

1985-2

REG. N^o. 078302763

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



CAPTACION Y LIBERACION DE CATECOLAMINAS EXOGENAS EN CORTEZA
CEREBRAL Y NUCLEO CAUDADO DE LA RATA DURANTE EL PERIODO
PRE-CONVULSIVO PROVOCADO POR LA ADMINISTRACION
SISTEMICA DEL GLUTAMATO MONOSODICO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA:

ROSANA SOFIA FIORENTINO PEREZ

GUADALAJARA, JALISCO, 1986

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

"CAPTACION Y LIBERACION DE CATECOLAMINAS EXOGENAS EN
CORTEZA CEREBRAL Y NUCLEO CAUOAOO DE LA RATA DURAN-
TE EL PERIODO PRE-CONVULSIVO PROVOCADO POR LA ADMI-
NISTRACION SISTEMICA DEL GLUTAMATO MONOSODICO".

TESIS QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE LICENCIADO
EN BIOLOGIA.

P R E S E N T A

ROSANA SOFIA FIORENTINO
PEREZ

GUADALAJARA, JAL. 1986.

A MIS PADRES,

A MIS HERMANOS.

Este trabajo fué realizado, en el Laboratorio de Neuroquímica de la Unidad de Investigacion de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección y asesoría del M. en C. Carlos Beas Zárate.

I N O I C E

	Página
I. INTRODUCCION	1
1.- Sinápsis	2
2.- Neurotransmisión Sináptica	5
3.- Importancia del Glutamato Intracelular	8
4.- Síntesis del Glutamato	9
5.- Distribución del Glutamato en el SNC	12
6.- El Glutamato como Neurotrasmisor	15
7.- Sinápsis Glutamatérgicas	19
8.- Aspectos Neuroquímicos de las Convulsiones	20
9.- Catecolaminas	23
II. HIPOTESIS	27
III. OBJETIVOS	28
IV. METODOLOGIA	29
1.- Reactivos	29
2.- Diseño Experimental	29
3.- Determinaciones Bioquímicas	30
4.- Experimentos de Captación	31
5.- Experimentos de Liberación	35
V. RESULTADOS	40
1.- Efecto del estres por la Inyección	40
2.- Efectos del GMS sobre los niveles de CA	40
3.- Captación de Catecolaminas	41
4.- Liberación de Catecolaminas	41

	Página
VI. DISCUSION	44
VII. CONCLUSIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	48
IX. FIGURAS	59

I. INTRODUCCION .-

El Tejido Nervioso está disperso en el organismo intercalándose y formando una red de comunicaciones que constituye el Sistema Nervioso (SN). Anatómicamente, éste sistema - se divide en: Sistema Nervioso Central (SNC), formado por - el encéfalo y la médula espinal y el Sistema Nervioso Periférico (SNP), estructurado por nervios y pequeños agregados de células nerviosas que se denominan ganglios nerviosos.

El Tejido Nervioso se forma por dos componentes principales; las células neuronales y por varios tipos de células de la glía o neuroglía, las cuales además de participar en la actividad neuronal, específicamente en la nutrición y el sostén de las neuronas, también participan en la defensa -- del Tejido Nervioso. La neurona constituye la unidad morfológica y funcional del SN, cada neurona posee un cuerpo celular, que contiene un núcleo, del cual parten prolongaciones, tales como; las dendritas, cuya función es recibir los estímulos del medio ambiente, de células epiteliales sensoriales o de otras neuronas y el axón que constituye una prolongación única especializada en la conducción de impulsos nerviosos que transmiten la información de una neurona a -- otra célula nerviosa, muscular, glandular, etc.. En la porción terminal del axón se localizan las regiones de contacto especializadas, denominadas sinápsis y que constituyen -

el sustrato de comunicación entre las diferentes células-- que forman el SN, es decir, es la estructura neuronal responsable de transmitir el impulso nervioso, el cual puede ser de dos tipos; a) Químico, en donde el impulso nervioso es mediado por la liberación de sustancias denominadas neurotransmisores (1), y b) Eléctrico, en el que las células nerviosas se relacionan por uniones tipo gap, que permiten el paso de iones de una célula a otra, de ésta forma se facilita la conexión eléctrica y la transmisión de impulsos (2).

1. SINAPSIS.-

Las sinápsis se pueden establecer a diferentes niveles de la neurona, esto es; como contactos de tipo axón - dendrita, axón-cuerpo celular, dendrita-dendrita, axón - axón y cuerpo celular-cuerpo celular (3).

La región sináptica presenta un elemento presináptico (axón), que posee varios cientos de hendiduras sinápticas y un elemento postsináptico, constituido por una región -- sensitiva de la membrana postsináptica. Además en la porción final del axón o estructuras presinápticas, están presentadas una gran cantidad de mitocondrias, así como un alto contenido de vesículas con un diámetro de 30-150 nm., las cuales están relacionadas estrechamente con el almacena-- miento y la liberación cuántica de éstos durante la despo--

larización del componente presináptico (4). También, se conoce que la interacción de éstas vesículas sinápticas con la membrana, es facilitada por especializaciones de la membrana presináptica las cuales constituyen la zona activa.- Las vesículas sinápticas son sintetizadas en el cuerpo celular para llegar a las terminales sinápticas, ésta membrana muchas veces es reciclada para ser de nuevo utilizada en la transmisión sináptica (Fig. 1).

Así también, se encuentran en la estructura presináptica, algunas cisternas aplanadas de superficie lisa, neurofilamentos, escasos microtúbulos, ocasionalmente cuerpos multivesiculares y partículas de glucógeno (5).

Con diferentes técnicas citoquímicas se ha demostrado la presencia de material glucoprotéico con componentes polianiónicos, particularmente ricos en ácido siálico, en el espacio sináptico que separa la membrana de la neurona presináptica y la neurona postsináptica, el cual muy probablemente está involucrado en el movimiento de iones o de moléculas neurotransmisoras en éste espacio intersináptico --- (5 y 6).

En los elementos presinápticos se ha observado un material denso submembranal con un patrón de distribución hexagonal que forman una rejilla presináptica, la cual se ha sugerido ser el elemento de fijación de las vesículas si---

nápticas antes de la liberación de las moléculas neuro----
transmisoras (6).

En la membrana postsináptica se localizan los receptores específicos, con los que se combinan los neurotransmisores liberados de la terminal presináptica, los cuales estan constituidos por moléculas de proteínas de gran tamaño que sobresalen por encima y por debajo de la membrana. Así, en la región postsináptica además de mitocondrias también se encuentran cuerpos multivesiculares, vesículas cubiertas, vesículas de pinocitosis, microfilamentos y cisternas del retículo endoplásmico liso y del granular (2 y 5).

En el proceso de la transmisión sináptica participan tres clases de moléculas; a) Enzimas biosintéticas, b) Membranas constituyentes, es decir, componentes de las vesículas sinápticas, receptores protéicos y los sistemas de captación de alta afinidad y c) La sustancia transmisora en sí, las cuales son sintetizadas por diferentes vías.

Debido a que un alto porcentaje de sinápsis química, están presentes en el SNC de los mamíferos, en donde la inforación entre las neuronas es mediada por un mensaje químico llamado neurotransmisor como se mencionó anteriormente, es de suma importancia conocer los eventos que ocurren en la misma.

2. NEUROTRANSMISION SINAPTICA:-

El origen de la teoría de la transmisión nerviosa puede remontarse a Du Bois Raymond quién postuló en 1948, la secreción de una sustancia excitadora como causante de la contracción muscular. Esta teoría sináptica, desencadena una serie de mecanismos responsables de la liberación de un mediador químico al espacio intersináptico el cual está representado por una distancia aproximada de 200 a 300 Å, de ésta manera en la terminal sináptica se induce la apertura de canales específicos a iones Calcio (Ca^{++}) sensibles al voltaje, ésto permite un incremento en la concentración de Ca^{++} intracelular, el cual no solo ocurre durante la llegada de un potencial de acción sino que también puede ser -- por la actividad de algunos sistemas membranales que controlan la concentración interna de calcio, como la mitocondria y el retículo endoplásmico (8). Los iones Ca^{++} entran a la terminal siguiendo su gradiente de concentración, lo que facilita la unión de la membrana vesicular con la membrana de la terminal sináptica y se activan los mecanismos responsables de la liberación del neurotransmisor (9). Este efecto facilitatorio del Ca^{++} se inhibe por presencia del ión Magnesio (Mg^{++}) en la terminal nerviosa (10).

La liberación del transmisor solo se establece en las terminales sinápticas de las neuronas y en condiciones fi-

siológicas éste evento. es precedido por un cambio en el potencial eléctrico de la membrana postsináptica, debido a que el transmisor interactúa con su receptor postsináptico específico, formando un complejo transmisor-receptor. Cuando el transmisor liberado es excitatorio, su interacción con el receptor postsináptico propicia la entrada de iones Sodio (Na^+) a la célula postsináptica lo que genera una despolarización, mientras que si es de tipo inhibitorio, propicia la entrada de iones Cloro (Cl^-) a la célula postsináptica y produce una hiperpolarización (8). Así encontramos que los receptores de los neurotransmisores presentan dos componentes funcionales: un lugar de unión para la molécula transmisora y un poro que atraviesa la membrana y presenta permeabilidad selectiva para algunos iones.

El complejo transmisor-receptor, también puede inducir cambios en la actividad de la adenilciclase, enzima responsable de la síntesis del nucleótido adenosín monofosfato cíclico (AMPC) que a su vez estimula la fosforilación de proteínas específicas que modifican la permeabilidad iónica de la membrana postsináptica a más largo plazo (8). Una vez transmitido el mensaje, el AMPC es inactivado en el interior de la neurona por la enzima fosfodiesterasa (Fig. 2). Por último el transmisor es removido del espacio intersináptico por: 1) Acción enzimática, la cual es utilizada primordialmente por sistemas colinérgicos siendo la -

enzima involucrada la acetilcolinesterasa. La enzima intracelular catecol-O-metiltransferasa es un factor importante en las vías degradativas de las aminas biogénicas (Catecolaminas, indolaminas e histamina) y 2) Por reacumulación del transmisor a la terminal presináptica, a través de un sistema de transporte de alta afinidad y dependiente de iones Na^+ , siendo éste mecanismo el más utilizado para inactivar una sustancia transmisora, así también por elementos gliales que están en contacto con la sinápsis, tal es el caso del ácido glutámico.

En el Tejido Nervioso se ha encontrado una docena de compuestos que pueden funcionar como transmisores (11). Estos compuestos se han considerado como tal, debido a que pueden excitar o inhibir las neuronas y porque tienen una distribución irregular en las diferentes regiones del SN.

Estos transmisores regularmente son sustancias de bajo peso molecular, entre los más comúnmente conocidos están algunos aminoácidos, tales como el ácido Gamma-aminobutírico (GABA), glicina, taurina y glutamato, algunas aminas tales como la acetilcolina, Dopamina (DA), Norepinefrina (NE) y Serotonina (5-HT) y recientemente se han unido a la lista algunos polipéptidos como la sustancia P (12).

En la transmisión sináptica excitatoria, están involucrados los aminoácidos de los cuales los ácidos glutámico-

y aspártico son los que se encuentran en alta concentración en el Tejido Nervioso (8).

3. IMPORTANCIA DEL GLUTAMATO INTRACELULAR.-

De todas las sustancias neurotransmisoras, los aminoácidos ácidos glutámico y aspártico, son compuestos que regulan en mayor proporción la transmisión ionotrópica ---- (acción del neurotransmisor que modifica la conductancia - de la membrana de la célula receptora a iones específicos) en las neuronas excitadoras del cerebro.

El Glutamato (Glu) presente en el SNC, además de funcionar como neurotransmisor, también presenta la habilidad de actuar en sitios sinápticos y no sinápticos, para lo -- cual se implica la existencia de receptores a Glu extrasinápticos. Así, se conoce que el Glu es un compuesto básico para la síntesis de ácidos grasos, regulación de los niveles de amonio, el control osmótico del balance iónico, precursor de numerosos sustratos en el ciclo de Krebs y del GABA, además de formar parte de los cofactores glutatión y ácido fólico (3). Además estudios realizados por Krebs --- (13) sugieren que el Glu desempeña un papel metabólico -- central en el cerebro, ya que mejora el funcionamiento y - participa en varios desórdenes neurológicos, incluyendo la epilepsia.

