

1997-E

090434705

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AMBIENTALES



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

EFEECTO DE LA ADMINISTRACION TEMPRANA DE GLUTAMATO
SOBRE EL TRANSPORTE DE DOPAMINA Y SU
REGULACION POR OXIDO NITRICO

T E S I S P R O F E S I O N A L

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

LIZBETH HERNANDEZ HERNANDEZ

GUADALAJARA, JAL. JUNIO DE 1999



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

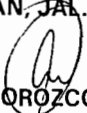
**C. LIZBETH HERNANDEZ HERNANDEZ
PRESENTE.**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS con el título "EFECTO DE LA ADMINISTRACION TEMPRANA DE GLUTAMATO SOBRE EL TRASPORTE DE DOPAMINA Y SU REGULACION POR OXIDO NITRICO", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo al M.C. CARLOS BEAS ZARATE.

**A T E N T A M E N T E
" PIENSA Y TRABAJA "**

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., JUNIO 15 DE 1999


**DR. ARTURO OROZCO BAROCIO
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION**

COMITE DE
TITULACION




**M. EN C. MARTHA GEORGINA OROZCO MEDINA
SECRETARIO DEL COMITE DE TITULACION**

c.c.p. M.C. CARLOS BEAS ZARATE.- Director del Trabajo.
c.c.p. Expediente del alumno

AOB/MGOM/bacg*

C. M. C. ARTURO OROZCO BAROCIO.
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN
DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

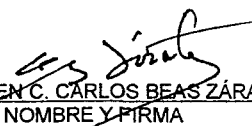
Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) pasante:

LIZBETH HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ Código **090434705** con el título:
EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN TEMPRANA DE GLUTAMATO SOBRE EL TRANSPORTE DE DOPAMINA Y SU REGULACIÓN POR ÓXIDO NÍTRICO, consideramos que ha quedado concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para la autorización de impresión y en su caso programación de fecha de exámenes de tesis y profesional respectivos.


Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarte un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO A 29 DE ABRIL DE 1999.

EL DIRECTOR DE TESIS

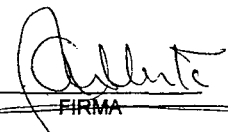

DR. EN C. CARLOS BEAS ZÁRATE
NOMBRE Y FIRMA

LA ASESORA

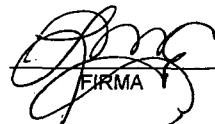

BIOL. VERÓNICA CHAPARRO H.
NOMBRE Y FIRMA

SINODALES

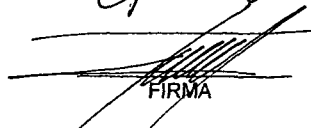
1.- M. EN C. ALBERTO MORALES VILLAGRÁN
NOMBRE COMPLETO


FIRMA

2.- M. EN C. LAURA MEDINA CEJA
NOMBRE COMPLETO


FIRMA

3.- DR. EDUARDO VÁZQUEZ VALLS
NOMBRE COMPLETO


FIRMA

DEDICATORIAS

A mis padres:

Por su amor y apoyo en todo momento,
siempre han sido y serán lo más grande que pueda poseer,
son mi orgullo y más grande tesoro.

A mi hermana:

Espero que este pequeño logro te motive a alcanzar el tuyo
y a esforzarte en ser mejor cada día.

A Roberto González mi maestro, amigo y compañero,
por todo lo que hemos compartido.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, a quienes debo todo lo que soy.

Al maestro Carlos Beas por permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

A Vero, Mayra, Consuelo y Mónica por las enseñanzas y ratos agradables que pase en su compañía.

A mis nuevos amigos Paco, Cesar, Chio "La de abajo", Martha, Mario y Víctor, por su amistad y apoyo invaluable.

A las chicas de la maestra Alma y a ella porque me enseñaron a ver siempre el lado bueno de la vida.

A Martha Escoto y por darme ánimos para terminar pronto y ser una excelente amiga, gracias.

