

1994 - B

087542742

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



**LIBERACION DE ACIDO γ -AMINO BUTIRICO (GABA) EN
HIPOCAMPO Y CORTEZA CEREBRAL DE RATAS TRATADAS
PERINATALMENTE CON GLUTAMATO MONOSODICO (GMS)**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
MAYRA YANET SANCHEZ RUIZ
GUADALAJARA, JALISCO. JUNIO DE 1995

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a dos personas de quien siempre he estado orgullosa, MIS PADRES:

Ma. Dolores Ruiz Guillén y J. Trinidad Sánchez Curiel, por el apoyo incondicional que siempre me han brindado en todo momento, por que me han guiado por el camino correcto para llegar hasta donde estoy y sobre todo, por poner en mis manos el tesoro más preciado que tengo y del cual les estaré eternamente agradecida: SU AMOR.

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a dos personas de quien siempre he estado orgullosa, MIS PADRES:

Ma. Dolores Ruiz Guillén y J. Trinidad Sánchez Curiel, por el apoyo incondicional que siempre me han brindado en todo momento, por que me han guiado por el camino correcto para llegar hasta donde estoy y sobre todo, por poner en mis manos el tesoro máspreciado que tengo y del cual les estaré eternamente agradecida: SU AMOR.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a mis hermanas Mayerlyng y Wendy, porque su apoyo y motivación fueron la base para realizar este trabajo.

A mis Tíos, porque siempre han velado por mi enseñanza educativa.

Expreso mi especial agradecimiento al M. en C. Carlos Beas Zárate por otorgarme la oportunidad de poder superar mi formación profesional y porque gracias a su ayuda y sus sugerencias se ha logrado realizar este trabajo.

Al M. en C. Daniel Ortuño Sahagún por exhortarme a continuar preparándome, por su valiosa enseñanza y amistad.

Mi más sincero agradecimiento a Lety, Gris, Daniel y Rodolfo por los gratos momentos que hemos compartido juntos, por su cariño y sobre todo, su valioso apoyo.

A mis compañeros compañeros de la Generación 90-94 y a Silvia Lopez por su amistad, pues forma parte integral de mi vida.

A la Bióloga Mónica Elisa Ureña Gerrero, por el tiempo invertido en la realización del presente trabajo.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Neuroquímica del Departamento de Biología Celular y Molecular de la División de Ciencias Biológicas y Ambientales del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección del M. en C. Carlos Beas Zárate.

I N D I C E

Contenido	Página
Lista de abreviaturas	i
Resumen	iii
Introducción	1
Antecedentes.....	9
Hipótesis.....	14
Objetivos.....	16
Material y Métodos.....	18
Diagrama experimental.....	22
Resultados.....	24
Discusión.....	27
Conclusiones.....	32
Tablas y figuras.....	34
Bibliografía.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS

α	Alfa
AK	Acido Kainico
AQ	Acido Quiscuálico
ATP	Adenosin trifosfato
°C	Grados centígrados
Ca ²⁺	Ión calcio
CAT	Colina acetiltransferasa
CC	Corteza cerebral
CO ₂	Bióxido de carbono
DPM	Desintegraciones por minuto
g	Gramos
GABA	Acido γ -Aminobutírico
GABA-[³ H]	Acido γ -Aminobutírico tritiado
GAD	Descarboxilasa del Acido Glutámico
Glu	Glutamato Glutámico
GMS	Glutamato monosódico
Hp	Hipocampo
K ⁺	Ión potasio
Da	Daltones
M	Molar
μ M	Micromolar
μ mol	Micromol
mg	Miligramos
ml	Mililitros
min	Minutos
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros cuadrados
Na ⁺	Ión sodio

NMDA	N-metil-D-aspartato
no-NMDA	no N-metil-D-aspartato
SENaCl	Solución equimolar de cloruro de sodio
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico

RESUMEN

Diversos estudios muestran que la exposición excesiva de las células nerviosas a aminoácidos excitatorios tales como el glutamato (Glu) puede inducir daño irreversible y conducir a la muerte celular. Además, se ha demostrado que en diversas enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Huntington, epilepsia y Parkinson) existe daño y disminución selectiva de neuronas, tales como las colinérgicas y GABAérgicas. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio para conocer el efecto de la administración temprana de Glu sobre el desarrollo del sistema nervioso de la rata, sugieren que el sistema colinérgico no es el único blanco del daño celular inducido por Glu. Así, las células GABAérgicas podrían constituir otro tipo de neuronas susceptibles al daño citotóxico inducido por Glu, por lo que en el presente trabajo se determinó la liberación de GABA en corteza cerebral (CC) e hipocampo (Hp) durante el desarrollo (14, 21, 30 y 60 días de edad) en ratas tratadas los días posnatales 1,3,5 y 7 con glutamato monosódico (4mg/g de peso).

Los resultados muestran que en los animales tratados con Glu la liberación estimulada de GABA en la CC se redujo a los 14, 21 y 30 días, incrementándose a lo 60 días significativamente respecto al grupo intacto. Por otro lado, en el Hp la liberación estimulada de GABA de animales tratados con Glu se redujo a los 14 y 21 días, sin embargo a los 30 días esta liberación es muy similar a la del grupo intacto, mientras que a los 60 días vuelve a reducirse significativamente respecto al grupo intacto. Estos resultados indican que los primeros 21 días de edad son importantes en el desarrollo del cerebro de la rata y que las células GABAérgicas de la CC y Hp son vulnerables al efecto citotóxico del Glu en esta etapa.

INTRODUCCION

El tejido nervioso está disperso en el organismo intercalándose y formando una red de comunicaciones que constituye el Sistema Nervioso (SN). Anatómicamente, este 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 (1). El tejido nervioso se forma por dos componentes principales: las células neuronales y varios tipos de células de la glía o la neuroglía, las cuales además de participar en la actividad neuronal, también participan en la defensa del tejido nervioso. La neurona constituye la unidad morfológica y funcional del SN (2), 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 o glandular (1) (Fig.1).

Anatomía y fisiología del hipocampo

La formación hipocámpica se constituye por el arquipalio que corresponde a la corteza filogenéticamente más primitiva. El hipocampo que debe su nombre a su semejanza con un caballo de mar, es la parte de la formación hipocámpica que queda situada en el piso y pared medial de la prolongación temporal del ventrículo lateral. Presenta tres zonas: el giro dentado (vecino a la cisura coroidea), el Asta de Ammon (intermedia) y el subículo (contiguo al neopalio). Posee una corteza trilaminar muy primitiva a nivel del giro dentado y del Asta de Ammon, pero en el subiculum hay una zona transicional hacia la corteza neopalial de seis capas (3).

Conexiones aferentes del hipocampo

El hipocampo recibe impulsos del área entorrinal, de la región septal, del cíngulo y del lado opuesto del hipocampo. La corteza entorrinal es la principal fuente de fibras aferentes hacia el hipocampo, al cual llegan a través de la vía perforante. Las aferencias provenientes de la región septal forman parte del fórnix. En tanto que las que proceden del hipocampo opuesto pasan a la fimbria y después cruzan la línea media por la comisura hipocámpica (3) (Fig.2).

Conexiones eferentes del hipocampo

El hipocampo descarga sus impulsos a través del fórnix, que está formado por los axones de las células piramidales y en pequeña proporción por los de células situadas en la fascia dentada. Al llegar a la porción caudal del hipocampo, la mayor parte de las fibras de la fimbria pasan a las columnas posteriores del fórnix en donde un pequeño número cruza en la comisura hipocámpica y otras alcanzan la superficie dorsal del cuerpo calloso donde se incorporan a las estrias mediales y laterales y forman el fórnix principal. A través de la fimbria y el fórnix, el hipocampo envía impulsos a los núcleos de la región septal, al área preóptica y a los núcleos anteriores del hipotálamo (componente precomisural), así como a las áreas hipotalámicas ventral y lateral, núcleo anterior del tálamo y núcleos del cuerpo mamilar (componente postcomisural) (3). (Fig.3).

Las complejas relaciones anatómicas del hipocampo sugieren que interviene en variadas funciones en las que participan diferentes niveles neurales. El hipocampo ha sido implicado en funciones sensoriales, en la conducta emocional, en la regulación visceral y endócrina, en los procesos de condicionamiento, así como en el aprendizaje y en la memoria ya que se ha reportado que pacientes con lesiones bilaterales del hipocampo pierden la memoria de los acontecimientos

recientes (3).

Anatomía y fisiología de la corteza cerebral

La corteza cerebral (CC), misma que embriológicamente se deriva del telencéfalo es una capa de sustancia gris que cubre los hemisferios cerebrales. Su área total se ha calculado entre 200,000-248,000 mm² de la cual, un tercio corresponde a las circunvoluciones y dos se hallan ocultas en la profundidad de los surcos. El espesor de la corteza varía de 1.4 a 4.5 mm.

En la CC se reconocen seis capas dentro de las cuales se encuentran los siguientes tipos de células: piramidales, granulosas, estrelladas, células fusiformes, horizontales de Cajal, de Martinotti y células especiales como las piramidales gigantes de Betz (en la capa V de la corteza motora), las gigantes de Meynert (en la corteza occipital) y las células mitrales y de penacho (del bulbo olfatorio) (Fig.4).

La CC recibe fibras aferentes y emite fibras eferentes. Las fibras aferentes proceden del tálamo (talamocorticales), de regiones corticales del mismo hemisferio (asociación intrahemisférica) o del hemisferio del lado opuesto (comisurales).

Las fibras eferentes que se originan en la CC pueden terminar en otras regiones de la misma, dentro del hemisferio opuesto (comisurales), en el mismo hemisferio (asociación intrahemisférica) o en niveles subcorticales (fibras de proyección) (3).

La corteza cerebral interviene de manera predominante en la organización de las actividades mentales, que representan las funciones nerviosas de más alto nivel, en ella se originan y se rigen los movimientos voluntarios, además la gran riqueza celular de la corteza y sus posibilidades para establecer una enorme variedad de conexiones, explican su plasticidad (3).

El Acido - γ - Aminobutírico (GABA)

El GABA es una de las sustancias neuroactivas más ampliamente distribuidas en el SNC. Su concentración total en el cerebro es de aproximadamente 2 $\mu\text{mol/g}$ de tejido, por lo que resultar ser al menos dos órdenes de magnitud mayor que la de otros neurotransmisores como la acetilcolina o las catecolaminas (4). El GABA no penetra fácilmente a través de la barrera hematoencefálica, por lo que es difícil incrementar las concentraciones cerebrales de GABA por administración periférica, a menos que se altere la permeabilidad de la misma. Puede concluirse que de todos los neurotransmisores conocidos es muy probable que el GABA sea el más abundante y más profundamente distribuido en cuanto a su función sináptica (4).

Distribución de GABA en el SNC

El GABA se considera el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, y en regiones tales como el Hp (5) y la CC (6,7,8), donde terminales GABAérgicas están presentes de manera heterógena en todas sus capas, aunque en las ratas parece ser más equitativa la distribución de las terminales en las capas corticales. En la actualidad se conoce que únicamente dos proyecciones axónicas que conectan una región cerebral a otra utilizan GABA como neurotransmisor, estas son: las células de Purkinje del cerebelo y sus proyecciones a los núcleos vestibulares y cerebelosos, y un sistema de neuronas en el estriado con axones que se proyectan a la sustancia negra.

En las décadas de los cincuentas y sesentas se estudió la distribución del GABA en varias regiones del cerebro de diferentes especies tales como la rata (9,10), el gato (11), el mono (12,13) y el humano (14); en donde en general se encontró predominantemente en la materia gris.

Posteriormente, se realizó un estudio de la distribución del

GABA en 20 áreas del cerebro del mono *Rhesus* (15), en donde los niveles más altos se encontraron en sustancia negra y globo pálido. El hipotálamo fué la siguiente región con más alta concentración. En resumen, todos estos estudios que se observan en la tabla 1 concuerdan particularmente en las regiones de alta y baja concentración (16).

Síntesis y degradación de GABA

La enzima responsable de la síntesis de GABA es la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD, EC. 4.1.1.15) (Fig.5), y a diferencia de otras vías metabólicas que son multienzimáticas, esta enzima es el único paso limitante en la vía biosintética del GABA. La reacción catalizada por la GAD es la descarboxilación del carboxilo α del ácido /glutámico, quedando directamente como productos el GABA y CO_2 . El cerebro de mamíferos contiene 2 isoformas de GAD: GAD_{65} y GAD_{67} , ambas requieren de fosfato de piridoxal como su cofactor y tienen un peso molecular de 65,400 daltones y 66,600 daltones (Da), respectivamente (17). Generalmente, se concentran en la porción soluble de las terminales sinápticas (sinaptoplasma), pero en presencia de Ca^{++} y de concentraciones relativamente altas de cationes monovalentes como el K^+ se unen a estructuras membranales. En mamíferos la GAD se encuentra primordialmente en el SNC y su localización se correlaciona bastante bien con el contenido de GABA (18).

La degradación metabólica del GABA se lleva a cabo mediante la actividad de la enzima transaminasa del GABA (GABA-T, EC. 2.6.1.19). Esta enzima al igual que la GAD también se ha purificado del cerebro de varias especies; su peso molecular es de 109,000 Da y parece estar constituida por dos subunidades no idénticas, una de 53,000 y la otra de 58,000 Da. Se localiza fundamentalmente en las mitocondrias y al igual que la GAD también requiere de fosfato de piridoxal como cofactor (4).

Los estudios pioneros del grupo de Waelsch en 1960 mostraron la existencia de una compartimentalización del metabolismo del GABA, en donde se conoce que existe un pequeño depósito de glutamato en la astrogliá y otro en las terminales nerviosas, que a su vez son el sitio de síntesis del GABA. El GABA captado por la astrogliá se transamina por la GABA-T para sintetizar glutamato, que a su vez se utiliza por la enzima glutamino sintetasa para formar glutamina, la cual puede ser transportada a las terminales sinápticas en donde mediante la acción de la glutaminasa se transforma nuevamente en glutamato, precursor de la síntesis del GABA (4).

El GABA como neurotransmisor

Un criterio importante para considerar a una sustancia como neurotransmisor es el hecho de que sea liberado de las terminales nerviosas como resultado de la estimulación presináptica. En diversas preparaciones experimentales del SNC, tanto *in vivo* como *in vitro*, se ha demostrado que el GABA se libera de las terminales sinápticas por estimulación de las fibras aferentes o por despolarización producida por una alta concentración de K^+ en el medio, y que la liberación depende de la presencia de Ca^{2+} (4). Los iones Ca^{2+} 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 activándose los mecanismos responsables de la liberación del neurotransmisor (19).

La existencia de un mecanismo de eliminación del neurotransmisor del espacio intersináptico es otro de los criterios aceptados para identificar una sustancia como tal; para el GABA este mecanismo consiste en una recaptura del transmisor hacia la propia terminal sináptica, a través de un proceso que requiere de Na^+ y Cl^- y que es de alta afinidad (K_m del orden de 10-40 μM) y otro de baja afinidad en el que participan las células gliales (K_m aprox. 300 μM). (4).

Por último, existe otro criterio que es el de identidad, el cual se relaciona con la presencia de receptores postsinápticos. El GABA ejerce sus acciones fisiológicas en dos clases de receptores, designados como GABA_A y GABA_B (20). El receptor GABA_A se encuentra en la membrana postsináptica y su activación puede describirse como ionotrópica, debido a que permite la entrada de iones Cl⁻ a través de un canal acoplado al receptor, lo que conduce a la hiperpolarización de la membrana. Además, este receptor presenta sitios de unión a benzodiazepinas, barbituratos y convulsionantes que pueden regular su activación. El receptor GABA_B se localiza en la terminal nerviosa presináptica y regula la salida de otros neurotransmisores como la norepinefrina, dopamina, glutamato y serotonina, a través de la activación de canales para Ca²⁺ y K⁺ acoplados al receptor (21).