4. SINTESIS DEL GLUTAMATO.

El Glutamato al igual que el Aspartato (Asp) son aminoácidos no esenciales, se sintetizan a partir de un precursor que circula en la sangre, la glucosa, el cual atraviesa la barrera hematoencefálica y es captado por las neuronas. Una vez en el interior de la célula nerviosa, la glucosa presenta un metabolismo oxidativo y transaminación del α -oxoglutarato, para transformarse en el neurotransmisor. Así la glucosa representa uno de los sustratos más importantes del metabolismo energético en el SNC y de otros precursores mediante el ciclo de los ácidos tricarboxílicos por reacciones de transaminación. También la síntesis del Glu puede ocurrir a partir de una hidrólisis de la glutamina (14), catalizada por la acción de la enzima glutaminasa, la cual se ha demostrado que está presente en grandes cantidades en las terminales nerviosas, además de que varios estudios sugieren que ésta enzima desempeña un papel muy importante en la producción del transmisor Glutamato. De ésta manera durante la incubación con un medio con alta concentración de potasio, calcio y glutamina, se ha demostrado que se libera aproximadamente el 10% por minuto del total del Glutámico que existe en cortes de tejido.

Así también, mediante el uso de isótopos radioactivos incorporados a glucosa y glutamina, se ha demostrado que -

el ácido glutámico marcado que se libera por estimulación con alto potasio, procede básicamente de glutamina, mientras que el aspartato se sintetiza por transaminación, --- siendo el Glu su precursor indirecto (14).

Por otro lado se ha demostrado que la glucosa es metabolizada en el compartimento del glutamato con pequeñas -- síntesis de glutamina. Estos compartimentos probablemente consisten en estructuras neuronales incluyendo terminales nerviosas (15). Así también la glutamina es sintetizada -- por los astrocitos la cual parece ser un importante pre-- cursor para la síntesis de Glu y GABA (16).

La administración de dos precursores generales, glucosa y acetato, en forma marcada dan una incorporación diferente dentro de los dos aminoácidos relacionados, Glu y -- glutamina, respectivamente. También el acetato es metabolizado en un pequeño compartimento del Glu con alta síntesis de glutamina.

La actividad de la glutaminasa es fuertemente regulada por sus productos, glutamato y amoniaco; con lo que es muy probable que la regulación del producto final sea el -- factor dominante para la regulación de la síntesis del --- transmisor glutamato (17).

Existen estudios que sugieren que en las células de la glía y no en las neuronas, el Glu se transforma activamente en glutamina por medio de la enzima glutamino sintetasa. Esto permite suponer una interacción dinámica entre las neuronas glutaminérgicas y las células gliales, de tal manera que al liberarse el Glu de la terminal sináptica, su síntesis se incrementa por un aumento en la captación de glutamina, simultáneamente se observa un incremento en la actividad de la glutaminasa (4), es decir el Glu es recapturado preferencialmente por las células gliales, en las cuales será convertido en glutamina, ésta se libera de la glía y contribuye así con el precursor para que la neurona forme el ácido glutámico liberable durante la neurotransmisión (3).

Estudios in vitro han sugerido que la glutamina puede servir como precursor para el Glu liberado de terminales nerviosas auditivas.

La enzima aspartato aminotransferasa cataliza la reacción reversible convirtiendo aspartato a oxaloacetato y α -cetoglutarato a glutamato. Tanto el oxaloacetato como el α -cetoglutarato son mediadores del ciclo de los ácidos cítricos, los cuales intervienen en la síntesis de los neurotransmisores Glu y Asp. Por lo tanto la aspartato aminotransferasa, podría estar involucrada en la producción de

Glu y Asp para la liberación o en la regulación de sus niveles relativos en la terminal sináptica (Fig. 3).

5. DISTRIBUCION DEL GLUTAMATO EN EL SNC.-

El Glutamato posee una amplia distribución en el SNC, en donde se encuentra en una proporción de 13.5 μ moles/g - de tejido húmedo, mientras que para el aspartato es de 3.7 μ moles/g de tejido húmedo (18).

Por otro lado se estima que aproximadamente del 30-40% de todas las conexiones sinápticas en el SNC de la rata -- son de tipo GABAérgicas. (19).

Las pruebas más convincentes de que los ácidos glutámico y aspártico pueden actuar como neurotransmisores, proceden de su acción sobre las neuronas cuando son aplicados iontoforéticamente. Consecuentemente, la acción de tales - compuestos excitadores parece estar mediada por la activación de receptores específicos en la membrana.

Se ha demostrado en la corteza cerebral que el Glu es liberado junto con pequeñas cantidades de Glicina, Taurina y Aspartato, pero no con otros aminoácidos después de estimular la formación reticular media en la preparación de en céfalo aislado. De ésta manera el transporte retrógrado --,

del D-aspartato, el cual se ha descrito en numerosas vías glutamatérgicas, podría considerarse como un medio para localizar vesículas sinápticas que contengan Glu (20). Sin embargo, la técnica más utilizada para identificar vías glutamatérgicas es la combinación de lesiones, captación de alta afinidad y la liberación dependiente de Ca^{++} (21) - en donde la lesión se acompaña por una pérdida en el nivel endógeno del Glu la cual es del 20-45%, de ésta forma es posible diferenciar la actividad del aspartato respecto al Glu.

La captación de alta afinidad del Glu o Asp se ha demostrado en preparaciones de la glía, además estudios autorradiográficos sugieren que la captación puede predominar in vivo (22).

Trabajos realizados por Divac y McGeer, demuestran -- que al lesionar la vía excitatoria corticoestriatal, se produce una disminución del 40 al 50% en la captación del Glu por el sistema de alta afinidad en sinaptosomas del es triado, mientras que el sistema de captación para el GABA- y la DA no se altera (23).

En la vía cortico-entorrinal hipocampal, se ha demostrado que es capaz de incorporar Glu y Asp por un sistema de alta afinidad dependiente de Na^{+} (24).

Por medio de estudios autorradiográficos sobre la distribución intracelular del Glu y Asp, se ha observado que éstos aminoácidos se localizan principalmente en las terminales axónicas de las células piramidales (ipsilaterales y contralaterales), así como en terminales de células granulares y en aferentes de la corteza entorrinal (vía perforante) (24). Mientras que al lesionar los axones de las células piramidales, se reduce la captación de Glu y Asp marcados, en un 85%, además la concentración de Glu y Asp endógenos se reduce en un 40% en la capa molecular del hipocampo. Así también al lesionar la vía perforante se reduce la captación del Glu en un 52% en el area dentada del hipocampo. En éstas mismas condiciones, la liberación del Glu se disminuye pero no así la del Asp y un fenómeno opuesto ocurre cuando se lesiona la vía comisural, por lo que se sugiere que podría ser tipo glutamatérgica (24).

Se conoce que las fibras aferentes corticales, las cuales vienen aparentemente a través de la corteza frontal media contienen gran cantidad de neuronas aferentes glutamatérgicas. Así también otra vía importante glutamatérgica, son las fibras del Fornix derivadas del subiculum e hipocampo. Mientras que en tracto olfatorio lateral, nervio auditivo y fibras trepadoras cerebrales es donde puede dominar el aspartato (25).

También hay evidencias de que el Glu actúa como neu-

rotransmisor en el nervio del pichón (21). Además los aminoácidos pueden ser liberados de fibras nerviosas - que terminan en arteria de barorreceptores en el núcleo -- del tracto solitario.

Otros circuitos glutamatérgicos en el SNC de los vertebrados son la vía corticoestriatal, la corteza olfatoria de asociación (entorrinal), vía perforante del hipocampo - (26), la retinotectal, las vías aferentes sensoriales y -- las células granulares de las fibras paralelas del cerebelo (27). Así también se indica una liberación sináptica -- del aspartato/glutamato después de estimular las vías nerviosas del hipocampo en donde se ha propuesto al Glu y Asp como neurotransmisores de las fibras musgosas (18).

Otras fibras que podrían utilizar al aspartato o Glu son las ipsilaterales del hipocampo, hipocampo-dentado, hipocampo-tubérculos mamilares, corticocorticales, corticotalámicas, visual-corticotectal y bulbo olfatorio-corteza olfatoria. Mientras que las fibras hipocámpicas comisurales y ciertas interneuronas espinales se han propuesto para -- utilizar únicamente al aspartato como neurotransmisor (28).

6. EL GLUTAMATO COMO NEUROTRANSMISOR.-

Los primeros experimentos que apoyan la acción del --

Glutamato como neurotransmisor se realizaron en invertebrados, específicamente en la unión neuromuscular de los crustáceos, demostrándose claramente que el glutamato o bien - extractos de cerebro que contenían glutamato mostraban una acción excitadora sobre el músculo del acocil (29). Posteriormente, a través de estudios electrofisiológicos (30) y bioquímicos (31) se ha demostrado que el Glu posee una amplia acción excitatoria en neuronas tanto a nivel periférico como en el central (26). Aunque la liberación del compuesto por estimulación fisiológica es más difícil de demostrar, sobre todo en el SNC. Estudios in-vivo han demostrado la liberación de Glu y Asp en la superficie de la -- corteza cerebral del gato, ésta liberación aumenta por estimulación del tallo cerebral. (24).

Numerosos estudios indican que el efecto excitatorio que el L-glutamato y el L-aspartato ejercen sobre la mayor parte de las neuronas del SNC está relacionado con diferentes tipos de receptores membranales (33). Así también se ha demostrado tanto in-vivo como in-vitro una liberación dependiente de calcio del Glu y Asp mediante la aplicación iontoforética de agonistas y antagonistas de la acción de éstos aminoácidos excitadores, lo cual contribuye para la identificación y caracterización de sus receptores por técnicas electrofisiológicas (25).

Durante los últimos 15 años se ha postulado al Glu como neurotransmisor en el cerebro debido a que éste satisface 4 criterios principales para considerarse como tal (25), esto es;

- a).- Su localización presináptica en neuronas específicas (33).
- b).- Su liberación exógena y endógenamente de una forma dependiente de calcio, bajo diferentes condiciones de despolarización en concentraciones suficientes por estímulos fisiológicos para producir la respuesta postsináptica (34).
- c).- Tiene identidad de acción con el transmisor que normalmente está presente en forma natural ya que incluye respuestas a antagonistas (14).
- d).- Posee mecanismos que terminan rápidamente con la acción del transmisor, esto es, un sistema de captación de alta afinidad y dependiente de sodio (30). Este sistema de captación del Glu presenta un requerimiento absoluto para el sodio ya que estudios realizados con $^{22}\text{Na}^+$ han demostrado que dicho requerimiento es de 2 iones sodio por cada molécula de Glu (35). Esta captación de alta afinidad para el Glu puede ser medida biológicamente en homogenizados o en preparaciones sinaptosomales y autorradiográficamente en cortes de tejido ($< 200 \mu\text{m}$) (18). También, se ha demostrado en preparaciones de células de la glía, células

aisladas de ganglio sensorial y en cultivo primario-- de astrocitos, una captación de alta afinidad para el Glu (14). Además se cree que la captación de las células de la glía in vivo es necesaria para remover el - transmisor liberado (36).

También, Shank y Campbell han dado a conocer que la - fracción sinaptosomal del cerebro, presenta una captación- 3 veces mayor que los astrocitos, es decir, los astrocitos en cultivos primarios indican una gran capacidad (V_{max}) pa ra captar Glu, además se sugiere que los astrocitos son de mayor importancia para la inactivación del Glu (36).

Por otro lado, estudios realizados en rebanadas o pre paraciones sinaptosomales, han revelado que el Glu endógeno o glutamato/aspartato, marcado exógenamente es liberado de una manera Ca^{++} dependiente bajo diferentes métodos de- despolarización tales como; estimulación en el campo eléctrico (37), alta concentración de potasio (38), veratridina (39) o en ausencia de agentes de despolarización como - el ionóforo A 23187 (40). Sin embargo en las células de la glía los aminoácidos transmisores incluyendo Glu son liberados por despolarización de una manera Ca^{++} independiente (24).

7. SINAPSIS GLUTAMATERGICAS.-

Se conoce que el sitio de reconocimiento para el ---- L-glutamato, es una glucoproteína con Peso Molecular de -- 14 000 daltons el L-aspartato puede actuar de una forma -- alostérica como modulador en el incremento de la afinidad- de captación del L-glutamato hacia el sitio del receptor - postsináptico (41). Así también es importante para el fun- cionamiento de una sinápsis la cantidad de sustancia trans- misora que una neurona puede liberar, para lo cual la neu- rona presenta un sistema de plasticidad en el cual la acti- vidad de la sinápsis es alterada por la actividad o expe- riencias previas (42).

