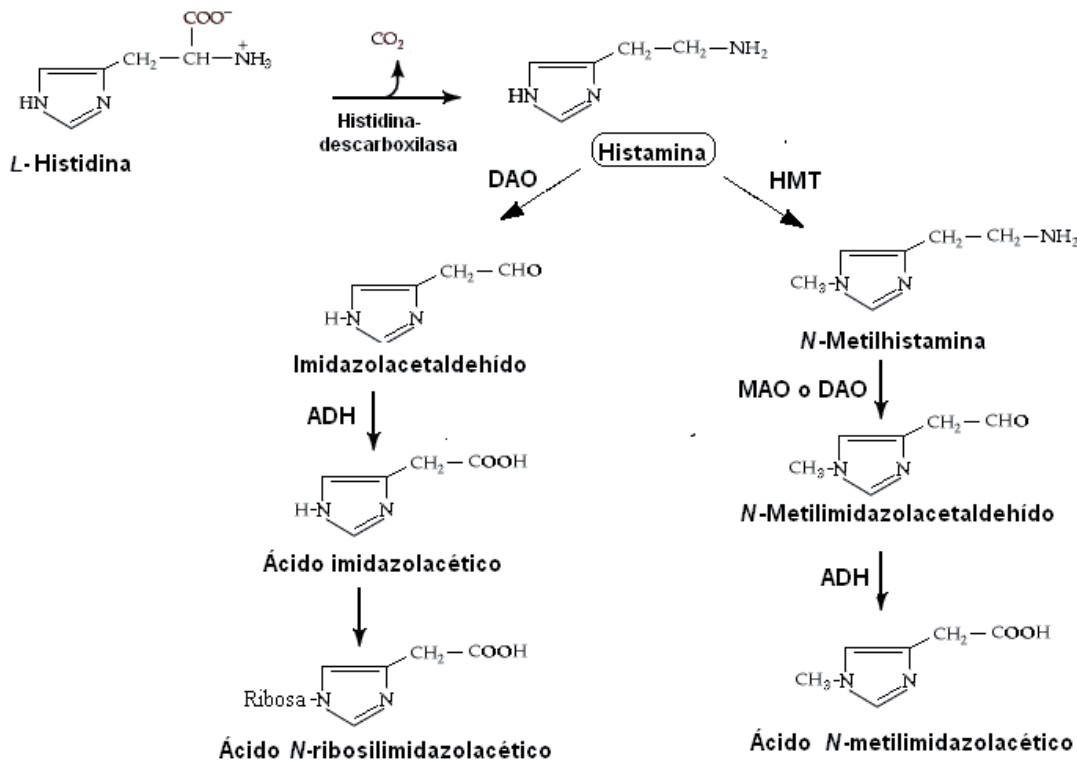


Figura 5. Biosíntesis y catabolismo de histamina. La histamina se biosintetiza a partir del aminoácido *L*-histidina. Algunas enzimas participantes: DAO = diamino-oxidasa, HMT = histamina-*N*-metiltransferasa, ADH = aldehído-deshidrogenasa, MAO = monoamino-oxidasa.

- 5-HIDROXIINDOL-O-METILTRANSFERASA (HOMT):

La serotonina o 5-hidroxitriptamina se biosintetiza a partir del aminoácido *L*-triptofano, que es esencial en la dieta (49). El *L*-triptofano es captado por las neuronas mediante un transportador plasmático de membrana e hidroxilado en una reacción, dependiente de tetrahidrobiopterina (H_4B), catalizada por la enzima triptofano-5-hidroxilasa, que es el paso limitante de la velocidad para la biosíntesis de serotonina y de melatonina (Fig. 6); luego se produce una descarboxilación catalizada por una descarboxilasa. La hidroxilasa no se satura normalmente y, en consecuencia, una respuesta creciente de triptofano en la dieta conducirá al incremento en el contenido de serotonina en el cerebro (50) (51).

La transformación de serotonina en melatonina se lleva a cabo principalmente en la glándula pineal, y también en la retina, y consiste en dos pasos: a) La acetilación del grupo amino mediante *N*-acetiltransferasa dando *N*-acetilserotonina. b) La metilación del grupo OH mediante 5-hidroxiindol-*O*-metiltransferasa (HOMT), que cataliza la transferencia de un grupo metilo de SAMe, para obtener *N*-acetil-5-metoxitriptamina o melatonina (Fig. 6). La concentración de melatonina en la glándula pineal presenta variaciones circadianas:

sigue las variaciones de la actividad de la enzima *N*-acetiltransferasa, aumentando durante la noche y disminuyendo durante el día; la oscuridad y la luz juegan un papel regulador *vía* las catecolaminas. La luz inhibe la biosíntesis de melatonina. Las células del parénquima pineal secretan melatonina en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo (LCR); la concentración plasmática de melatonina disminuye durante el envejecimiento (49).

La cantidad de *L*-triptofano ingerida diariamente es de aproximadamente 0,5 a 1 g; la cantidad diaria recomendada es de 200 mg, de los cuales sólo una pequeña parte se convierte en serotonina (49). Además de la vía metabólica que conduce a la serotonina (49), el *L*-triptofano se utiliza en la síntesis de proteínas y se transforma mediante la enzima hepática triptofano-pirrolasa, generalmente llamada triptofano-2,3-dioxigenasa (TDO) y mediante indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), en *N*-formilkinurenina y luego en kinurenina, precursor del ácido xanturénico y del ácido nicotínico (Fig. 7), todo lo cual corresponde al metabolismo del triptofano. La actividad de la enzima TDO se incrementa por cortisol, consumo de etanol e ingesta de triptofano. La actividad de la enzima IDO aumenta durante la estimulación del sistema inmune. La activación de estas

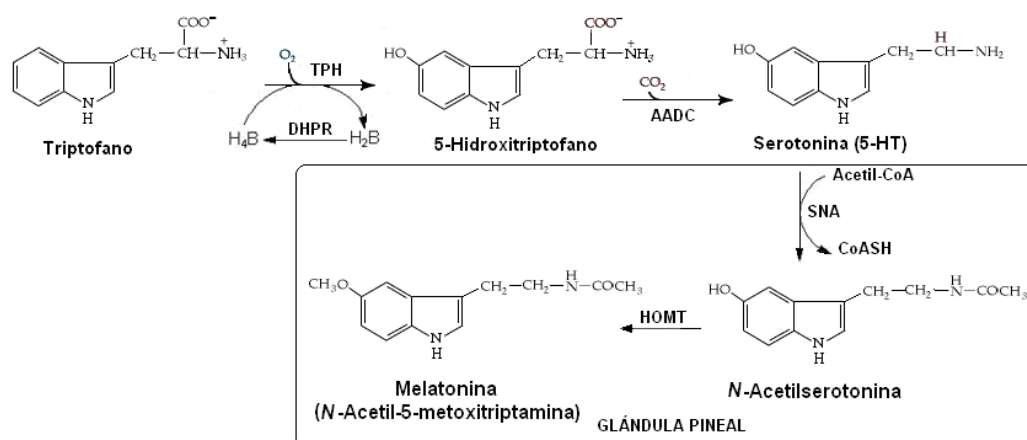


Figura 6. Biosíntesis de serotonina y melatonina a partir del aminoácido esencial *L*-triptofano. Enzimas participantes: THP = triptofano-5-hidroxilasa, DHPR = dihidropterina reductasa, H_2B = dihidrobiopterina, H_4B = tetrahidrobiopterina, AADC = *L*-aminoácido descarboxilasa, SNA = serotonina-*N*-acetiltransferasa, HOMT = 5-hidroxiindol-*O*-metiltransferasa.

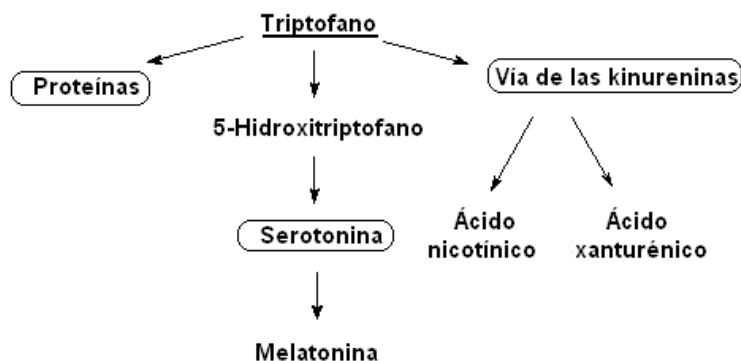


Figura 7. Funciones del *L*-triptofano en la síntesis de proteínas, biosíntesis de serotonina y melatonina y en la vía de las kinureninas.

dos enzimas de la vía de las kinureninas podría reducir la cantidad de triptofano disponible para la biosíntesis de serotonina (50) (51).

Como en el caso de otras aminas biogénicas, los efectos sinápticos de serotonina se terminan en un 70% mediante la recaptación en las terminaciones nerviosas serotoninérgicas. La ruta catabólica primaria (30%) consiste en la desaminación oxidativa de la cadena lateral mediante MAO, que conduce a 5-hidroxiindol-acetaldehído que se oxida luego a ácido 5-hidroxiindol-acético (5-HIAA) (Fig. 8) que se encuentra en la orina en cantidades normalmente inferiores a 10 mg/24 h. Resulta interesante acotar que, el bloqueo de la recaptación de serotonina ha dado origen a toda una familia de modernos antidepresivos (ISRS: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina; en inglés: *selective serotonin re-uptake inhibitors*: SSRIs) (52) dando como resultado la presencia prolongada de serotonina en la hendidura sináptica.

La serotonina se encuentra en altas concentraciones en el tracto digestivo (aproximadamente el 95% de la cantidad total de la serotonina corporal), localizada en las células enterocromafines y en las plaquetas (prácticamente toda la serotonina sanguínea; concentración: 100 a 200 mcg/L), las cuales no la sintetizan, sino que la toman del plasma donde es liberada por las células enterocromafines. Pocas cantidades se encuentran en el SNC (mayor concentración en el tronco cerebral que en la corteza) y en la retina. La captación de serotonina por las plaquetas es muy rápida. La vida media de serotonina en las plaquetas coincide con la de éstas, es decir, cinco o seis días. La vida media de la serotonina es larga en las plaquetas y en el intestino, y muy corta, unos pocos minutos, en el cerebro (49).

La serotonina en el SNC se localiza en grupos de neuronas en la región del rafe de la protuberancia y del tronco cerebral superior, que tienen proyecciones difundidas en el cerebro anterior hacia porciones del hipotálamo, sistema límbico, neocórtex y médula espinal y ha sido implicada en la regulación del sueño y la vigilia, así como en múltiples funciones rítmicas y circadianas (49). La serotonina a través de procesos de transmetilación a nivel patológico, y por ser los indoles grupos compartidos con psicodislépticos alucinógenos, está involucrada en la génesis de las psicosis, muy par-

ticularmente en las esquizofrenias. La buena respuesta a antipsicóticos actuales que bloquean específicamente algunos receptores serotoninérgicos parece validar la postura que involucra a las indolalquilaminas y sus productos de metabolización, particularmente por acción de metiltransferasas, con estas patologías, como veremos más adelante.

