

# DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE DA DOPAMINA-BETA-HIDROXILASE (DBH) E MONOAMINA OXIDASE (MAO) DAS PLAQUETAS E PLASMA EM DOENTES ESQUIZOFRÉNICOS, MANÍACO-DEPRESSIVOS E NEURÓTICOS

R. XAVIER VIEIRA, MARIA AZEVEDO, PEDRO POLÓNIO, CARLOS MANSO

Serviço de Psiquiatria. Hospital de Santa Maria. Instituto de Química Fisiológica. Faculdade de Medicina. 1600 Lisboa.

## RESUMO

Os Autores estudaram as actividades da DBH, da MAO do plasma e da MAO das plaquetas, num grupo de doentes psiquiátricos. A MAO do plasma está diminuída em esquizofrénicos de ambos os sexos. Finalmente, a MAO das plaquetas mostrou uma diminuição significativa de actividade em esquizofrénicos masculinos, mas não femininos.

## SUMMARY

### Platelet MAO and plasma activity of DBH and MAO in psychiatric patients

The Authors studied the activities of plasma DBH and MAO and of platelet MAO in a group of psychiatric patients. Plasma MAO is lowered in schizophrenics of both sexes. Finally platelet MAO shows a significant decrease in activity in male schizophrenics but not in females.

## INTRODUÇÃO

A hipótese de que aminas não consideradas até há pouco tempo com interesse biológico possam ter um papel importante no comportamento humano é reforçada, cada vez mais à medida que avança a investigação sobre tal assunto.<sup>1, 2</sup> Os enzimas que sintetizam, transformam e catabolizam essas aminas, designadas na literatura anglo-saxónica *trace amines* são os mesmos que metabolizam as catecolaminas.<sup>3</sup> Quastel, já em 1938, sugeriu que aminas tóxicas produzidas endogenamente ou ingeridas na alimentação pudessem ser responsáveis por esquizofrenia e outras perturbações do comportamento.<sup>4</sup> Este Autor considerou que na esquizofrenia existia um defeito na conjugação do benzoato, isto é, na formação de ácido hipúrico.<sup>4</sup> Actualmente, têm sido desenvolvidos estudos tendentes a uma interpretação bioquímica para a esquizofrenia, doença afectiva e neurose.<sup>1, 2, 5</sup> Uma abordagem nesse campo tem sido o doseamento da actividade da dopamina- $\beta$ -hidroxilase (DBH), enzima responsável pela síntese de noradrenalina (NA), a partir da dopamina (DA). Outro dos enzimas estudados tem sido a monoamina oxidase (MAO) das plaquetas. Menos estudado, porém, mas possivelmente com interesse, será também a MAO do plasma.

Num trabalho que consideramos de grande valor, Evans e Vogel sugerem que a DBH, hidroxilando o carbono  $\beta$  da dopamina, anfetaminas, feniletilamina, etc. torna estas drogas menos lipossolúveis e mais facilmente excretáveis, podendo funcionar como um mecanismo de destoxificação de aminas no organismo.<sup>6</sup> Mas embora a DBH exista na circulação devido a ser lançada juntamente com a NA, por excitose, durante a transmissão nervosa, não poderá a sua actividade em circulação dar uma ideia segura do que se passa no sistema nervoso central (SNC).<sup>7</sup> Stein e Wise, num trabalho publicado na *Science* verificaram diminuição da actividade da DBH no cérebro de doentes esquizofrénicos, quando comparada com a de indivíduos normais.<sup>8</sup> A autóps-

sia em ambos os grupos fora efectuada 24 horas após o falecimento. Portanto, a autópsia verificada e que, possivelmente, diminuiria a actividade da DBH existia em ambos os grupos.<sup>8</sup>

Mais recentemente, Sternberg e col. constataram que os níveis da DBH no líquido cefalorraquidiano eram relativamente constantes no mesmo indivíduo. Estavam, contudo, diminuídos significativamente nos doentes esquizofrénicos que respondiam aos neurolépticos, quando comparados com os que não respondiam a estas drogas.<sup>9</sup> Os Autores consideraram que a actividade da DBH podia separar um subgrupo de doentes que possuíam uma alteração cerebral sensível à DA.<sup>9</sup>