A mis maestros y amigos Rosy Dominguez, Adolfo Cárdenas, Eduardo Vázquez y Blanca Torres, por ayudarme a crecer, gracias por su paciencia y consejos.

Al Dr. Alberto Ramos por su confianza y porque nunca me dejo sin material biológico para los experimentos.

A mis amigos del IBUG, Jacqueline, Tere, Ofé y Oly, por su amistad, apoyo y vacaciones que juntas disfrutamos.

En especial al Ing. Roberto González Tamayo, por sus consejos y paciencia, por que nunca perdió la esperanza de ver este trabajo terminado y sobre todo por estar siempre a mi lado.

A la Dra. María Sitges por sus consejos e invaluable sugerencias para terminar el presente escrito.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Neuroquímica de la División de Neurociencias del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO) IMSS, bajo la dirección del Dr. en Cs. Carlos Beas Zárate y la asesoría de la Biol. Verónica Chaparro Huerta.

ÍNDICE

Lista de abreviaciones	i
Resumen	iii
Introducción	1
Antecedentes	10
Planteamiento del problema.....	13
Hipótesis	15
Objetivos	17
Diagrama experimental	19
Material y métodos	21
Resultados	24
Discusión	27
Conclusión	33
Figuras	35
Bibliografía	70

LISTA DE ABREVIACIONES

AMPA	Ácido propiónico 3-amino-4-hidroxi-5-metil-isoxasol
Asp	Aspartato
ATP	Adenosintrifosfato
CA	Catecolamina
Ca ⁺⁺	Ión calcio
CE	Cuerpo estriado
CO ₂	Dióxido de carbono
CO ₂ -O ₂	Dióxido de carbono-oxígeno
DA	Dopamina
DA-[³ H]	Dopamina radiactiva
EP	Edad posnatal
GABA	Ácido γ-aminobutírico
Glu	Glutamato
GMS	Glutamato monosódico
GP	Globo pálido
K ⁺	Ión potasio
KA	Kainato
L-Arg	L-Arginina
Mg ⁺⁺	Ión magnesio
N-Arg	Nitro-L-Arginina
Na ⁺	Ión sodio
NC	Núcleo caudado
NL	Núcleo lenticular

NMDA	N-metil-D-aspartato
no-NMDA	no-N-metil-D-aspartato
NT	Neurotransmisor
ON	Óxido nítrico
ONS	Óxido nítrico sintasa
pH	Potencial hidrógeno
R-NMDA	Receptor de tipo NMDA
SN	Sustancia negra
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico

RESUMEN

En los últimos años el estudio de la interacción de los sistemas Dopaminérgico y Glutamatérgico ha sido de gran interés por su implicación en algunas enfermedades neurodegenerativas tales como el Parkinson y Huntington. Sin embargo, se desconoce el papel que podría tener el óxido nítrico (ON) en el transporte de dopamina (DA) al activarse los receptores a glutamato de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) sobre el cuerpo estriado y la corteza frontal motora; por lo que el objetivo del presente trabajo fue definir el efecto de la administración temprana de glutamato monosódico (GMS) sobre el transporte de DA y su regulación por ON en la corteza cerebral y el cuerpo estriado durante el desarrollo de la rata. Para ello, se utilizaron ratas Wistar, a las que se les administró GMS (4 mg/g peso corporal) en los días 1, 3, 5 y 7 de edad postnatal (EP), posteriormente se sacrificaron por decapitación y se obtuvo el cuerpo estriado y la corteza frontal motora, se hicieron rebanadas y fueron sometidas a experimentos de captación de DA-[³H] en presencia y ausencia de un precursor y un inhibidor de la síntesis de ON, L-Arginina (L-Arg) y Nitro-Arginina (N-Arg) respectivamente. Los resultados mostraron que en el cuerpo estriado, a los 30 días de EP, la presencia de L-Arg 10µM produjo un incremento significativo en la captura de DA-[³H] en el grupo intacto, mientras que a los 60 días dicho incremento se observó tanto en el grupo experimental como en el intacto; la N-Arg, en la misma concentración, a los 30 días de EP sólo inhibió la captura de DA-[³H] de manera significativa en el grupo de animales intactos, mientras que en el grupo de GMS se vio incrementada de manera significativa con la N-Arg del grupo intacto, en tanto que a los 60 días de EP indujo una disminución en la captura de DA-[³H] en los dos grupos (intacto y experimental), que fue significativa para el grupo de GMS; finalmente, la combinación de L-Arg y N-Arg, 10µM a los 30 días de EP, aumentó la captura de DA-[³H] en ambos grupos, pero este incremento sólo fue significativo para el grupo intacto; a los 60 días de EP disminuyó la captura de DA-[³H] en el grupo intacto, mientras que en el grupo de GMS se vio ligeramente incrementada. Por otra parte, en la corteza cerebral, a los 30 días de EP, en presencia de