ANTECEDENTES

Durante centurias, los chinos han utilizado el extracto de una alga marina (*Laminariae japonicum*) como un aditivo en la comida con el objeto de aumentar su sabor. En 1910, el ácido glutámico se estableció como el agente responsable de este efecto en la comida (22).

El glutamato (Glu) es un aminoácido no esencial que no atraviesa la barrera hemtoencefálica y las evidencias recopiladas desde los años setentas indican que el Glu es el principal neurotransmisor que media la transmisión sináptica excitatoria en el SNC de mamíferos activando canales iónicos (23,24). Su distribución es ubicua en el SNC y ocupa una posición central en el metabolismo del cerebro en donde es precursor de un importante neurotransmisor inhibitorio, el GABA. En el SNC de mamíferos el Glu se localiza principalmente en interneuronas corticales (25,26), en las aferencias corticales hacia el cuerpo estriado (27,28), en la capa molecular del giro dentado (29,30) y en las fibras musgosas del hipocampo (31).

El interés por el estudio del Glu en el SN se incrementó en forma significativa debido a las observaciones de su efecto tóxico sobre las neuronas al acumularse en el espacio sináptico, lo que sucede por ejemplo, en condiciones de hipoxia-isquemia (32) y de epilepsia focal experimental (33).

Las primeras observaciones de la toxicidad del Glu se realizaron en 1957, cuando Lucas y Newhouse (34) estudiando los posibles efectos terapéuticos del Glu en una forma de degeneración retinal hereditario en ratas neonatales, encontraron que contrario a lo que esperaban, el Glu provocaba la degeneración aguda irreversible de las neuronas de las capas internas de la retina después de su administración parenteral. Estudios posteriores (35) revelaron que no sólo la retina, sino también el núcleo arcuato hipotalámico y otras áreas circunventriculares (áreas sin barrera hematoencefálica) son particularmente vulnerables a los efectos tóxicos del Glu

administrado sistémicamente en los roedores neonatales (36). Por lo que se ha propuesto que la excesiva exposición de células nerviosas a aminoácidos excitatorios puede conducir a un daño irreversible y finalmente a la muerte celular (37). Dado que las propiedades neurotóxicas de estos aminoácidos están relacionadas con su capacidad para despolarizar y excitar a las neuronas, este tipo de daño celular se conoce como **daño celular excitotóxico** (38), cuyo mecanismo ha sido extensamente estudiado durante los últimos años.

Los receptores postsinápticos a Glu se clasifican en dos tipos generales: **ionotrópicos** y **metabotrópicos** (Fig.6). Los receptores ionotrópicos se clasifican con base a estudios farmacológicos en: 1) tipo **N-metil-D-aspartato** (NMDA) y 2) tipo **no-NMDA**, que a su vez se dividen en tipo **Acido Káínico** (AK) y tipo **Acido quisquálico** (AQ) ó 3-amino-4-hidroxi-5-metil isooxazol (**AMPA**) (39), cuya activación está relacionada con la apertura de canales iónicos permeables a diferentes cationes. Por otra parte la activación de los receptores metabotrópicos receptor a Glu está relacionada con la producción de segundos mensajeros (metabolismo de los fosfatidilinositósidos) (40).

La activación excesiva de los diferentes subtipos de receptores a aminoácidos excitatorios (Glu) puede iniciar una cascada de eventos intracelulares provocando daño neuronal durante su desarrollo (41,42,43) y en el cerebro adulto (44,45).

Los mecanismos de neurotoxicidad puede dividirse en dos etapas distintas de acuerdo con numerosos estudios *in vitro* (46,47). La primera, incluye la despolarización de la membrana neuronal, el influjo de Na^+ seguido por un influjo pasivo secundario de Cl^- y H_2O , la reducción significativa de los niveles de ATP y la generación de una inflamación neuronal subsecuente. La segunda fase está caracterizada por un influjo excesivo de Ca^{2+} principalmente a través de la activación del receptor/canal NMDA; la activación de sistemas de segundos

mensajeros; la movilización de depósitos internos de Ca^{2+} ; la activación de lipasas y proteasas; la generación de ácidos grasos y radicales libres; la disfunción mitocondrial y el agotamiento de almacenes de energía (46,47). Estas alteraciones celulares conducen a la destrucción del citoesqueleto neuronal, de componentes de la membrana y finalmente a la muerte neuronal (Fig.7).

Diversos estudios sugieren que la neurotransmisión puede ser transformada por el establecimiento de enfermedades neurológicas, colectivamente referidas como enfermedades degenerativas, cuya característica principal es producir una disminución neuronal selectiva. Esto se muestra atractivo, al considerar que la neurotoxicidad de los aminoácidos excitatorios endógenos podría estar involucrada en algunas de estas enfermedades, sin embargo, en la mayoría de los casos no existen evidencias directas. Diversas modificaciones en los diferentes sistemas de neurotransmisión están asociadas con alteraciones neurológicas (48-51). Así, se han observado cambios significativos en la citoarquitectura cerebral en las disfunciones neurológicas de Alzheimer (52), Huntington (53), epilepsia (54) y Parkinson (55). Estos cambios pueden involucrar la disminución de neuronas particulares, reducciones en la arborización dendrítica y la formación de elementos extraños tales como marañas neurofibrilares y placas amiloides (56). En la enfermedad de Alzheimer las neuronas colinérgicas del cerebro anterior basal (57) y neuronas piramidales del hipocampo (58) son vulnerables, ésta enfermedad se caracteriza histopatológicamente por muerte celular neuronal y la acumulación de marañas neurofibrilares y placas neuríticas en la corteza cerebral y en el hipocampo (59). En la enfermedad de Parkinson las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra se pierden (60), en estos casos se ve una extensa degeneración del globo pálido, la sustancia negra y la corteza (61). La enfermedad de Huntington es un transtorno hereditario del SNC caracterizado por la

aparición durante la vida adulta de movimientos coreiformes y demencia de naturaleza progresiva, asociados con la degeneración de neuronas estriatales (53). En estudios realizados en el cuerpo estriado de pacientes fallecidos a consecuencia de la enfermedad de Huntington se ha encontrado un agotamiento selectivo de GABA y su enzima sintetizadora GAD, así como una disminución de la actividad de la enzima sintetizadora de la acetilcolina la colina cetiltransferasa (CAT) (62). En la enfermedad de Alzheimer y en la epilepsia hay reducción en la extensión de arborización dendrítica de neuronas piramidales hipocampales (54,63).

Diversos estudios realizados en nuestro laboratorio sobre la caracterización de la influencia del glutamato monosódico (GMS) en el desarrollo del sistema colinérgico de la rata sugieren en su conjunto que las neuronas colinérgicas no son el único blanco del daño celular inducido por Glu. Lo que sugiere que también las células GABAérgicas podrían ser susceptibles al efecto citotóxico del Glu (64), ya que tanto las neuronas colinérgicas como las GABAérgicas han demostrado ser las más vulnerables en la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas que se mencionaron anteriormente. Por lo que el presente trabajo se diseñó para determinar el efecto que tiene la administración perinatal de Glu como sal monosódica sobre la neurotransmisión de las neuronas GABAérgicas en diferentes regiones del cerebro con innervación glutamatérgica durante el desarrollo postnatal de la rata.



BIBLIOTECA CENTRAL

HIPOTESIS

Si las células GABAérgicas son vulnerables al efecto neurocitotóxico ejercido por el Glu, luego entonces la administración perinatal de Glu reducirá la liberación de GABA en regiones del SNC con innervación Glutamatérgica durante el desarrollo postnatal de la rata.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la liberación de GABA en neuronas de ratas tratadas perinatalmente con glutamato.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1.- Determinar la liberación de GABA en rebanadas de tejido de corteza cerebral e hipocampo en diferentes edades (14, 21, 30 y 60) de ratas en condiciones normales (grupo Intacto)

2.- Determinar la liberación de GABA en rebanadas de tejido de corteza cerebral e hipocampo en diferentes edades (14, 21, 30 y 60) de ratas tratadas perinatalmente con una solución de cloruro de sodio equimolar al glutamato (grupo Testigo).

3.- Determinar la liberación de GABA en rebanadas de tejido de corteza cerebral e hipocampo en diferentes edades (14, 21, 30 y 60) de ratas tratadas perinatalmente con glutamato (grupo Experimental).

**MATERIAL Y
METODOS**

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron ratas macho recién nacidas de la cepa Wistar, las cuales se mantuvieron en condiciones de bictorio, esto es, con acceso libre al agua y a la alimentación, ciclos de luz-oscuridad de 12:12 horas, humedad relativa de 45% y temperatura de 25°C constante.

Tratamiento y Formación de Grupos

Los animales utilizados se dividieron en tres grupos:

GRUPO I.- Animales intactos, es decir, sin tratamiento alguno. Este grupo se tomó como grupo intacto.

GRUPO II.- A estos animales se les administró por vía subcutánea una solución de NaCl equimolar a la de GMS a dosis de 1.38 mg por gramo de peso a los días postnatales 1,3,5 y 7, haciendo un total de cuatro administraciones a cada animal. Estos animales conformaron el grupo testigo.

GRUPO III.- En éste se les administró a los animales por vía subcutánea GMS a dosis de 4 mg/g de peso en los días postnatales 1,3,5 y 7 de acuerdo al modelo descrito por Dada y col.(65); y Clough y col.(66). Este grupo se consideró como experimental.

Los animales de los tres grupos fueron sacrificados a la edad de 14, 21, 30 y 60 días de edad.

Obtención del Tejido

Una vez que los animales cumplieron la edad preestablecida fueron sacrificados por decapitación y sus cerebros fueron inmediatamente removidos para disectar la corteza frontal (CC) y el hipocampo (Hp), todo ello a 4°C manteniendo húmedo el tejido con una solución de sacarosa 0.32 M. Los tejidos obtenidos se cortaron en rebanadas y se pesaron en una balanza analítica para realizar los experimentos de liberación.

Experimentos de Liberación

Los experimentos de liberación se realizaron de acuerdo a reportes previos de nuestro laboratorio (67). Brevemente consistieron en lo siguiente: las rebanadas del tejido (25 mg) se transfirieron a un baño María a 37°C y se preincubaron durante 10 min en un medio Krebs-bicarbonato que además contenía ácido aminooxiacético (10 μ M), después se les adicionó 10 μ l de GABA-[³H] (10 μ M) y la incubación se prolongó 20 min más. Al término de este tiempo las rebanadas de tejido se depositaron en un sistema de perfusión Brandel y se hicieron dos lavados con medio Krebs-bicarbonato; el primer lavado se realizó a velocidad rápida (1.2 ml/min) durante 5 min, mientras que el segundo lavado se realizó a velocidad normal (0.5 ml/min) con el mismo medio y por el mismo lapso. Una vez concluidos los lavados se procedió a la recolección de fracciones, haciendo un total de 10 fracciones por cada vía con una duración de 5 min por fracción y con un flujo de 0.5 ml/min.

Para cada región se utilizaron dos vías: una de ellas para determinar la liberación basal de GABA, en donde al tejido recibió medio Krebs-bicarbonato (3 mM de K⁺) durante el transcurso de todas las colectas; a la otra vía se le aplicó un estímulo con alta concentración de potasio (53 mM) a partir de la cuarta fracción hasta la octava.

Al finalizar las tomas se adicionó 5 ml de líquido de centelleo (BECKMAN: Ready Safe (cocktail)) y se cuantificó la radiactividad en un contador de centelleo líquido (BECKMAN L-S-6000 SE) en donde los resultados se expresan en desintegraciones por minuto (DPM). Posteriormente, se realizaron los cálculos correspondientes para expresar los resultados en porcentaje del transmisor liberado respecto a la cantidad total de radiactividad incorporada por el tejido.

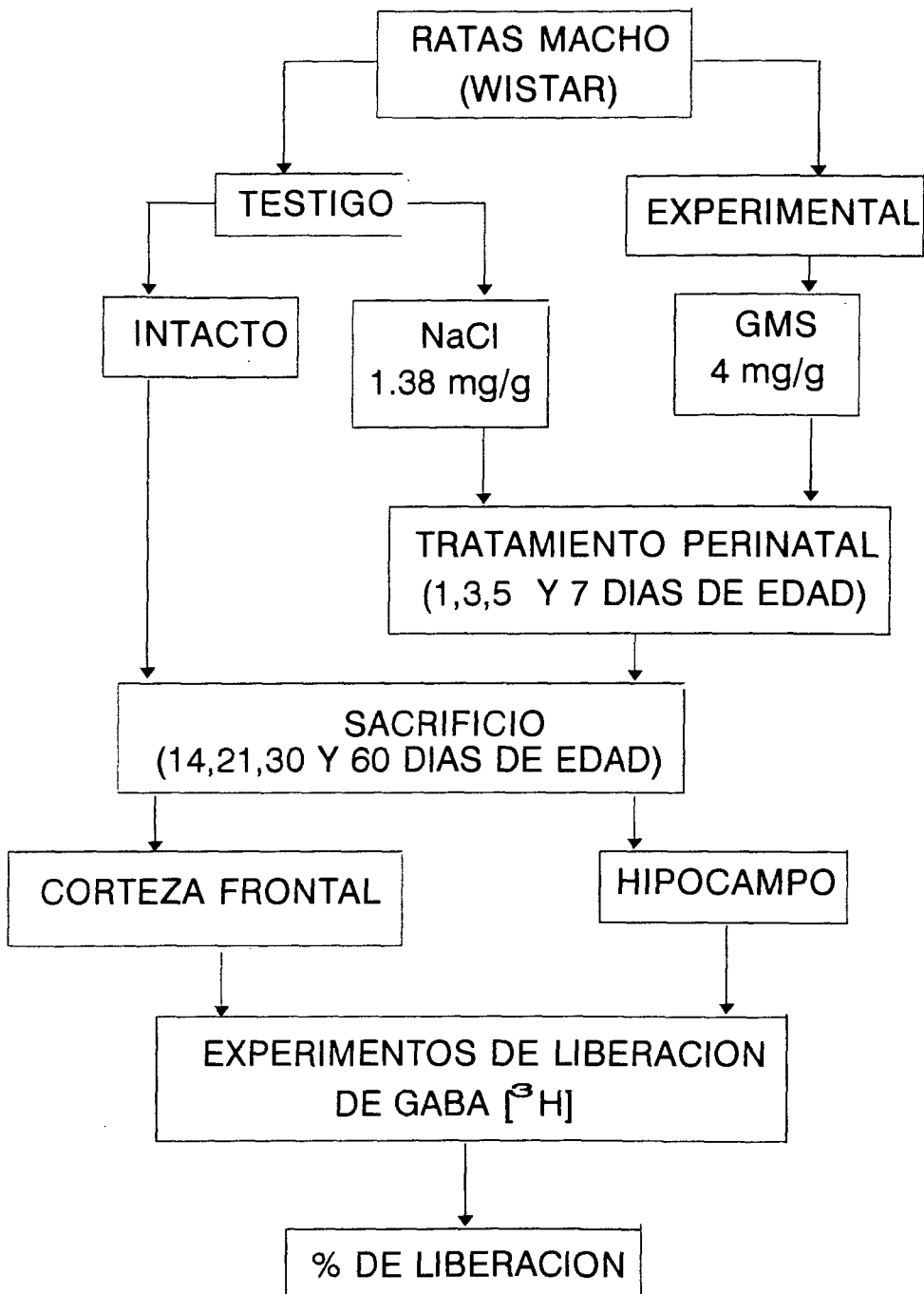
El porcentaje de transmisor liberado se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ LIBERACION} = \frac{\text{radiactividad incorporada}}{\text{radiactividad total}} \times 100$$

Es importante mencionar que los experimentos de los grupos experimental, testigo e intacto se corrieron paralelamente.