No alcoolismo e mesmo na susceptibilidade ao alcoolismo existe aumento de actividade da DBH plasmática, assim como diminuição da actividade na MAO das plaquetas.<sup>10</sup> Segundo alguns Autores, a aversão ao álcool verificada nos indivíduos com terapêutica de desabitação pelo dissulfiran seria devida à inibição da DBH pela droga e não à inibição da desidrogenase do aldeído, pois que outros inibidores da DBH produzem o mesmo efeito.<sup>11</sup>

Mas tem sido em relação à MAO que mais trabalhos têm surgido ultimamente. Foi o conhecimento de que doentes recebendo drogas tuberculostáticas como a iproniazida mostravam melhoria de humor e até uma certa euforia que iniciou o estudo clínico dos inibidores da MAO, após verificação de que a iproniazida e a isoniazida eram inibidores deste enzima. O trabalho de Murphy e Wyatt, referindo diminuição da actividade da MAO das plaquetas de doentes esquizofrénicos despertou enorme interesse, até porque o enzima está sob controlo genético e a diminuição da sua actividade podia explicar alterações nas funções centrais dopaminérgicas.<sup>12</sup> Contudo, quando os esquizofrénicos eram divididos em subgrupos existia discrepância entre os vários trabalhos que estudavam a actividade da MAO das plaquetas, tanto em doentes esquizofrénicos como com alterações afectivas.<sup>13, 14</sup> Mas, o que parece mais provável, estudando

**QUADRO 1 Determinação da actividade plasmática da DBH em doentes esquizofrénicos, separados por sexos**

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Esquizofrénicos	32		
Homens	22	47,2	18,72
Mulheres	10	45,5	9,63
Normais	103		
Homens	60	37,7	20,9
Mulheres	43	44,0	18,31

N = número de indivíduos;  $\bar{X}$  = média; s = desvio padrão.

Test de Student:

Esquizofrénicos/Normais

Homens t = 1,851 p = ns

Mulheres t = 0,246 p = ns

Esquizofrénicos Homens/Mulheres t = 0,262 p = ns

Normais Homens/Mulheres t = 1,572 p = ns

**QUADRO 2 Determinação da actividade da DBH plasmática em doentes neuróticos (mulheres)**

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Neuróticos	15	43,5	15,94
Normais	43	44,0	18,31

Test de Student t = 0,092 p = ns.

**QUADRO 3 Determinação da actividade da DBH plasmática em doentes afectivos (mulheres)**

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Doença afectiva	16	56,1	32,08
Normais	43	44	18,31

Test de Student t = 1,775 p = ns.

**QUADRO 4 Determinação da actividade da MAO do plasma em doentes esquizofrénicos, separados por sexos**

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Esquizofrénicos	36		
Homens	26	25,0	8,44
Mulheres	10	24,2	10,53
Normais	129		
Homens	73	30,1	8,25
Mulheres	56	29,8	7,43

Test de Student:

Esquizofrénicos/Normais

Homens t = 2,611 p < 0,01

Mulheres t = 2,014 p < 0,05

Esquizofrénicos Homens/Mulheres t = 0,230 p = ns

Normais Homens/Mulheres t = 0,212 p = ns

grupos familiares é que a diminuição da actividade da MAO das plaquetas possa servir de marcador da vulnerabilidade à esquizofrenia e não como marcador da situação patológica em si.<sup>15, 16</sup>