L-Arg $10\mu\text{M}$ produjo una disminución en la captura de DA- $[\text{}^3\text{H}]$ en el grupo intacto, mientras que en el de GMS la incrementó significativamente; la L-Arg, a los 60 días de EP, aminoró la captura de DA- $[\text{}^3\text{H}]$ de manera significativa tanto en el grupo intacto como en el tratado con GMS; la N-Arg en la misma concentración, a los 30 días de EP, restó la captura de DA- $[\text{}^3\text{H}]$ en el grupo intacto y la elevó en el tratado con GMS; esto mismo se observó a los 30 días de EP al combinar L+N-Arg $10\mu\text{M}$; mientras que a los 60 días de EP la disminuyó en ambos grupos. Por último, la combinación de L-Arg y N-Arg, a los 60 días de EP, indujo una disminución en la captura de DA- $[\text{}^3\text{H}]$ en el grupo intacto, misma que se vio incrementada en el grupo de GMS de manera significativa. Los resultados obtenidos indican que el transporte de DA se encuentra regulado por la formación de ON en el cuerpo estriado, no siendo así en la corteza cerebral.

El sistema nervioso representa el patrimonio más grande que el hombre haya recibido del pasado y la culminación de incontables modificaciones evolutivas. A través de una serie continua de adaptaciones al ambiente y al incremento de las exigencias funcionales, los organismos desarrollaron sistemas nerviosos más eficientes, capaces de interpretar y de responder a una diversidad de sensaciones.

Para su estudio el sistema nervioso se ha dividido en Sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso periférico (SNP) y sistema autónomo o involuntario; el SNC está compuesto por el encéfalo y la médula espinal; el SNP comprende los nervios craneales y espinales.¹

Todo el sistema nervioso, excepto el epitelio olfatorio y parte de ciertos ganglios, deriva ontogenéticamente del ectodermo.¹

Las células que lo constituyen son de dos tipos:

- 1.- Nerviosas o neuronas.
- 2.- De la neuroglia.

Las neuronas constituyen la unidad morfológica y funcional del sistema nervioso, se especializan en la producción y conducción de impulsos nerviosos. Cada neurona se encuentra en contacto con otras por medio de sus prolongaciones, llamándose a este sitio sinapsis; mientras que las células de la neuroglia forman la substancia intersticial del SNC.^{2,3}

Las células de la neuroglia pertenecen a dos grupos:

- a) La macroglia, proveniente del ectodermo, comprende los astrocitos y oligodendrocitos.
- b) La microglia, procedente del mesodermo, parece penetrar al encéfalo y a la médula espinal del embrión cuando los vasos sanguíneos van invadiendo dichas formaciones durante su desarrollo.^{2,1}

En sentido amplio, la microglia debe incluir también a las células que forman la mielina de las fibras nerviosas grandes (células de Schwann), así como las células satélites que se encuentran en los ganglios², aunque éstas no procedan del ectodermo.