Se ha sugerido que de la interacción del Glu con los - receptores postsinápticos cerebelares, produce un incremen- to en la concentración del GMPc, además de que se ha obser- vado que el Glu exógeno induce un aumento en el nivel del- GMPc en el cerebelo y que tal incremento es impedido por - el antagonista al Glu, el ácido glutámico dietilester (33). De ésta manera cuando son estimuladas las vías glutamatér- gicas, los niveles del GMPc son incrementados o disminu- dos respectivamente (27).

La síntesis de los nucleótidos GMPc y AMPc son de lar- ga duración y aparentemente inducen la fosforilación de --

proteínas subsinápticas, las cuales podrían participar en la excitabilidad neuronal a través del control de la permeabilidad celular a ciertos iones (8).

8. ASPECTOS NEUROQUIMICOS DE LAS CONVULSIONES.-

Se conoce que la epilepsia es un trastorno neurológico que consiste en descargas sincrónicas repetidas y de alto voltaje provenientes de un grupo de neuronas hiperexcitadas que ocasionan cambios metabólicos y eléctricos de los mecanismos inhibitorios.

Se ha demostrado que la administración sistémica del Glutamato Monosódico (GMS), produce en algunos mamíferos destrucción neuronal en la retina (43), así como en varias regiones del cerebro incluyendo el núcleo arcuato (44). Algunos estudios electroencefalográficos demuestran que el GMS puede inducir convulsiones tónico-clónicas después de su administración intraperitoneal (i.p.) (26,45). Además de que el Glu se relaciona con ciertos desórdenes mentales.

En el fenómeno convulsivo no solo el Glu es el único transmisor involucrado, sino que también la DA, NE, 5-HT y GABA, participan en el mecanismo de las crisis convulsivas, estos neurotransmisores, son los responsables de mantener la excitabilidad de la neurona y por lo tanto de la fun---

ción normal del cerebro.

Se ha confirmado que cuando se inducen crisis en ratas no anestesiadas o por electroshock, se presenta un incremento masivo en la tasa metabólica durante los primeros segundos después del shock, así como un metabolismo acelerado de la glucosa dentro del cerebro, en donde esos cambios se acompañan de una notable disminución del ATP y fosfocreatina (18). Además estudios llevados a cabo con la neurotoxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA) la cual produce una destrucción severa y permanente de las neuronas Catecolamínicas (CAérgicas), también produce convulsiones severas de larga duración, ésto sugiere una implicación del sistema CAérgico en dicho fenómeno (14).

El ácido Kaínico (KA), un análogo del Glu y que puede provocar epilepsia cuando se inyecta in vivo (14), induce un comportamiento anormal en animales de experimentación (44). Pero cuando se inyecta KA dentro de los ventrículos, bajo condiciones controladas, se produce una lesión selectiva del hipocampo en la rata (51), éste daño cerebral es similar al que se produce en el estado epiléptico.

Por otra parte, el Glu, KA, N-Metil-D-aspartato (NMDA) y DL-Homocisteína, cuando se administran subcutáneamente en dosis subtóxicas, elevan los niveles de testoste-

rona y hormona lutenizante (LH) en el suero (14), mientras que los mismos compuestos en dosis elevadas, inducen convulsiones y destrucción neuronal. Como se observa, existe una gran diversidad de formas de inducir crisis convulsivas cuya base principal es el hecho de que se modifica la neurotransmisión mediada por diferentes tipos de transmisores químicos.

A pesar del desarrollo de la neurofarmacología y del establecimiento de las bases neuroquímicas de las sinápsis aminérgicas, hasta el momento no se conoce con precisión --cual es la participación fundamental de las aminas biogénicas en la epilepsia y en particular en el fenómeno convulsivo. Sin embargo, existen varios modelos de epilepsia inducida experimentalmente que indican una importante implicación de las neuronas monoaminérgicas particularmente de DA y NE (46). De ésta manera la caracterización del fenómeno convulsivo al administrar GMS a animales de laboratorio, -permitió continuar el comportamiento de los niveles de las Catecolaminas (CA) en la región telencefálica, los cuales pueden ser medidos por análisis espectrofluorométrico, para indicar la variabilidad de esas aminas. Así también se demostró que existe una estrecha correlación entre la aparición de las crisis convulsivas y una reducción en los níveles de CA del 50 al 60% previo a la aparición de las crisis convulsivas (47). Por lo tanto, sería importante el po

der determinar cual es la forma en que se modifica la captación así como la liberación dependiente de Ca^{++} de DA y NE. Bajo éste mismo fenómeno y de ésta manera se llega a un conocimiento más preciso acerca de los eventos que ocurren previo al fenómeno convulsivo.

9. CATECOLAMINAS.-

Las CA se forman en el cerebro a partir del aminoácido tirosina, el cual se extrae del torrente sanguíneo para concentrarse en las células neuronales por medio de un mecanismo de transporte activo. La tirosina una vez dentro de las neuronas se transforma en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por medio de la acción de la tirosina hidroxilasa, enzima que constituye el factor limitante en la síntesis de CA, además de que se requiere de un cofactor reductor Pteridina (PT) el cual es reoxidado por la enzima pteridinareductasa. Posteriormente la L-DOPA se descarboxila mediante la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos para formar la DA y CO_2 . En las neuronas noradrenérgicas la DA se hidroxila en el carbono beta por la acción de la DA-betahidroxilasa para dar origen a NE. Esta enzima se encuentra en las vesículas sinápticas de tal forma que la DA en el momento de almacenarse se transforma en NE en las -- neuronas NEérgicas (Fig. 4) (48).

En las neuronas que son exclusivamente DAérgicas la DA se almacena en las vesículas sinápticas DAérgicas por medio de un transporte activo dependiente de energía metabólica y de iones Mg^{++} localizados en las membranas de tales vesículas para ser liberadas bajo un estímulo fisiológico apropiado, así se ha reportado la liberación de DA endógena en sinaptosomas del estriado en respuesta a veratridina, estimulación eléctrica, KCL elevado y anfetaminas. --- (Fig. 5). (49).

Una de las características principales de las Monoaminas (MA) cuando llega un impulso o estímulo nervioso a la terminal sináptica es un aumento en la permeabilidad de la membrana a los iones Ca^{++} principalmente, lo cual permite la movilización de las vesículas que contienen moléculas del neurotransmisor para fusionarse con la membrana presináptica y en ésta forma el transmisor se libera por medio de un proceso de exocitosis mismo que se puede inhibir en condiciones in vitro con iones magnesio (50).

Se ha reportado que existen receptores en la membrana postsináptica así como en el elemento presináptico de tal manera que existe un receptor D1 ligado a la adenilato-ciclasa y un D2 como autorreceptor. Así la acción que generalmente presentan las MA en respuesta a la interacción con su receptor específico en el elemento postsináptico es de-

tipo inhibitorio. Sin embargo, en ciertas regiones del SNC algunas células responden de una manera excitatoria; por lo que se piensa que de acuerdo con el tipo de receptor -- que se encuentre postsinápticamente, se obtiene una respuesta de tipo inhibitorio o excitatorio (32).

Estudios llevados a cabo in vivo demuestran que del 40 al 60% de la NE que se administra por vía venosa se metaboliza enzimáticamente por la catecol-orto-metil transferasa y por la monoamino-oxidasa (MAO), mientras que el resto se inactiva por un sistema de transporte o de captación muy específico y activo que se localiza en la terminal nerviosa que libera la monoamina correspondiente (48). Este sistema de captación es muy similar en los casos de NE, DA y 5-HT, ya que requiere de energía metabólica y depende de la temperatura, además de ser un sistema saturable con una cinética definida y un requerimiento de iones Na^+ en el espacio extracelular. Debido a esto, el proceso se inhibe en presencia de compuestos capaces de inactivar la ATPasa, -- Na^+ y K^+ dependiente, tales como la ouabaina y la n-etilma leimidida (Fig. 4 y 5) (7).

Las células que contienen DA se localizan en tres -- regiones: Sustancia nigra, donde las células se proyectan al núcleo caudado y al cuerpo estriado; cerebelo medio, -- donde se proyectan a la corteza límbica; y en el hipotálamo, donde las células se proyectan al tallo pituitario. -- (52).

La localización de núcleos NAérgicos y sus proyecciones sinápticas se han reconocido en el cerebro anterior y tallo cerebral de la rata (46).

II.- HIPOTESIS .-

Sí el glutamato es un neurotransmisor excitatorio en el SNC y la administración sistémica de éste produce una disminución importante en los niveles de catecolaminas en el cerebro anterior durante las etapas pre y convulsivas de la rata, luego entonces el glutamato monosódico modula la neurotransmisión mediada por NE y DA en algunas regiones del SNC.

III.- OBJETIVOS .-

1.- Determinar la concentración de NE y DA en Telencéfalo durante el período pre - convulsivo en ratas con administración i.p. de GMS.

2.- Determinar la liberación y la captación de NE y DA -- exógenas en cortes de tejido obtenidos de corteza cerebral y núcleo caudado respectivamente en la rata durante el período convulsivo, después de la administración intraperitoneal del glutamato monosódico.

IV. MATERIAL Y METODOS.

1.- REACTIVOS.-

Todos los compuestos que se utilizaron fueron en grado reactivo, el Cloruro de Sodio (NaCl), Cloruro de Potasio -- (KCl), Cloruro de Magnesio (MgCl_2), Fosfato Dibásico de Sodio (Na_2HPO_4), Carbonato de Sodio (NaHCO_3), Fosfato Monobásico de Sodio (NaH_2PO_4), fueron adquiridos de J.T. Baker, -- (México), Cloruro de Calcio (CaCl_2), Glucosa, Acido Perclórico (HClO_4), Acido Acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), Sulfato de Magnesio- (Mg SO_4), se adquirieron de Merck (México).

Pargilina, Dodecil Sulfato de Sodio (SDS), fueron adquiridos de Sigma Chemical (St. Louis, Missouri), Acido Etilen Glicol Tetra Acético (E.G.T.A.) y Acido Etilendiamino Tetra acético. (EDTA), fueron adquiridos de Sigma Chemical - (Company), NE (Actividad específica de 11.8 Ci/mmol) y DA -- (Actividad específica de 68.6 mCi/mmol) fueron adquiridos - en New England Nuclear (Boston Massachusetts).

2.- DISEÑO EXPERIMENTAL.-

Las ratas que se utilizaron fueron de la cepa Wistar de 60 días de edad (\pm 5 días) y con un peso de 250-300 gr., - las cuales se mantuvieron de acuerdo a las condiciones del bioterio, esto es: con libre acceso al agua y alimentación- y con ciclos de luz-obscuridad de 12 X 12 hrs., hasta el día

del experimento. Las ratas fueron sacrificadas por decapitación a los tiempos 0,15,30 y 45 min. después de la administración del GMS y se obtuvieron las muestras para medir los niveles de NE y DA en Telencéfalo, mientras que para medir la captación y liberación de éstas catecolaminas, -- las ratas se sacrificaron a los 50 min. e inmediatamente se realizó la disección de corteza y nucleo caudado de la región anterior del cerebro, de los cuales se obtuvieron rebanadas de 20 a 30 mg. de peso de tejido por ml. de medio de incubación.

Los animales se dividieron en tres grupos:

Grupo I.- Se les administró solución salina fisiológica -- (SSF) por vía i.p. y fué un grupo testigo.

Grupo II.- Se les aplicó una solución de NaCl equimolar a la de GMS como un segundo grupo testigo, lo cual permitió describir el efecto que pudiera tener el ión sodio sobre los parámetros a medir.

Grupo III.- Se les administró por vía i.p. GMS a la dosis de 5 mg/gr de peso a partir de una solución acuosa al 50%.

3.- DETERMINACIONES BIOQUIMICAS.-

Para medir la concentración de NE y DA en Telencéfalo, las muestras se pesaron y homogenizaron en 10 volúmenes --

(volumen/peso) de ácido perclórico 0.3 N. que contenía --- 0.5% de EDTA y 0.1% de ácido ascórbico, después se separaron NE y DA de acuerdo al método de Cox y Perhach (58).

Después de que se homogenizaron las muestras, se centrifugaron a 23 000 X g durante 15 min. y el sobrenadante se transfirió a un tubo que contenía 200 mg. de alúmina, - la adsorción de las CA se llevó a cabo a un pH de 8.5 y -- posteriormente fueron eluidos con ácido acético 0.3 N.

Las Catecolaminas se cuantificaron de acuerdo al método espectrofluorométrico de Laverty y Taylor (59), como - estandar interno se tomó una solución de NE y DA exógenas- como bases libres.