Los resultados obtenidos se procesaron mediante la prueba de análisis de varianza ANOVA y se expresaron como el promedio de 4 a 6 experimentos realizados \pm desviación estándar de la media.

DIAGRAMA
EXPERIMENTAL



RESULTADOS

Corteza Cerebral

Los resultados muestran que el tratamiento perinatal de Glu indujo una importante reducción en la liberación estimulada de GABA en la corteza cerebral a los 14, 21 y 30 días de edad (Fig. 8, 9 y 10 respectivamente) comparado con los grupos intacto y testigo con solución de NaCl equimolar al Glu, mientras que a los 60 días de edad el Glu produjo un incremento significativo en la liberación estimulada del GABA respecto al grupo testigo (Fig. 11). Sin embargo, el tratamiento con la solución de NaCl equimolar al Glu también redujo significativamente la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días en comparación con el grupo intacto (Fig. 8 y 9 respectivamente).

Con el propósito de realizar un análisis con el mayor detalle posible se hizo una comparación entre la máxima liberación obtenida en los tres grupos y en todas las edades estudiadas, para lo cual se tomó el valor promedio de la liberación estimulada correspondiente a la fracción número 6 y se graficó como sobreflujo considerando la liberación basal como 0%. En este sentido, los resultados muestran una liberación estimulada constante de GABA en el grupo intacto a lo largo del desarrollo hasta la fase adulta (Fig. 12). Sin embargo, se observa que la liberación estimulada de GABA del grupo tratado con NaCl se redujo significativamente a los 14 y 21 días postnatales (35% y 43% respectivamente) comparado con el grupo intacto, reducción que no trasciende a edades posteriores de los 30 días (Fig. 12). Mientras que en el grupo experimental se observó una importante reducción en la liberación estimulada de GABA a los 14, 21 y 30 días postnatales de un 66, 75 y 24% respecto al grupo intacto, y un 47, 57 y 24% respecto al grupo tratado con NaCl. Sin embargo, a la edad adulta la liberación estimulada de GABA se incrementó significativamente en un 35 y 41% respecto a los

grupos intacto y tratado con NaCl (Fig. 12).

Hipocampo

Los datos muestran que el tratamiento con Glu indujo una reducción significativa en la liberación estimulada de GABA en el hipocampo a los 14, 21 y 60 días de edad postnatal respecto a los grupos testigo (Fig. 13, 14 y 16 respectivamente). Sin embargo, a los 30 días no se observó diferencia estadísticamente significativa entre ninguno de los grupos estudiados. Asimismo, el tratamiento con la solución de NaCl equimolar al Glu redujo la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días postnatales respecto al grupo intacto (Fig. 13 y 14 respectivamente), mientras que a los 30 y 60 días de edad no existe diferencia significativa respecto al grupo testigo (intacto) (Fig. 15 y 16 respectivamente).

Al igual que para la región anterior, se elaboró un análisis de sobreflujo en relación a las diferentes edades estudiadas en los tres diferentes grupos. En los resultados se observa que la liberación estimulada de GABA se redujo significativamente en el grupo tratado perinatalmente con NaCl a los 14 y 21 días postnatales en un 78% y 47% respectivamente, reducción que no se presenta a edades posteriores a los 30 días (Fig. 17). Sin embargo, el grupo tratado perinatalmente con Glu mostró una reducción significativa en la liberación estimulada de GABA a los 14, 21 y 60 días postnatales de un 99%, 68% y 83% respectivamente, mientras que a los 30 días postnatales no existe diferencia respecto a los grupos intacto y testigo (Fig. 17).

DISCUSSION

Diversos estudios demuestran que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el hipocampo (68) y la corteza cerebral (6,7,8) en donde los mecanismos inhibitorios GABAérgicos y el desarrollo postnatal de los procesos que dependen de ellos sufren significativas alteraciones.

Desde la identificación del GABA como un neurotransmisor, hace más de 40 años, existen evidencias que relacionan alteraciones en su actividad con la excitabilidad nerviosa; así las manipulaciones que interfieren con los procesos GABAérgicos pueden inducir crisis convulsivas (69).

Una de las herramientas más utilizadas en los últimos años para conocer los mecanismos involucrados en diversos padecimientos neurodegenerativos ha sido el uso de diferentes neurotoxinas, entre ellas los aminoácidos excitatorios, tales como el Glu (70,71,72). En el presente trabajo se buscó determinar el efecto neurotóxico del Glu administrado en edades tempranas sobre el sistema GABAérgico durante el desarrollo.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran una liberación basal de GABA constante tanto en corteza cerebral (CC) como en hipocampo (Hp) durante el desarrollo postnatal (14, 21, 30 y 60 días) para todos los grupos. En vista de que se ha demostrado que las sinapsis inhibitorias maduran gradualmente en el primer mes postnatal (73) y sólo raramente después de la tercera semana postnatal, probablemente se esperaría una menor liberación basal de GABA en las primeras edades analizadas, sin embargo, estudios realizados en rebanadas de neocorteza en ratas recién nacidas demuestran la presencia de eventos inhibitorios tempranos, lo que sugiere una liberación tónica no sináptica de GABA antes de que los potenciales postsinápticos inhibitorios se puedan detectar (74,75). Esto permite proponer que el GABA puede tener una función no transmisora importante en etapas tempranas del desarrollo (76). Sin embargo, en la corteza visual y

somatosensorial de ratas jóvenes existen resultados que indican que el sistema inhibitorio es funcional en las dos primeras semanas postnatales (77).

Por otro lado, los resultados indican que la administración perinatal de Glu induce una reducción significativa en la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días en ambas regiones de estudio (CC y Hp), así como a los 30 días en la CC, esto posiblemente como un reflejo del daño inducido por la administración perinatal de Glu. En éste sentido, diversos estudios muestran que la administración postnatal de Glu durante la primera semana de edad realmente ejerce efectos citotóxicos sobre diversos tipos de neuronas, por lo que se propone que en etapas tempranas del desarrollo existe mayor susceptibilidad al daño inducido por Glu (78), esto posiblemente debido a que los sistemas de recaptura para el Glu, no están completamente desarrollados y a que la barrera hematoencefálica no se está completamente establecida (64), ya que la administración de Glu a las mismas dosis en animales adultos no tiene los mismos efectos.

Nuestros resultados indican que las neuronas del sistema GABAérgico son susceptibles al daño excitotóxico inducido por Glu. El tratamiento con aminoácidos excitatorios puede inducir variaciones en la expresión de subunidades que constituyen los receptores a Glu (79), esto puede traer como consecuencia, una mayor versatilidad en las subunidades que constituyen a los receptores de Glu lo cual podría ser un factor adicional para la vulnerabilidad de algunas neuronas GABAérgicas del SNC (79).

Trabajos recientes realizados en nuestro laboratorio apoyan la idea de que el SNC es susceptible al efecto tóxico inducido por el Glu cuando se administra durante la primera semana postnatal, ya que histológicamente se observa que el Glu induce daño neuronal en etapas que comprenden desde los 14 a los 30 días postnatales en la corteza cerebral y en el hipocampo (64), así como una reducción en la actividad de la

CAT (80), lo que implica que no sólo el sistema GABAérgico es susceptible al efecto neurotóxico del Glu, sino también el Colinérgico.

En las edades de 30 días para Hp y 60 días para CC se observó un incremento en la liberación estimulada de GABA en el grupo tratado perinatalmente con Glu, lo que podría indicar el desarrollo de mecanismos compensatorios como parte del fenómeno de plasticidad neuronal para reestablecer el sistema GABAérgico, además, esto sugiere que posiblemente las neuronas GABAérgicas no dañadas por el efecto inducido por el Glu podrían incrementar su eficiencia para sustituir a las neuronas afectadas. Lo anterior se apoya con estudios en los que se ha propuesto (81) que aún cuando los circuitos interneuronales se establecen, la eficiencia de ciertas conexiones no está completamente determinada sino que depende de su actividad, lo que predice que cierta clase de sinapsis sería capaz de modificar sus propiedades como resultado de cambios en su actividad. Al considerar la naturaleza del cambio en la eficiencia, los fenómenos pueden presentarse como un decaimiento en la actividad sináptica o una facilitación de la misma; además, si se considera la temporalidad con la que se desarrollan los procesos plásticos y su duración una vez que se establecen, estos pueden ser de corto o largo plazo, lo que posiblemente explique la reducción en la liberación estimulada de GABA a los 60 días en el Hp, después de haber observado una recuperación a los 30 días, lo que indica que posiblemente esta manifestación sea parte de un proceso plástico de corto plazo.

Las células gliales también podrían estar implicadas en el desarrollo de la plasticidad neuronal, por ejemplo los astrocitos poseen un mecanismo de recaptura que permite inactivar o remover el Glu del espacio intersináptico (82), lo que indica que tienen una función fundamental en el mantenimiento de la concentración extracelular del Glu, además de que se ha encontrado que estas células son particularmente

eficientes en áreas del cerebro con un alto nivel de actividad glutamatergica (83) como lo son la corteza cerebral y el hipocampo.

Además, los resultados muestran que el tratamiento perinatal de NaCl a una concentración equimolar al Glu reduce la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días en ambas regiones estudiadas; estos resultados son similares a los que se reportan en otros estudios realizados en nuestro laboratorio en donde se muestra que el NaCl disminuye la actividad de la CAT a los 60 días en la corteza cerebral (resultados no publicados), lo anterior sugiere que el NaCl puede tener un efecto hipertónico temporal sobre las células GABAérgicas en etapas tempranas del desarrollo, ya que en edades posteriores a los 30 días este efecto no se manifiesta en la liberación estimulada de GABA.

Finalmente, es necesario continuar con experimentos adicionales que permitan esclarecer aun más los mecanismos implicados en el efecto tóxico del Glu sobre las células GABAérgicas, dentro de los cuales es de vital importancia la activación de ciertos subtipos de receptores a Glu, por lo que se hace necesario la realización de estudios farmacológicos y de biología molecular tanto *in vivo* como *in vitro*, para conocer que subtipos de receptores a Glu están implicados en el proceso neurodegenerativo, así como sus características y localización preferencial en ciertas neuronas, como las GABAérgicas. Además, es necesario indicar que sólo un conocimiento más completo y preciso de la acción sináptica del GABA tales como la relación entre su metabolismo y liberación, entre otros, permitirá establecer con claridad la participación del GABA en las alteraciones neurológicas en las que parece estar involucrado.

CONCLUSIONES

- 1.- La administración perinatal de Glu por vía subcutánea a la dosis de 4 mg/gr de peso reduce la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días de edad en la corteza cerebral y en el hipocampo.
- 2.- El efecto neurotóxico ejercido por el Glu sobre células GABAérgicas de la corteza cerebral parece ser temporal, ya que a partir de los 30 días se observó una tendencia hacia la recuperación en la liberación estimulada de GABA.
- 3.- La recuperación de la liberación estimulada de GABA en el hipocampo a los 30 días de edad representa probablemente un mecanismo de plasticidad de corto plazo, pues a los 60 días se reduce nuevamente.
- 4.- La solución de NaCl equimolar al Glu reduce la liberación estimulada de GABA a los 14 y 21 días de edad en la corteza cerebral y en el hipocampo, se considera que el NaCl ejerce un efecto temporal de tipo hipertónico sobre las neuronas GABAérgicas.
- 5.- Los resultados indican que los primeros 21 días de edad postnatal constituyen una etapa crítica en el desarrollo del cerebro de la rata en el que las células GABAérgicas son vulnerables al efecto excitotóxico del Glu.

TABLAS Y
FIGURAS

FIGURA 1
SIMPLIFICACION SISTEMATICA DE LA SINAPSIS Y SU INTERACCION
CON ELEMENTOS GLIALES

El tejido nervioso está constituido principalmente por las células neuronales y por células gliales tales como los astrocitos (A) y los oligodendrocitos (O).

Cada neurona posee un cuerpo celular o soma (SO) que contiene un núcleo (N); del soma parten prolongaciones tales como las dendritas (D) y el axón (X). Tanto en las dendritas como en el axón se proyectan pequeños bastones terminales de otras fibras nerviosas que contienen vesículas sinápticas (V) constituyendo así la sinapsis (S) neuronal.

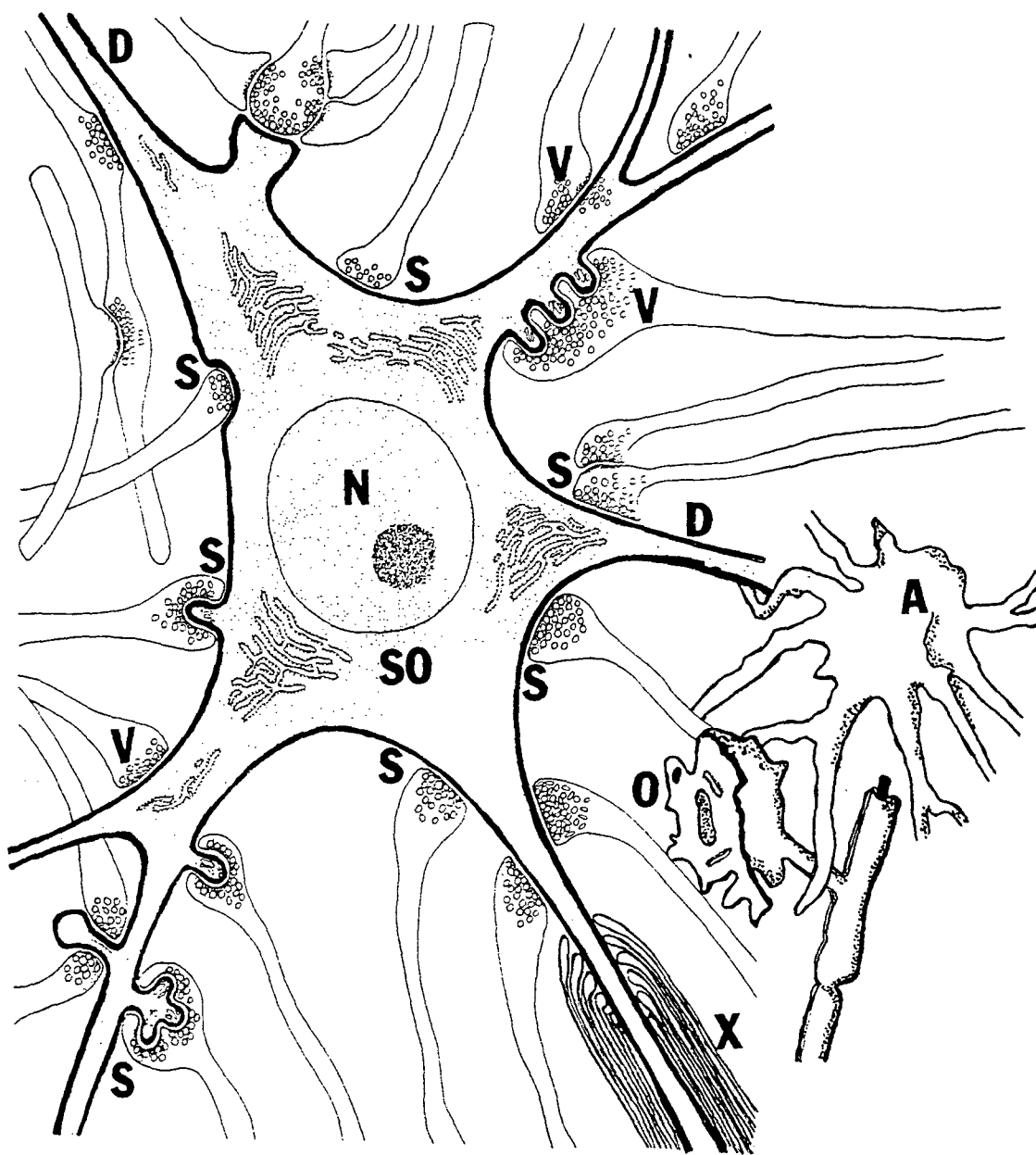


TABLA 1. DISTRIBUCION REGIONAL DEL GABA

- a Combinación de putamen y caudado
- b Ensayo en tálamo completo
- c Combinación de globo pálido y putamen

Los datos representan los valores medios expresados en $\mu\text{mol/g}$ de cerebro. Los errores de la media no se enlistan pero pueden encontrarse en las publicaciones originales. La figura en el paréntesis debajo de cada especie indica el número de animales estudiados. Los datos del mono fueron obtenidos de Fahn y col. (1968); los de conejo, rata, cobayo y babuino de Okada y col. (1971); los datos para el humano fueron obtenidos de Perry y col. (1971).