Estructura del Cuerpo estriado (CE)

Los ganglios basales constituyen masas de células nerviosas sepultadas en la profundidad de los hemisferios cerebrales comprenden al núcleo amigdalino, claustrum y CE, este último está formado por los núcleos lenticular (NL) y caudado (NC), junto con la cápsula interna que los separa.¹

El CE se desarrolla como un espesamiento en el fondo del surco hemisférico (Figura 1), a medida que el CE y la pared diencefálica aumentan en espesor, se aproximan gradualmente entre sí y se fusionan finalmente, quedando marcada la zona de unión por un surco longitudinal.¹

Las conexiones aferentes del estriado proceden de la corteza, del tálamo y de la sustancia negra (SN), de las cuales, las que terminan principalmente en el putamen y el NC proceden en su mayoría de la corteza frontal motriz y premotriz, de la SN, de los núcleos talámicos centromedios y de otros núcleos talámicos; mientras que las fibras eferentes procedentes del putamen y del núcleo caudado se descargan principalmente en el globo pálido (GP), aunque una cantidad menor se dirige hacia la SN (Figura 2).¹

La SN es un centro importante de la vía motriz extrapiramidal que se ve influida principalmente por el CE, el tálamo y la corteza cerebral.¹

Estructura de la Corteza cerebral

La corteza cerebral es la capa externa de sustancia gris que cubre a las circunvoluciones y a los surcos de los hemisferios cerebrales, de ella dependen las funciones intelectuales avanzadas; se encuentra envuelta en los procesos de almacenamiento de memoria y aprendizaje, es responsable de la percepción de las sensaciones y de la ejecución de muchas actividades motoras.^{1,4}

La corteza motriz representa el área específica para la producción de movimientos aislados, cualquier movimiento obtenido de otras regiones depende de ésta.¹

La corteza cerebral contiene :

1 .- Las terminaciones de fibras aferentes de otras partes del sistema nervioso, tales como las tálamocorticales.

2.- Neuronas de asociación, cuyos axones relacionan entre sí partes próximas y distantes del mismo hemisferio.

3.- Neuronas de proyección cuyos axones conducen impulsos corticales integrados a otras porciones del sistema nervioso.

Los principales tipos de células que se hallan en la corteza cerebral son : piramidales, estrelladas y fusiformes (Figura 3).¹

Otros tipos que también se encuentran son las células horizontales de Cajal, las pequeñas células triangulares o poligonales conocidas como de Martinotti y las gigantes o de Betz.^{1,4}

Las células se organizan en varias capas horizontales, lo que constituye uno de los rasgos más llamativos de la estructura cortical y se pueden distinguir en número de seis.¹

Procediendo de la superficie hacia la sustancia medular estas capas incluyen:

- 1.- La capa molecular.
- 2.- La capa granular externa.
- 3.- La capa de células piramidales o piramidal externa.
- 4.- La capa granular interna.
- 5.- La capa ganglionar o piramidal interna.
- 6.- La capa polimorfa o capa multiforme.

De manera general, las aferencias de la corteza van de la capa 1 a 4, mientras que las eferencias van de las capas 5 a 6.⁴

Las fibras aferentes de la corteza incluyen fibras de proyección del tálamo, las cuales terminan en la capa 4 y fibras de asociación de otras áreas corticales (figura 4).^{1,4}

Transmisión química

Existen dos tipos de sinapsis: La sinapsis eléctrica y la sinapsis química. En la primera el agente que cruza de la célula pre a la postsináptica es la corriente iónica generada en la terminal presináptica; en la sinapsis química el agente transmisor es una sustancia orgánica específica que es secretada al espacio extracelular; este agente puede ser variable en las diferentes sinapsis y se encuentra almacenado en las

terminales nerviosas presinápticas. La llegada de un potencial de acción a estas terminales libera al espacio intercelular (sináptico) el transmisor almacenado, una vez que se difunde a través del espacio sináptico, reacciona con la membrana postsináptica en sitios específicos (los receptores); el resultado de esta interacción es un aumento en la permeabilidad de la membrana postsináptica a algunos iones que ahora pueden moverse libremente a través de la membrana. El cambio de permeabilidad puede tener efectos excitadores o inhibidores dependiendo de los iones que se mueven. En particular, depende de si los iones acarrean carga hacia dentro o afuera de la célula, para mover el potencial transmembranal hacia el umbral (despolarización) o en dirección opuesta (repolarización).⁵

Liberación del neurotransmisor (NT)

Cuando el potencial de acción alcanza la terminal nerviosa aumenta la velocidad de entrada de iones calcio (Ca^{++}) desde el espacio extracelular, así como desde el retículo endoplásmico. El aumento en la concentración de Ca^{++} en la terminal nerviosa aumenta la velocidad contráctil de los microtúbulos a los que están enganchadas las vesículas del NT, esto causa su movimiento hacia la membrana.