- INDOLETILAMINA-N-METILTRANSFERASA (INMT):

Como se postulara en la hipótesis de la transmetilación patológica y en base a lo comentado, los derivados del indol podrían desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la esquizofrenia. Esta hipótesis está apoyada por el hecho bien establecido que la mayoría de las drogas alucinógenas, como LSD o psilocibina, actúan vía los receptores serotoninérgicos (53), en particular HT_{2A} y posiblemente 5-HT_{2C} (54), además de compartir estructuras moleculares muy semejantes a los neurotransmisores fisiológicos alterados en su función por la presencia de grupos metilo. De hecho, *N,N*-dimetiltriptamina (DMT) interactúa también con los receptores serotoninérgicos, pudiéndose hipotetizar que parte del efecto de los nuevos antipsicóticos puede estar relacionado con el bloqueo de la actividad de DMT en estos receptores (55).

En estudios de doble-ciego (56) (57), Strassman demostró que la administración de una dosis no alucinógena de DMT (0,05 mg/kg i.v.; en contraposición con la dosis pico alucinógena de 0,4 mg/kg i.v.) producía un estado mental relajado y confortable en muchos sujetos, similar al efecto principal de la DMT endógena (58) que proporciona así una respuesta homeostática para aliviar, en lugar de promover, los síntomas psicóticos. Más recientemente, también se ha demostrado que DMT es un ligando endógeno de los receptores *sigma-1* (59). La función del receptor *sigma-1* se ha relacionado con la modulación de la actividad de canales iónicos y de receptores acoplados a proteína G. Niveles bajos del receptor *sigma-1* se encuentran en todas las regiones del SNC, pero es más abundante en las neuronas motoras del tronco cerebral y de la médula espinal (60) y posee relación estrecha con la enzima transmetilante, indoletilamina-*N*-metiltransferasa (61). Se destaca la relevancia que este hallazgo puede tener para explicar la

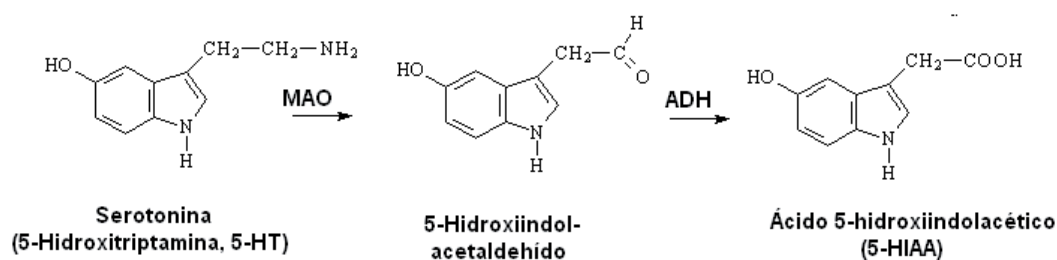


Figura 8. Catabolismo de serotonina. Enzimas participantes: MAO = monoamino-oxidasa, ADH = aldehído-deshidrogenasa.

clara sintomatología motora evidente en la clínica de la esquizofrenia, que tiene su punto culminante en las catatonías.

En la investigación que se realizara con pacientes esquizofrénicos (6)(8)(14)(62) se observó una intensa actividad transmetilante que dio lugar a la presencia de compuestos indólicos metilados (*N,N*-dimetilindolalquilaminas psicodislépticas) en orina, siendo las más importantes: *N,N*-dimetilserotonina (bufotenina, Bu) y *N,N*-dimetilriptamina (DMT). Estos compuestos metilados se producen por la intervención de enzimas del tipo de *N*-metiltransferasas; dadas las características estructurales del sustrato se trata de la enzima indoletilamina-*N*-metiltransferasa (INMT) dependiente de SAmE, que se verá más detalladamente en secciones posteriores.

Fuente de grupos metilo: Metabolismo de un carbono (C₁). Ciclos de metionina y de folato

La metionina es la principal fuente de grupos metilo (CH₃ equivale a C₁), pero éstos también se originan a partir de la conversión de serina en glicina mediante la enzima serina-hidroximetiltransferasa (SHMT) en el ciclo de folato. En realidad estos procesos tienen lugar *vía* dos ciclos metabólicos: el de metionina y el de folato, que convergen en SAmE, donante omnipresente de grupos metilo para la transmetilación (Fig. 9) (63). El

ciclo de metionina se refiere al ciclo de regeneración de *L*-metionina/SAmE y permite la transferencia de un grupo metilo *vía* la regeneración de SAmE. Como muestra la Figura 1, SAmE se convierte en homocisteína por desmetilación. La homocisteína, cuando se acumula, puede producir daño neuronal y disfunción cognitiva.

En la Fig. 9 se muestra el flujo de unidades de metilo como C₁ dentro de círculos de borde negro; la serina hace un aporte importante de estos grupos. En el ciclo de folato, tras la conversión en glicina, la serina genera *N*⁵-metiltetrahidrofolato. Los grupos metilo son en su mayoría transportados por el folato (tetrahidrofolato). El ciclo de metionina permite la transferencia de un grupo metilo de *N*⁵-metiltetrahidrofolato a aceptores de metilo *vía* metionina y la regeneración de SAmE. La desmetilación de SAmE produce homocisteína, potencialmente tóxica, que puede ser re-metilada dando metionina mediante metionina-sintetasa y vitamina B₁₂ (la metionina-sintetasa transfiere un grupo metilo de *N*⁵-metiltetrahidrofolato a homocisteína). Las deficiencias de folato o vitamina B₁₂ impiden la actividad de metionina-sintetasa y causan la disminución de metionina y el aumento de los niveles de homocisteína. La homocisteína puede también entrar en la vía de transulfuración que conduce a la producción de cisteína y glutatión (Fig. 9). La primera enzima en esta vía es cistationina-β-sintetasa, que cataliza la conversión de serina y homocisteína en cistationina y agua, lo que requiere vitamina B₆ como cofactor. Gran parte de las enzimas y compuestos que participan en los ciclos de

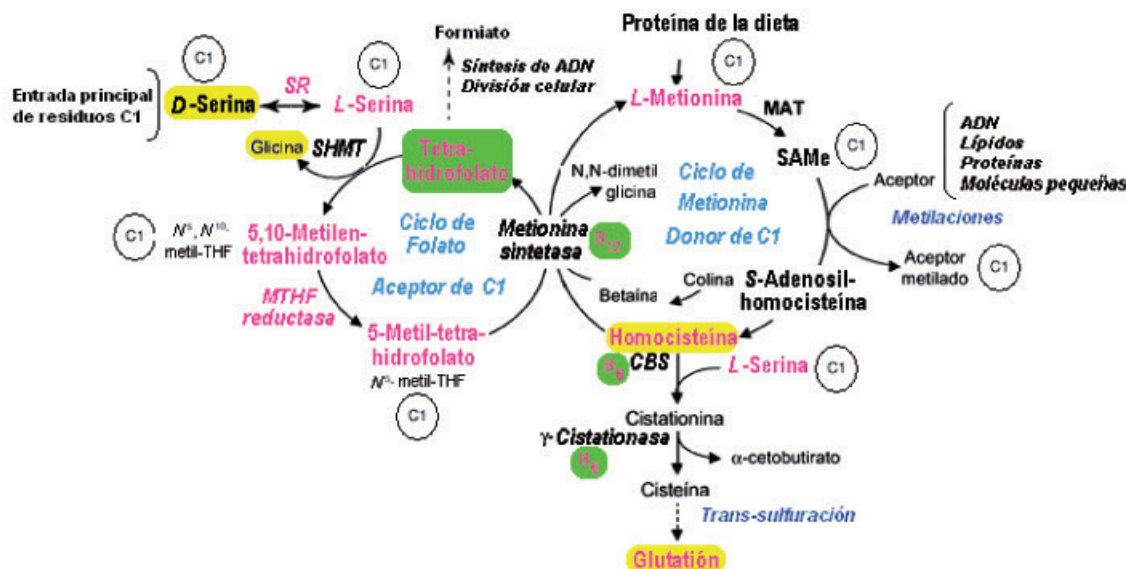


Figura 9. Vía metabólica de homocisteína. Componentes del metabolismo de C₁: ciclos de folato y de metionina. En amarillo se indican los compuestos que tienen efecto sobre el receptor de NMDA: *D*-Serina, glicina, homocisteína y glutatión; en verde están marcados los compuestos de origen dietario: tetrahidrofolato, B₁₂ y B₆; los compuestos que tienen una posible participación en esquizofrenia se indican en colorado: *L*-serina, las enzimas SR y MTHF reductasa, glutatión, homocisteína, tetrahidrofolato y derivados metilados.

Abreviaturas: CBS: cistationina-β-sintetasa; MAT: metionina-adenosiltransferasa; MTHF reductasa: 5,10-metilentetrahidrofolato-reductasa; SAmE: S-adenosilmetionina; SHMT: serina-hidroximetiltransferasa; SR: serina-racemasa; NMDA (del inglés: *N*-methyl-*D*-aspartic acid): ácido *N*-metil-*D*-aspártico.

metilo y de folato han sido asociados con la esquizofrenia (indicados en rojo) (63).

Como se puede apreciar en la Fig. 9, la sobrecarga de metionina y la depleción de folato causan la acumulación de homocisteína a través de distintos mecanismos (63).

Se conocen dos vías principales que metabolizan la homocisteína: En primer lugar, la re-metilación de ésta para dar metionina es fundamental para mantener bajos los niveles de homocisteína. Esta reacción es catalizada por metionina-sintetasa, una enzima que limita la velocidad, dependiente de folato y vitamina B₁₂, y que es el vínculo entre los ciclos de metilo y folato. Estudios nutricionales, epidemiológicos y biológicos han demostrado que, en los casos de deficiencia de ácido fólico (o folato), la actividad de metionina-sintetasa es baja, lo cual causa la acumulación de homocisteína.

En segundo lugar, la homocisteína también puede entrar en una vía secundaria que conduce a la producción de glutatión (GSH), un antioxidante que reduce el estrés oxidativo vía la ruta de trans-sulfuración. La primera enzima en esta vía es la cistationina-β-sintetasa (Fig. 9), que cataliza la conversión de serina y homocisteína en GSH y agua. Las mutaciones en cistationina-β-sintetasa humana son conocidas por causar homocistinuria (64). Debido a que GSH es un tripéptido compuesto de glutamato, cisteína y glicina, un aumento en los niveles de GSH podría disminuir el *pool* de las moléculas de glutamato y glicina libres.

En el líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos, no medicados, se observó una disminución significativa en el nivel de glutatión total (GSH) en un 27% en comparación con los controles, en consonancia con el nivel reducido informado de su metabolito *gamma*-glutamilglutamina (65). Con espectroscopía de resonancia magnética de protones no invasiva, se encontró que el nivel de GSH en la corteza prefrontal media de pacientes esquizofrénicos es un 52% inferior que en los controles (65). El GSH desempeña un papel fundamental en la protección de las células del daño por especies reactivas de oxígeno generadas entre otros por el metabolismo de la dopamina. Un déficit de GSH llevaría a procesos degenerativos en los alrededores de las terminaciones dopaminérgicas que causan pérdida de la conectividad. Bajas concentraciones de GSH también podrían causar actividad hipoglutamatérgica (65) dado que se sabe que GSH potencia los receptores de NMDA.