Región cerebral	Rhesus (4)	Conejo (5)	Rata (5)	Cobayo (5)	Babuino (2)	Humano (5)
SUSTANCIA NEGRA	9.70	8.50	10.07	9.69	9.63	5.31
GLOBO PALIDO	9.45	6.43	7.67	8.17	8.85	5.69 _c
HIPOTALAMO	6.19	5.33	7.68	5.67	4.48	3.72
COLICULO INFERIOR	4.70	3.06	5.06	4.73	5.40	--
NUCLEO DENTADO	4.30	4.09	--	--	4.80	--
COLICULO SUPERIOR	4.19	4.93	7.67	4.59	--	--
PERIACUEDUCTAL	4.02	--	--	--	--	--
NUCLEO OCULOMOTOR	--	4.52	--	--	--	--
PUTAMEN	3.62	3.48	3.58 _s	2.91 _a	--	--
TEGMENTO PONTINO	3.34	1.82	3.34	2.95	4.08	--
NUCLEO CAUDADO	3.20	--	3.58 _s	2.91 _a	--	3.03
TALAMO MEDIO	3.00	--	4.19 _z	--	3.53	2.52 _b
NUCLEO HIPOGLOSO	--	3.25	--	--	--	--
AMIGDALA	--	--	--	--	--	2.47
HIPOCAMPO	--	2.39	3.56	2.67	2.77	--
TALAMO LATERAL	2.68	2.30	--	--	--	--
CORTEZA OCCIPITAL	2.68	--	--	--	--	2.32
TALAMO ANTERIOR	2.50	--	--	--	--	--
TEGMENTO MEDULAR	2.27	2.76	2.11	2.29	--	--
NUCL. OLIVAR INF.	2.25	--	--	--	--	--
CORTEZA TEMPORAL	--	--	--	--	--	2.14
CORTEZA FRONTAL	2.10	2.10	2.86	2.61	2.39	2.09
CORTEZA MOTORA	2.09	--	--	--	--	--
CORTEZA CEREBELAR	2.03	1.80	3.01	2.48	2.14	2.33
MED. ESPINAL GRIS	--	1.91	1.92	--	--	--
NUCLEO ROJO	--	--	--	--	--	1.86
MATERIA BLANCA	0.31	0.75	0.96	--	--	0.26

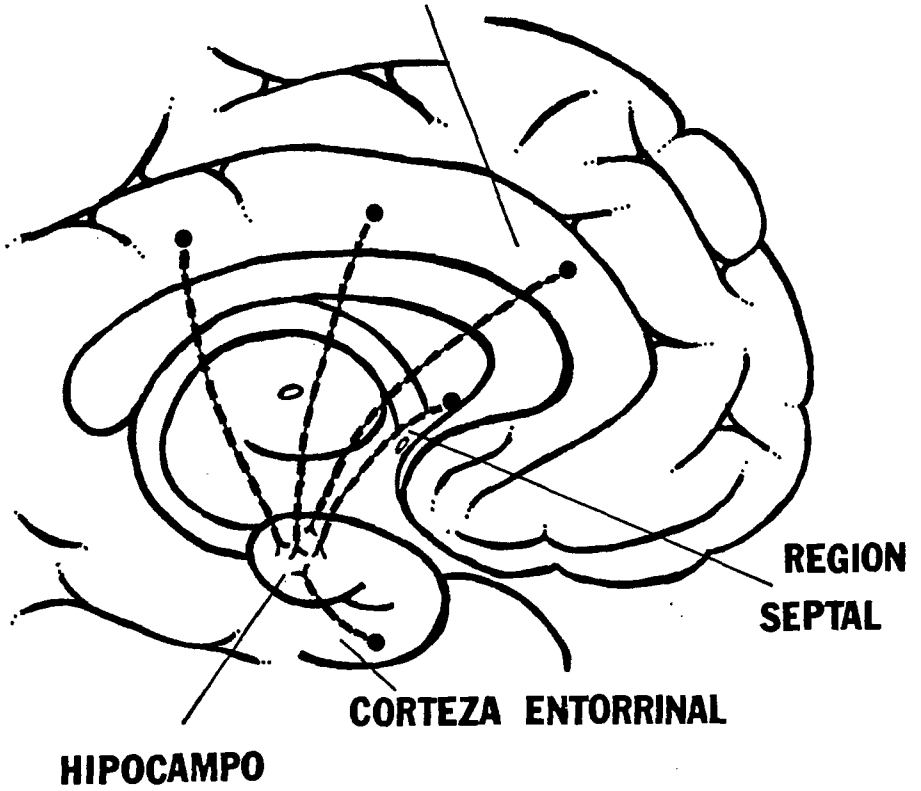
FIGURA 2

DIAGRAMA ESQUEMATICO QUE MUESTRA LAS AFERENCIAS DEL HIPOCAMPO

El hipocampo recibe impulsos:

- 1) Del área entorrinal (AE)
- 2) De la región septal (RS)
- 3) Del cíngulo (C)
- 4) Del hipocampo del lado opuesto (HO)

**CIRCUNVOLUCION
DEL CINGULO**



**REGION
SEPTAL**

CORTEZA ENTORRINAL

HIPOCAMPO

FIGURA 3
DIAGRAMA ESQUEMATICO QUE MUESTRA LAS EFERENCIAS DEL
HIPOCAMPO

A través del fórnix el hipocampo envía impulsos:

- 1) A los núcleos de la región septal (NRS)
- 2) Al área preóptica (APO)
- 3) A las áreas hipotalámicas ventral y lateral (AHT)
- 4) Al núcleo anterior del tálamo (NAT)
- 5) Núcleos del cuerpo mamilar (NCM)

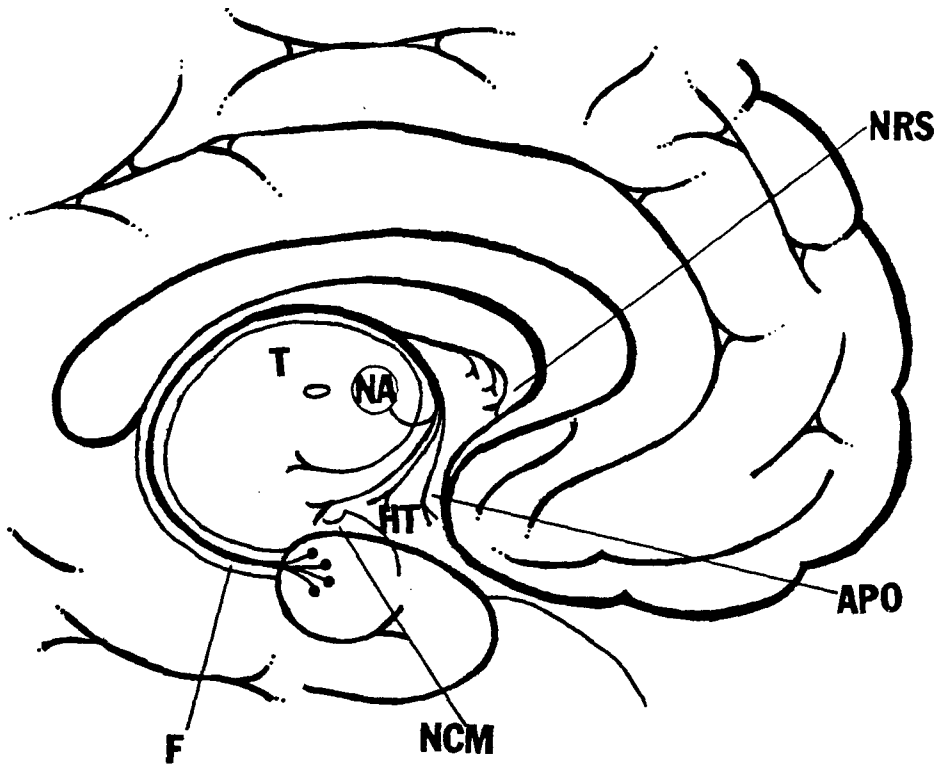


FIGURA 4
DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LAS CAPAS Y CELULAS CORTICALES

- I CAPA MOLECULAR (CM)
- II CAPA GRANULAR EXTERNA (CGE)
- III CAPA DE CELULAS PIRAMIDALES (CCP)
- IV CAPA GRANULAR INTERNA (CGI)
- V CAPA GANGLIONAR (CG)
- VI CAPA POLIMORFICA (CP)
- H CELULA HORIZONTAL
- E CELULA ESTRELLADA
- F CELULA FUSIFORME
- M CELULA DE MARTINOTTI
- P CELULA PIRAMIDAL
- B CELULA DE BETZ

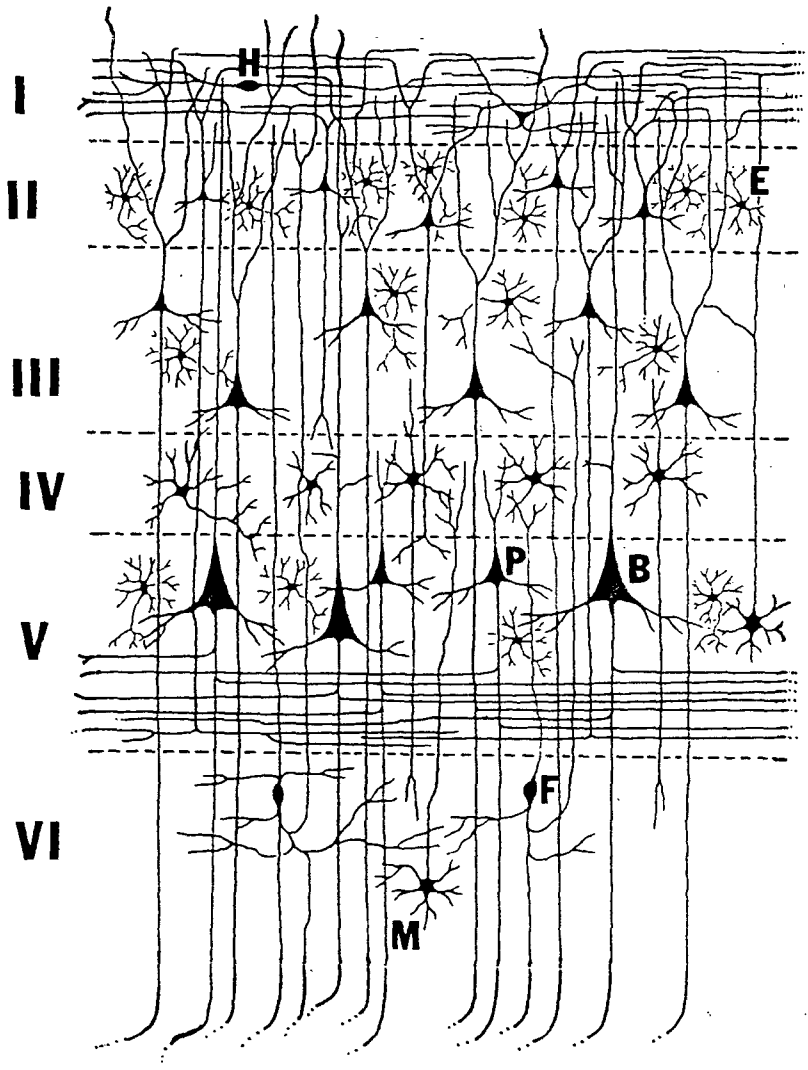


FIGURA 5

DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LA NEUROTRANSMISION GABAérgica

- ENZIMAS: (A) Descarboxilasa del Acido Glutámico (GAD).
(B) Transaminasa del Acido Glutámico (GABA-T).
(C) Glutamino sintetasa.
(D) Glutaminasa.

- 1.- Síntesis de GABA
- 2.- Liberación de GABA dependiente de Ca^{2+} .
- 3.- Interacción con el receptor de la membrana postsináptica.
- 4.- Captura de GABA por células gliales.
- 5- Captura de GABA por la terminal presináptica.
- 6.- Conversión de glutamato a glutamina (Gln).
- 7.- Liberación y captura de glutamina.
- 8.- Síntesis de Glutamato.