Cuando una vesícula alcanza la membrana celular se fusiona con ella y se libera completamente su contenido dentro de la hendidura sináptica (Figura 5).⁶

El papel del transmisor es transportar la información de manera rápida y transitoria a través de la sinapsis y amplificar la señal eléctrica. Para este fin su efecto debe terminar rápidamente.⁶

Mecanismo de recaptura

Una vez terminada la acción del NT, para prevenir la difusión de éste en el espacio sináptico, es degradado o regresado a la terminal presináptica por mecanismos de recaptura; sin embargo, no está claro que proporción del NT se transporta de nuevo a las vesículas y cuanto se metaboliza.⁶

Existen al menos dos mecanismos para eliminar el NT de la sinapsis. Primero, en la hendidura sináptica se produce el metabolismo enzimático. Segundo, el NT se puede captar desde la sinapsis por la terminación nerviosa sináptica, la célula glial o la neurona postsináptica a través de mecanismos de

transporte activo. Tales procesos de captación son generalmente específicos, de alta capacidad, alta afinidad y requieren energía (Figura 5).^{6,7}

Papel del Glutamato (Glu) en el SNC

Se postulan como glutamatérgicas la vía corticoestriatal, la de la corteza olfatoria de asociación (corteza entorrinal)-hipocampo, la retinotectal y las vías aferentes sensoriales y las células granulares del cerebelo. Otras vías que podrían funcionar con Glu son las ipsilaterales del hipocampo, cortico-corticales y corticotalámicas entre otras (Figura 6).⁸

El Glu es un aminoácido no esencial que pertenece a una familia de aminoácidos de cadena recta o heterocíclicos que tiene la capacidad de despolarizar o excitar las membranas de las células neuronales; es el principal neurotransmisor excitador de los mamíferos y se sintetiza a partir de la glucosa y otros precursores mediante el ciclo de los ácidos tricarboxílicos por reacciones de transaminación, o bien, a partir de la glutamina por acción de la enzima glutaminasa (Figura 7). Otra vía de síntesis procede de la fijación del nitrógeno mediante la acción de la deshidrogenasa glutámica.^{8,9,10}

La particular abundancia del Glu se debe a su participación en funciones como síntesis de péptidos y proteínas, síntesis de ácidos grasos, regulación de los niveles de amonio, el control osmótico del balance aniónico, como precursor de numerosos substratos del ciclo de Krebs y del ácido gamma amino butírico (GABA), además de formar parte de los cofactores glutatión y ácido fólico.⁸

Dentro de las terminales nerviosas, el Glu se almacena en vesículas por un proceso dependiente de ATP. Una vez liberado interactúa con sus receptores correspondientes y posteriormente puede ser recapturado a través de un proceso de alta afinidad por la terminal nerviosa o bien por las células gliales, en las cuales se convierte en glutamina y difunde nuevamente a la terminal nerviosa para transformarse en Glu por acción de la enzima glutaminasa fosfato-activada (Figura 7).^{8,11}

Los receptores para Glu se dividen en dos tipos: Los *ionotrópicos*, que se acoplan directamente a canales iónicos de membrana, y los *metabotrópicos*, que se unen a proteínas G y modulan segundos mensajeros intracelulares, como el trifosfato de inositol, Ca^{++} y nucleótidos cíclicos (Figura 8). Dentro

de los primeros, se encuentran los receptores de tipo *no-N-metil-D-aspartato* (no-NMDA): Ácido propiónico 3-amino-4-hidroxi-5-metil-isoxazol (AMPA) y Kainato (KA), que son sensibles a Na^+ y K^+ ; y los de tipo *NMDA*, que consisten de un canal iónico de membrana, altamente permeable a Na^+ , K^+ y Ca^{++} , presenta dependencia al voltaje y posee sitios reguladores de unión a glicina, zinc, magnesio (Mg^{++}), poliaminas y fenciclidina, los cuales afectan la apertura del canal, también posee un sitio sensible a cambios de óxido-reducción (Figura 8).^{12,13}