4.- EXPERIMENTOS DE CAPTACION.-

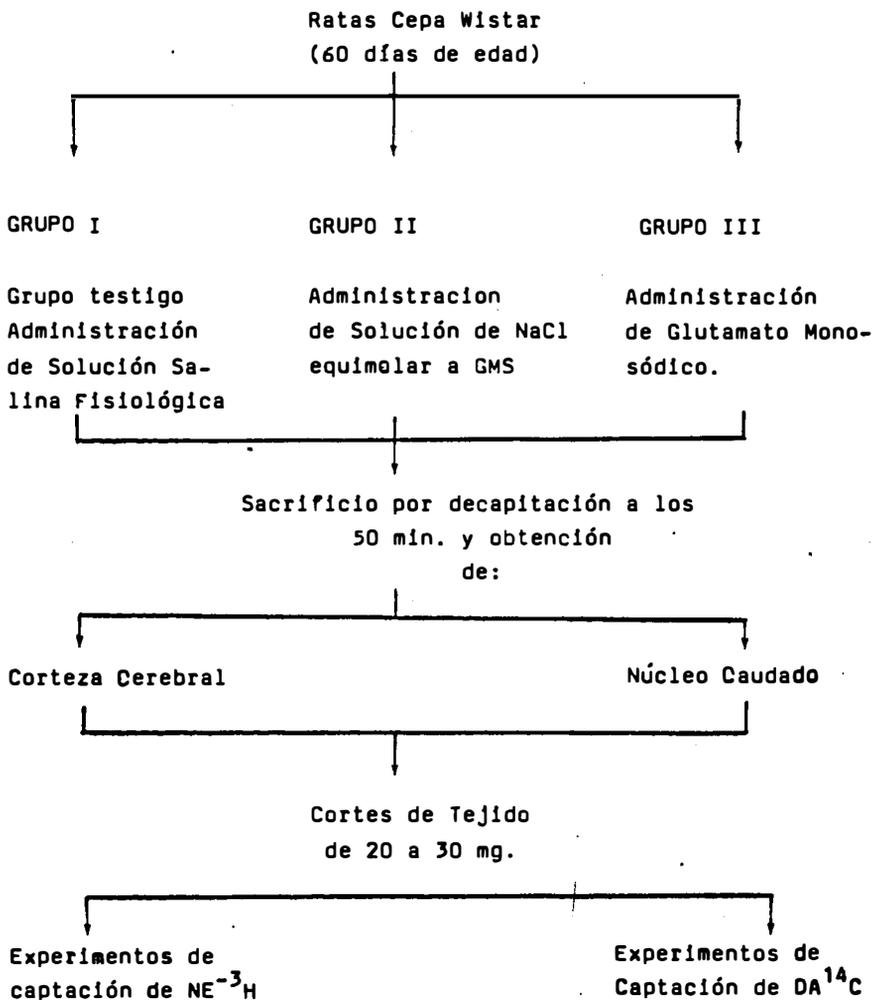
Después de la administración de las soluciones a cada uno de los grupos, los animales fueron sacrificados por de capitación a los 50 min. se les extrajo el encéfalo y se - disecó la corteza cerebral y nucleo caudado, los cuales -- fueron utilizados de acuerdo al esquema No. 1.

Para medir la captación de NE-³H ó DA-¹⁴C, se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Beas-Zárate y col. (57) el cual consistió en lo siguiente: el tejido se preincubó durante 5 min. a 37⁰C en baño maría y con agita-

ción continúa en una solución de Krebs-bicarbonato que ade más contenía 80 μM de pargilina y 1 mM de ácido ascórbico- (Tabla No. 1) ajustada a un pH de 7.4 con una mezcla de $\text{CO}_2\text{-O}_2$ (5%-95%).

Después de la preincubación de las muestras se adicio nó la amina marcada correspondiente a una concentración fi nal de 0.1 μM y se prolongó la incubación durante 5 min. - al término de éste tiempo, se tomó una alícuota de 100 μl - para control radioactivo y posteriormente la muestra co--- rrespondiente fué transferida un sistema de filtración mil- lipore montado sobre una caja a la cual se le aplicó un - vacío de 10 a 12 mm de Hg (Esquema No. 2) con el propósi- to de extraer el medio de incubación por succión; después- las muestras se lavaron con 5 ml. del medio de incubación- a temperatura ambiente y el filtrado se eliminó por vacío. El filtro fué trasferido a un vial de centelleo el cual - contenía 2 ml. de Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) al 10%, - los cuales fueron incubados a 60°C durante 20 min. con el propósito de solubilizar el tejido. Posteriormente se adi cionó 5 ml. de líquido de centelleo (Tritosol) y se contó la radiactividad en un espectrofotómetro de centelleo lí- quido Packard Modelo No. 3390.

PROGRAMA DE TRABAJO



ESQUEMA No. 2
EXPERIMENTOS DE CAPTACION

Cortes de Tejido (20-30 mg)



Resuspender en el medio de incubación
(20-30 mg. de tejido)

Krebs-bicarbonato pH-7.4 con CO₂-O₂ (5%-95%)



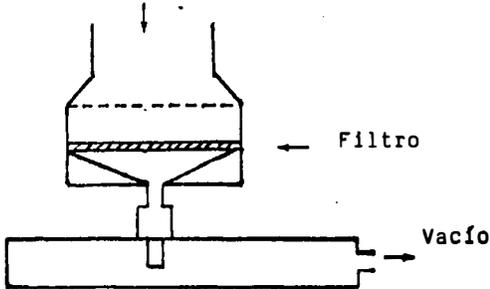
Preincubación por 5 min a 37°C. +NE-³H ó DA-¹⁴C



Incubación por 5 min.



Muestra + lavado con 5 ml. de medio de incubación.



Filtro

+ SOS 10%

Incubación a 60°C/20 min.

Contador de Centelleo líquido

TESTIGO.- La radioactividad acumulada de 0°-4°C.

En cada experimento se tomó como testigo la radiactividad acumulada durante la incubación de 0^o a 4^oC y el valor obtenido en éstas condiciones se restó de los valores obtenidos a la temperatura de incubación de 37^oC (Esquema 2).

5.- EXPERIMENTOS DE LIBERACION.-

Los experimentos de liberación se llevaron a cabo de acuerdo a Beas-Zárate y col. (57) los cuales consistieron en lo siguiente: las muestras del tejido se incubaron en un medio Ringer-bicarbonato que además contenía 80 μ M de pargilina y 1 mM de ácido ascórbico (Tabla No. 2) durante 5 min. después se le adicionó la amina -³H ó -¹⁴C respectiva a una concentración final de 0.1 μ M, la incubación se prolongó 10 min. más y al término de éste tiempo se tomaron alícuotas de 0.5 ml. para control radioactivo, la muestra se depositó en el sistema de filtración para extraer por succión el medio y se lavó con 15 ml. de medio Ringer-bicarbonato bajo en K⁺ y sin Ca⁺⁺, el medio se extrajo por succión y a la muestra se le aplicaron 2 estímulos con --- 1 ml. cada uno de baja concentración de potasio con el propósito de obtener el valor basal. Posteriormente se estimuló con 1 ml. de medio con alta concentración de K⁺ y en presencia de Ca⁺⁺ (Esquema 3). La duración de cada lavado fué de 30 segundos a 37^oC y cada lavado fué seguido por la aplicación de vacío durante 20 seg. Posteriormente se co--

lectaron los filtros más el tejido y se les agregó 5 ml. -
de tritosol y se contó la NE-³H o DA-¹⁴C liberada.

ESQUEMA No. 3
EXPERIMENTOS DE LIBERACION

Cortes de tejido (20 - 30 mg.)



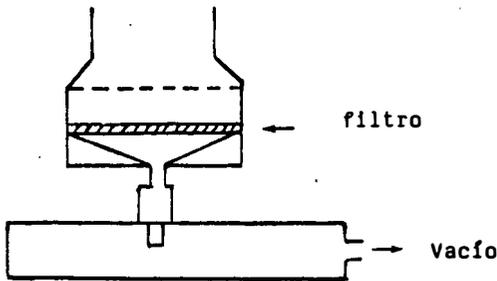
Preincubar en medio Krebs - bicarbonato libre de Ca^{++} a p H= 7.4 con CO_2-O_2 (5%-95%) por 5 min. a $37^{\circ}C$.



Incubación a $37^{\circ}C$ por 10 min. con $NE-^3H$ o $DA-^{14}C$.



Alícuotas de 0.5 ml.



Lavado con 15ml. de medio Ringer-bicarbonato

6 ESTÍMULOS

bajo K^+ sin Ca^{++} (1 ml.) (2 veces); alto K^+ Ca^{++} (1 ml) (1 vez)

bajo K^+ sin Ca^{++} (2 veces) alto K^+ Ca^{++} (1 ml) (1 vez)

Alícuotas para control radioactivo Filtros + 5ml. de SDS 10%

+ líquido de centelleo.

$60^{\circ}C/20$ min.



Espectrómetro



líquido de centelleo

TABLA No. 1

COMPOSICION DEL MEDIO RINGER-BICARBONATO

	Conc. final (mM)
NaCl	110.0
KCl	3.0
MgCl ₂	1.2
Na ₂ HPO ₄	1.2
NaHCO ₃	25.0
CaCl ₂	1.5
GLUCOSA	10.0

TABLA No. 2

COMPOSICION DEL MEDIO RINGER-BICARBONATO ± EGTA

	Conc. final (mM)
NaCl	115.0
KCl	3.0
NaH ₂ PO ₄	1.2
MgSO ₄	1.2
NaHCO ₃	25.0
GLUCOSA	10.0
E.G.T.A.	1.0

TABLA No. 3

COMPOSICION DEL MEDIO RINGER-BICARBONATO-ALTO K⁺

	Conc. final mM
NaCl	65.0
KCL	53.0
NaH ₂ PO ₄	1.2
MgSO ₄	1.2
NaHCO ₃	25.0
GLUCOSA	10.0
E.G.T.A.	1.0
CaCl ₂	2.0 mM

V.- RESULTADOS .-

1.- Efecto del estrés por la inyección:

Los valores basales de NE y DA en cerebro anterior, - fueron obtenidos de las muestras de animales sacrificados - por decapitación y que no recibieron ninguna inyección.

Los resultados muestran que en el cerebro anterior la concentración de NE disminuyó un 60% en el tiempo 0, mientras que a los 15,30 y 45 min. la disminución fué de un 13, 20 y 12% respectivamente en animales inyectados por SSF -- con respecto a los valores basales (Fig. 6), Por otra parte, no se observaron cambios significativos en los niveles de DA en el cerebro anterior. (Fig. 7).

2.- Efectos del GMS sobre los niveles de CA.

Para describir el posible efecto que pudiera tener la concentración de iones Na^+ en la solución de GMS sobre los niveles de CA, se utilizó como control los valores obtenidos de las ratas tratadas con solución de NaCl equimolar a GMS.

Se observó una disminución en los niveles de NE en el cerebro anterior de las ratas tratadas con GMS en todos -- los tiempos, que corresponden a una disminución del 33,21- y 11% en los tiempos 15,30 y 45 min. respectivamente ---- (Fig. 6).

Los niveles de DA en el cerebro anterior, muestran --

una disminución importante del 47% a los 15 min. y del 59% a los 30 min. después de la administración de GMS en relación con los animales tratados con solución de NaCl equimolar a GMS. Mientras que no se encontró diferencia significativa entre los valores obtenidos con SSF con respecto a los animales que se les administró solución de NaCl Equimolar a GMS (Fig. 7).

3.- Captación de Catecolaminas:

Se observó una disminución del 40% en la captación de NE^3H en corteza cerebral al aplicar GMS con respecto a los valores obtenidos por SSF. Así también, se presenta una -- disminución del 42% en relación con el grupo de animales - que se le administró solución de NaCl equimolar a GMS ---- (Fig. 8). Por otra parte, los valores obtenidos por efecto del GMS en la captación de $DA-^{14}C$ en núcleo caudado, muestran un incremento de 116 a 100% en relación con el grupo de animales que recibieron SSF y solución de NaCl equimolar a GMS respectivamente (Fig. 10).

Al comparar el control con el grupo que se le administró una solución de NaCl equimolar a GMS no se encontró diferencia significativa en la captación de NE^3H en corteza cerebral y captación de $DA^{14}C$ en núcleo caudado (Fig. 8 y 10).

4.- Liberación de Catecolaminas:

Al considerar el efecto del GMS en la liberación de -

NE³H en corteza cerebral con respecto al grupo que se le administró SSF, se obtuvo una disminución del 35% en el primer estímulo con alto K⁺ y un 66% en el 2º estímulo. También se encontró una disminución del 45 y 56% en el primer y 2º estímulo con alto K⁺ respectivamente en comparación con una solución de NaCl equimolar a GMS. (Fig. 9).