Historia de las metiltransferasas que actúan sobre sustratos indólicos. Importancia en esquizofrenia

El interés en la posibilidad de que los alucinógenos endógenos podrían tener algún rol en el SNC se incrementó por el descubrimiento de enzimas en tejidos de

mamíferos que pueden catalizar la formación de varios alucinógenos (66-74). Estos hallazgos generaron un número de estudios que intentaron determinar si los psicógenos endógenos se sintetizan *in vivo* y si juegan un rol en la psicosis o tal vez en algún aspecto de la función normal.

En 1961 el Premio Nobel Julius Axelrod (66) describió una enzima en pulmón de conejo que era capaz de *N*-metilar indoletilaminas como sustratos para dar sustancias alucinógenas usando SAME como donante de metilo (Figs. 10). Más tarde, Morgan y Mandell en 1969 (68) describieron una enzima similar en el SNC que se encontró en la fracción soluble y también en los sinaptosomas y que presentó la mayor concentración en tronco cerebral y la menor en las áreas corticales (69).

La enzima mostró una actividad específica baja y una K_m relativamente alta (K_m = constante de Michaelis, que es la concentración de sustrato que da la velocidad media máxima y es una medida inversa de la afinidad del sustrato por la enzima; a menor K_m , mayor afinidad).

Saavedra y Axelrod en 1972 (73) también describieron una enzima en el cerebro de rata que catalizó la *N*-metilación de triptamina a monometiltriptamina y dimetiltriptamina (DMT).

Saavedra, Coyle y Axelrod en 1973 (74) encontraron esta enzima confinada a la corteza cerebral y al *striatum* y a la materia blanca subcortical, una localización diferente de la indicada por Morgan y Mandell en 1969 (68). La enzima presentó una baja actividad específica y amplia especificidad de sustrato.

Varias metiltransferasas se describieron en cerebro, células sanguíneas, plasma, pulmón e hígado (70)(71)(75-80). El nivel de la actividad *N*-metilante de los componentes de la sangre humana fue muy baja (77)(78)(81)(82) y menos del 25% de los productos radioactivos extraíbles fueron recuperados por cromatografía en capa delgada en el área correspondiente a *N*-metiltriptamina (NMT) y *N,N*-dimetiltriptamina (DMT). Las razones de esta baja recuperación no fueron claras. Wyatt, Saavedra y Axelrod en 1973 (77) no pudieron confirmar los resultados de otros autores (83) sobre un incremento de la actividad de *N*-metiltransferasa en el plasma de pacientes esquizofrénicos. Sin embargo, encontraron un aumento de esta actividad en las plaquetas de esquizofrénicos y psicóticos depresivos. Debe recordarse que el comportamiento de la serotonina plaquetaria es fiel indicador del comportamiento de las neuronas serotoninérgicas.

Así como aparecieron sistemas generadores de alucinógenos, también surgieron discrepancias e inconsistencias en los resultados de diferentes investigadores (73)(74)(83-85) probablemente debido a que estos estudios carecían de una identificación completa del producto ya que a la luz de las técnicas utilizadas en esa época no se pudo resolver la superposición entre los indoles metilados y las correspondientes tetrahydro-

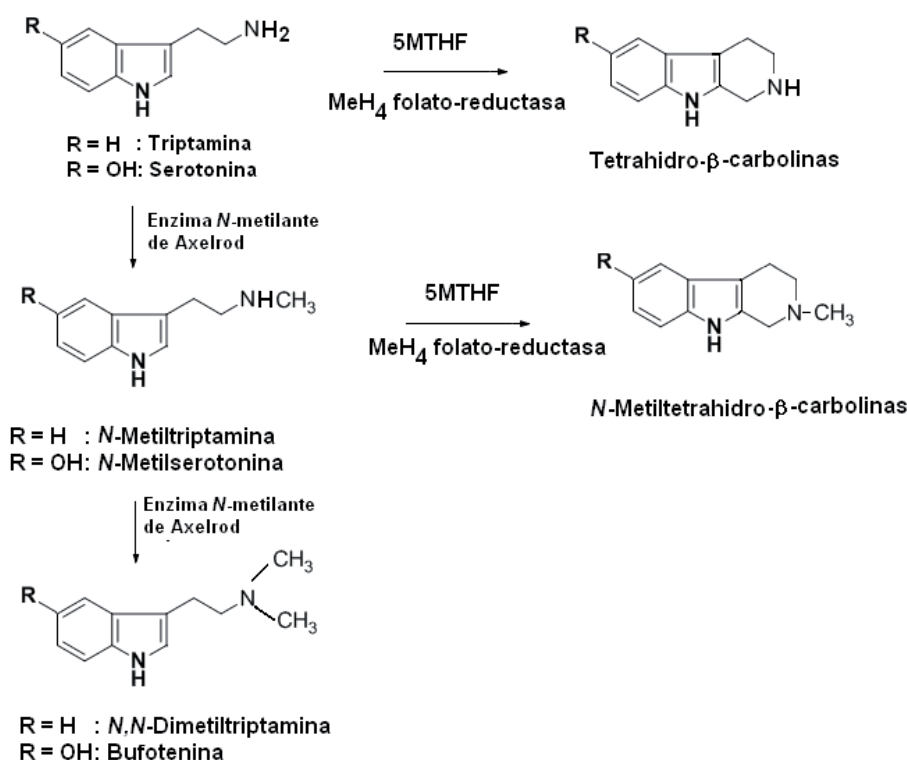


Figura 10. Rutas en la formación in vitro de derivados *N*-metilados y *O*-carbolinas de triptamina y serotonina. MeH_4 folato-reductasa: $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metilentetrahidrofolato-reductasa; 5MTHF: 5-metiltetrahidrofolato.

β -carbolinas mediadas por otro dador de metilos, el ácido tetrahidrofólico. En una serie de trabajos realizados para determinar algunas de las razones de estos hallazgos conflictivos (81) (82) se encontró que la enzima de los glóbulos rojos incubada con (^{14}C)SAME como donante de metilo y *N*-metilserotonina, o bien NMT, como sustrato, dieron como resultado la formación de derivados ciclados de indoletilaminas, las tetrahydro- β -carbolinas, que eran difícilmente distinguibles de DMT o de bufotenina por cromatografía, en los sistemas de solventes usados en aquel entonces. Un fenómeno semejante se observó cuando se usó cerebro de rata como fuente de la enzima, *N*-metiltriptamina como sustrato y (^{14}C)SAME como donante de metilo (86).

Cuando se usaron técnicas de co-cristalización y derivatización, más confiables en identidad (86), se encontró que podían ocurrir tanto la *N*-metilación como la formación de β -carbolinas, cuando SAME es donante de metilo, dependiendo del tejido utilizado como fuente de enzima.

En los mamíferos, la enzima para la reacción de metilación está presente principalmente en pulmón y adrenales (67) mientras que en otros tejidos predomina la formación de productos ciclados. Sólo pequeñas cantidades de DMT se forman en el tejido de cerebro de rata (10-15 ng/kg de tejido cerebral mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masa) (Fig. 11), mientras que la formación de tetrahydro- β -carbolinas se produce fácilmente.

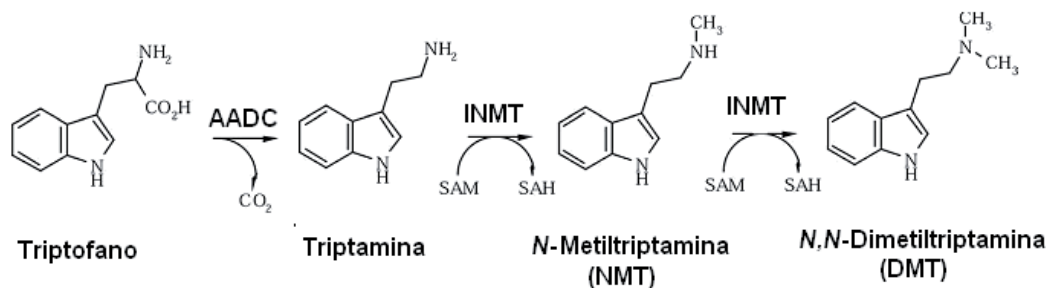


Figura 11. Biosíntesis de DMT a partir del aminoácido triptofano: 1) La descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (AADC: *aromatic amino acid decarboxylase*) cataliza la formación de triptamina a partir de triptofano; 2) la indoletilamina-*N*-metiltransferasa (INMT) transfiere un grupo metilo de SAME (*S*-adenosilmetionina) a triptamina, dando *N*-metiltriptamina (NMT). 3) Se repite la reacción anterior con NMT como sustrato, INMT transfiere otro grupo metilo y produce DMT y dos equivalentes de SAH (*S*-adenosil-*L*-homocisteína) en total.

Investigaciones sobre indol-*N*-metiltransferasas desde la década del 80 a la actualidad

En las décadas del 80 y del 90, hubo interés en la *N*-metilación de derivados de indoles, como β -carbolinas e isoquinolinas, dado que podrían generar neurotoxinas, que estarían vinculadas con patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson. Collins *et al.* (87) mostraron que las β -carbolinas simples, derivadas de triptofano o indoles relacionados de cadena abierta, cuando se metilan específicamente en los dos nitrógenos disponibles (N-2 y N-9), presentan potencias inhibitorias mitocondriales y efectos neurotóxicos *in vitro* e *in vivo*, similares o superiores al ión *N*-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) (87) (Fig. 12).

Estos resultados adquieren significación fisiológica con los hallazgos de la actividad detectada *in vivo* de la enzima cerebral, dependiente de SAME, que cataliza las metilaciones de N-2 y N-9 en β -carbolinas (87) (88) (Fig. 12). La inusual *N*-metilación del N-9 (N del indol), previamente no reconocida en animales, requiere la metilación previa del N-2 (88), puesto que este último es mucho más reactivo por ser un N piridínico. La di-*N*-metilación secuencial de las β -carbolinas endógenas o xenobióticas para formar el ión 2,9-*N,N'*-dimetil- β -carbolinio único, neurotóxico (Fig. 12), puede servir como una ruta de bioactivación cerebral en condiciones neurodegenerativas crónicas, tales como la enfermedad de Parkinson (87) (88).

El ión *N*-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) (Fig. 12) es un metabolito altamente tóxico producido en el cerebro por conversión oxidativa catalizada por MAO-B de una neurotoxina exógena, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro-

piridina (MPTP), mal llamada “heroína sintética”, que está presente como impureza en la meperidina, usada como sustituto de heroína. MPP⁺ es tomado selectivamente por las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales, utiliza el transportador de dopamina y se acumula intraneuronalmente en las mitocondrias de las células gliales del cerebro, donde interrumpe la cadena de transporte de electrones y la producción de ATP, con incremento de TNF- α , citoquina proinflamatoria, provocando atrofia neuronal y, en humanos, monos y varios animales, provoca una condición Parkinsoniana (87).