Tem existido uma certa polémica em relação à terapêutica empregue nos doentes e aos resultados encontrados. Os agentes anti-depressivos tricíclicos podem ter, em grau variável, um papel inibidor do enzima.<sup>17, 18</sup> Davidson e col. num trabalho relativamente recente encontraram resultados que poderão ter muito interesse. Verificaram que um derivado da amitriptilina administrado a doentes depressivos causava um grau variável de inibição da MAO, de acordo com o doente estudado. O grau de inibição correlacionava-se com a melhoria em relação a componentes da ansiedade, mas não com a depressão.<sup>18</sup> Yu e col. estudando características bioquímicas da MAO das plaquetas de doentes esquizofrénicos crónicos verificaram que as constantes cinéticas do enzima, assim como a especificidade para os substratos eram diferentes quando comparadas com as de indivíduos controlos.<sup>19</sup> Uma dúvida persistiu no Autor — que possa ser a ingestão crónica de drogas neurolépticas a responsável pelas alterações encontradas. Substâncias tricíclicas (carbolicinas) formadas endogenamente a partir da triptamina, por condensação com o acetaldeído são potentes inibidores da MAO.<sup>20, 21</sup> Estas substâncias aumentam cinco vezes na urina de ratos submetidos a *stress* e diminuem com a administração de benzodiazepinas, na proporção directa da dose administrada.<sup>21</sup> A administração das carbolicinas a ratos conduz a uma apetência (preferência) destes pelo etanol.<sup>21</sup> Von Knorring e Oreland mediram a actividade da MAO das plaquetas num grupo de indivíduos alcoólicos e encontraram diminuição da sua actividade. E mais, fazendo um estudo longitudinal, constataram que indivíduos com um valor diminuído, na maior parte dos casos, se tornavam alcoólicos, anos mais tarde.<sup>22</sup> Será caso para perguntar se a diminuição da actividade da MAO verificada nos alcoólicos será uma situação que favorece a habituação ao álcool, ou pelo contrário, resulta da inibição da MAO por agentes endógenos tricíclicos, resultantes da condensação da triptamina com o acetaldeído.

Dado o grande interesse que o assunto nos parece ter, no presente trabalho propusemo-nos estudar a actividade da DBH e da MAO plasmáticas, assim como da MAO das plaquetas num grupo de doentes depressivos, esquizofrénicos e neuróticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 67 doentes (homens 26; mulheres 41), com idades compreendidas entre os 18 e 72 anos, assim divididos:

— Esquizofrenia	homens, 26
	mulheres, 10
— Neurose	mulheres, 15
— Psicose maniaco-depressiva	mulheres, 16

A colheita fez-se por punção venosa, para um tubo siliconado de centrífuga, contendo 1 ml de citrato de sódio a 3,8 %. Eram retirados 9 ml de sangue e o tubo era cuidadosamente invertido 3 a 4 vezes.

**QUADRO 5 Determinação da actividade da MAO do plasma em doentes neuróticos (mulheres)**

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Neuróticos	15	25,3	7,56
Normais	56	29,8	7,43

Test de Student t = 2,046 p < 0,05ns.

O isolamento das plaquetas processava-se o mais rapidamente possível após a colheita. Tanto o isolamento das plaquetas como a determinação da actividade da MAO foram feitos de acordo com a técnica descrita em 23. As proteínas das plaquetas foram determinadas pelo método de Lowry.<sup>24</sup>

O plasma, que tinha sido separado na primeira fase do isolamento das plaquetas, era mantido a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Os ensaios da DBH e MAO plasmáticas executavam-se num prazo que não excedia os 15 dias.

Para a determinação da actividade da DBH plasmática usou-se a técnica de Nagatsu e Udenfriend<sup>25</sup> e para a MAO do plasma foi empregue a técnica de McEwen.<sup>26</sup>

Os resultados são expressos da seguinte forma:

— Actividade da MAO das plaquetas:

$\mu\text{moles}$  de benzilamina transformada/mg de proteína/  
hora  $37^{\circ}\text{C}$ ;

— Actividade da DBH do plasma:

$\mu\text{moles}$  de tiramina transformada/L de plasma/minuto  
a  $37^{\circ}\text{C}$ ;

— Actividade da MAO do plasma:

Unidades McEwen. São unidades arbitrárias usadas pelo Autor.<sup>26</sup> Resultam da diferença da Abs entre o Ensaio e o Branco respectivo, multiplicada por 200. As Unidades McEwen podem ser convertidas em Unidades Internacionais, multiplicando-as por 12.<sup>26</sup>

Todos os ensaios foram feitos em duplicado com o respectivo Branco e as leituras da Abs fizeram-se num Espectrofotómetro UNICAM SP—1800.