Se ha observado que la administración sistémica del Glu y Aspartato (Asp); así como la administración intraocular de KA, producen la degeneración de las capas internas de la retina. En algunas áreas del cerebro, los mismos compuestos producen degeneración en ciertos tipos celulares, mientras que otros se mantienen intactos.⁸

Olney en 1976, fue el primero en postular que la toxicidad de estos compuestos (Glu y Asp) en el sistema nervioso podría resultar de la unión a sus receptores excitadores, produciendo una respuesta sostenida que llevaría a la muerte celular por sobreestimulación⁸; lo que ha llevado a sugerir su participación en procesos de hipoxia, isquemia y en la patogénia de ciertas enfermedades neurodegenerativas, tales como la corea de Huntington, la enfermedad de Alzheimer o la epilepsia.¹⁴

Síntesis y degradación de la Dopamina (DA) en el SNC

Las catecolaminas (CA) DA, norepinefrina y epinefrina, actúan como NT en el SNC.⁹

Se conocen como CA a los derivados del catecol con una cadena lateral que lleva un grupo amino; el catecol es el dihidroxifenol, con dos grupos hidroxilos adyacentes (Figura 9).⁹

La DA se forma a partir del aminoácido tirosina, el cual es llevado dentro de la terminal nerviosa presináptica por un proceso de transporte dependiente de energía⁶, dentro de las neuronas se transforma en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por medio de la enzima tirosina hidroxilasa. Posteriormente, la L-DOPA se descarboxila por acción de la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos transformándose en DA y CO_2 (Figura 10). Las CA se almacenan en vesículas conocidas como gránulos cromafines por medio de procesos dependientes de energía.⁶

Una vez liberadas al espacio sináptico, la acción de las CA es finalizada mediante degradación enzimática en la hendidura sináptica, recaptura y degradación intraneuronal o almacenamiento en las vesículas sinápticas. Las enzimas responsables del catabolismo de las CA son la monoaminooxidasa (MAO) de localización fundamentalmente intraneuronal, y la catecol-O-metiltransferasa (COMT), enzima soluble que actúa sobre las CA extraneuronales (Figura 11).¹⁴

El producto terminal del metabolismo de la DA es el ácido homovanílico (HVA).⁵

Vías dopaminérgicas

Las neuronas que contienen DA pueden ser divididas en tres grupos principales: nigroestriatales, mesocorticales y tuberohipofisiales.¹⁵

El tracto dopaminérgico más grande en el cerebro se origina en la zona compacta de la sustancia negra y manda axones que proveen de una densa inervación al núcleo caudado y putamen del cuerpo estriado.¹⁵

Los cuerpos celulares que contienen DA, que se encuentran medios a la sustancia negra proveen una difusa pero modesta inervación al cerebro delantero, incluyendo la corteza frontal y cingulada, el septum, núcleo de acumbens y tubérculo olfatorio.¹⁵

Los cuerpos celulares que contienen DA en el núcleo arcuato y periventricular del hipotálamo envían axones que inervan el lóbulo medio de la hipófisis y la eminencia media. (Figura 12).¹⁵

El Óxido Nítrico (ON) en el SNC

El ON es un gas que se difunde fácilmente en el SNC, posee una vida media corta de 3-6 segundos.¹⁶

Se le ha considerado como un segundo mensajero en diferentes tipos celulares tales como macrófagos¹⁷ y células del sistema nervioso central.^{18, 19, 20}