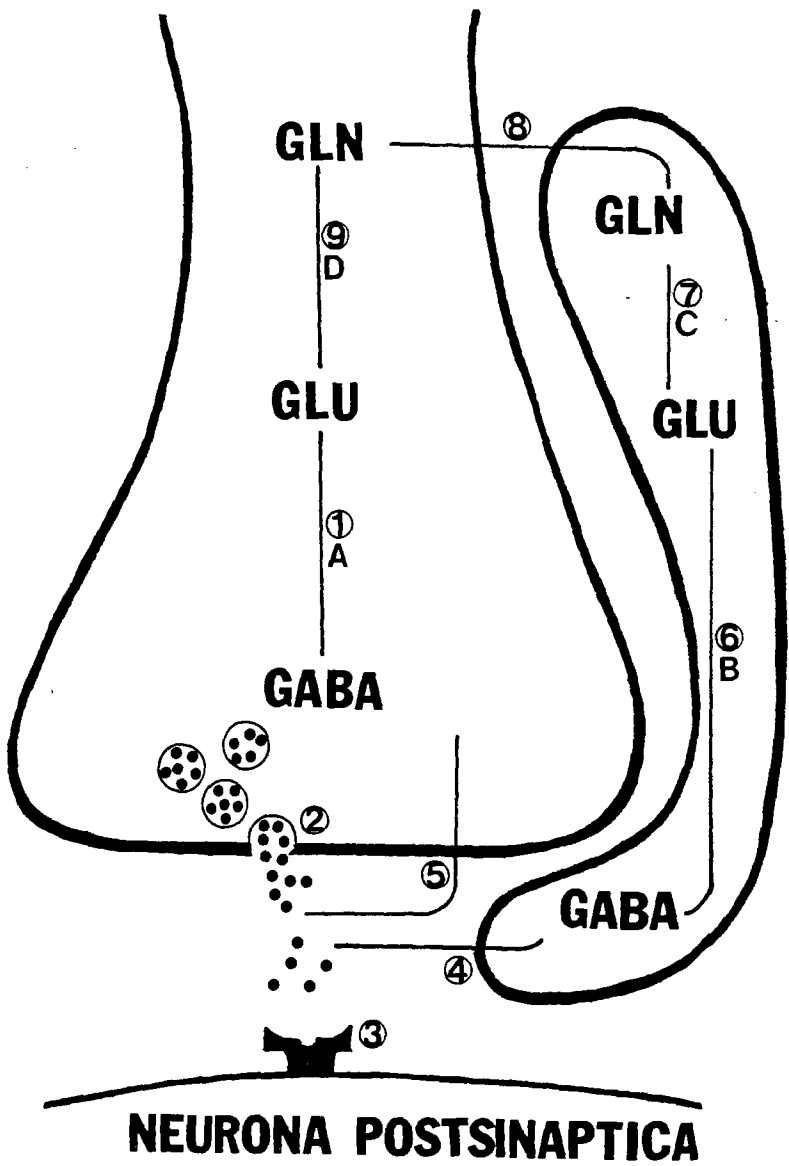
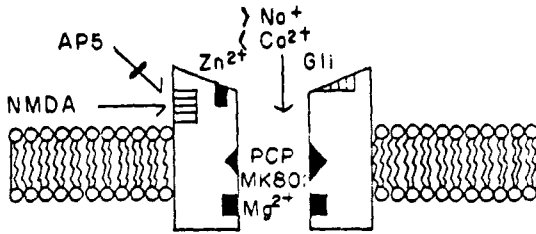


FIGURA 6
 ESQUEMAS DE LOS PRINCIPALES TIPOS DE RECEPTORES A GLUTAMATO
 EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE MAMIFEROS

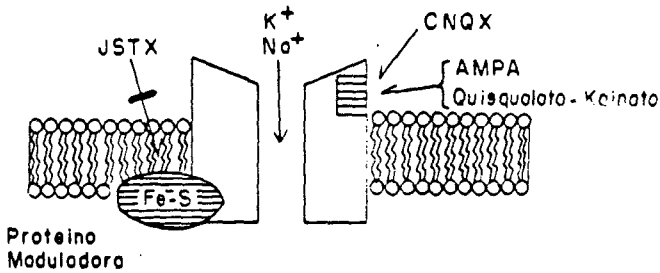
AP-5	2-amino-5-fosfonovalerato
NMDA	N-metil-D-aspartato
Gly	Glicina
PCP	Fenciclidina
QUIS	Quiscualato
KA	Kainato
JSTX	Neurotoxina de <i>Nephila clavata</i>
CNQX	6-ciano-nitro-quinoxalina-2,3-diona
AMPA	amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol propionato
ACPD	1-amino-ciclopentil-1,3-dicarboxilato
IBO	Ibotenato
G	Proteína tipo G
PP	Fosfolípido
PIP ₂	Fosfatidil inositol-4,5-bifosfato
PCC	Proteína cinasa C
DAG	Diacil glicerol
IP ₃	Inositol-1,4,5-trifosfato
Fe-S	Centro de hierro y azufre
*	Antagonistas competitivos

RECEPTORES IONOTROPICOS

Tipo NMDA



Tipo AMPA / KAINATO



RECEPTOR METABOTROPICO

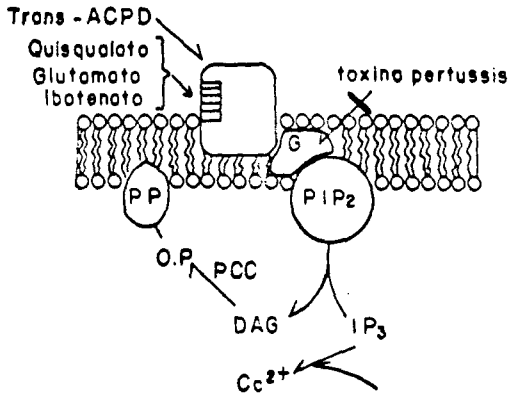


FIGURA 7
DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LOS MECANISMOS QUE CONTRIBUYEN A LA
NEUROTOXICIDAD DE LOS AMINOACIDOS EXCITATORIOS

El proceso de neurotoxicidad se da en dos etapas:

- A) La primera involucra la despolarización de las membranas neuronales, seguido por un influjo de Na^+ y Cl^- , así como la inflamación neuronal subsecuente.
- B) La segunda etapa se caracteriza por el influjo excesivo de Ca^{2+} principalmente a través de los receptores NMDA, la activación de proteasas, lipasas, generación de ácidos grasos, de radicales libres y disfunción mitocondrial que finalmente conducen al daño neuronal.

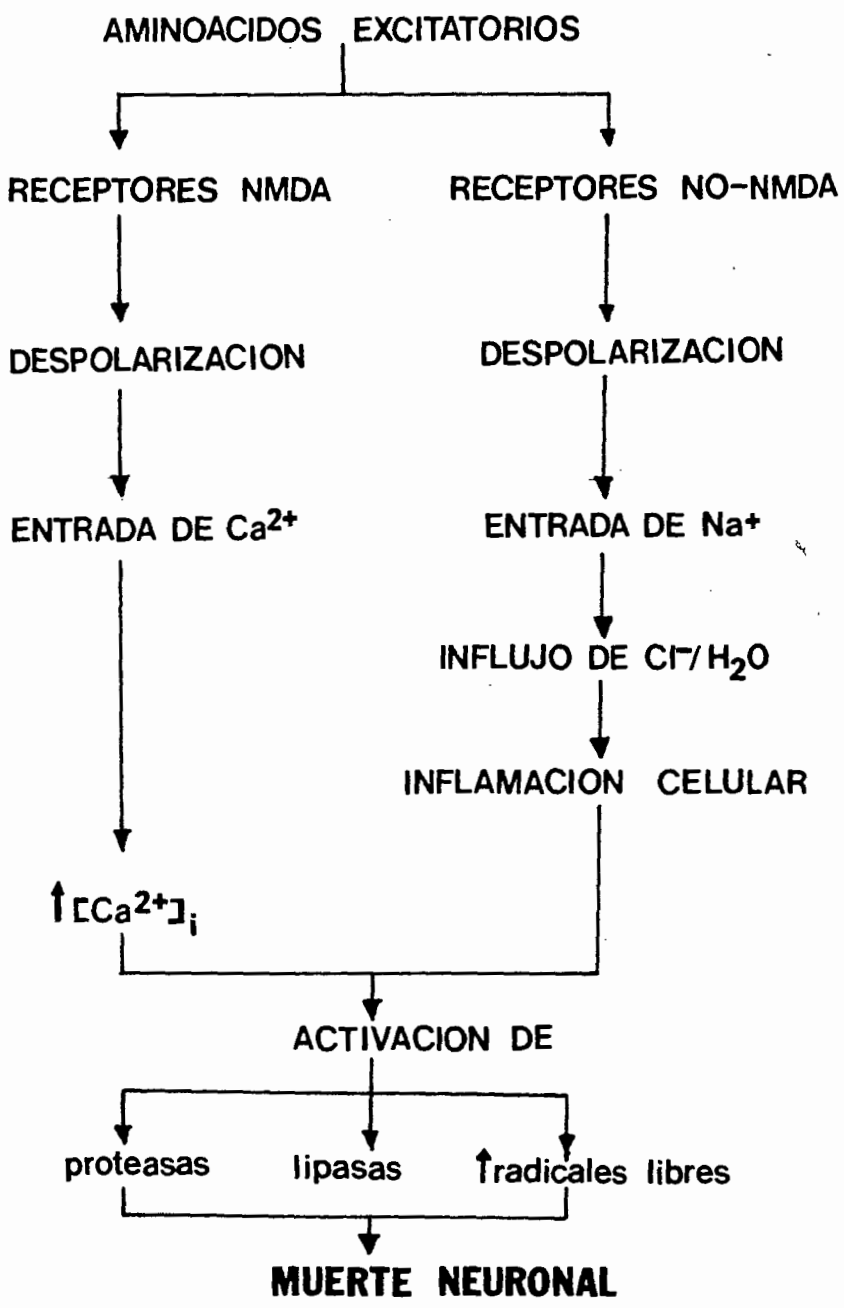
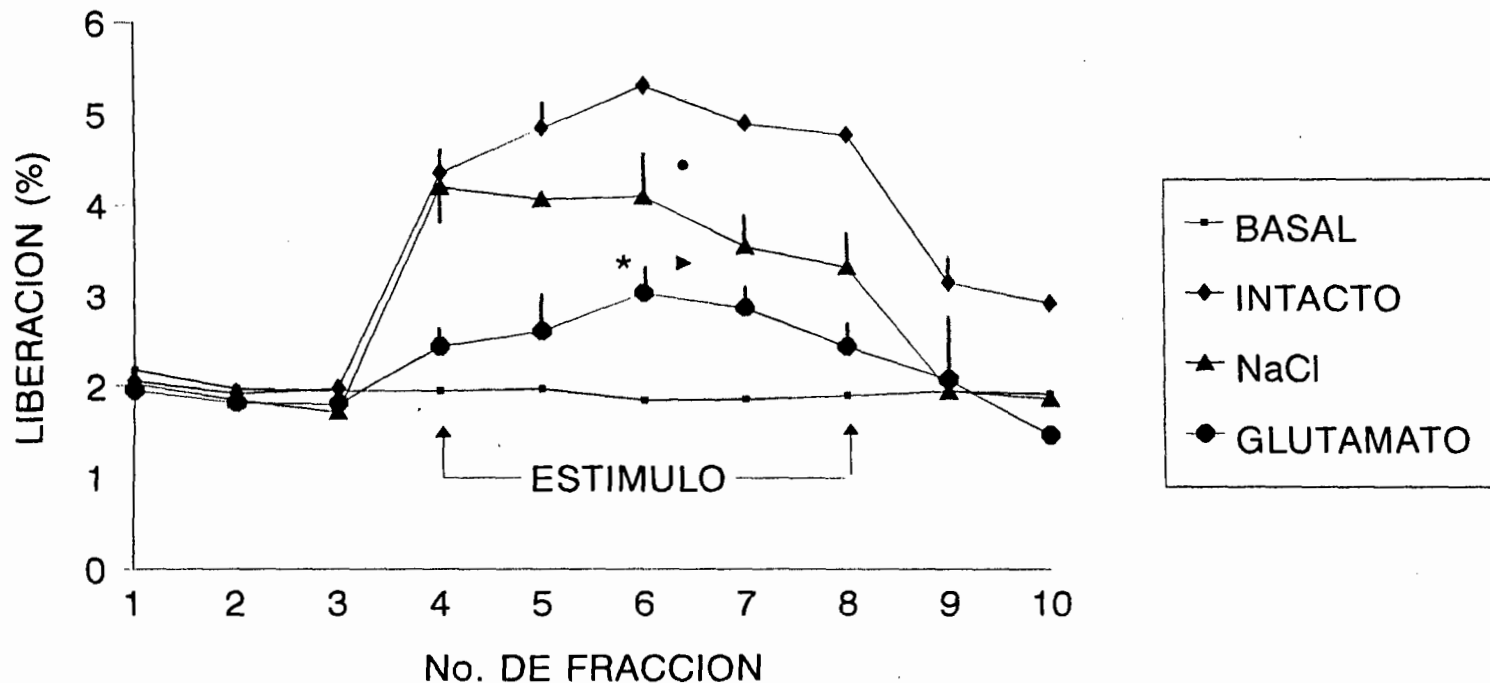


FIGURA No.8
LIBERACION DE GABA-[³H] EN CORTEZA CEREBRAL A LOS 14 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[³H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[³H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 6 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN CORTEZA CEREBRAL 14 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

> P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

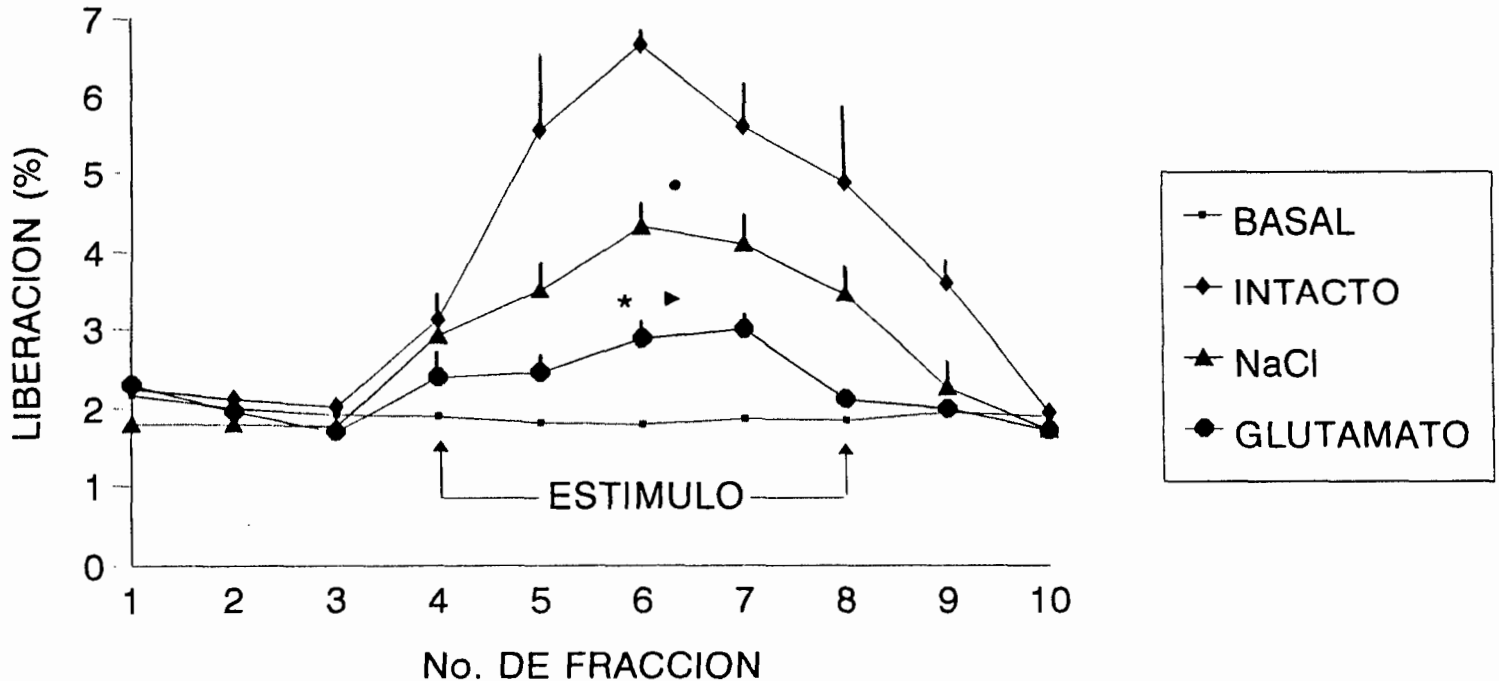
■ P < 0.05

• P < 0.005

FIGURA No.9
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN CORTEZA CEREBRAL A LOS 21 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[3^H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3^H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 5 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN CORTEZA CEREBRAL 21 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