Asimismo, el producto metilado *N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina que se forma en el cerebro humano puede ser el intermediario en la biosíntesis de una neurotoxina potente del metabolismo dopaminérgico como es el ión *N*-metilisoquinolinio (89) (Fig. 13). La mayor parte de la actividad de la *N*-metiltransferasa interviniente se encontró en la fracción citosólica de la corteza cerebral humana (89).

La enfermedad de Parkinson se cree que es causada por algunos factores endógenos y/o exógenos desconocidos, interactuando con las predisposiciones genéticas. Se ha observado que varios derivados de isoquinolina se encuentran en el cerebro de pacientes con enfermedad de Parkinson. Los derivados de isoquinolina tienen propiedades neuroquímicas similares a MPTP y se considera que son neurotoxinas endógenas que causan la enfermedad de Parkinson, siendo los más potentes: tetrahidroisoquinolina, 1-benciltetrahidroisoquinolina y (*R*)-1,2-dimetil-5,6-dihidroxitetrahidroisoquinolina ((*R*)-*N*-metilsalsolinol) (Fig. 14). Las tetrahidroisoquinolinas, igual que MPP⁺, inhiben el complejo I (NADH-ubiquinona oxido-reductasa) del sistema de transporte de electrones en las mitocondrias, reduciendo de este modo la formación de ATP y produciendo especies re-

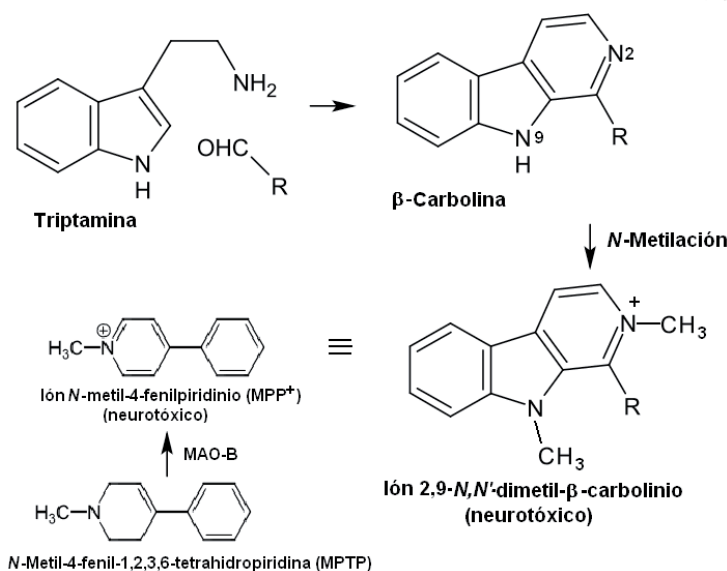


Figura 12. Formación de β -carbolina y su *N*-metilación al ión 2,9-*N,N'*-dimetil- β -carbolinio, neurotóxico similar al ión *N*-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) producido a partir de MPTP. R = H o CH₃.

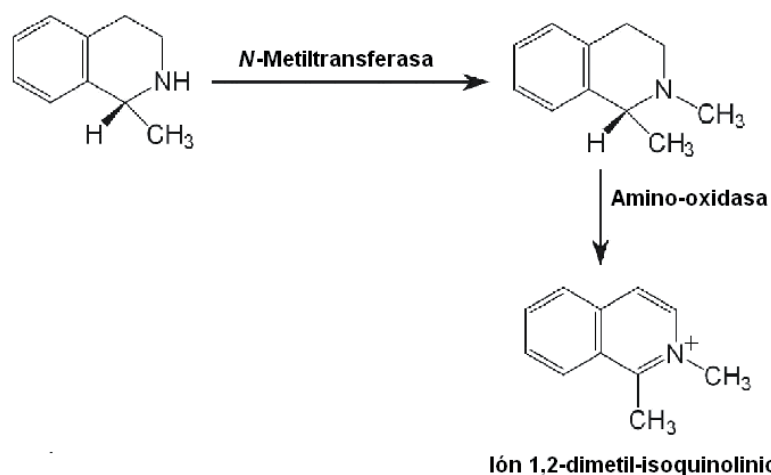


Figura 13. *N*-Metilación de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y formación del ión 1,2-dimetilisoquinolinio.

activas de oxígeno, principalmente: anión superóxido (O_2^-) (90). Cuya expresión clínica posiblemente se traduzca en la astenia psicofísica propia de estos cuadros, incluyendo posiblemente la esquizofrenia.

Dentro del rango de neurotoxicidad, si bien las propiedades de las tetrahidroisoquinolinas (provenientes de dopamina) son semejantes a las de MPTP (proveniente de indoles), su efecto es más débil.

N-Metil-(*R*)-salsolinol (Fig. 14) es una tetrahidroisoquinolina también derivada de dopamina, que se encuentra en el cerebro humano; induce parkinsonismo en ratas después de inyectarlo en el *striatum*. Los cambios conductuales, bioquímicos y patológicos son muy similares a los de la enfermedad de Parkinson (91).

Además este compuesto aumenta significativamente en el líquido cefalo-raquídeo de pacientes parkinsonianos (91). *N*-Metil-(*R*)-salsolinol agotó a las neuronas de dopamina en la *substantia nigra* de rata sin reacción del tejido necrótico, lo cual puede deberse al proceso de muerte apoptótica (91).

Como resultado de todos estos trabajos sobre β -carbolinas y tetrahidroisoquinolinas, se caracterizaron bioquímicamente una serie de enzimas capaces de la metilación de triptamina (66) (67) (92-95) y se describieron al menos dos isoformas de triptamina-*N*-metiltransferasa en pulmón (92) y en hígado de conejo (93) (95).

Si bien estas actividades han sido denominadas de distinta forma, como: metiltransferasa de pulmón de

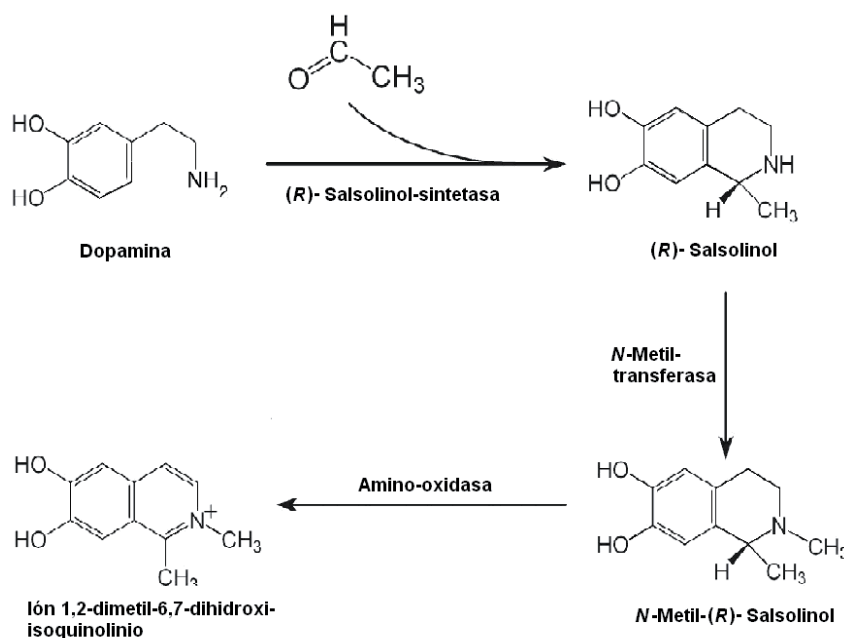


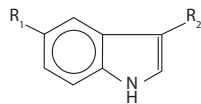
Figura 14. *Biosíntesis de (R)-salsolinol y sus derivados*. La condensación enzimática de dopamina con acetaldehído está catalizada por (*R*)-salsolinol-sintetasa para dar (*R*)-salsolinol. Luego la *N*-metiltransferasa cataliza la *N*-metilación de (*R*)-salsolinol en *N*-metil-(*R*)-salsolinol, que es posteriormente oxidado al ión 1,2-dimetil-6,7-dihidroxiisoquinolinio.

conejo (66), metiltransferasa inespecífica (66), alquilamina aromática-*N*-metiltransferasa (96), indolamina-*N*-metiltransferasa (80) (92), arilamina-*N*-metiltransferasa (93) y amina-*N*-metiltransferasa (95), Thompson y Weinshilboum en 1998 (25) se refirieron a la enzima como indoletilamina-*N*-metiltransferasa (INMT) (94), que es el nombre actualmente aceptado (EC 2.1.1.49).

Thompson y Weinshilboum (25) purificaron la enzima INMT de pulmón de conejo para obtener la secuencia parcial de aminoácidos, clonaron su ADNc, seguido por la expresión y la caracterización bioquímica de la proteína codificada por este ADNc. El ADNc se utilizó luego para clonar el gen *INMT* de conejo y caracterizarlo estructuralmente para que fuera posible estudiar la función de esta enzima y buscar ortólogos en otras especies, incluyendo humanos, así como enzimas relacionadas en el conejo. Como la triptamina había sido utilizada como un sustrato "prototípico" aceptor de metilo para la mayoría de los estudios bioquímicos originales de esta actividad, se la utilizó como sustrato en estos experimentos. Estos autores estudiaron el pulmón de conejo debido a su alta actividad INMT específica y debido a la extensa caracterización bioquímica previa de la actividad INMT en ese tejido (25).

Los sustratos indólicos de INMT se muestran en la Tabla I.

Tabla I. Sustratos indólicos de INMT estudiados a concentraciones de 1 mM. La actividad es comparada con la de triptamina 1 mM (100%) (25).



Sustratos	R_1	R_2	Actividad relativa %
Triptamina	H	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	100
<i>N</i> -Metiltryptamina	H	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_3$	44
Serotonina	OH	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	11
Melatonina	OCH_3	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOCH}_3$	0

El ADNc del gen *INMT* que clonaron, codificaba una proteína de 263 aminoácidos con una masa molecular de 29 kDa. Mediante estudios genéticos del ARNm del gen *INMT* estos autores demostraron que el mismo se expresaba en pulmón, hígado y, a niveles más bajos, en el cerebro de conejo. La proteína codificada por este ADNc fue capaz de catalizar la metilación de triptamina y compuestos estructuralmente relacionados (Tabla I).

Cuando se realizaron estudios cinéticos con sustrato con INMT recombinante de pulmón de conejo, los valores de K_m aparente para triptamina y SAME fueron similares a los de citosol de pulmón de conejo y a los de la enzima de pulmón de conejo, parcialmente purificada, lo que indica claramente que se trata de la única enzima con esta actividad presente en el pulmón de conejo (25).