Al comparar los valores del control con respecto al grupo que se le administró una solución de NaCl quimolar a GMS se observó un incremento en la liberación de NE³H en corteza cerebral del 18% en el primer estímulo con alta concentración de K⁺, mientras que en el 2º estímulo la liberación de NE³H disminuyó el 22%. Así también, en las mismas condiciones se encontró una disminución del 29 y 56% respectivamente en la liberación de DA¹⁴C en el primer y 2º estímulo provocado con alta concentración de K⁺. (Fig. 9 y 11).

En los resultados obtenidos se puede apreciar un marcado incremento en la liberación de DA-¹⁴C en núcleo caudado por efecto del GMS en comparación con el grupo de animales que se le administró solución de NaCl equimolar a GMS- el cual corresponde a un 117 y 104% en el primer y 2º estímulo con alto K⁺ respectivamente mientras que en relación con SSF se presenta un aumento del 53% para el primer estímulo con alto K⁺ y una disminución del 11% para el 2º estímulo (Fig. 11). Sin embargo, bajo la administración de --- NaCl equimolar a GMS se observó una continua disminución -

de la liberación de DA a partir del primer pulso con alta concentración de K^+ , donde la diferencia es estadísticamente significativa con respecto al control (Fig. 11).

VI.- D I S C U S I O N .-

Es importante hacer notar la influencia que tiene el estres de la inyección sobre los niveles de Catecolaminas, en telencéfalo, esto se observa al encontrar una diferencia significativa entre los valores basales y los resultados obtenidos bajo la administración de la SSF en lo que respecta a los niveles de NE en Telencéfalo (Fig. 6). De ésta manera se han comunicado cambios en la concentración de Catecolaminas, específicamente de NE en diversas condiciones de estres. (52 , 53) por lo que se puede establecer una importante participación de éstas aminas en el control del estres, sin embargo, con estos resultados no es posible determinar el mecanismo, así como las posibles vías neuronales de tipo CAérgico que pudieran establecer o regular el estado de estres, para lo cual es importante continuar con estudios sistemáticos y específicos para esclarecer dicho fenómeno.

Por otro lado, altas concentraciones de NaCl administradas por vía i.p. modifican los niveles de NE en Telencéfalo (Fig. 6) así como la liberación de DA en el núcleo caudado (Fig. 7).

Diversos estudios realizados en el cuerpo estriado han demostrado que el requerimiento externo de Na^+ y Ca^{++}

para la liberación de DA es relativamente bajo, esto sugiere que el sistema de liberación para DA es más sensible en relación al que se observa para otras aminas, como la NE y 5-HT (54), lo que indica que la solución de NaCl equimolar a GMS administrado por vía i.p. puede producir cambios en la concentración de Na^+ intracerebral, ya que el Na^+ no presenta fenómeno de barrera hematoencefálica y de ésta forma el Na^+ reduce el tiempo de acumulación de la DA exógena a nivel de sinapsis, así, en éstas condiciones la captación de DA por terminales DAérgicas en el núcleo caudado no se modifica (Fig. 10) esto induce una continua liberación de DA de tal forma que al proporcionar el pulso con alta concentración de K^+ en condiciones in vitro, la cantidad disponible de DA es baja a nivel de sinápsis, lo que explicaría una baja liberación de DA por influencia de la solución de NaCl equimolar a GMS.

En el presente trabajo se observa una importante disminución en la concentración de NE y DA en el telencéfalo durante el período pre -convulsivo (Fig. 6 y 7). Al considerar que el efecto convulsivo del GMS en la rata conductualmente es evidente entre los 45 a 55 min. después de su administración y que la mayor reducción en los niveles de CA corresponde a los 30 min. (Fig. 6 y 7), esto permite sugerir que las CA están directamente relacionadas con las manifestaciones convulsivas en las ratas tratadas con GMS. Esta sugerencia se apoya con los resultados obtenidos por-

otros autores en diferentes modelos de convulsiones experimental (46 , 55). Aunque no se tienen evidencias directas de que el GMS o alguno de sus metabolitos modifica los niveles de CA por acción directa sobre células CAérgicas, sí es muy claro que bajo el efecto del GMS la captación y liberación de NE en corteza cerebral se disminuye (Fig.8 y 9) mientras que en núcleo caudado el GMS estimula tanto la captación como la liberación dependiente de calcio de la DA (Fig. 10 y 11). Estos resultados están de acuerdo a los reportados por Chesselet con estudios citoquímicos con anti-tirosina hidroxilasa y anti-glutamato descarboxilasa en el cuerpo estriado (56) donde se sugiere que el glutámico produce en el estriado un incremento en la liberación de DA por interacción sobre receptores presinápticos, nuestros resultados apoyan ésta sugerencia ya que el núcleo caudado es un componente del cuerpo estriado, con lo que es probable que en el núcleo caudado se encuentre la mayor confluencia de receptores presinápticos en terminales DAérgicas. Estudios posteriores en nuestro laboratorio estarán dirigidos para confirmar o descartar ésta probabilidad, así como también en corteza cerebral ya que existen evidencias acerca de la presencia de neuronas Glutamatérgicas en ésta región en donde el GMS de alguna forma modula la captación y liberación de NE ya que no se descarta la posibilidad de que ésta modulación se lleve a cabo vía receptores presinápticos.

VII.- CONCLUSIONES .-

- 1.- Las manifestaciones convulsivas, por efecto del Glutamato Monosódico, están directamente relacionadas con una importante disminución en los niveles de Norepinefrina y Dopamina en Telencéfalo de la rata durante el período preconvulsivo.
- 2.- El Glutamato Monosódico por vía intraperitoneal, modula la neurotransmisión mediada por Norepinefrina y Dopamina en corteza cerebral y núcleo caudado respectivamente, durante el período convulsivo, por lo que los resultados obtenidos apoyan nuestra hipótesis inicialmente propuestas.
- 3.- El mecanismo por el cual el Glutamato Monosódico modifica la captación y liberación de Norepinefrina y Dopamina en corteza cerebral y núcleo caudado respectivamente, aún no se conoce, por lo que será necesario realizar otros estudios para esclarecer si el Glutamato Monosódico afecta éstos eventos de la neurotransmisión en forma directa o indirecta sobre las terminales nerviosas Catecolaminérgicas.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .-

- 1.- Heuser, J.E., Reese, T.S., Dennis, M.J., Jan, Y., Jan, L. y Evans, L. (1979) Synaptic vesicle exocytosis captured by quick freezing and correlated with quantal -- transmitter release. J. Cell. Biol. 81:275-300.
- 2.- Pappas, G.D. y Waxman, S.G. (1972). Synaptic fine structure-morphological correlates of chemical and electro-
nic transmission. En: Structure and function of synapses. Pappas, G.D. y Purpura, D.P. (Eds) Raven Press, ---
New York. pp. 1-43.
- 3.- Gershon, M.D., Schwartz, J.H. y Kandel, E.R. (1981).--
Morphology of chemical Synapses and Patterns of Inter-
connection. En: Principles of Neuronal Sciences. Kan-
del, E.R. y Schwartz, J.H. (Eds). Elsevier/North-Ho---
lland pp. 91-105.
- 4.- Del Castillo, J. y Katz, B. (1957). La Base "Quantale"
de la Transmission neuromusculaire. In microphysiolo-
gie comparée des éléments excitables. Collq. Int. ---
Cent. Natl. Rech. Sci. 67: 245-258.
- 5.- Sotelo, C. (1977). Electrical and chemical comunica-
tions in the central nervous system. En: International,
cell biology. Brinkley, B.R. y Porter, K.R. (Eds). The Ro-
ckefeller University Press, Boston, pp. 83-92.

- 6.- Akert, K., Pfenninger, K., Sandri, C. y Moor, H. (1972).- "Freeze etching and cytochemistry of vesicles and membrane complexes in synapses of central nervous system". En Papas, G.D. y Purpura, D.D. (Ed): Structure and function of synapses. Raven Press, New York, pp. 67-86.
- 7.- Tissari, A.H. y Bogdanski, D.F. (1971). Biogenic amine transport. VI. Comparison of effects of ouabain and K^+ deficiency on the transport of 5-hydroxytryptamine and norepinephrine by synaptosomes. *Pharmacol.* 5:225-234.
- 8.- Sandoval, M.E. y Lara, R. (1983). Propiedades generales de la transmisión sináptica. En: Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas. Pasantes-Morales, H. y Arechiga, H. (Eds). Biblioteca de Ciencias --- UNAM pp. 19-30.
- 9.- Llinás, R. y Nicholson, C. (1975). Calcium role in depolarization secretion coupling: An aequorium study in squid giant synapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 72:187-190.
- 10.- Kandel, E.R. (1981). Synaptic Transmission II. Presynaptic factors controlling transmitter release. En: Principles of Neural Sciences, Kandel, E.R. y Schwartz, J.H. - (Eds) PP. 81-90.

- 11.- Krnjević, K. (1974). Chemical nature of synaptic ---- transmission invertebrates. *Physiol. Rev.* 54:418.
- 12.- Gerschenfeld, H.M. (1973) Chemical transmission in in vertebrate central nervous system and neuromuscular- junctions, *Physiol. Rev.* 53:1.
- 13.- Krebs, H.A. (1935). Metabolism of amino acids. IV Syn- thesis of glutamine from glutamic acid and amonia, -- and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal --- tissue. *Biochen. J.* 29: 1951-1969.
- 14.- Cotman, C.W., Foster, A. y Lanthorn, T. (1981). An -- Overview of glutamate as a neurotransmitter. En: Glu- tamate as a neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Ge ssa (Eds) Raven Press, New York pp. 1-27.
- 15.- Balazs, R., Machiyama, Y., Hammond, B.J., Julian, T. y - Richter, D. (1970). The operation of the γ -aminobuty - rate by path of the tricarboxylic acid cycle in brain tissue in vitro. *Biochem. J.* 116: 445-467.
- 16.- Hamberger, A.J., Jacobsson, S.J., Molin, B., Nyström, D. y M. Sandberg. (1981). Regulation of Glutamate bio-syn- thesis and Release by Pathophysiological Levels of -- Ammonium Ions. En: Glutamate as a Neurotransmitter. - , Di Chiara, G. y G.L. Gessa (Eds). Raven Press, New -- York, pp. 115-126.

- 17.- Weill-Malherbe, H. (1950). Significance of glutamic acid for the metabolism of nervous tissue. *Physiol. Rev.*, 30: 549-568.
- 18.- Fonnum, F. (1984). Glutamate: A neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42:1-11.
- 19.- Roberts, E. y Simonsen, D.G. (1962). In: *Amino acid pools*, edited by J.T. Holden. pp. 284-349. Elsevier, Amsterdam. En: *Strategies for identifying sources and sites of formation of GABA-precursor or transmitter - glutamate in brain*. Roberts, E. (Ed.) pp. 91-102.
- 20.- Streit, P. (1980). Selective retrograde labeling indicating the transmitter of neuronal pathways. *J. Comp. Neurol.* 191:429-463.
- 21.- Cuenod, M., Beaudet, A., Canzek, V., Streit, P. y Reubi, J.C. (1981). Glutamatergic pathways in the pigeon and in the rat brain. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 27: 57-68.
- 22.- Fonnum, F., Storm-Mathisen, J. y Divac I. (1981 a). -- Biochemical evidence for glutamate as neurotransmitter in the cortico-striatal and cortico-thalamic fibres in rat brain. *Neuroscience*. 6: 863-875.

- 23.- Fonnum, F.A., Sørensen, J., Kvale, J., Walke, J. y Walaas, I. (1981). Glutamate in Cortical fibers. En: Glutamate as a neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Gessa (Eds). Raven Press, New York. pp. 29-41.
- 24.- López-Colomé, A.M. (1983). Ácidos Glutámico y Aspártico. En: Aminoácidos y Péptidos en la integración de funciones nerviosas. Pasantes Morales, H. y Arechiga, H. (Eds). Biblioteca de Ciencias UNAM. pp. 93-105.
- 25.- Walaas, I y Fonnum, F. (1980). Biochemical evidence for glutamate as a transmitter in hippocampal afferents to the basal forebrain and hypothalamus in rat brain. *Neurosci.* 5: 1691-1698.
- 26.- Arauz-Contreras, J. y Feria Velasco, A. (1984). Monosodium L-Glutamate induced convulsions. I. Differences in seizure pattern and duration of effect as a function of age in rats. *Gen. Pharmac.* 15: 391-395.
- 27.- Garthwaite, J. y Balazs, R. (1981) Excitatory Amino Acid-induced Changes in Cyclic GMP Levels in Slice and Cell Suspensions from the Cerebellum. En: Glutamate as a Neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Gessa (Eds). Raven Press, New York. pp. 317-326.