▶ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

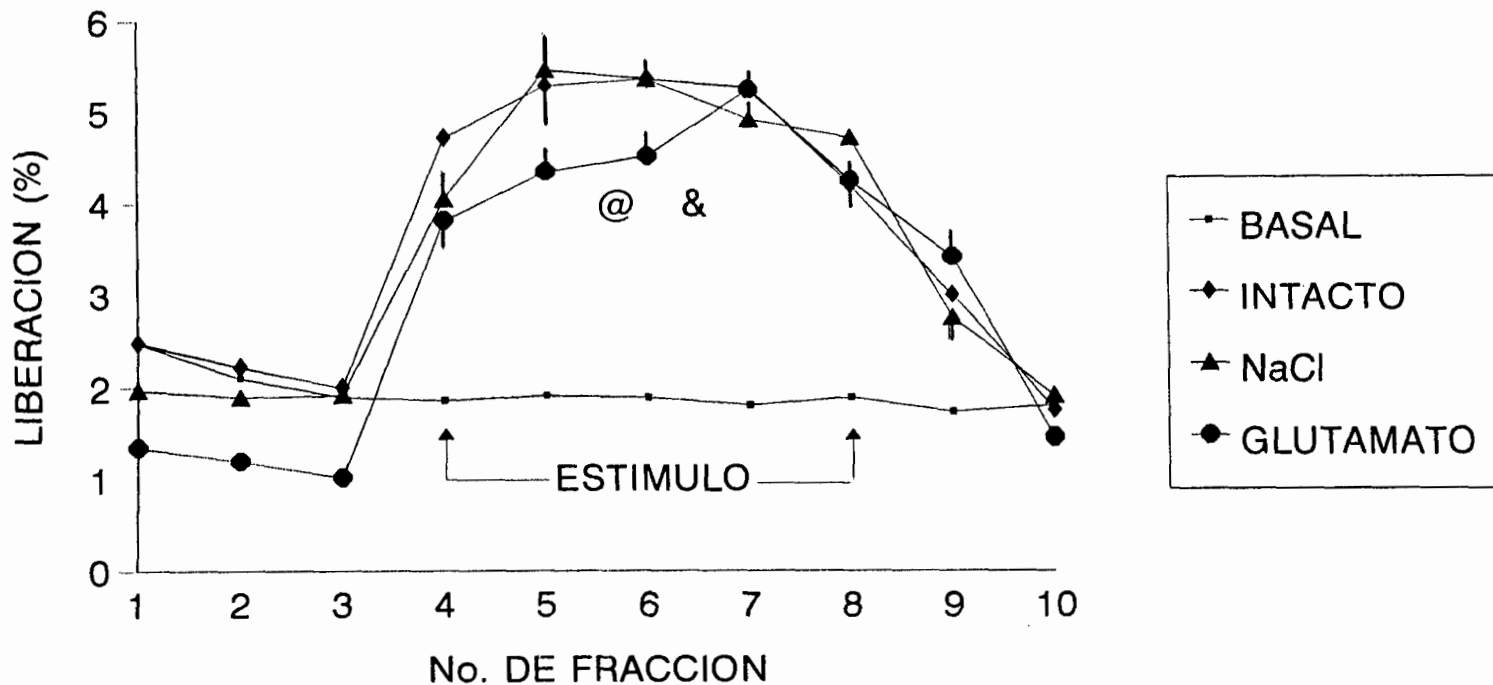
■ P < 0.05

• P < 0.005

FIGURA No.10
LIBERACION DE GABA-[3H] EN CORTEZA CEREBRAL A LOS 30 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K^+ sobre la liberación de GABA-[3H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 4 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN CORTEZA CEREBRAL 30 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

▸ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

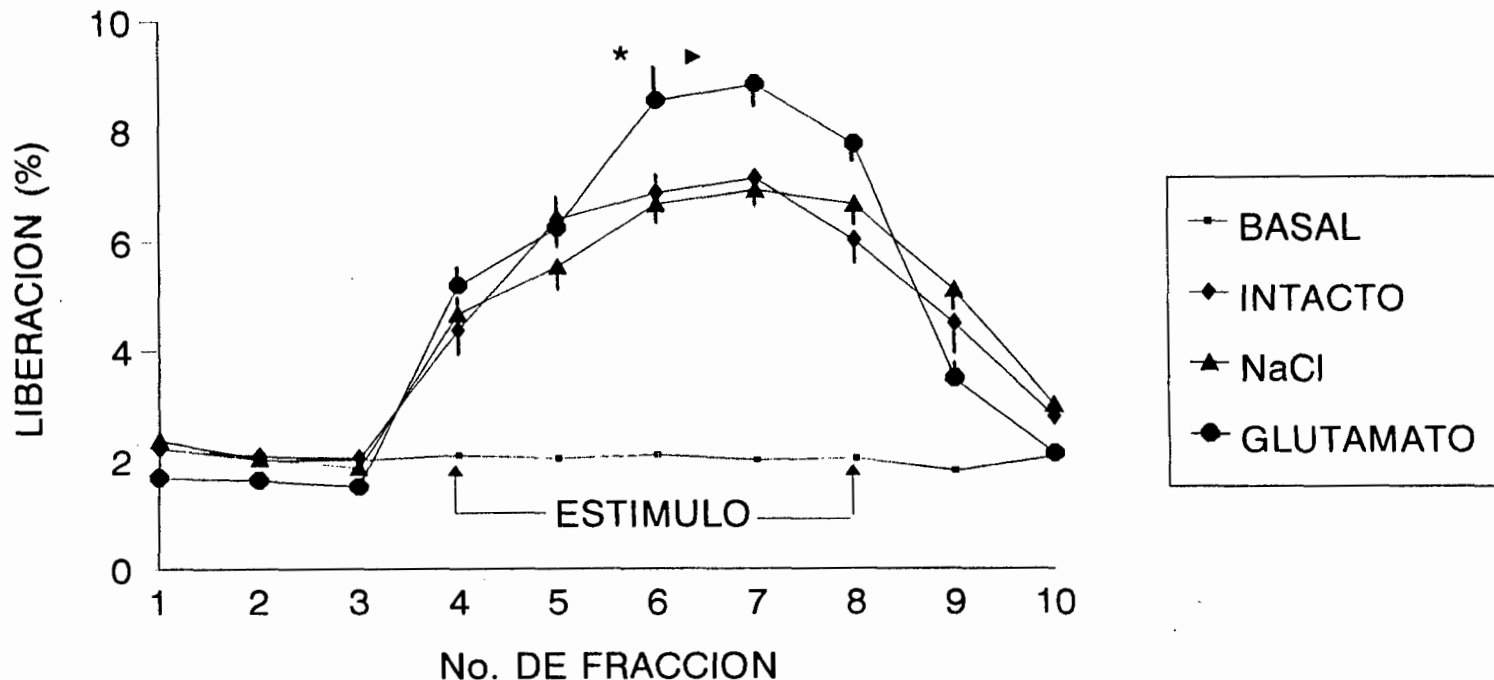
■ P < 0.05

• P < 0.005

FIGURA No.11
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN CORTEZA CEREBRAL A LOS 60 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[3^H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3^H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 3 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 4 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN CORTEZA CEREBRAL 60 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05
* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05
▶ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

■ P < 0.05
• P < 0.005

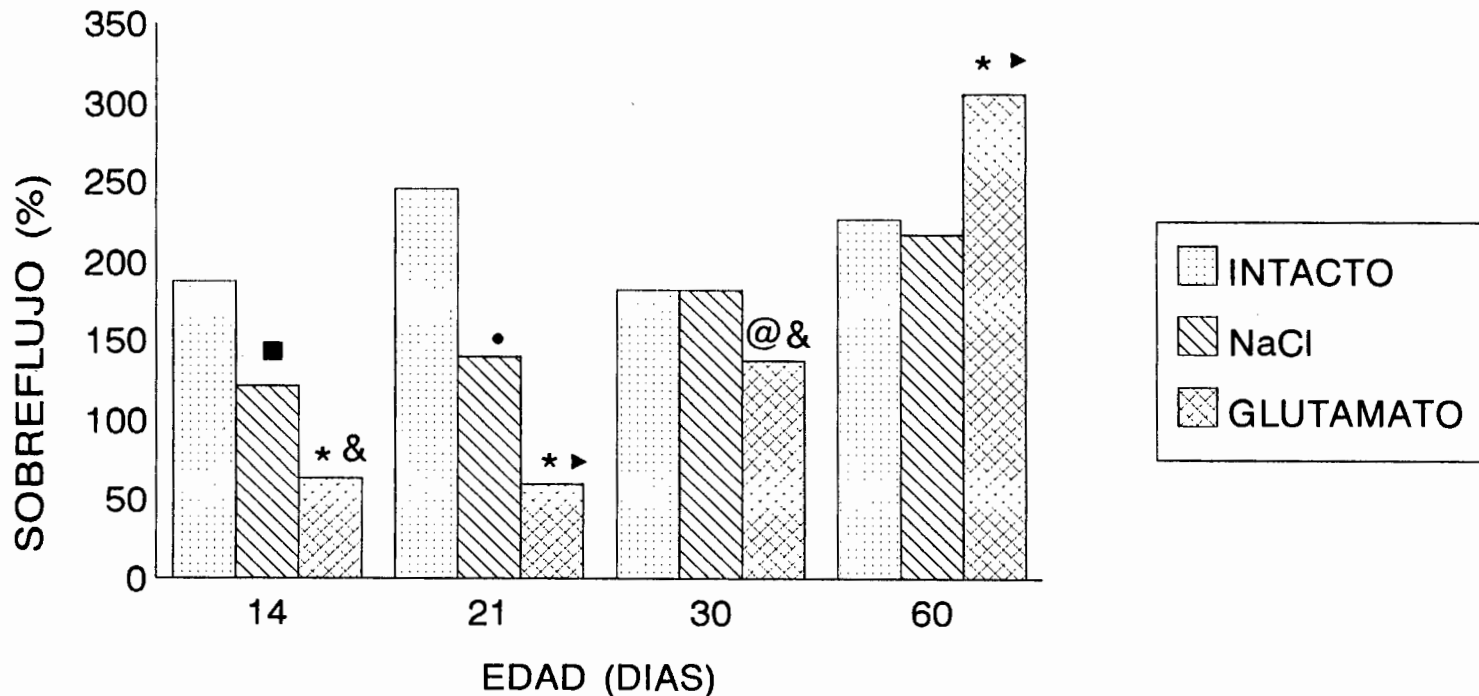
FIGURA No.12
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN CORTEZA CEREBRAL DURANTE EL
DESARROLLO

Esta gráfica muestra una comparación entre la máxima liberación por estimulación con K⁺ obtenida en los tres grupos (Intactos, SENaCl y GMS) en todas las edades estudiadas, para lo cual se tomó el valor promedio correspondiente de la fracción número 6 y se graficó como sobreflujo considerando la liberación basal como cero

La abcisa representa la edad postnatal de los animales y la ordenada representa el porcentaje de liberación de GABA-[3^H].

LIBERACION GABA-[³H] DURANTE EL DESARROLLO

Corteza Frontal



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

> P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

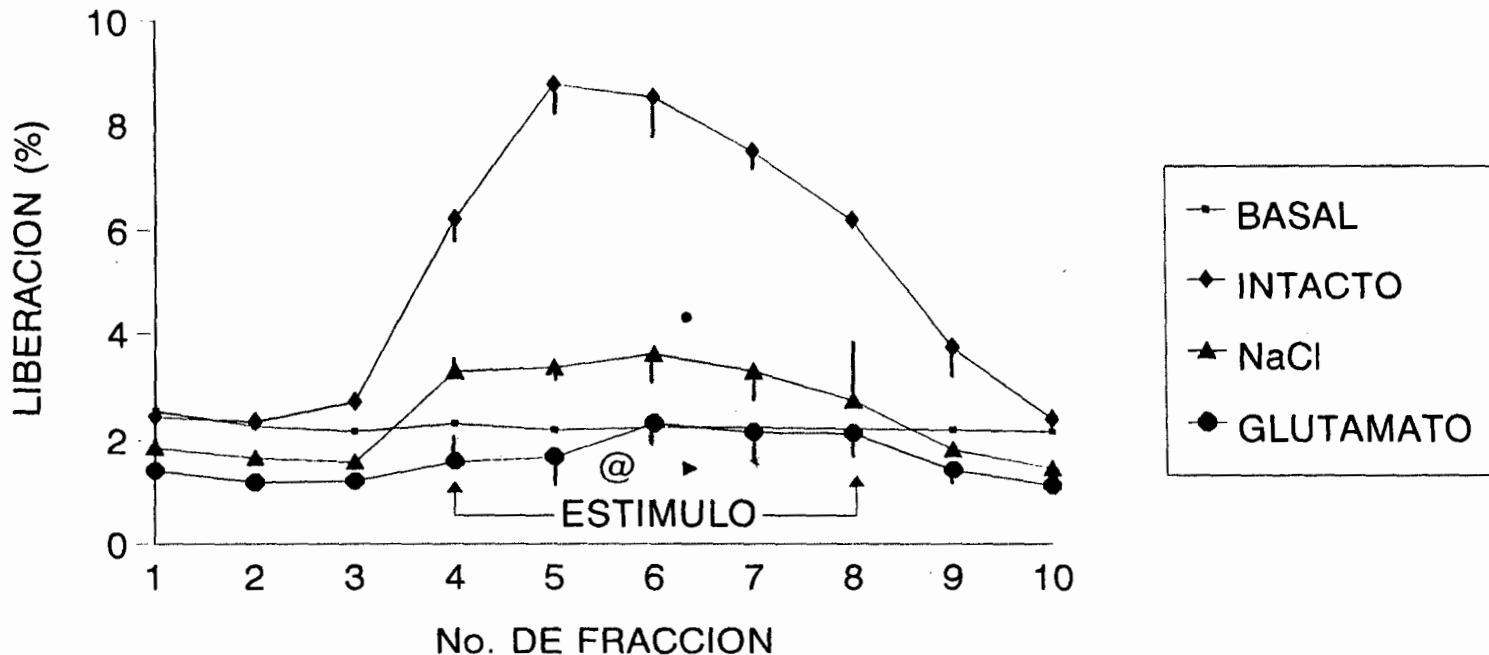
■ P < 0.05

• P < 0.005

FIGURA No.13
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN HIPOCAMPO A LOS 14 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[3^H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3^H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 6 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN HIPOCAMPO 14 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05
* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05
▲ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