Os reagentes da máxima pureza foram obtidos de:

— Sigma: tiramina, ascorbato, catalase, fumarato, N-etil-maleimida, benzilamina;

— Merck: os restantes

O pargiline foi gentilmente oferecido pelos Laboratórios Abbott dos EUA, a quem agradecemos.

A fim de obter um grupo controlo de idade comparável, utilizámos pessoal do nosso Laboratório, dadores de sangue e indivíduos voluntários, internados num Lar de 3.<sup>a</sup> Idade. Foi excluída qualquer patologia no grupo controlo que pudesse ter interferência com a actividade dos enzimas estudados.

## RESULTADOS

Não se notam diferenças significativas na actividade da DBH plasmática em nenhum dos grupos estudados (Quadros 1 a 3).

A MAO do plasma está significativamente diminuída em doentes esquizofrénicos de ambos os sexos (Quadro 4), mostra uma diminuição de menor significância em mulheres neuróticas (Quadro 5) e ausência de alterações em mulheres com doenças afectivas (Quadro 6).

No que respeita à MAO das plaquetas é curiosa a diferença significativa entre homens e mulheres esquizofrénicos, com acentuada diminuição dos valores de actividade nos

QUADRO 6 Determinação da actividade da MAO do plasma em doentes afectivos (mulheres)

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Doença afectiva	15	29,8	9,88
Normais	56	29,8	7,43

Test de Student  $t = 0,0$   $p = \text{ns}$ .

primeiros. Ainda é de notar que os esquizofrénicos masculinos têm actividades da MAO plaquetária diminuída, o que não sucede nos esquizofrénicos femininos (Quadro 7).

QUADRO 7 Determinação da actividade da MAO das plaquetas em doentes esquizofrénicos por sexos

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Esquizofrénicos	33		
Homens	23	89,2	56,28
Mulheres	10	144,8	9
Normais	50		
Homens	25	126,0	58,55
Mulheres	25	126,0	34,47

Test de Student:

Esquizofrénicos/Normais

Homens  $t = 2,169$   $p < 0,05$

Mulheres  $t = 1,652$   $p = \text{ns}$

Esquizofrénicos Homens/Mulheres  $t = 3,011$   $p < 0,01$

Normais Homens/Mulheres  $t = 0,043$   $p = \text{ns}$

Finalmente, as mulheres neuróticas e com doenças afectivas não apresentam alterações da MAO das plaquetas (Quadros 8 e 9).

QUADRO 8 Determinação da actividade da MAO das plaquetas em doentes neuróticas (mulheres)

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Neuróticas	14	116,5	45,44
Normais	25	126,6	34,47

Test de Student  $t = 0,760$   $p = \text{ns}$ .

QUADRO 9 Determinação da actividade da MAO das plaquetas em doentes afectivos (mulheres)

Grupo	N	$\bar{X}$	s
Doença afectiva	15	124,4	65,57
Normais	25	126,6	34,47

Test de Student  $t = 0,135$   $p = \text{ns}$ .

## DISCUSSÃO

Verificámos que não existem elevações da actividade da DBH plasmática dos doentes esquizofrénicos, quando comparados com indivíduos normais. Ainda em relação à DBH verificámos que na psicose maniaco-depressiva a sua actividade também não tem significado estatístico, devido à dispersão de valores. Estudámos unicamente mulheres, quer com psicose maniaco-depressiva quer com neurose, porque foi o grupo a que tivemos acesso.

Em relação à MAO do plasma encontrámos nos doentes esquizofrénicos de ambos os sexos uma diminuição com significado estatístico. Existe também diminuição da actividade da MAO nas mulheres neuróticas. Infelizmente não nos foi possível estudar um grupo de doentes do sexo masculino. Pensamos que a diminuição encontrada na actividade da MAO do plasma, designada actualmente Benzilamina Oxidase (BzAO) poderá ter um certo interesse e justifica a

continuação deste estudo. A MAO do plasma (BzAO) tem como melhor substrato a benzilamina. Esta amina é uma amina tóxica e não se sabe se poderá ser formada endogenamente. Existem, contudo, alimentos que a contêm. Se pensarmos nos trabalhos de Quastel, em que este Autor propunha um defeito na metabolização da benzilamina nos esquizofrênicos, haverá que continuar tal estudo.