Esta enzima INMT de pulmón de conejo, fue inhibida por productos de la catálisis de triptamina como sustrato, los mencionados antimigrañosos y los antidepresivos tricíclicos, como amitriptilina que se sabe funciona también como antimigrañoso. Por lo tanto, si un ortólogo de INMT con propiedades bioquímicas similares se expresa en tejidos humanos, tendrán que evaluarse los efectos potenciales de estos fármacos, comúnmente recetados, sobre la enzima. Finalmente, la INMT de pulmón de conejo pareciera ser un miembro de una familia de metiltransferasas de pequeñas moléculas citosólicas, una familia que incluye tioéter-metiltransferasa (TEMT), nicotinamida-*N*-metiltransferasa (NNMT) y feniletanolamina-*N*-metiltransferasa (PNMT) (25). Esa conclusión se basó en las comparaciones de las secuencias de aminoácidos y en las estructuras de los genes. Se desconoce si quedan por descubrir otros miembros de esta familia emergente de genes.

En otro estudio, Thompson *et al.* (26) clonaron, expresaron, localizaron y caracterizaron las actividades de INMT humana, utilizando técnicas genéticas y estructurales. La INMT humana se expresó en el pulmón, tiroides, glándula adrenal, corazón, músculo y médula espinal, pero no en el cerebro. Los autores observaron valores altos de K_m (un orden de magnitud mayor que en estudios previos) (69) (97) de triptamina para la INMT recombinante humana y una ausencia de las transcripciones de ARNm del gen *INMT* en el cerebro. Pero estos autores no tuvieron en cuenta la constante de velocidad de la reacción de catálisis, como veremos en párrafos subsiguientes. Por lo tanto, Thompson *et al.* (26) llegan erróneamente a la conclusión que la producción de DMT en humanos no es fisiológicamente significativa. Su conclusión pone mucho peso en la importancia de los valores de K_m de la INMT recombinante humana y no tienen en cuenta varios aspectos genéticos y enzimáticos adicionales, que son claramente discutidos por Jacob y Presti en el año 2005 (98).

A pesar de años de investigación, no hay una comprensión universalmente aceptada de la biofísica de la función de la enzima (99); por lo tanto, el significado de los valores de K_m , especialmente para las rutas bioquímicas *in vivo*, sigue abierta a la interpretación. Aunque Thompson *et al.* (26) argumentan que valores altos de K_m significan una combinación de enzima-sustrato que no es biológicamente significativa, un meta-análisis de reciente investigación ha demostrado que los valores altos de K_m son significativos en los sistemas biológicos (100).

Si bien los complejos enzima-sustrato con altos valores de K_m muestran menos afinidad de unión, la catálisis procede generalmente a una velocidad de reacción más rápida. De hecho, Ferhst (100) identifica muchas enzimas en la glicólisis que operan a "muy altos" valores de K_m mostrando eficiencia catalítica a pesar de tener afinidad milimolar (mM). Ferhst (100) sostiene que la afinidad se vuelve menos importante en los sistemas in-

tracelulares donde están presentes altas concentraciones de metabolitos necesarios y sugiere que la constante de especificidad k_{cat}/K_m (constante de velocidad de catálisis/constante de Michaelis) es el mejor indicador de la eficiencia enzima-sustrato.

Por lo tanto, Jacob y Presti (98) aconsejan no hacer énfasis indebido en los valores numéricos de K_m a la hora de interpretar la actividad *in vitro*. Según estos autores, la estructura de INMT humana necesita ser determinada y sus parámetros cinéticos *in vivo* deben ser evaluados más a fondo antes de considerar la *N*-metilación de triptaminas como fisiológicamente irrelevante. Los resultados de Thompson *et al.* (26) también se deberían tomar con precaución debido a que sus mediciones reflejan la actividad de una enzima recombinante, removida de su ámbito natural en el que la compartimentalización celular podría alterar significativamente su actividad.

Genéticamente hablando, la ausencia de transcripciones de INMT producidas constitutivamente en el cerebro no quiere decir que nunca se producen; muchos eventos podrían potencialmente desencadenar la transcripción de INMT en el cerebro (98). Más aún, en una breve publicación se afirmó que la actividad de INMT aumenta bajo estrés (descarga eléctrica y natación forzada) en el cerebro de roedores (101). Por lo tanto, una respuesta de estrés que produce grandes cantidades de triptamina en los tejidos podría llevar a una producción significativa de DMT. Además, dada la presencia de transcripciones de INMT en los tejidos periféricos, la producción de DMT podría ocurrir fuera del cerebro y aún tener actividad en el mismo, debido a que DMT puede cruzar fácilmente la barrera hematoencefálica, como lo demostráramos en experimentos con conejos (13, 14). Esto la haría diferente de la mayoría de los neurotransmisores, los cuales no tienen significativa permeabilidad de la barrera hematoencefálica y por lo tanto deberán ser producidos dentro del cerebro.

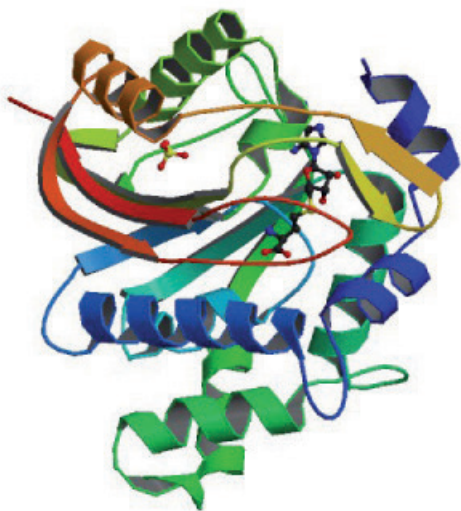


Figura 15. Estructura cristalina de la enzima indoletilamina-*N*-metiltransferasa humana con *S*-adenosil-*L*-homocisteína (102).

La estructura cristalina de INMT fue determinada y publicada en bancos de datos de enzimas (102) (Fig. 15).

Localización de la enzima INMT

Recientemente se encontró que la enzima indol-*N*-metiltransferasa (INMT) que convierte triptamina en el ligando DMT de los receptores *sigma*-1, está a nivel celular localizada, conjuntamente con estos receptores, en las motoneuronas de las densidades postsinápticas colinérgicas, también conocidas como *C*-terminales (103). Esta asociación estrecha de INMT y los receptores *sigma*-1 sugiere que DMT es sintetizada localmente para activar eficazmente al receptor *sigma*-1 en las neuronas motoras (103).

Los *C*-terminales fueron descubiertos hace 45 años, pero su función ha sido recientemente revelada, encontrándose que aumentan la excitabilidad de las motoneuronas, especialmente bajo condiciones de estrés (104). Los *C*-terminales poseen el receptor muscarínico de acetilcolina tipo 2 (M_2 AChR: *muscarinic type 2 acetylcholine receptor*) que es un receptor acoplado a proteína G (105), los canales de potasio $K_{v2.1}$ (106) y SK que son los canales de potasio de pequeña conductancia activados por calcio (107), localizados en la membrana plasmática postsináptica, mientras que el receptor *sigma*-1 se localiza en las cisternas de la subsuperficie (108). Por lo tanto, el receptor *sigma*-1 afecta a la función motora, probablemente a través de su acción a nivel de las motoneuronas (108-110).

La activación del M_2 AChR en las motoneuronas inhibe algunos canales de potasio, probablemente los del tipo SK, lo cual podría reducir la duración de la hiperpolarización posterior (107), dando lugar a una mayor frecuencia de disparo de las motoneuronas y generando una contracción muscular más fuerte. Se ha demostrado que el receptor *sigma*-1 regula la actividad de algunos canales iónicos dependientes del voltaje, presumiblemente a través de su interacción directa (111)(112). El receptor *sigma*-1 en los *C*-terminales se localiza, como dijéramos, en las cisternas subsuperficiales ubicadas a menos de 10 nanómetros (nm) de la membrana plasmática (108). Por lo tanto, es razonable proponer que ocurra una interacción directa proteína/proteína entre el receptor y los canales de potasio, permitiendo la regulación del receptor *sigma*-1. En conjunto esta cadena de eventos causaría un aumento del flujo de potasio, mayor hiperpolarización posterior y una disminución de la frecuencia de disparo. De esta manera el receptor *sigma*-1 podría servir como un freno que controle la excitabilidad de las motoneuronas.

Estos receptores *sigma*-1 permanecieron ignorados durante años hasta que en el 2007, Hayashi y Su (113) propusieron el nuevo concepto de “chaperonas de receptores” para explicar su función fisiológica.

Se conocen dos subtipos de receptores *sigma*: *sigma-1* y *sigma-2*. El receptor *sigma-1* humano es una única proteína de 25 kDa que consta de 223 aminoácidos, por primera vez clonada y expresada funcionalmente por Kekuda *et al.* (114), que estructuralmente no está relacionada con ninguna otra proteína de mamífero conocida. Si bien existe un 30% de homología entre la secuencia de aminoácidos del receptor *sigma-1* humano y la esteroil Δ^8/Δ^7 -isomerasa de levadura (ERG₂), la proteína *sigma-1* no posee ninguna actividad de esteroil-isomerasa (115). Además, la contraparte funcional de la esteroil-isomerasa de levadura, la esteroil- Δ^8/Δ^7 -isomerasa de mamífero (hSI) o proteína de unión a emopamil (EBP: *emopamil binding protein*), previamente clonada y purificada por Hanner *et al.* (116) y Nes *et al.* (117) respectivamente, posee no sólo un mecanismo de reacción diferente, sino también distinta secuencia y topología de transmembrana (118). Así, la ERG₂ de levadura es diferente de la enzima hSI/EBP humana en la secuencia y el nivel estructural, pero muestra una homología significativa con la proteína del receptor *sigma-1*. Sin embargo, las tres proteínas farmacológicamente están relacionadas entre sí en que compuestos estructuralmente distintos, como los ligandos de *sigma-1*, ifenprodil (119) y SR31747A (120), así como el inhibidor MDL28815 de la esteroil-isomerasa (119) se unen con alta afinidad hacia dominios específicos de unión en ERG₂, hSI/EBP y receptor *sigma-1*.

Esquizofrenia y metilación

Las investigaciones realizadas por diversos autores (63) sobre la fisiopatología de la esquizofrenia confirman que ocurre: metilación alterada del ADN (dando disfunción de la expresión génica), metilación alterada de feniletilaminas (dando disfunción dopaminérgica), metilación alterada de indolaminas (dando disfunción serotoninérgica), transmisión glutamatérgica anormal (disfunción glutamatérgica o en NMDA), función mitocondrial alterada (disfunción mitocondrial), deficiencia de folato (deterioro en el neurodesarrollo y deterioro de la neuroplasticidad) y altos niveles maternos de homocisteína. Estos factores, si bien han sido explorados por separado, implican el metabolismo de C₁ (Fig. 9) que es central en la regulación de la homeostasis de la energía celular y de la metilación, confirmando su rol en la integración de los factores genéticos y ambientales por influir en la regulación epigenética (63).

Este grupo de investigación ha investigado la alteración neurometabólica característica de la esquizofrenia, centrándose en las indolalquilaminas, algunas de ellas conocidas desde hace años por su capacidad neurodisléptica, alucinogénica y enteógena (4-9) (15).