- 28.- Hassler, R., Haug, P., Nitshc, C., Kim, J.S. y Paik, K. (1982). Effect of motor and premotor cortex ablation on concentrations of amino acids, monoamines, -- and acetylcholine and on the ultrastructure in rat -- striatum. A confirmation of glutamate as the specific cortico-striatal transmitter. *J. Neurochem.* 38:1087-1098.
- 29.- Takeuchi, A. y Takeuchi, N. (1964). The effect on --- Crayfish muscle of iontophoretically applied Glutamate *J. Physiol (London)*, 170: 296:317.
- 30.- Fonnum, F., Lund-Karlsen, R., Mathe-Sosenssen, D. Ste rri, S. y Walaas, I. (1980). High affinity transport-system and their role in transmitter action. En: The-cell surface and neuronal function. Cotman, C.W., Pos te, G. y Nicholson, G.L. (Eds). Elsevier/North-Ho---- lland Biomedical Press Amsterdam pp. 455-504.
- 31.- Curtis, D.R. y Watkins, J.C. (1961). The Chemical excitation of espinal neurons by certain amino acids. - *J. Physiol. (Lond)*, 166: 1-14.
- 32.- Woodward, D.J., Hoffer, B.J. y Altman, J. (1974). Phy siological and pharmacological properties of Purkinje cells in rat cerebellum degranulated by postnatal --- X-irradiation, *J. Neurochem.* 5:283-304.

- 33.- Lewi, W., Gallo, G. y Raiteri, M. (1981). GABA Potentiates the depolarization-induced release of glutamate from cerebellar nerve endings. En: Glutamate as a Neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Gessa (Eds). - Raven Press, New York pp. 127-137.
- 34.- Wisherwood, P.N.R. (1981). Glutamate synapses and receptors on insect muscle. En: Glutamate as a Neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Gessa (Eds). Raven Press, New York pp. 183-193.
- 35.- Hamberger, A., Ohlång, G.H., Sandoval, E., y Cotman C.W. (1979b). Glutamate as a CNS transmitter. II: Regulation of synthesis in the releasable pool. Brain Res. 168: 531-541.
- 36.- Shank, R.P. y Campbell G., Lew. (1983): Amino acid uptake, content and metabolism by neuronal and glial enriched cellular fractions from mouse cerebellum: J. Neurosci. 2:47-51.
- 37.- Potashner, S.J. (1978): The spontaneous and electrically evoked release from slices of guinea-pig cerebral cortex of endogenous amino acids labelled via metabolism of D - [14 C] glucose. J. Neurochem. 31: 177-186.

- 38.- Nadler, J.V., White, W.F., Vaca, K, W., Perry, B.W. y Cotman, C.W. (1978). Biochemical correlates of transmission mediated by glutamate and aspartate. J. Neurochem. 31: 147-155.
- 39.- Toggenburger, G., Félix, D., Cuenod, M. y Henke, H. - (1982). In vitro release of endogenous beta-alanine, GABA and glutamate, and electrophysiological effect-beta-alanine in pigeon optic tectum. J. Neurochem. -- 39: 176-183.
- 40.- Levi, G., Roberts, P.J. y Raiteri, M. (1976). Release and exchange of neurotransmitters in synaptosomes: effects of the ionophore A23187 and ouabain. Neurochem Res., 1:409-416.
- 41.- Vargas, F. y E. Costa. (1981). Regulation of Hippocampal Glutamate Receptors: Role of a Calcium-depend Cystein Proteinase. En: Glutamate as a Neurotransmitter. Di Chiara, G. y G.L. Gessa. Raven Press, New York pp. 307-316.
- 42.- Schwartz. J.H. (1981). Biochemical control mechanisms in synaptic transmission. En: Principles of Neural -- Sciences. Kandel, E.R. y Schwartz, J.H. (Eds) Elsevier/ North-Holland pp. 121-131.

- 43.- Olney, J.W. (1969b) Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely involving lesion. J. Neuropath. Exp. Neurol. 28: 455-474.
- 44.- Olney, J.W. y Sharpe, L.G. (1969), Brain lesions in an infant Rhesus monkey treated with monosodium glutamate. Science. 166: 386-388.
- 45.- Bhagavan, H.N., Coursin, D.F. y Stewart, C.N. (1971).- Monosodium glutamate induced convulsive disorders in rats. Nature, Lond. 232: 275-276.
- 46.- Anlezark, G.M. (1977). The role of cerebral monoamines in reflex epilepsy. PH. D. Thesis, University of London.
- 47.- Beas-Zárate, C., Arauz - Contreras, J., Velazquez, C.A. y Feria-Velasco, A. (1985). Monosodium L-glutamate induced convulsions. II. Changes in catecholamine concentrations in various brain areas of adult rats. Gen. --- Pharmac. 16: 489-493.
- 48.- Glowinski, J. (1970) "Storage and release of monoamines in the central nervous system". En: Lagtha, A. (Ed) Handbook of neurochemistry. Plenum Press, New York-Londres, pp. 91-111.

- 49.- Halaris, A.E. y DeMet, E.M. (1978) "Active uptake of [³H] 5-HT by synaptic vesicles from rat brain". J. Neurochem. 31: 591-597.
- 50.- Katz, B. Mileidi; R. (1967). A study of synaptic transmission in the absence of nerve impulses. J. Physiol. (Lond.) 192: 407-436.
- 51.- Nadler, J.V., Bruce, W., Perry, G. y Cotman, C.W. (1978). Intraventricular Kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. Nature 271: 676-677.
- 52.- Bliss, E.L., Allion, J. y Zwanziger, J. (1968) Metabolism of norepinephrine, serotonin and dopamine in the rat brain with stress. J. Pharmac. exp. ther. 164: 122-134.
- 53.- Lidbrink, P., Corrodi, H., Fuxe, K. y Olson, L. (1972). Barbiturates and meprobamate: Decrease in catecholamine turnover of central dopamine and norepinephrine neural systems and the influence of immobilization stress. Brain Res. 45. 507-524.
- 54.- Raiteri, M., Cerrito, E., Cervoni, A.M., del Carmin, R., Rivera, M.T. y Levi, G. (1978), Studies on Dopamine uptake and release in synaptosomes. En: Dopamine. Roberts, P.J., Woodruff, G.N. e Iversen, L.L. (Eds) - Raven Press pp. 35-56.

- 55.- Jobe, P.C., Picchioni, A.L. y Chin, L. (1973b). Role of brain 5-hydroxytryptamine in audiogenic seizure in the rat. *Life Sci.* 13: 1-13.
- 56.- Chesselet, M.F. (1984). Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain. *Neurosci.* 12: 347-375.
- 57.- Beas-Zárate, C., Sandoval, M.E. y Feria Velasco, A. -- (1984). Serotonin uptake and release from rat cerebellum in vitro. *J. Neurosci. Res.* 12: 129-136.
- 58.- Cox, R.H. y Perhach J.L. (1977). A sensitive, rapid and simple method for simultaneous spectrophotofluorometric determinations of norepinephrine, dopamine, -- 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolacetic acid in discrete areas of brain. *J. Neurochem.* 20:1777-1780.
- 59.- Laverty, R. y Taylor, K.M. (1968). The fluorometric assay of catecholamines and related compounds: Improvements and extensions to the hydroxyindole technique. *Analyt Biochem.* 22: 269-279.

Fig. 1 Diagrama que ilustra la Transmisión Sináptica.

Cuando un impulso nervioso llega a la terminal nerviosa, se liberan moléculas neurotransmisoras que están almacenadas en vesículas y que posteriormente interactúan con los receptores en el elemento - sináptico.

- 1 = Axón
- 2 = Terminación axónica
- 3 = Impulso eléctrico (potencial de acción)
- 4 = Mitocondria
- 5 = Vesícula sináptica
- 6 = Membrana presináptica
- 7 = Hendidura sináptica
- 8 = Membrana postsináptica
- 9 = Receptor de acción rápida
- 10 = Receptor de acción duradera
- 11 = Molécula de ATP
- 12 = Segundo mensajero (AMP cíclico)



Fig. 2 Fisiología de la Sinápsis Química.

En la figura se observa que, dos moléculas de neurotransmisor se unen al receptor, el cual sufre -- cambios en su conformación abriendo el canal para el paso de iones sodio y potasio, así como la acti vación de la adenilciclase cuando un neurotransmisor se une a su receptor específico situado sobre la membrana celular. De inmediato, la enzima utili za una parte del ATP que se encuentra presente en el citoplasma y lo pasa a AMP cíclico, el cual sir ve para transmitir la señal desde la membrana al-- interior de la célula.

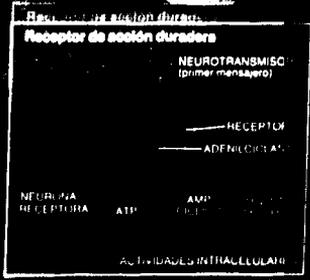
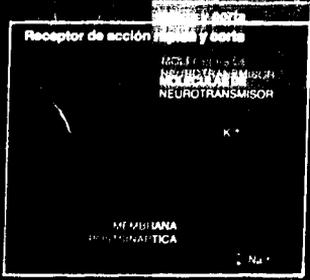


Fig. 3 Metabolismo del Glutamato.

En la figura se observa la síntesis del Glutamato - a partir de sus precursores inmediatos, utilización y su degradación a glutamina y GABA, además de las enzimas específicas que intervienen en cada paso.

BANQUE
PROTEINA

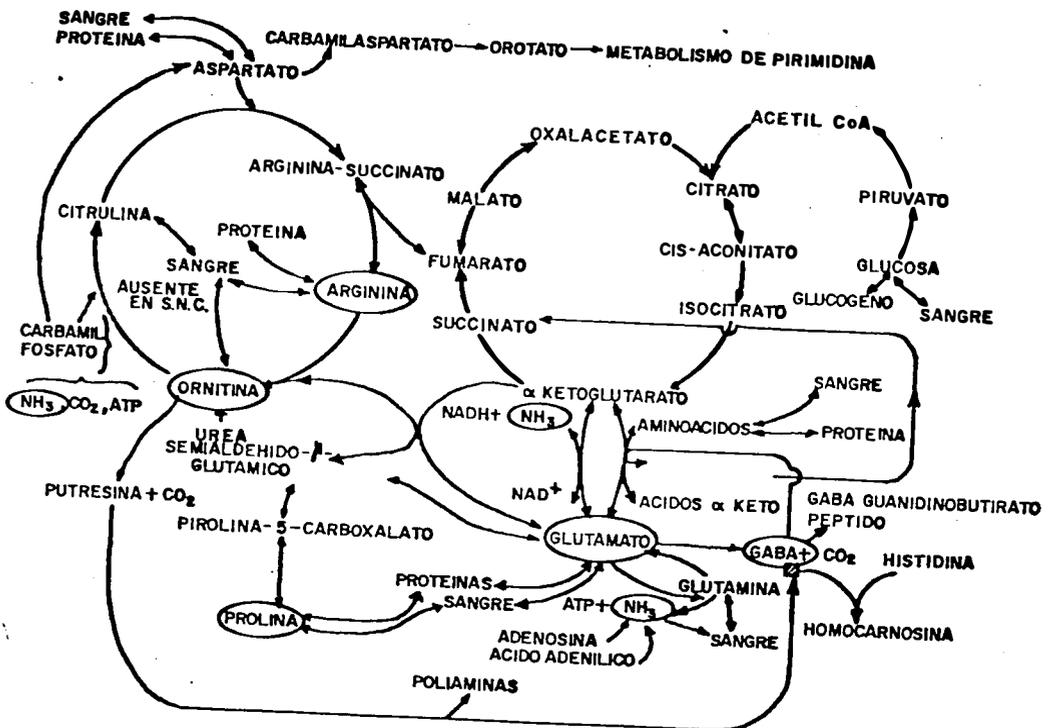


Fig. 4 Sinápsis Noradrenérgica.

La figura muestra la síntesis de NE a partir de tirosina, por intervención de la enzima Tirosina Hidroxilasa (TOH), su almacenamiento en vesículas y liberación al espacio intersináptico, así también su unión con el receptor postsináptico y su inactivación por-recaptura ó degradación.