Por fim, no que respeita à actividade da MAO das plaquetas, constitui para nós surpresa o facto de não encontrarmos diferença de actividade entre os sexos nos indivíduos normais, ao contrário do verificado em trabalho anterior.<sup>23</sup> Pensamos que a idade mais elevada das mulheres estudadas neste grupo poderá explicar o facto, já que a progesterona tem um papel activador do enzima e possivelmente é também indutora da sua síntese.<sup>27</sup> Verificamos diminuição da actividade da MAO das plaquetas nos homens esquizofrênicos, com significado estatístico. No que respeita às mulheres esquizofrênicas, estas têm valores mais elevados que o controlo, o que poderá ser explicado por menor idade. Terá interesse na continuação deste trabalho encontrar grupos controlo com idade semelhante.

A medicação neuroléptica poderá ter influenciado os resultados. Porém, analisando indivíduos esquizofrênicos em relação à medicação não é possível encontrar uma correlação entre valores mínimos, médios ou máximos de actividade de qualquer dos enzimas estudados, fazendo supor que a interferência das drogas não é relevante.

## BIBLIOGRAFIA

- GARVER, D. L.; DAVIS, J. M.: Biogenic amine hypotheses of affective disorders. *Life Sciences*, 1979; 24: 583.
- LEONARD, B. E.: Current status of the biogenic amine theory of depression *Neurochemistry International*, 1982; 4: 339.
- EDWARDS, D. J.: Identification and analysis of alcoholic metabolites produced via monoamine oxidase from various phenylethylamines. In monoamine oxidase, structure, function and altered functions. Ed. Thomas P. Singer, *Academic Press*, 1979; 403.
- QUASTEL, J. H.; WALES, W. T.: Faulty detoxication in schizophrenia. *The Lancet* 1938; 77: 301.
- SANDLER, M.: Trace amines in schizophrenia. In *Enzymes and Neurotransmitters in Mental Diseases*. Ed. E. Usdin, *John Wiley & Sons* 95.
- EVANS, B. D.; VOGEL, W. H.:  $\beta$  Hydroxylation as a possible detoxification mechanism: role in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 1977; 12: 583.
- KOPIN, I.; KAUFMAN, COL.: Dopamine-B-Hydroxylase. Basic and Clinical Studies. *Annals of Internal Medicine*, 1976; 85: 211.
- WISE, C. D.; STEIN, L.: Dopamine-B-Hydroxylase deficits in brains of schizophrenic patients *Science*, 1973; 181: 344.
- STERNBERG, D. E.; VAN KAMMEN, D. P.; LERNER, P.; BUNNEY, W. E.: Schizophrenia: Dopamine-B-Hydroxylase activity and treatment response *Science*, 1982; 216: 1425.
- SULLIVAN, J. L.; STANFIELD, C. N.; SCHANBERG, S.; CAVENAR, J.: Platelet Monoamine Oxidase and Serum Dopamine-B-Hydroxylase Activity in Chronic Alcoholics *Arch. Gen. Psychiatry*, 1978; 35: 1209.
- BROWN, Z. W.; AMIT, Z.; LEVITAN, D. E.; OGREN, S. O.; SUTHERLAND, E. A.: Noradrenergic mediation of the positive reinforcing properties of Ethanol: i. e. Extinction of Ethanol-Drinking Behaviour in Laboratory rats by inhibition of Dopamine-Beta-Hydroxylase. Implications for treatment procedures in human alcoholics. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 1977; 230: 76.
- MURPHY, D. L.; WYATT, R. J.: Reduced monoamine oxidase activity in blood platelets from bipolar depressed patients *Am. J. Psychiatry*, 1972; 128: 1351.