Los estudios tangenciales con *Ayahuasca* (10-12), breva utilizado en rituales chamanísticos y ritualísticos en

la Cuenca del Amazonas, de potente actividad alucinogénica y disperseptiva, y la identidad de su principio activo, *N,N*-dimetilriptamina (DMT) (en *Psychotria viridis*) protegida del ataque de monoamino-oxidasa (MAO) por inhibidores naturales como las harminas (presentes en la liana *Banisteriopsis caapi*), reforzaron, a través de una situación exógenamente inducida, lo que podría ser la clave de un fenómeno endógeno espontáneo de origen genético, es decir una hiperactividad metilante que en un alto porcentaje de pacientes con esquizofrenia se presenta en un fenotipo con hipoactividad de la enzima MAO. Recientemente se ha verificado esta hipótesis con el consiguiente valor clínico diagnóstico y potencialmente terapéutico (13) (14) (62).

Se evaluó el comportamiento de las MAOs plaquetaria y sérica, así como la actividad transmetilante, en un grupo de pacientes esquizofrénicos comparado con un grupo apareado de controles sanos (62). Además, se realizó la cuantificación en orina de 24 horas en el mismo grupo de pacientes y controles de los indoles psicodislépticos *N,N*-dimetilserotonina (bufotenina, Bu) y *N,N*-dimetilriptamina (DMT), demostrando la presencia de ambas indolalquilaminas en las muestras de orina de pacientes como marcadores de actividad de transmetilación. También se logró la categorización de los pacientes en estudio en cuatro fenotipos, encontrándose en estos casos de esquizofrenia un 94,1% de actividad de transmetilación superior a la normal. La transmetilación implica la producción de compuestos indólicos *N,N*-dimetilados en el metabolismo serotoninérgico, como: bufotenina y DMT, debido a un desbalance funcional de la enzima indoletilamina-*N*-metiltransferasa (INMT) (EC 2.1.1.49), que han sido detallados en este trabajo.

El hecho que la actividad de INMT se incremente bajo condiciones de estrés, como hemos visto, dando lugar a una producción de indoletilaminas metiladas, como DMT, explicaría también, al menos en parte, por qué la esquizofrenia es una enfermedad que evoluciona en brotes. El estrés que significa la alteración perceptual aumenta la transmetilación y, por lo tanto, ahí se cierra el círculo de retroalimentación, que activa agudamente la sintomatología.

También se observó correlación significativa entre la actividad transmetilante, la hipoactividad de MAO, la alteración de las MAO intra- y extracelular y la presencia de indolalquilaminas metiladas en orina en varios fenotipos esquizofrénicos, proporcionando una visión general de la batería de análisis cuantitativos que deberían llevarse a cabo con el fin de establecer un diagnóstico más preciso y fiable de la esquizofrenia.

Los resultados apoyan la teoría de la transmetilación patológica como una posible etiopatogenia de un grupo significativo de pacientes esquizofrénicos y muestran que estas *N,N*-dimetilindolalquilaminas son biomarcadores de estado para la expresión neuroquímica de fe-

notipos específicos de un subconjunto altamente significativo de estas patologías (ca. 70 %) (62).

En función de los resultados obtenidos en la fase experimental en humanos, creció el interés en conocer el comportamiento *in vivo* de DMT en comparación con serotonina y triptamina. Para ello, se procedió a realizar la marcación de DMT, preparada en estos laboratorios, así como de serotonina y triptamina con el emisor *gamma*-iodo-131 para llevar a cabo estudios a largo plazo (se desintegra con una vida media de 8,05 días) en conejos (13). Los estudios *in vivo* consistieron en determinar si las indolalquilaminas mencionadas pasan la barrera hematoencefálica (BHE) y en tal caso, analizar la captación en el cerebro, el tiempo de residencia y el *clearance* plasmático para cada uno de estos compuestos.

Los tres compuestos mostraron un comportamiento diferente. La DMT marcada entró en el cerebro 10 segundos después de la inyección (DI), cruzó la barrera hematoencefálica (BHE) y se unió a los receptores, siendo parcialmente excretada por orina. Se detectó en orina dentro de las 24 h DI, y permaneció en el cerebro, siendo aún detectable 7 días DI (se detectó 0,1% de la dosis inyectada en el bulbo olfatorio). En cambio, serotonina y triptamina fueron rápidamente captadas en el cerebro y totalmente excretadas 10 minutos DI (13) (14).

La captación cerebral de serotonina se expresó como porcentaje de la dosis inyectada de serotonina marcada (ca. 0,06%). Este es el primer informe que demuestra de manera concluyente que la serotonina cruza la BHE y entra en el cerebro *in vivo* en conejos.

Los autores consideran que ésta es la primera prueba científica de que DMT exógena permanece en el cerebro durante al menos 7 días DI. DMT, serotonina y triptamina se comportan como agonistas de 5-HT_{2A} (agonismo total) y 5-HT_{2C} (agonismo parcial), receptores asociados a aminas traza (TAARs, sigla en inglés: *trace amine-associated receptors*) y *sigma-1* (farmacóforo para el grupo *N,N*-dimetilo). DMT es un ligando endógeno de *sigma-1*, por lo que esta unión puede explicar el diferente comportamiento de DMT en el cerebro, frente a triptamina y serotonina.

Comentarios finales

En este trabajo se analizó la información que hay sobre un grupo de enzimas como las metiltransferasas de moléculas pequeñas dependientes de S-Adenosylmethionine, que tienen importancia en los procesos de metilación de indolaminas, fenetilaminas y otros compuestos de bajo peso molecular, que se relacionan con algunos aspectos de la fisiopatología de la esquizofrenia.

Se analizaron las metiltransferasas que actúan sobre sustratos indólicos y su importancia en esquizofrenia.

Dado que desde el punto de vista metabólico las metilaciones involucran a los ciclos de folato y de metioni-

na, se presentaron algunas evidencias que sugieren que las enzimas y los metabolitos que participan en ambos ciclos, así como las interacciones genético-ambientales, podrían estar asociados con la esquizofrenia. Se indica claramente que varios componentes del metabolismo de C₁ han sido estudiados hasta ahora por diversos autores por separado, sin embargo, las vías metabólicas son interdependientes.

Dentro del metabolismo de C₁, se ha visto que están incluidas las metilaciones anormales de ADN, de feniletilaminas y de indolalquilaminas que conducen a disfunción en la expresión génica, disfunción adrenérgica y disfunción serotoninérgica respectivamente. En todas estas disfunciones están involucradas metiltransferasas, en el último caso la enzima indolalquilamina-*N*-metiltransferasa (INMT).

Se trató en particular la disfunción serotoninérgica y el metabolismo de C₁, indicando los trabajos realizados sobre biomarcadores en pacientes con esquizofrenia y sobre biodistribución a corto, medio y largo plazo de indolalquilaminas sin *N*-metilar y *N*-metiladas, en conejos.

Se intentó aportar una explicación fisiopatológica al fenómeno de las alteraciones de la percepción con la esperanza que sea de utilidad clínica, facilitando la detección precoz con la consecuente mayor especificidad terapéutica y la prevención del proceso degenerativo concomitante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONICET y a la Universidad de Buenos Aires (Argentina) por su apoyo económico; al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINTIC, Argentina) por el acceso a la biblioteca virtual. La Dra. Pomilio es Miembro de la Carrera de Investigador Científico de CONICET.

CORRESPONDENCIA

PROF. DRA. ALICIA B. POMILIO
IBIMOL (UBA y CONICET)
Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB)
Universidad de Buenos Aires (UBA)
Junín 956
C1113AAD CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES,
Argentina
e-mail: pomilio@ffybu.uba.ar

Referencias bibliográficas

1. Cheng X, Blumenthal RM. S-Adenosylmethionine dependent methyltransferases: structures and functions. Singapore: World Scientific Pub Co; 1999.
2. Le DD, Fujimori DG. Protein and nucleic acid methylating enzymes: mechanisms and regulation. *Curr Opin Chem Biol* 2012; 16: 507-15.
3. Clarke S, Banfield K. S-Adenosylmethionine-dependent methyltransferases. En: Carmel R, Jacobsen DW, edi-