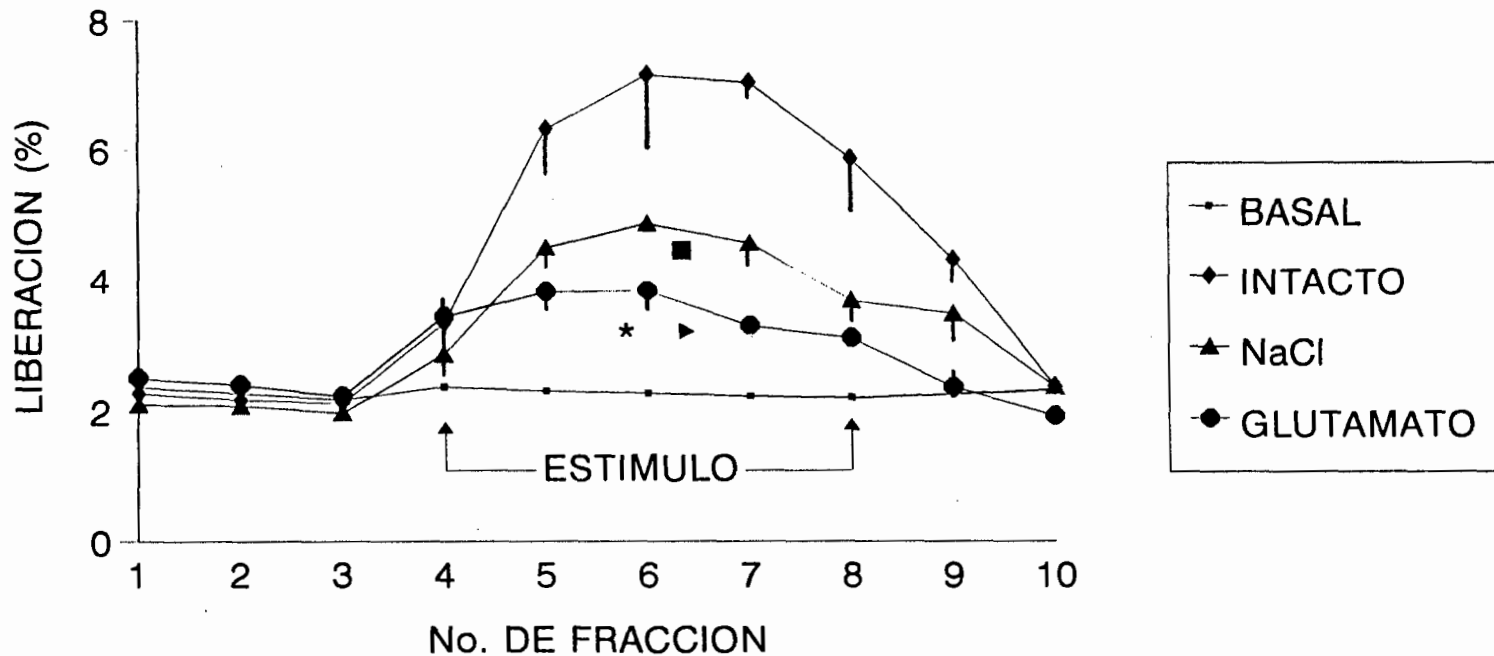
■ P < 0.05
• P < 0.005

FIGURA No.14
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN HIPOCAMPO A LOS 21 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[3^H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3^H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 5 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN HIPOCAMPO

21 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

▶ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

■ P < 0.05

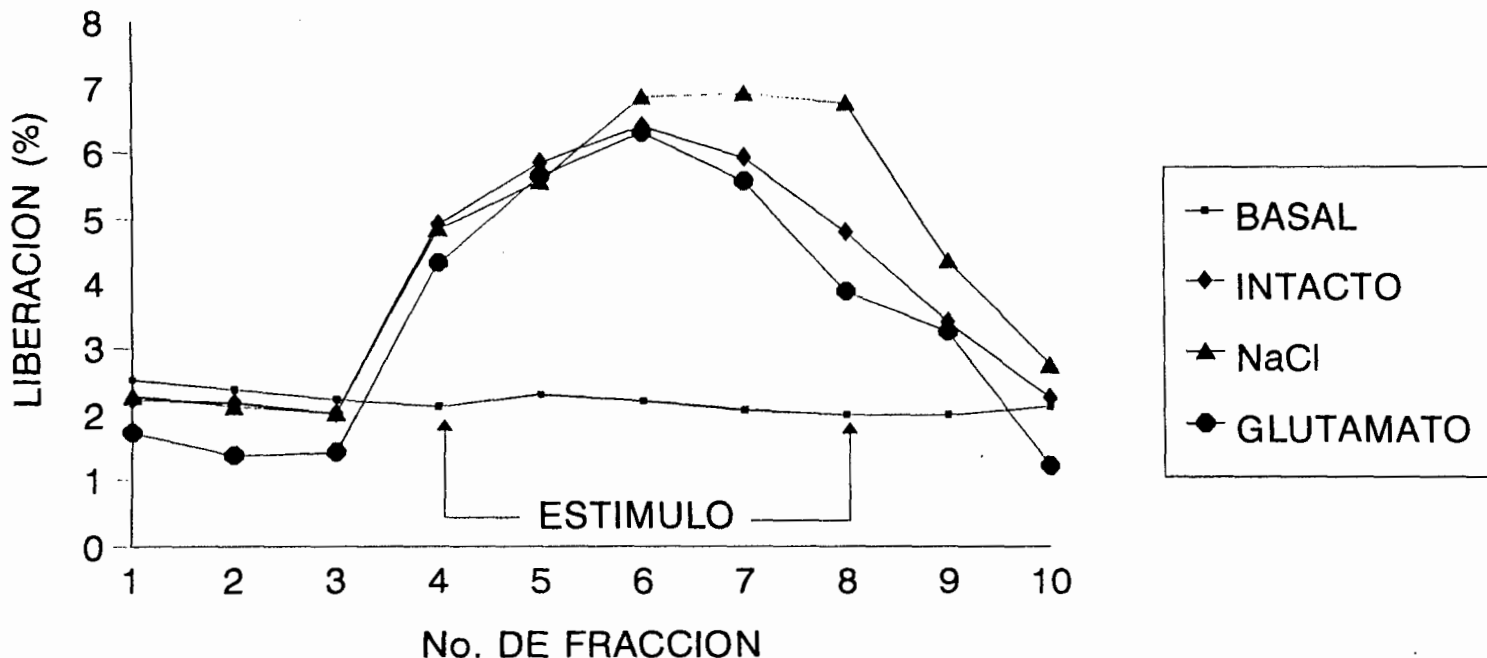
• P < 0.005

FIGURA No.15
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN HIPOCAMPO A LOS 30 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K⁺ sobre la liberación de GABA-[3^H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[3^H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 4 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 4 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN HIPOCAMPPO

30 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

▶ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

■ P < 0.05

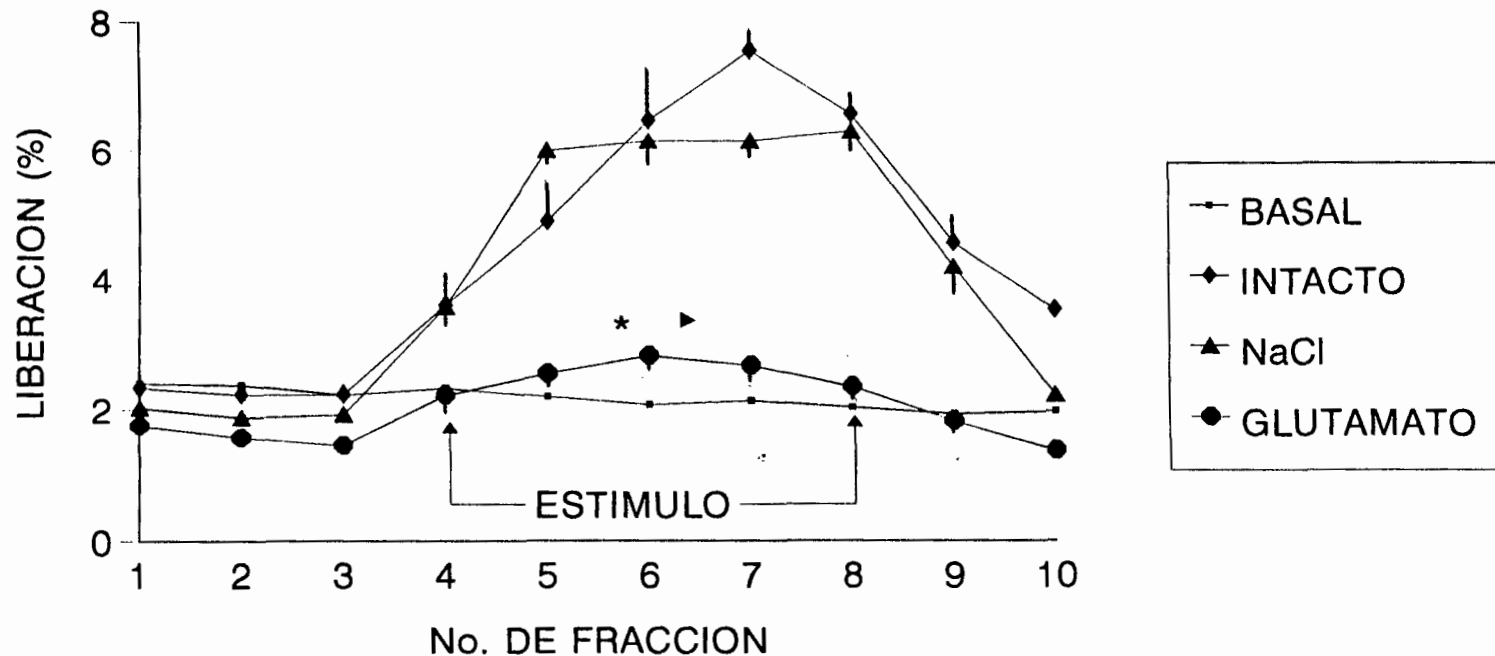
• P < 0.005

FIGURA No.16
LIBERACION DE GABA-[^3H] EN HIPOCAMPO A LOS 60 DIAS
DE EDAD POSTNATAL

La gráfica muestra el efecto de la estimulación con K^+ sobre la liberación de GABA-[^3H] en animales tratados con GMS, SENaCl e intactos. La abcisa representa el no. de fracción colectada y la ordenada el porcentaje de liberación de GABA-[^3H]. Los resultados muestran la media \pm la desviación estándar de 3 experimentos con animales intactos, 4 experimentos con NaCl y 4 experimentos con GMS.

LIBERACION GABA-[³H] EN HIPOCAMPPO

60 DIAS DE EDAD



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

> P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

■ P < 0.05

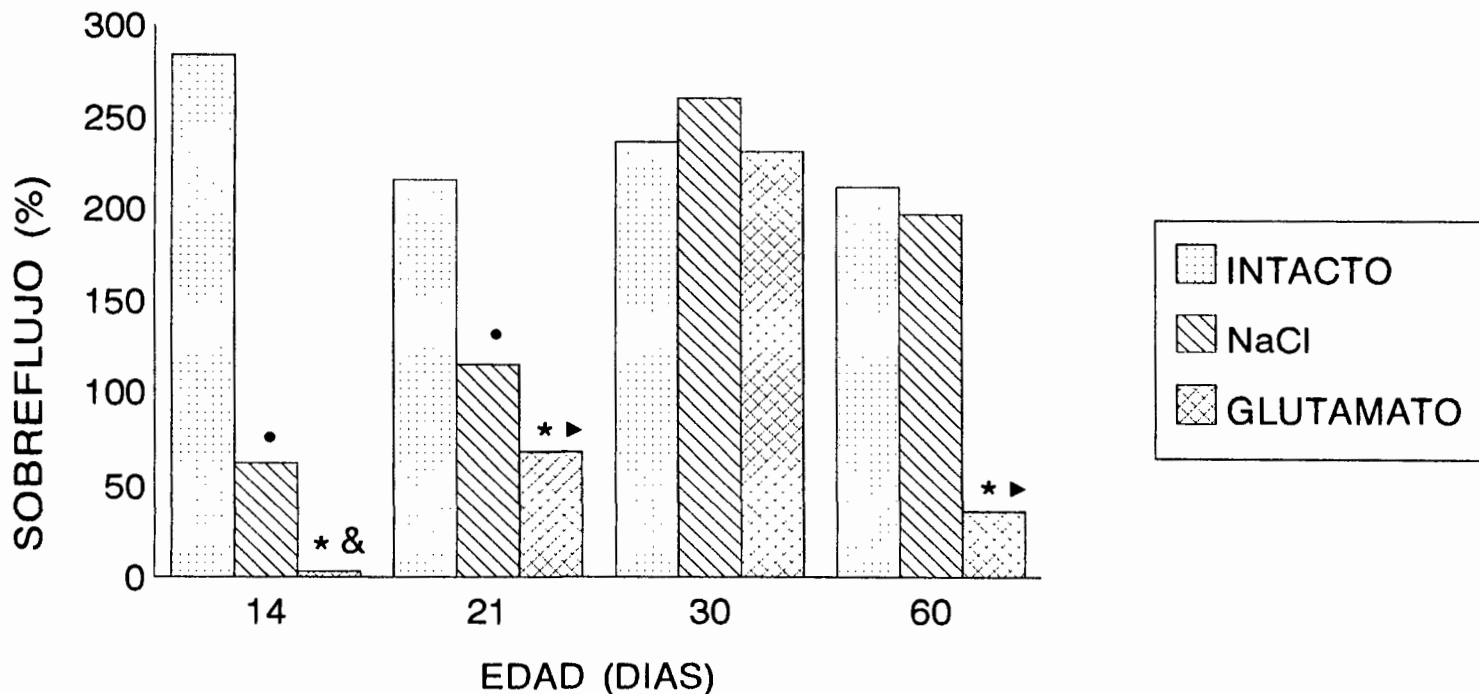
• P < 0.005

FIGURA No.17
LIBERACION DE GABA-[3^H] EN HIPOCAMPO DURANTE EL
DESARROLLO

Esta gráfica muestra una comparación entre la máxima liberación por estimulación con K^+ obtenida en los tres grupos (Intactos, SENaCl y GMS) en todas las edades estudiadas, para lo cual se tomó el valor promedio correspondiente de la fracción número 6 y se graficó como sobreflujo considerando la liberación basal como cero

La abcisa representa la edad postnatal de los animales y la ordenada representa el porcentaje de liberación de GABA-[3^H].