SINAPSIS NORADRENERGICA

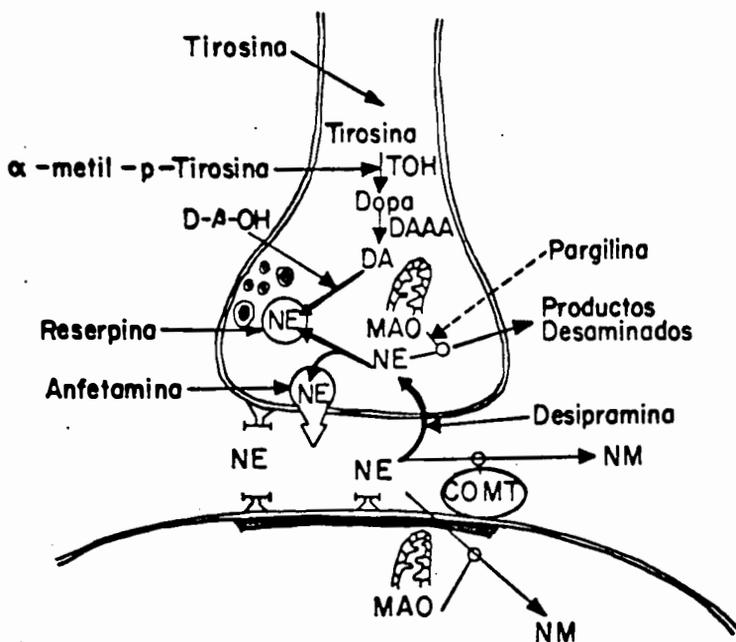


Fig. 5 Sinápsis Dopaminérgica.

Se puede observar la síntesis de DA a partir de su precursor tirosina con intervención de la enzima Tirosina Hidroxilasa (TOH), su almacenamiento en vesículas y liberación al espacio intersináptico para -- actuar sobre receptores postsinápticos específicos -- que después de ejercer su acción se inactiva por recaptura o degradación.

SINAPSIS DOPAMINERGICA

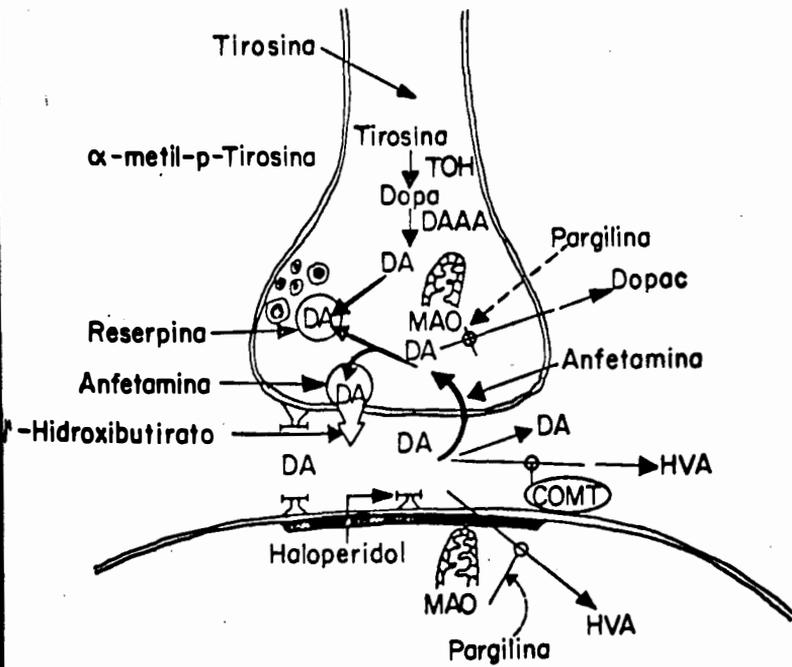


Fig. 6 Cambios en la Concentración de NE en Telencéfalo -- por efecto del GMS.

Cambios en la concentración de NE en Telencéfalo, - por administración i.p. de GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) -- (---), solución de NaCl equimolar a GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) (----) y SSF (—). Cada valor representa la media (\pm E.E.M.) de 4 a 6 animales en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos con administración de GMS fueron comparados con los obtenidos bajo la solución de NaCl equimolar a GMS, mientras que posteriormente se compararon con los valores obtenidos con administración de SSF * $p < 0.001$; * $p < 0.01$; * $p < 0.02$.

NIVELES DE NE EN CEREBRO ANTERIOR

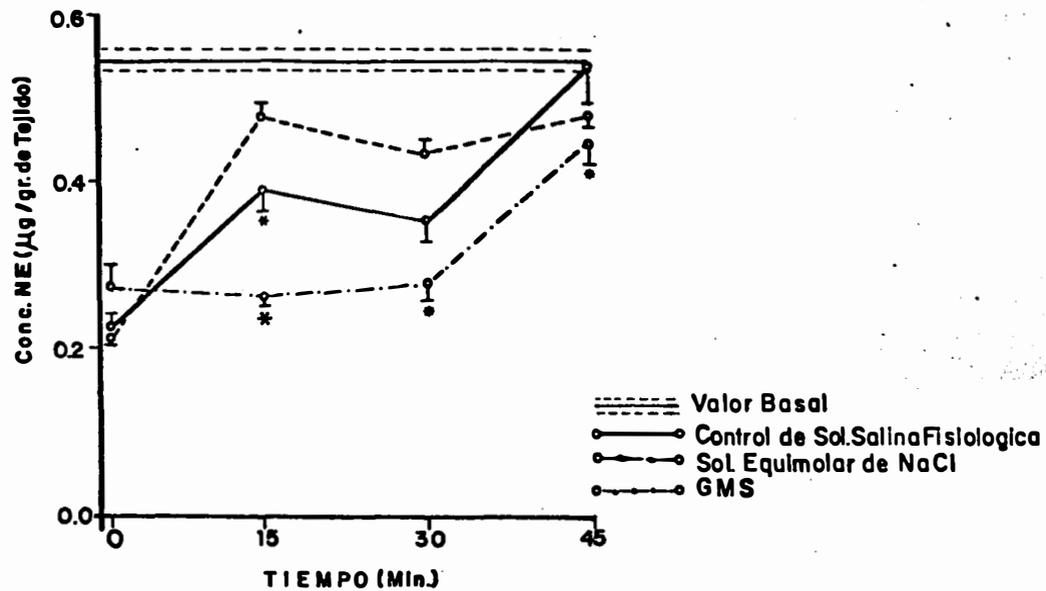


Fig. 7 Cambios en la Concentración de DA en Telencéfalo por efecto del GMS.

Cambios en la concentración de DA en Telencéfalo, - por administración i.p. de GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) -- (---), solución de NaCl equimolar a GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) (---), y SSF (—). Cada valor representa la media (\pm E.E.M.) de 4 a 6 animales en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos con administración de GMS fueron comparados con los obtenidos con solución de NaCl equimolar a GMS, mientras que posteriormente se compararon con los valores obtenidos con administración de SSF, -- *p < 0.001.

**NIVELES DE DA EN CEREBRO ANTERIOR(Sin bulbos orofaríngeos)
A DIFERENTES TIEMPOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DEL GMS.**

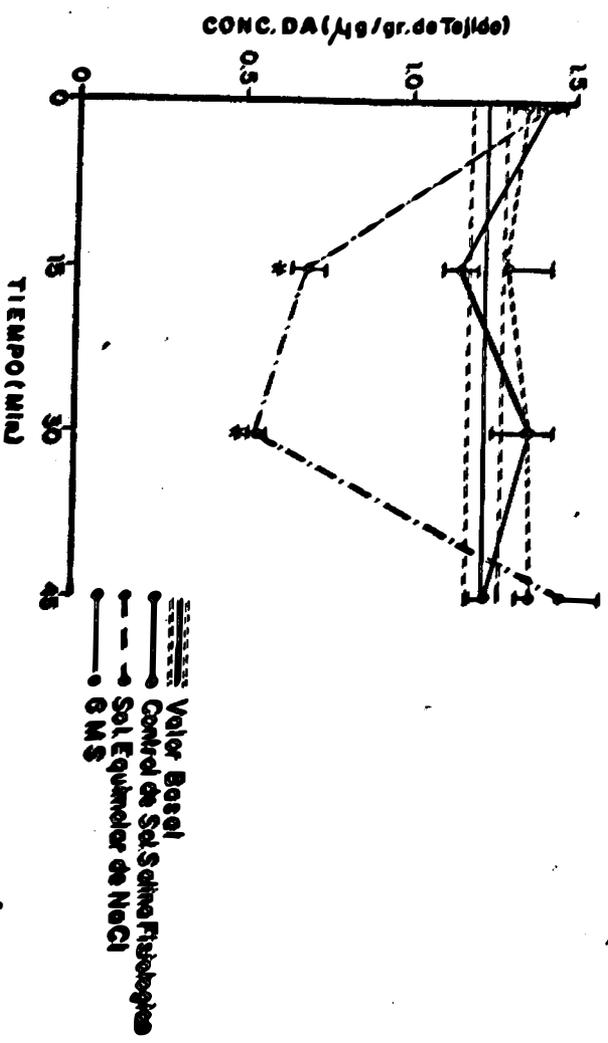
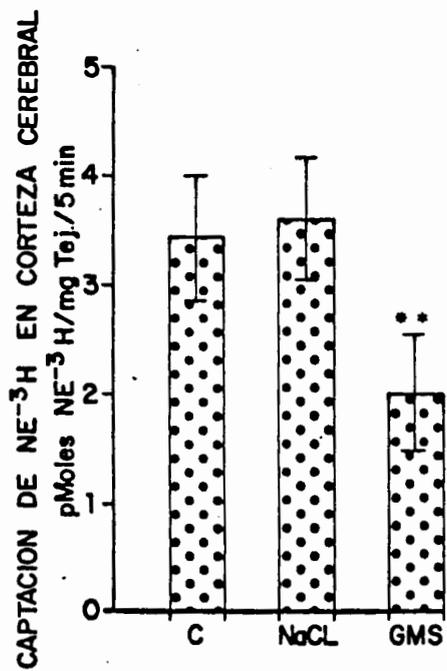


Fig. 8 Captación de NE^3H en Corteza Cerebral por efecto del GMS.

Captación de NE^3H en Corteza Cerebral, por administración i.p. de GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) (GMS), solución de NaCl equimolar a GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) --- (NaCl), y SSF (C). Cada valor representa la media (\pm E.E.M.) de 8 determinaciones en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos con administración de GMS fueron comparados con los obtenidos bajo la solución de NaCl equimolar a GMS * $p < 0.05$ mientras que posteriormente se compararon con los valores obtenidos con administración de SSF. * $p < 0.05$.

CAPTACION DE $NE^{-3}H$ EN CORTEZA CEREBRAL



CAPTACION DE NE⁻³H EN CORTEZA CEREBRAL

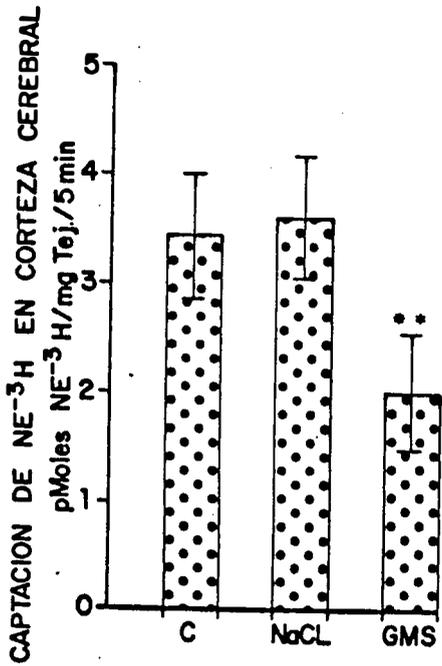


Fig. 9 Liberación de NE-³H en Corteza Cerebral por efecto del GMS.

Liberación de NE³H en corteza cerebral, por administración i.p. de GMS (23.6 mmol. Kg⁻¹) (GMS), solución de NaCl equimolar a GMS, (23.6 mmol. Kg⁻¹) --- (NaCl), y SSF (C). Cada valor representa la media (± E.E.M.) de 8 determinaciones en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos -- con administración de GMS fueron comparados con los obtenidos bajo la solución de NaCl equimolar a GMS-
*p<0.05, primer estímulo con alta concentración de K⁺ y tercer estímulo con baja concentración de K⁺;-
*p<0.01, 2º estímulo con alta concentración de K⁺-- y *p<0.05 en el 4º estímulo con baja concentración - de K⁺, mientras que posteriormente se compararon -- con los valores obtenidos con administración de SSF, *p<0.05 en el primer estímulo con alta concentra--- ción de K⁺ y en el 4º estímulo con baja concentra-- ción de K⁺ y *p<0.01 en el 2º estímulo con alta con centración de K⁺.