- tors. Homocysteine in health and disease. Cambridge University Press; 2001. Chapter 7, p. 63-78.
4. Ciprian Ollivier J, Spatz H. Aminas *N*- y *O*-metiladas en orina de esquizofrénicos y controles normales. *Daimon* 1981; 138: 28-31. Editum: Ediciones de la Universidad de Murcia.
 5. Ciprian-Ollivier J, Cetkovich-Bakmas MG, Boullousa O. Abnormally methylated compounds in mental illness. En: Shagass C, Josiassen RC, Bridger WH, Weiss KJ, Stoff D, Simpson GM, editors. *Biological Psychiatry* 1985. New York: Elsevier Science Pub Co; 1986. p. 243-45.
 6. Ciprian-Ollivier J, Cetkovich-Bakmas MG, Boullousa O, López-Mato A. Psicosis esquizofrénicas. Teoría de la Trasmetilación Patológica. En: Ciprian-Ollivier J, editor. *Psiquiatría Biológica. Fundamentos y Aplicación Clínica*. Buenos Aires: Científica Interamericana; 1988. p. 75-87.
 7. Ciprian-Ollivier J. Delusional status and abnormally methylated compounds. En: Racagni G, Brunello N, Fukuda T, editors. *Biological Psychiatry. Proceedings of the 5th World Congress of Biological Psychiatry*; 1991 June 9-14; Florence, Italy. Amsterdam: Excerpta Medica; 1991. p. 627-9.
 8. Ciprian Ollivier J, Cetkovich Bakmas M. Teoría de la trasmetilación patológica. En: Ciprian Ollivier J., editor. *Psiquiatría Biológica*. Buenos Aires: Interamericana; 1992.
 9. Ciprian-Ollivier J, Cetkovich-Bakmas M. Altered consciousness states and endogenous psychoses: a common molecular pathway? *Schizophr Res* 1997; 28: 257-65.
 10. Pomilio AB, Vitale AA, Ciprian-Ollivier J, Cetkovich-Bakmas M. A chemical approach to the understanding of Schizophrenia. *An Asoc Quim Argent* 1998; 86: 320-35.
 11. Pomilio AB, Vitale AA, Ciprian-Ollivier J, Cetkovich-Bakmas M, Gómez R, Vázquez R. Ayahoasca: An experimental psychosis that mirrors the Transmethylation Hypothesis of Schizophrenia. *J Ethnopharmacol* 1999; 65: 29-51.
 12. Pomilio AB, Vitale AA, Ciprian-Ollivier J. Cult-Hoasca: A model for schizophrenia. *Mol Med Chem* 2003; 1: 1-7.
 13. Vitale AA, Pomilio AB, Cañellas CO, Vitale MG, Putz ME, Ciprian Ollivier JO. *In vivo* long-term kinetics of radiolabeled *N,N*-dimethyltryptamine and tryptamine. *J Nucl Med* 2011; 52: 970-7.
 14. Ciprian Ollivier J, Spatz J, Spatz N, Vitale AA, Pomilio AB. Sustrato neurometabólico de las alteraciones perceptuales en psicosis esquizofrénicas: relevancia en la precocidad diagnóstica y terapéutica. *Acta Psiquiatr Psicol Am Lat* 2013; 59: 3-17.
 15. Ciprian-Ollivier JO, Cascallar E, Biganzoli B, Pomilio AB. Diagnóstico fehaciente de esquizofrenia: 37 años de experiencia en la utilización del HOD Test. *Acta Psiquiatr Psicol Am Lat* 2014; 60: 147-59.
 16. Lennard L. 4.21-Methyltransferases. En: McQueen CA, Editor-in-Chief. *Comprehensive Toxicology*. 2nd. ed. Volume 4: Biotransformation; Amsterdam: Elsevier Ltd; 2010. p. 435-57.
 17. Deguchi T, Barchas J. Inhibition of transmethylation of biogenic amines by *S*-adenosylhomocysteine. Enhancement of transmethylation by adenosylhomocysteinase. *J Biol Chem* 1971; 246: 3175-81.
 18. Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine. Pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157 (Suppl 2): S40-4.
 19. Schubert HL, Blumenthal RM, Cheng X. Many paths to methyltransfer: a chronicle of convergence. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 329-35.
 20. Tehlivets O, Malanovic N, Visram M, Pavkov-Keller T, Keller W. *S*-Adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase and methylation disorders: yeast as a model system. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 204-15.
 21. Weinshilboum RM, Otterness DM, Szumlanski CL. Methylation pharmacogenetics: Catechol *O*-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine *N*-methyltransferase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 19-52.
 22. Lew JY, Matsumoto Y, Pearson J, Goldstein M, Hökfelt T, Fuxe K. Localization and characterization of phenylethanolamine *N*-methyl transferase in the brain of various mammalian species. *Brain Res* 1977; 119: 199-210.
 23. Gearhart DA, Neafsey EJ, Collins MA. Characterization of brain *beta*-carboline-2*N*-methyltransferase, an enzyme that may play a role in idiopathic Parkinson's disease. *Neurochem Res* 1997; 22: 113-21.
 24. Gearhart DA, Neafsey EJ, Collins MA. Phenylethanolamine *N*-methyltransferase has *beta*-carboline 2*N*-methyltransferase activity: hypothetical relevance to Parkinson's disease. *Neurochem Int* 2002; 40: 611-20.
 25. Thompson MA, Weinshilboum RM. Rabbit lung indolethylamine *N*-methyltransferase. cDNA and gene cloning and characterization. *J Biol Chem* 1998; 273: 34502-10.
 26. Thompson MA, Moon E, Kim U-J, Xu J, Siciliano MJ, Weinshilboum RM. Human indolethylamine *N*-methyltransferase: cDNA and expression, gene cloning, and chromosomal localization. *Genomics* 1999; 61: 285-97.
 27. Aksoy S, Brandriff BF, Ward A, Little PFR, Weinshilboum RM. Human nicotinamide *N*-methyltransferase gene: Molecular cloning, structural characterization and chromosomal localization. *Genomics* 1995; 29: 555-61.
 28. Scheller T, Orgacka H, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Mouse liver nicotinamide *N*-methyltransferase pharmacogenetics. Biochemical properties and variation in activity among inbred strains. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 43-53.
 29. Sugawara A, Yokoyama H, Ohta M, Maeda T, Tanaka K, Fukushima T. The effect of heavy metals on nicotinamide *N*-methyltransferase activity *in vitro* relating to Parkinson's disease. *Environ Health Prev Med* 2005; 10: 180-3.
 30. Grechez-Cassiau A, Grève P, Guerlotté J, Collin JP, Voisin P. Hydroxyindole *O*-methyltransferase gene expression in the pineal gland of chicken embryo: development of messenger RNA levels and regulation by serum. *Brain Res Dev Brain Res* 1995; 88: 204-11.
 31. Glauser TA, Nelson MD, Zembower DE, Lipsky JJ, Weinshilboum RM. Diethylthiocarbamate *S*-methylation: Evi-

- dence for catalysis by human liver thiol methyltransferase and thiopurine methyltransferase. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 23-32.
32. Eisenhofer G, Kopin IJ, Goldstein DS. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for Physiology and Medicine. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 331-349.
 33. Jensen J, Ruge T, Lai Y-C, Svensson MK, Eriksson W. Effects of adrenaline on whole-body glucose metabolism and insulin-mediated regulation of glycogen synthase and PKB phosphorylation in human skeletal muscle. *Metab Clin Exper* 2011; 60: 215-226.
 34. Pomilio AB, Ciprian Ollivier JO, Vitale AA. Flavoproteínas que actúan como amino-oxidasas: estructura, función e importancia clínica. (Flavoproteins acting as amine oxidases: structure, function and clinical significance). *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47: 279-305.
 35. Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR. Catechol *O*-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val¹⁵⁸Met and beyond. *Biol Psychiatry* 2006; 60: 141-151.
 36. Kuhar MJ, Couceyro PR, Lambert PD. Storage and release of catecholamines. En: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*. 6th ed., Philadelphia: Lippincott-Raven. American Society for Neurochemistry; 1999.
 37. Matsumoto M, Shannon Weickert C, Akil M, Lipska BK, Hyde TM, Herman MM, *et al.* Catechol *O*-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience* 2003; 116: 127-37.
 38. Brandan NC, Llanos IC, Ruiz Díaz DAN, Rodríguez AN. Hormonas Catecolamínicas Adrenales. Cátedra de Bioquímica Facultad de Medicina, UNNE, Año 2010. <http://es.scribd.com/doc/204301251/Cate-Colaminas#scribd> Fecha de acceso: 21 julio de 2015.
 39. Watts AG, Khan AM. Identifying links in the chain: the dynamic coupling of catecholamines, peptide synthesis, and peptide release in hypothalamic neuroendocrine neurons. *Adv Pharmacol* 2013; 68: 421-44.
 40. Borges R., Domínguez N, Smith CB, Bandyopadhyay GK, O'Connor DT, Mahata SK, Bartolomucci A. Granins and catecholamines: functional interaction in chromaffin cells and adipose tissue. *Adv Pharmacol* 2013; 68: 93-113.
 41. Rang HP, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. *Rang & Dale's Pharmacology*. Edinburgh. 8th ed. : Churchill Livingstone; 2015.
 42. Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Lipska BK, *et al.* Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2001; 50: 825-844.
 43. Liljequist R, Haapalinna A, Ahlander M, Li YH, Mannisto PT. Catechol *O*-methyltransferase inhibitor tolcapone has minor influence on performance in experimental memory models in rats. *Behav Brain Res* 1997; 82: 195-202.
 44. Hoth KF, Paul RH, Williams LM, Dobson-Stone C, Todd E, Schofield PR, *et al.* Associations between the COMT Val/Met polymorphism, early life stress, and personality among healthy adults. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2006; 2: 219-25.
 45. Landi N, Frost SJ, Mencl WE, Preston JL, Jacobsen LK, Lee M, *et al.* The COMT Val/Met polymorphism is associated with reading related skills and consistent patterns of functional neural activation. *Dev Sci* 2013; 16: 13-23.
 46. Colzato LS, van den Wildenberg WPM, Hommel B. Cognitive control and the COMT Val¹⁵⁸Met polymorphism: genetic modulation of videogame training and transfer to task-switching efficiency. *Psychol Res* 2014; 78: 670-8.
 47. Medina MA, Correa Fiz F, Rodríguez Caso C, Sánchez Jiménez F. A comprehensive view of polyamine and histamine metabolism to the light of new technologies. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 854-64.
 48. Ellenbroek BA. Histamine H₃ receptors, the complex interaction with dopamine and its implications for addiction. *Br J Pharmacol* 2013; 170: 46-57.
 49. Meyer JS, Quenzer LF. *Psychopharmacology: drugs, the brain, and behavior*. 2nd ed. Chapter 6: Serotonin. Sunderland (MA): Sinauer Associates Inc Publishers; 2013. pp. 168-84.
 50. Pandharipande PP, Morandi A, Adams JR, Girard TD, Thompson JL, Shintani AK, Ely EW. Plasma tryptophan and tyrosine levels are independent risk factors for delirium in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2009; 35: 1886-92.
 51. Adams Wilson JR, Morandi A, Girard TD, Thompson JL, Boomershine CS, Shintani AK, *et al.* The association of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism with acute brain dysfunction during critical illness. *Crit Care Med* 2012; 40: 835-41.
 52. Breedlove SM, Watson NV. *Biological Psychology: an introduction to behavioral, cognitive, and clinical neuroscience*. Chapter 3: Neurophysiology: the generation, transmission, and integration of neural signals. Chapter 4: The chemistry of behavior: neurotransmitters and neuropharmacology. Sunderland (MA): Sinauer Associates Inc Publishers; 2013.
 53. Glennon RA, Dukat M. Serotonin receptor subtypes. En: Bloom FE, Kupfer DJ, editors. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press; 1995. p. 415-29.
 54. Glennon RA. Do classical hallucinogens act as 5-HT₂ agonists or antagonists? *Neuropsychopharmacol* 1990; 3: 509-17.
 55. Strassman RJ. Human psychopharmacology of *N,N*-dimethyltryptamine. *Behav Brain Res* 1996; 73: 121-4.
 50. Strassman RJ, Qualls CR. Dose-response study of *N,N*-dimethyltryptamine in humans. I. Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects. *Arch Gen Psychiat* 1994; 51: 85-97.
 57. Strassman RJ, Qualls CR, Uhlenhuth EH, Kellner R. Dose-response study of *N,N*-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale. *Arch Gen Psychiat* 1994; 51: 98-108.
 58. Jacob MS, Presti DE. Endogenous psychoactive trypt-