- MURPHY, DENNIS,: Clinical, genetic, hormonal and drug influences on the activity of human platelet monoamine oxidase. Monoamine oxidase and its inhibition A CIBA Foundation Symposium Ed. Elsevier *Excerpta Medica*, 1976; 341.
- ORSULA, K. P.; SCHILDKRAUT, J. J.; SCHATZBERG, A. F.; HERZOG, J. M.: Differences in Platelet Monoamine Oxidase activity in subgroups of Schizophrenic and depressive disorders *Biological Psychiatry*, 1978; 13: 639.
- WYATT, R. J.; MURPHY, D. L.; BELMAKER, R.; COHEN, S.; DONNELLY, C. H.; POLLIN, W.: Reduced Monoamine Oxidase activity in Platelets: A possible genetic marker for vulnerability to schizophrenia. *Science*, 1973; 179: 916.
- BUCHSBAUM, M. S.; COURSEY, R. D.; MURPHY, D. L.: The Biochemical High-Risk Paradigm: Behavioral and familial correlates of Low Platelet Monoamine oxidase activity. *Science*, 1976; 194: 339.
- ROTH, J. A.; GILLIS, C. N.: Some structural requirements for inhibition of type A and B forms of rabbit Monoamine Oxidase by tricyclic Psychoactive drugs. *Molecular Pharmacology*, 11: 28-35.
- DAVIDSON, J.; LINNOLLA, M.; RAFT, D.; TURNBULL, C. P.: MAO inhibition and control of anxiety following amitriptyline therapy. *Acta Psychia Scan.*, 1981; 63: 47-7.
- YU, P. H.; BOWEN, R.; CARLSON, K.; O'SULLIVAN, K.; BOULTON, A. A.: Some biochemical properties of Platelet monoamine oxidase isolated from Psychiatric patients. Monoamine Oxidase-Basic and Clinical Frontiers. Ed. Kamijo and Col. *Excerpta Medica*, 328.
- HONECKER, H.; ROMMELSPACHER, H.: Tetrahydronorharmine (Tetrahydro- $\beta$ -Carboline), a Physiologically occurring compound of indole Metabolism. *Archives of Pharmacology. Naunyn-Schmiedeberg's*, 1978; 305: 135.
- SANDLER, M.; GLOVER, V.; BHATTACHARYA, S. K.; ARMANDO, I.; FILE, S. E.; PETERSON, H.; REVELEY, M. A.: Endogenous urinary monoamine oxidase inhibitor and stress Monoamine oxidase — Basic and Clinical Frontiers. Ed. Kamijo and Col. *Excerpta Medica*, 262.
- VON KNORRIG, L.; ORELAND, L.: Visual average evoked responses and platelet monoamine oxidase activity as an aid to identify a risk group for alcoholic abuse. A preliminary study. *Prog. Neuro-Psychopharm*, 1978; 2: 385.
- AZEVEDO, M. S.: Estudo de alguns aspectos bioquímicos da diabetes mellitus humana e experimental. Tese de doutoramento de Lisboa, 1981.
- LOWRY, O.; ROSEGROUGH, N.; FARR, A.; RANDALL, R.: Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951; 193: 265.
- NAGATSU, T.; UDENFRIEND, S.: Photometric assay of dopamine- $\beta$ -Hydroxylase activity in human blood *Clin. Chem.*, 1972; 18: 98.
- MC EWEN, J. R.; C. H.: Human Plasma monoamine oxidase, i. j. Kinetic Studies *J. Biol. Chem.*, 1965; 240: 2011.
- YODIM, M. B. H.; HALZBAUER, M.: Physiological aspects of the oxidative desamination of monoamines. Monoamine oxidase and its inhibition A CIBA Foundation Symposium *Elsevier Excerpta Medica*, 1976.

Pedido de separatas: Carlos Manso  
 Instituto de Química Fisiológica  
 Faculdade de Medicina de Lisboa  
 Hospital de Santa Maria  
 Av. Prof. Egas Moniz  
 1600 Lisboa. Portugal.