LIBERACION DE NE-3H EN CORTEZA CEREBRAL

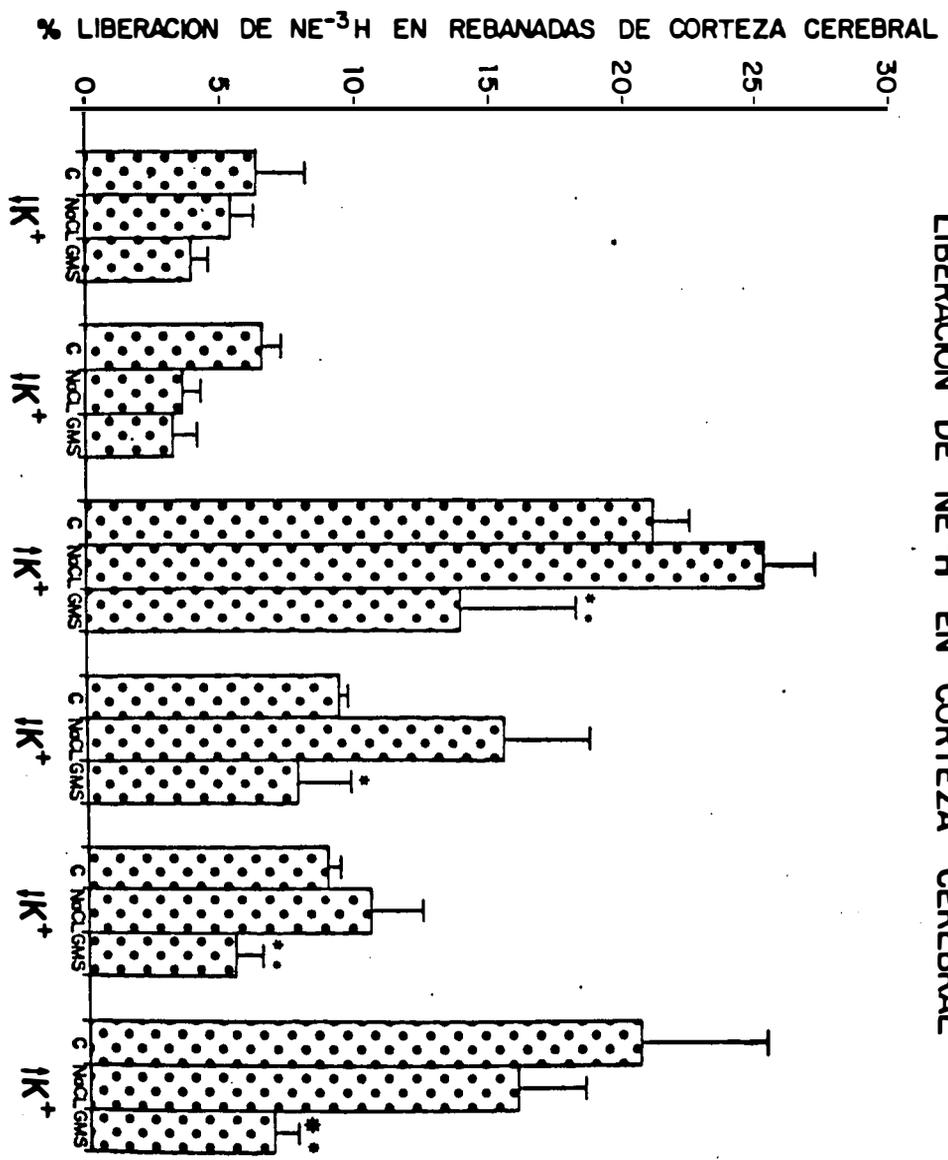


Fig. 10 Captación de $DA^{-14}C$ en Nucleo Caudado por efecto del GMS.

Captación de $DA^{-14}C$ en Nucleo Caudado, por administración i.p. de GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) (GMS), solución de NaCl equimolar a GMS ($23.6 \text{ mmol. KG}^{-1}$) --- (NaCl), y SSF (C). Cada valor representa la media (\pm E.E.M.) de 8 determinaciones en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos con administración de GMS fueron comparados -- con los obtenidos bajo la solución de NaCl equimolar a GMS, $*p < 0.05$, mientras que posteriormente se compararon con los valores obtenidos con administración de SSF, $*p < 0.01$.

CAPTACION DE DA⁻¹⁴C EN NUCLEO CAUDADO

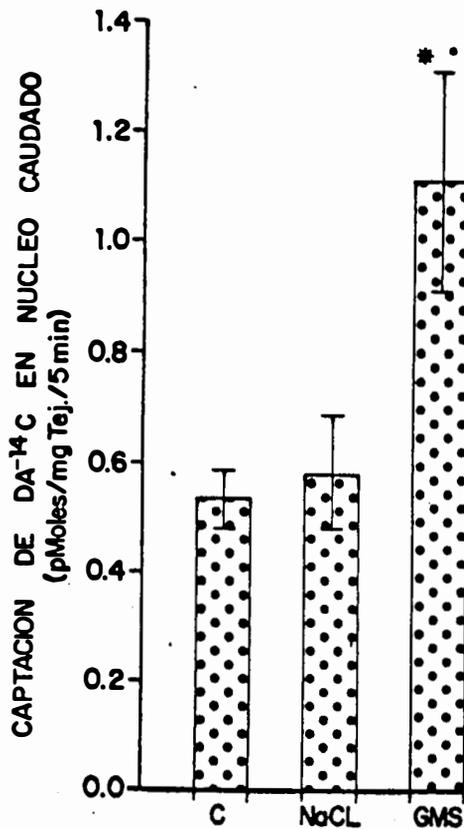
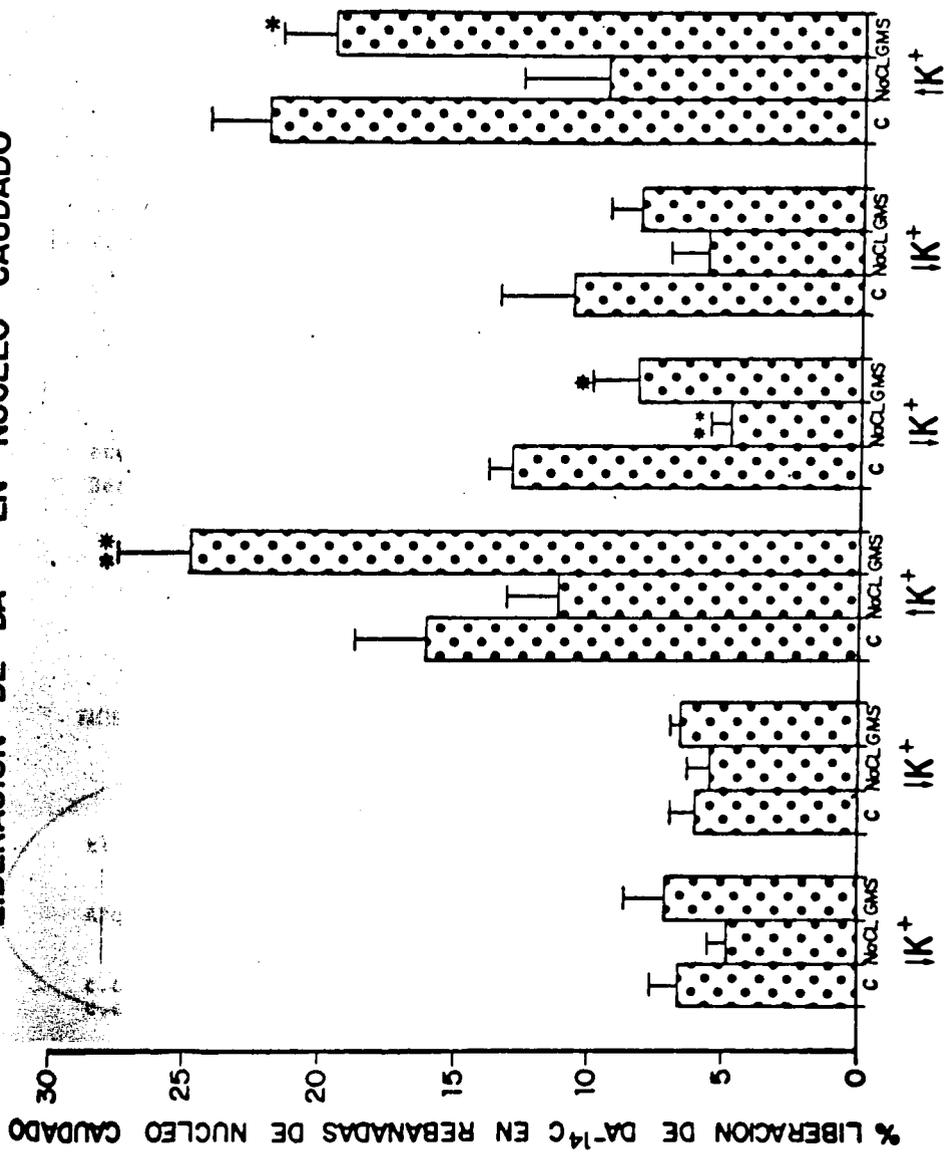


Fig. 11 Liberación de $DA^{-14}C$ en Nucleo Caudado por efecto del GMS.

Liberación de $DA^{-14}C$ en Nucleo Caudado, por administración i.p. de GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) (GMS), solución de NaCl equimolar a GMS ($23.6 \text{ mmol. Kg}^{-1}$) --- (NaCl), y SSF (c). Cada valor representa la media (\pm E.E.M.) de 8 determinaciones en cada experimento. Para análisis estadístico, los valores obtenidos con administración de GMS fueron comparados con los obtenidos bajo la solución de NaCl equimolar a GMS $*p < 0.005$ en el primer estímulo con alta concentración de K^+ y $*p < 0.02$ para el 2º estímulo, mientras que en relación con SSF $*p < 0.005$ y $*p < 0.02$ -- en el 3º estímulo con baja concentración de K^+ , --- mientras que al comparar los valores obtenidos con SSF respecto a una solución de NaCl equimolar a -- GMS $*p < 0.001$ y $*p < 0.05$ con respecto a GMS.

LIBERACION DE DA¹⁴C EN NUCLEO CAUDADO



% LIBERACION DE DA¹⁴C EN REBANADAS DE NUCLEO CAUDADO



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente
Número 708/85

Srita. Rosana Soffa Fiorentino Pérez
P r e s e n t e . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -
aprobado el tema de Tesis "Captación y Liberación de Cateco
laminas exógenas en Corteza Cerebral y Núcleo Caudado de la
Rata durante el Periodo Pre-Convulsivo probocado por la Ad_
ministración Sistémica del Glutamato Monosodico" para obte_
ner la Licenciatura en Biología, con Orientación en Recur_
sos Naturales.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido ---
aceptado como Director de dicha Tesis el M. en C. Carlos --
Beas Zárate.



FACULTAD DE CIENCIAS

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Diciembre 4 de 1985

El Director

Se P
Ing. Edmundo Ponce Adame.

El Secretario

Arq. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. El M. en C. Carlos Beas Zárate, Director de Tesis, -Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd'

BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. H.,
GUADALAJARA, JAL.

TELEFONOS 17-58-29 Y 17-48-17

Guadalajara, Jal. 20 de mayo de 1986.

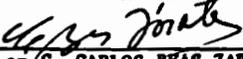
DR. CARLOS ASTENGO OSUNA
Director de la Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara

P R E S E N T E:

Por medio de éste conducto me permito comunicar a usted que la tesis titulada "CAPTACION Y LIBERACION DE CATECOLAMINAS EXOGENAS EN CORTEZA CEREBRAL Y NUCLEO CAUDADO DE LA RATA DURANTE EL PERIODO PRE-CONVULSIVO PROVOCADO POR LA ADMINISTRACION SISTEMICA DEL GLUTAMATO MONOSODICO" y que presenta la Srita. ROSANA SOFIA FIORENTINO PEREZ pasante de la Licenciatura en Biología de ésta H. Facultad a su digno cargo, se ha concluido en su totalidad bajo la asesoría, dirección y revisión a mi cargo por lo que autorizo a la Srita. FIORENTINO PEREZ para que llave a cabo la impresión de la tesis antes mencionada.

Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para saludarlo y quedo de usted.

A T E N T A M E N T E


M. en C. CARLOS BEAS ZARATE