- amines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. *Med Hypotheses* 2005; 64: 930-7.
59. Fontanilla D, Johannessen M, Hajipour AR, Cozzi NV, Jackson MB, Ruoho AE. The hallucinogen *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) is an endogenous *sigma*-1 receptor regulator. *Science* 2009; 323: 934-7.
 60. Mavlyutov TA, Epstein ML, Andersen KA, Ziskind-Conhaim L, Ruoho AE. The *sigma*-1 receptor is enriched in postsynaptic sites of C-terminals in mouse motoneurons. An anatomical and behavioral study. *Neuroscience* 2010; 167: 247-55.
 61. Mavlyutov TA, Epstein ML, Liu P, Verbny YI, Ziskind-Conhaim L, Ruoho AE. Development of the *sigma*-1 receptor in C-terminals of motoneurons and colocalization with the *N,N*-dimethyltryptamine forming enzyme, indole *N*-methyltransferase. *Neuroscience* 2012; 206: 60-8.
 62. Vitale AA, Ciprian-Ollivier J, Vitale MG, Romero E, Pomilio AB. Estudio clínico de marcadores de la hipermetilación indólica en las alteraciones de la percepción. (Clinical studies of markers of the indolic hypermethylation in human perception alterations). *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010; 44: 627-42.
 63. Krebs MO, Bellon A, Mainguy G, Jay TM, Helge Frieling H. One-carbon metabolism and schizophrenia: current challenges and future directions. *Trends Mol Med* 2009; 15: 562-70.
 64. Jhee KH, Kruger WD. The role of cystathionine *beta*-synthase in homocysteine metabolism. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 813-22.
 65. Do KQ, Trabesinger AH, Kirsten-Krüger M, Lauer CJ, Dydak U, Hell D, *et al*. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex *in vivo*. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 3721-8.
 66. Axelrod J. Enzymatic formation of psychotomimetic metabolites from normally occurring compounds. *Science* 1961; 134: 343-4.
 67. Axelrod J. The enzymatic *N*-methylation of serotonin and other amines. *J Pharmacol Exper Ther* 1962; 138: 28-33.
 68. Morgan M, Mandell AJ. Indole(ethyl)amine *N*-methyltransferase in the brain. *Science* 1969; 165: 492-3.
 69. Mandell AJ, Morgan M. Indole(ethyl)amine *N*-methyltransferase in human brain. *Nature* 1971; 230: 85-7.
 70. Friedhoff AJ, Schweitzer JW, Miller J. The enzymatic formation of 3,4-di-O-methylated dopamine metabolites by mammalian tissues. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1972; 3: 293-311.
 71. Mandel LR, Ahn HS, VandenHeuvel WJA, Walker RW. Indoleamine *N*-methyltransferase in human lung. *Biochem Pharmacol* 1972; 21: 1197-200.
 72. Narasimhachari N, Plaut J, Himwich HE. 3,4-Dimethoxyphenethylamine, a normal or abnormal metabolite? *J Psychiatr Res* 1972; 9: 325-8.
 73. Saavedra JM, Axelrod J. Psychotomimetic *N*-methylated tryptamines. Formation in brain *in vivo* and *in vitro*. *Science* 1972; 175: 1365-6.
 74. Saavedra JM, Coyle JT, Axelrod J. The distribution and properties of nonspecific *N*-methyltransferase in brain. *J Neurochem* 1973; 20: 743-52.
 75. Heller B. *N*-Methylating enzyme in blood of schizophrenics. *Psychosomatics* 1971; W:2Ti-214.
 76. Walker RW, Ahn HS, Mandel LR, VandenHeuvel WJA. Identification of *N,N*-dimethyltryptamine as the product of an *in vitro* enzymatic methylation. *Anal Biochem* 1972; 47: 228-34.
 77. Wyatt RJ, Saavedra JM, Axelrod J. A dimethyltryptamine forming enzyme in human blood. *Am J Psychiatry* 1973; 130: 754-60.
 78. Wyatt RJ, Saavedra JM, Belmaker R, Cohen S, Pollin W. The dimethyltryptamine forming enzyme in blood platelets: A study in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1973; 130: 1359-61.
 79. Mandel LR, Walker RW. The biosynthesis of 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine *in vitro*. *Life Sci* 1974; 15: 1457-63.
 80. Bhikharidas B, Mann LR, McLeod WR. Indoleamine *N*-methyltransferase activity in human tissues. *J Neurochem* 1975; 24: 203-5.
 81. Meller E, Rosengarten H, Friedhoff AJ. Conversion of C¹⁴S-adenosylmethionine to C¹⁴ formaldehyde and condensation with indoleamines: A side reaction in *N*-methyltransferase assay in blood. *Life Sci* 1974; 14: 2167-78.
 82. Rosengarten H, Meller E, Friedhoff AJ. Possible source of error in studies of enzymatic formation of dimethyltryptamine. *J Psychiatr Res* 1976; 13: 23-30.
 83. Narasimhachari N, Plaut JM, Himwich HE. Indole(ethyl)amine *N*-methyltransferase in serum samples of schizophrenics and normal controls. *Life Sci* 1972; 11: 221-7.
 84. Hsu LL, Mandell AJ. Multiple *N*-methyltransferases for aromatic alkylamines in brain. *Life Sci* 1973; 13: 847-58.
 85. Hsu LL, Mandell AJ. Stimulation of brain aromatic alkylamine *N*-methyltransferase activity by FAD and methylcobalamin. *Life Sci* 1974; 14: 877-85.
 86. Rosengarten H, Friedhoff AJ. A review of recent studies of the biosynthesis and excretion of hallucinogens formed by methylation of neurotransmitters or related substances. *Schizophr Bull* 1976; 2: 90-105.
 87. Collins MA, Neafsey EJ, Matsubara K, Cobuzzi Jr RJ, Rollema H. Indole-*N*-methylated beta-carbolinium ions as potential brain-bioactivated neurotoxins. *Brain Res* 1992; 570: 154-60.
 88. Matsubara K, Neafsey EJ, Collins MA. Novel S-adenosylmethionine-dependent indole-*N*-methylation of beta-carbolines in brain particulate fractions. *J Neurochem* 1992; 59: 511-8.
 89. Naoi M, Matsuura S, Takahashi T, Nagatsu T. A *N*-methyltransferase in human brain catalyses *N*-methylation of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline into *N*-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, a precursor of a dopaminergic neurotoxin, *N*-methylisoquinolinium ion. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 1213-9.
 90. Nagatsu T. Isoquinoline neurotoxins in the brain and Parkinson's disease. *Neurosci Res* 1997; 29: 99-111.
 91. Naoi M, Maruyama W, Dostert P, Hashizume Y. *N*-Methyl-(*R*)salsolinol as a dopaminergic neurotoxin: from an animal model to an early marker of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 1997; 50: 89-105.

92. Porta R, Esposito C, Camardella M, Pietra GD. Multiple forms of rabbit lung indoleamine *N*-methyltransferase. *J Biochem* 1979; 10: 919-23.
93. Lyon ES, Jakoby WB. Arylamine *N*-methyltransferase. Methylation of the indole ring. *J Biol Chem* 1982; 257: 7531-5.
94. Herman KS, Bowsher RR, Henry DP. Synthesis of *N* π -methylhistamine and *N* α -methylhistamine by purified rabbit lung indolethylamine *N*-methyltransferase. *J Biol Chem* 1985; 260: 12336-40.
95. Ansher SS, Jakoby WB. Amine *N*-methyltransferases from rabbit liver. *J Biol Chem* 1986; 261: 3996-4001.
96. Mandell AJ, Knapp S, Hsu LL. Some factors in the regulation of central serotonergic synapses. *Life Sci* 1974; 14: 1-17.
97. Sangiah S, Domino EF. In vitro studies of some chlorpromazine metabolites as potential *N*-methyltransferase inhibitors. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1977; 16: 389-92.
98. Jacob MS, Presti DE. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. *Med Hypotheses* 2005; 64: 930-7.
99. Kraut DA, Carroll KS, Herschlag D. Challenges in enzyme mechanism and energetics. *Annu Rev Biochem* 2003; 72: 517-71.
100. Fersht A. Structure and mechanism in protein science. New York: W.H. Freeman and Company; 1999.
101. Beaton JM, Christian ST. Stress induced changes in whole brain indolealkylamine levels in the rat: using gas liquid chromatography-mass spectrometry. *Abstr Soc Neurosci* 1977; 4: 1322.
102. The crystal structure of human indolethylamine *N*-methyltransferase in complex with SAH. Protein Data Bank. <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbId=2A14>. Fecha de acceso: 21 de julio de 2015.
103. Mavlyutov TA, Epstein ML, Liu P, Verbny YI, Ziskind-Conhaim L, Ruoho AE. Development of the *sigma*-1 receptor in C-terminals of motoneurons and colocalization with the *N,N*-dimethyltryptamine forming enzyme, indole-*N*-methyl transferase. *Neuroscience* 2012; 206: 60-8.
104. Zagoraiou L, Akay T, Martin JF, Brownstone RM, Jessell TM, Miles GB. A cluster of cholinergic premotor interneurons modulates mouse locomotor activity. *Neuron* 2009; 64: 645-62.
105. Hellstrom J, Oliveira AL, Meister B, Cullheim S. Large cholinergic nerve terminals on subsets of motoneurons and their relation to muscarinic receptor type 2. *J Comp Neurol* 2003; 460: 476-86.
106. Muennich EA, Fyffe RE. Focal aggregation of voltage-gated, K_{v21} subunit-containing, potassium channels at synaptic sites in rat spinal motoneurons. *J Physiol* 2004; 554: 673-85.
107. Miles GB, Hartley R, Todd AJ, Brownstone RM. Spinal cholinergic interneurons regulate the excitability of motoneurons during locomotion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 2448-53.
108. Mavlyutov TA, Epstein ML, Andersen KA, Ziskind-Conhaim L, Ruoho AE. The *sigma*-1 receptor is enriched in postsynaptic sites of C-terminals in mouse motoneurons. An anatomical and behavioral study. *Neuroscience* 2010; 167: 247-55.
109. Luty AA, Kwok JB, Dobson-Stone C, Loy CT, Coupland KG, Karlstrom H, *et al.* *Sigma* nonopioid intracellular receptor 1 mutations cause frontotemporal lobar degeneration-motor neuron disease. *Ann Neurol* 2010; 68: 639-49.
110. Al-Saif A, Al-Mohanna F, Bohlega S. A mutation in *sigma*-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2011; 70: 913-9.
111. Aydar E, Palmer CP, Klyachko VA, Jackson MB. The *sigma*-1 receptor as a ligand-regulated auxiliary potassium channel subunit. *Neuron* 2002; 34: 399-410.
112. Renaudo A, L'Hoste S, Guizouarn H, Borgese F, Soriani O. Cancer cell cycle modulated by a functional coupling between *sigma*-1 receptors and Cl(-) channels. *J Biol Chem* 2007; 282: 2259-67.
113. Hayashi T, Su T-P. *Sigma*-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival. *Cell* 2007; 131: 596-610.
114. Kekuda R, Prasad PD, Fei YJ, Leibach FH, Ganapathy V. Cloning and functional expression of the human type 1 *sigma* receptor (h*Sigma*R1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229: 553-8.
115. Brust P, Deuther-Conrad W, Lehmkuhl K, Jia H, Wunsch B. Molecular imaging of *sigma*-1 receptors *in vivo*: current status and perspectives. *Curr Med Chem* 2014; 21: 35-69.
116. Hanner M, Moebius FF, Weber F, Grabner M, Striessnig J, Glossmann H. Phenylalkylamine Ca(2+) antagonist binding protein. Molecular cloning, tissue distribution, and heterologous expression. *J Biol Chem* 1995; 270: 7551-7.
117. Nes WD, Zhou W, Dennis AL, Li H, Jia Z, Keith RA, *et al.* Purification, characterization and catalytic properties of human sterol 8-isomerase. *Biochem J* 2002; 367 (Pt 3): 587-99.
118. Dussossoy D, Carayon P, Belugou S, Ferat D, Bord A, Goubet C, *et al.* Colocalization of sterol isomerase and *sigma*-1 receptor at endoplasmic reticulum and nuclear envelope level. *Eur J Biochem* 1999; 263: 377-86.
119. Moebius FF, Reiter RJ, Bermoser K, Glossmann H, Cho SY, Paik YK. Pharmacological analysis of sterol Δ^8 - Δ^7 isomerase proteins with (3 μ)ifenprodil. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 591-8.
120. Paul R, Lavastre S, Floutard D, Floutard R, Canat X, Casellas P, *et al.* Allosteric modulation of peripheral *sigma* binding sites by a new selective ligand: SR 31747. *J Neuroimmunol* 1994; 52: 183-92.

Recibido: 31 de julio de 2015.

Aceptado: 26 de enero de 2016.