Se sintetiza como un subproducto de la transformación del aminoácido L-arginina (L-Arg.) a citrulina a través de la enzima óxido nítrico sintasa (ONS), la cual es dependiente de Ca^{++} y calmodulina (Figura 13).^{21, 22, 23}

Se ha propuesto que el ON tiene un papel importante en la potenciación de largo término al participar en la formación de la memoria, y que su excesiva producción puede causar daño a través de varios mecanismos, incluyendo vías de inhibición metabólica en la cadena respiratoria y la formación de radicales libres tóxicos al combinarse con aniones superóxido.²⁴

En el SNC el ON puede modular de manera fisiológica la neurotransmisión glutamatérgica a través de la nitrosilación del receptor NMDA.¹⁷

En los últimos años, el estudio de los mecanismos implicados en el establecimiento de enfermedades neurodegenerativas tales como el Parkinson,^{9, 25, 26} la esquizofrenia y la enfermedad de Huntington²⁹ ha sido de gran interés, así como el estudio de la interacción entre los sistemas dopaminérgico y glutamatérgico en el CE y corteza cerebral por las implicaciones que éstos poseen en dichas regiones del cerebro.

Por un lado, el CE que actúa en los procesamientos de información y aprendizaje^{4, 27} recibe fibras dopaminérgicas de la sustancia negra y del tálamo, así como de la corteza cerebral, donde utiliza al Glu como neurotransmisor; mientras que la corteza cerebral controla los mecanismos de movimientos del cuerpo y utiliza la vía corticoestriatal, como glutamatérgica⁸ y la mesocortical como dopaminérgica principalmente.

El interés en el estudio del Glu después de su establecimiento como neurotransmisor, se incrementó a partir del descubrimiento de su efecto tóxico sobre diferentes preparaciones de tejido nervioso.²⁸ Los efectos neurotóxicos del Glu fueron descritos por primera vez en 1952 por Hayashi, quien reportó que la aplicación tópica de Glu y Asp en la corteza detiene la actividad cortical; en 1957 Lucas y Newhouse reportaron degeneración de neuronas de las capas internas de la retina en ratones que recibieron la administración neonatal de Glu.^{29, 30} Posteriormente, en 1969 Olney expandió este descubrimiento al demostrar que las neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo y órganos circunventriculares, que tenían una barrera hematoencefálica deficiente en el período neonatal, también eran vulnerables a los efectos citotóxicos de la administración sistémica de Glu en ratones o neonatos.^{7, 30} Más tarde se demostró que no solamente la retina era susceptible a su efecto, pues la administración de 4 mg/g de peso corporal de Glutamato monosódico (GMS) en ratas neonatas también ocasiona destrucción de neuronas en el núcleo arcuato del hipotálamo, así como trastornos endócrinos^{31, 32, 33} y llega a generar crisis convulsivas en ratas adultas.³⁴

En el cerebro, el Glu liberado de las terminales presinápticas activa diferentes tipos de receptores como los de tipo *NMDA*, después de unirse a ellos, causa depolarización de la membrana celular e incrementa el nivel intracelular de Na^+ , agua y Ca^{++} , mientras que los niveles de ATP se ven

considerablemente reducidos conjuntamente con el K^+ intracelular, teniendo como resultado una gran concentración de éste en el espacio extracelular, lo que permite la despolarización de la célula y el rompimiento de los mecanismos de regulación iónica, a consecuencia de ello, la célula blanco puede morir por agotamiento.^{21, 22, 34}

Por otra parte, el incremento en la concentración de Ca^{++} permitirá la activación de la enzima ONS que llevará a la producción de ON, una vez formado, el ON se libera a las terminales postsinápticas para actuar presinápticamente en una o más neuronas, lo que induce a un posterior incremento en la transmisión sináptica, contribuyendo importantemente al daño neuronal excitotóxico.^{21, 22, 23}

En estudios previos se observó que la L-Arg y agonistas a Glu, tales como el NMDA y KA incrementan el transporte de DA, mientras que la Nitro-L-Arginina (N-Arg) lo disminuye; lo anterior sugiere que el ON participa en el transporte de DA en el cuerpo estriado, mecanismo que puede modificarse como parte de los procesos neurodegenerativos iniciados por un aumento excesivo en la concentración de Glu.³⁵

Sin embargo, con estos resultados no ha sido posible precisar el efecto de una sobreactivación de los receptores a Glu sobre el transporte de DA en condiciones *in vivo*.