LIBERACION GABA-[³ H] DURANTE EL DESARROLLO Hipocampo



Glutamato vs. Intacto

@ P < 0.05

* P < 0.005

Glutamato vs. Testigo (NaCl)

& P < 0.05

▶ P < 0.005

Testigo (NaCl) vs. Intacto

■ P < 0.05

• P < 0.005

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hilderbrand, M.(1982) "Anatomía y embriología de los vertebrados", LIMUSA, México. p.p.411-417.
- 2.- Noback, C.R. y Demarest, R.J. (1980) " Sistema Nervioso Humano: fundamentos de neurobiología", McGraw-Hill, México. p.p.33-42.
- 3.- López-Antúnez, L.(1983) "Anatomía funcional del Sistema Nervioso", LIMUSA, México.
- 4.- Tapia, R. (1983) "Acido γ -aminobutírico" en: Aminoácidos y péptidos en la integración del sistema nervioso (Pasantes-Morales, H. y Aréchiga, H., eds.) UNAM,México. pp. 57-82.
- 5.- Chan, P.V., y Köhler, C. (1989) *The hippocampus, New vistas*. Ed. Alan R.Liss. Inc. 1989, pp.107-111.
- 6.- Sillito, A.M. (1975) The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurones in the striate cortex of the cat, *J. Physiol. (London)* 250:365-329
- 7.- Tsumoto, T.,Eckart,W. y Creutzfeldt, O.D. (1979) Modification of orientation sensitivity of at visual cortex neurons by removal of GABA-mediated inhibition. *Exp.Brain Res.* 34:351-363.
- 8.- Krnjevic', K. (1981) Transmitters in motor systems, in *Handbook of Physiology, Section 2, The Nervous System, Volume II, Motor Control* (V.B.Brooks,ed.). *American Physiol. Soc.*, Baltimore.pp.107-154.
- 9.- Baxter, C.F., y Roberts, E. (1959) Elevation of gamma-aminobutyric Acid in rat brain with hydroxylamine, *Proc.Soc.Exp. Biol.* 101:811-815.
- 10.-Baxter, C.F., y Roberts, E. (1960) Demonstration of thicarbazide-induced convulsions in rats with elevated brain levels of gamma-aminobutyric acid. *Proc. Soc.Exp.Biol.* 104:426-427.
- 11.-Krz'alic, L., Mandic', V. y Mihailovic', L. (1962) On the glutamine and gamma-aminobutyric acid contents of various regions of the cat brain. *Experientia*, 18:368-369.
- 12.-Singh, S.I. y Malhotra, C.L. (1962) Amino acid content of monkey brain I. General pattern and quantitative value of glutamic acid, glutamine, gamma-aminobutyric acid and

- aspartic acid. *J.Neurochem.*9:37-42.
- 13.-Sytinsky, I.A. y Thinh, N.T. (1964) Distribution of gamma-aminobutyric acid in the monkey brain during picrotoxin induced seizures. *J. Neurochem.* 11:551-556.
 - 14.-Awapara, J., Landua, A.J., Fuerst, R., y Seale, B. (1950) Free gamma-aminobutyric acid in brain. *J.Biol.Chem.* 187:35-39.
 - 15.- Fahn, S. y Côté, L.J. (1968) Regional distribution of Gamma-aminobutyric acid (GABA) in brain of the rhesus monkey. *J.Neurochem.*15:209-213.
 - 16.- Fahn, S. (1976) Regional distribution studies of GABAA receptor and other putative neurotransmitters and their enzymes. En Roberts, E., Chase, T.N. y Tower, D.B. (ed): *GABA in nervous system function*. Raven Press, Nueva York, pp.169-186.
 - 17.- Romijn, H.J., van Marle, J. y Janszen, A.W.J.W. (1993) Permanent increase of the GAD₆₇ synaptophysin ratio in the rat cerebral cortex nerve endings as a result of hypoxic ischemic encephalopathy sustained in early postnatal life: a confocal laser scanning microscopic study. *Brain Res.* 630:315-329.
 - 18.- Cooper, J.R., Bloom, F.E., y Roth, R.H. (1932) *The biochemical Basis of Neuropharmacology*. Fourth edition. Oxford University Press. U.S.A. pp. 249-294.
 - 19.- 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.
 - 20.- Bormann, J. (1988) Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends neurosci.* 11:112-116.
 - 21.- Pasantes, H., Sánchez, J., Tapia, R. (1991) "Plasticidad sináptica" en: *Neurobiología celular*. F.C.E., México, p.p. 308-326.
 - 22.- Marshall, A.R. (1984) "*Monosodium Glutamate, a Symposium*", 4.Quartermaster Food and Container Institute for the Armed Forces and Associates, Chicago.
 - 23.- Johnson, J.L. (1972) Glutamic acid as a synaptic transmitter in the nervous system: A review. *Brain Res.* 37:1-9.

- 24.- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbert, A. y Prochiantz, A. (1984) *Nature* 307:462-465.
- 25.- Streit, P. En: *Cerebral cortex* (Eds Jones, EG, A Peters) Plenum Press, New York (1985) pgs. 340
- 26.- Guiffrida, R. y Rustioni, A. (1989) Glutamate and aspartate immunoreactivity in cortico-cortical neurons of the sensorimotor cortex of rats. *Exp. Brain. Res.* 74:41-46.
- 27.- McGeer, P.L., McGeer, E.G., Scherer U. y Singh K. (1977) A glutamatergic corticostriatal path? *Brain. Res.* 128:369-73.
- 28.- Carroll, E.W. y Wong-Riley, M. (1987) Neuronal uptake and laminar distribution of tritiated aspartate, glutamate, gamma-aminobutyrate and glycine in the prestriate cortex of squirrel monkeys: correlation with levels of cytochrome oxidase activity and their uptake in area 17, *Neuroscience* 32(2):395-412.
- 29.- Sandoval, M.E. y Cotman, C.W. (1978) Evaluation of glutamate as hippocampal neurotransmitter: glutamate uptake and release from synaptosomes. *Brain Res.* 142:285-99.
- 30.- Storm, M.J. y Iversen, L.L. (1979) Uptake of [3H]glutamic acid in excitatory nerve endings: light-and electron-microscopic observations in the hippocampal formation of the rat. *Neuroscience* 4:1237-1255.
- 31.- Terrian, D.M., Johnston, D., Claiborne, B.J., Ansah, Y.R., Strittmatter, W.J. y Rea, M.A. (1988) *Brain Res Bull* 27: 343-351.
- 32.- Rothman, S.M. y Olney, J.W. (1986) Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann. Neurol.* 19:105-111.
- 33.- Collins, R.C. y Olney, J.W. (1982) Focal cortical seizures cause distant thalamic lesions. *Science* 218:177-179.
- 34.- Lucas, D.R. y Newhouse, J.P. (1957) The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *Arch. Ophthalmol.* 58: 193-201.
- 35.- Olney, J.W. (1969) Brain lesions, obesity and other disturbances in the mice treated with monosodium glutamate. *Science* 164: 719-721.

- 36.- Olney, J.W. (1979) "Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology", p.287. Raven, New York.
- 37.- Choi, D.W. (1987) Ionic dependence of glutamate neurotoxicity. *J. Neurosci.* 7:369-379.
- 38.- Massieu, L. (1994) Memorias del XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Mérida, Yucatán,
- 39.- Foster, A.C. y Fagg, G.E. (1984) Acidic amino acid binding sites in mammalian neuronal membranes: Their characteristics and relationship to synaptic receptor. *Brain Res.* 319:103-164.
- 40.- Sugiyama, H.I., Ito, I. y Hirono, C. (1987) A new type of glutamate receptor linked to inositol phospholipid metabolism. *Nature* 325:531-533.
- 41.- Cook, T.M. y Crutcher, K.A. (1986) Intrahippocampal injection of kainic acid produces significant pyramidal cells loss in neonatal rats. *Neuroscience* 18(1):79-92.
- 42.- McDonald, J.W., Silvenstein, F.S. y Johnston, M.V. (1988) Neurotoxicity of N-methyl-D-aspartate is markedly enhanced in developing rat central nervous system. *Brain Res.* 459:200-203.
- 43.- McDonald, J.W. (1989) Pharmacology of N-methyl-D aspartate toxicity in the developing central nervous system, Doctoral dissertation, *University of Michigan*, MI.
- 44.- Foster, A.C., Collins, J.F. y Schwarcz, R. (1983) On the excitotoxic properties of quinolinic acid, 2-3-piperidina dicarboxylic acids and structurally related compounds, *Neuropharmacology* 22:1331-1342.
- 45.- Nadler, J.V., Perry, B.W. y Cotman, C.W. (1978) Intraventricular kainic acid preferentially destroy hippocampal pyramidal cells, *Nature (Lond.)* 271:676-677.
- 46.- Choi, D.W. (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of nervous system, *Neuron* 1: 623-634.
- 47.- Rothman, S.M, y Olney, J.W. (1987) Excitotoxicity and the NMDA receptor, *Trends in Neurosci.* 10:299-302.
- 48.- Bernheimer, H., Birkmayer, W., Hornykewicz, O., Jellinger, K. y Seitelberger, F. (1973) Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. *J. Neurol. Sci.*

20:415-455.

- 49.- Bowen, D.M., Allen, S.J., Benton, J.S. (1983) Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzheimer's disease, *J. Neurochem.* 41:266-272.
- 50.- Davies, P. and Verth, A.H. (1978) Regional distribution of muscarinic acetylcholine receptors in normal Alzheimer type dementia brains, *Brain Res.* 138:385-392.
- 51.- Davies, P., Katzman, R. y Terry, R.D. (1980) Reduced somatostatin-like immunoreactivity in cases of Alzheimer senile dementia, *Nature (Lond)* 228:279-280.
- 52.- Coyle, J.T., Price, D.L., y DeLong, M. (1983) Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation, *Science*, 219:1184-1190.
- 53.- Coyle, J.T. y Schwarcz, R. (1976) Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for Huntington's chorea, *Nature (Lond)*, 263:244-246.
- 54.- Paul, L.A. y Schibel, A.B. (1986) Structural substrates of epilepsy, *Adv. Neurol.* 44:775-786.
- 55.- Forno, L.S. (1980) Pathology of Parkinson's disease. C.D. Marsden and S. Fahn (Eds), *Movement Disorders*, Butterworths, London, p.p. 25-40.
- 56.- Mark, P.M. (1988) Neurotransmitters in the regulation of neuronal cytoarchitecture. *Brain Res.* p.p.179-212.
- 57.- Candy, J.M. y Perry, E.K. (1983) Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's diseases, *J. Neurol. Sci.* 59:277-289.
- 58.- Probst, A., Basler, V., Gron, B. y Urlich, J. (1983) Neuritic plaques in senile dementia of the Alzheimer type: a Golgi analysis in the hippocampal region, *Brain Res.* 268:249-254.
- 59.- Duyckaerts, C., Kawasaki, H., Delaere, P., Rainsard, C. y Hauw, J.J. (1989) Fiber disorganization in the neocortex of patients with senile dementia of the Alzheimer type. *Neuropath. appl. Neurobiol.* 15:233-247.
- 60.- Appel, S.H. (1986) A unifying hypothesis for the cause of amyotrophic lateral sclerosis, Parkinsonism, and Alzheimer disease, *Ann. Neurol.* 10:499-505.

- 61.- Merrit, H.H. (1982) "Tratado de neurología", SALVAT, México, p.p.347-357.
- 62.- Rubin, E. y Farber, J.L. (1990) "Patología", Panamericana, México, p.p. 1333-1340.
- 63.- Mehraein, P., Yamada, M. y Tarnowska-Dzidisko, E. (1975) Quantitative study on dendrites spines and dendritic spines in Alzheimer disease and senile dementia, *Adv. Neurol.* 12:453-458.
- 64.- Ortuño, S.D. (1993) *Trabajo de tesis de Maestría en Biología celular* U de G.
- 65.- Dada, M.O., Rodríguez-Sierra, J.F., Clough, R.W., Garner, L.L. y Blake, C.A. (1984). Monosodium L-glutamate & pituitary gland luteinizing hormone release in response to luteinizing hormone releasing hormone: An in-vitro analysis. *Endocrinol.* 116:246-251.
- 66.- Clough, R.W., Aravich, P.F. y Sladek, C.D. (1986). Monosodium L-glutamate neurotoxicity: A sex-specific impairment of blood pressure but not vasopresin in developing rats. *Brain Res. Bull.* 17:51-58.
- 67.- 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.
- 68.- Collindrige, G.I., Kehl, S.J. y McLennan, H. (1983) The antagonism of aminoacid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurons in vitro, *J. Physiol. (Lond)* 334:9-31.
- 69.- Brailowsky, S. (1994) XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Mérida, Yucatán.
- 70.- Frandsen, A., Drejer, J. y Schousboe, A. (1990) Development of excitatory amino acid induced cytotoxicity in cultured neurones. *Int. J. Dev. Neurosci.* 8:209.
- 71.- Silverstein, F.S., Torke, L. y Johnston, M.V. (1987) Hypoxia-ischemia produces focal disruption of glutamate receptors in developing brain. *Dev. Brain. Res.* 34:33-39.
- 72.- Erdő, S.L. y Michler, A. (1990) GABA does not protect cultured cerebro-cortical cells against excitotoxic death. *Eur. J. Pharmacol.* 182:203-206.
- 73.- Kunkel, D.D., Hendrickson, A.E., Wu, J-Y., and Schwartzkroin, P.A. (1986) Glutamic acid descarboxylase

- (GAD) immunocytochemistry of developing rabbit hippocampus. *J.Neurosci.* 6:541-552.
- 74.- LoTurco, J.J., Blanton, M .G., and Kriegstein, A.R. (1989) Early postnatal development of synaptic and potassium currents in the visual cortex of the rat, *Soc. Neurosci. Abstr.* 15:2
- 75.- Kriegstein, A.R., Suppes, T. y Prince, D.A. (1987) Cellular and synaptic physiology and epileptogenesis of developing rat neocortical neurons *in vitro*. *Dev.Brain.Res.* 34:161-171.
- 76.- Cherubini, E., Gaiarsa, J.L. y Ben-Ari, Y. (1991) GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. *Neurosciences* 14:515-519.
- 77.- Luhmann, H.J., y Prince, D.A. (1991) Postnatal maturation of the GABAergic system in rat neocortex. *J.Neurophysiol.* 65:2,247-263.
- 78.- Koler, C. and Schwarcz, R. (1981) Monosodium glutamate: increased neurotoxicity after removal of neural re-uptake sites. *Brain Res.* 211:485-491.
- 79.- Huntley, G.W., Vickers, J.C. y Morrison, J.H. (1994) Cellular and synaptic localization of NMDA and non-NMDA receptors subunits in neocortex: organizational features related to cortical circuitry, function and disease. *Trends Neurosci.* 17:536-543.
- 80.- Garza, B.F. (1992) Trabajo de tesis de Licenciatura en Biología Fac. Cs. Biológicas U de G. *J. Intl. Dev. Neurosci.* (enviado)
- 81.- Pasantés, H., Sánchez, J. y Tapia, R. (1991) *Neurobiología Celular*, F.C.E., México, p.p.308-326.
- 82.- Schousboe, A., Larsson, O.M., Krosgaard-Larsen, P., Drejer, J., and Hertz, L. (1988) in: "The biochemical pathology of astrocytes", M.D. Norenberg, Hertz, L., and Schousboe, A., eds., Alan R.Liss, New York, 381.
- 83.- Schousboe, A., and Divac, I. (1979) Differences in glutamate uptake in astrocytes cultured from different brain regions. *Brain Res.* 177:407.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias Biológicas

Expediente.....
 Número 695/94.....
 Sección.....

C. MAYRA YANET SANCHEZ RUIZ
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado el tema de Tesis "LIBERACION DEL ACIDO - T - AMINO BUTIRICO (GABA) EN HIPOCAMPO Y CORTEZA DE RATAS TRATADAS PERINATALMENTE CON GLUTAMATO" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el M.en C. Carlos Beas Zarate

A T E N T A M E N T E
" PIENSA Y TRABAJA "
 Las Agujas, Zapopan, 12 de Julio de 1994
EL DIRECTOR
DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AMBIENTALES

Fernando Alfaro Bustamante

DR. FERNANDO ALFARO BUSTAMANTE



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLOGICAS

EL SECRETARIO

Guillermo Barba Calvillo
BIOL. GUILLERMO BARBA CALVILLO

c.c.p.- M.en C.Carlos Beas Zarate, Director de tesis.-pte.
 c.c.p.- El expediente del alumno.

FAB>GBC>Cglr.

Al contestar este oficio citese fecha y número

C. Dr. Alfonso Islas Rodríguez
Jefe de la División de Ciencias
Biológicas y Ambientales de la
Universidad de Guadalajara.

P R E S E N T E:

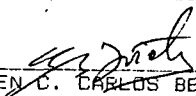
Por medio de la presente nos permitimos informar a usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó la Pasante MAYRA YANET SANCHEZ RUIZ código 087542742 con el título "LIBERACION DE ACIDO γ -AMINO BUTIRICO (GABA) EN HIPOCAMPO Y CORTEZA CEREBRAL DE RATAS TRATADAS PERINATALMENTE CON GLUTAMATO MONOSODICO (GMS)", consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar.

Guadalajara, Jal., a 11 de Julio de 1995.

A T E N T A M E N T E

EL DIRECTOR DE TESIS


M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE

SINODALES

Q.F.B. ROSA MARIA DOMINGUEZ ARIAS

Q.F.B. ADOLFO CARDENAS ORTEGA

M. EN C. ALBERTO MORALES VILLAGRAN