**PLANTEAMIENTO
DEL PROBLEMA**

La corteza cerebral y el CE son dos regiones del SNC con implicaciones importantes en algunas enfermedades neurodegenerativas como el síndrome de Parkinson, la esquizofrenia y la enfermedad de Huntington donde participan los sistemas dopaminérgico y glutamatérgico principalmente.³⁶

En estudios recientes se ha demostrado que la activación del receptor a Glu de tipo NMDA permite la entrada de calcio, lo que promueve la formación de ON, evento que parece regular el transporte de DA. Sin embargo, no es claro aún el mecanismo por el cual un exceso de activación de los receptores a Glu durante la edad neonatal podría regular el transporte de DA en el estriado y si la sobreexposición de estas neuronas estriatales a un exceso de ON podría desencadenar mecanismos que promuevan una neurodegeneración celular.

Con base a todo lo antes mencionado, en el presente trabajo se evaluó la captación de DA en rebanadas de corteza cerebral y CE de ratas tratadas con GMS durante el desarrollo para observar el papel que desempeña el ON en la regulación del transporte de DA como un parámetro que permita aportar información sobre los eventos involucrados en la vulnerabilidad al daño celular de las regiones ya mencionadas.

Si las células dopaminérgicas son sensibles al efecto citotóxico del Glu, la administración temprana de GMS reducirá la captura de DA, regulada por ON, en el CE y corteza cerebral.

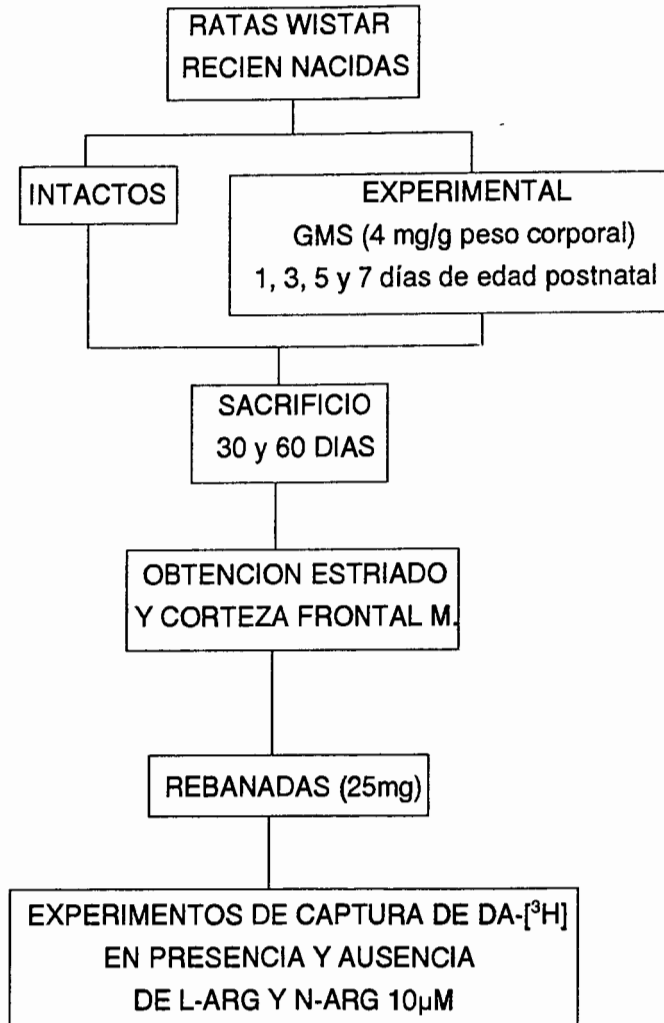
OBJETIVO GENERAL

Definir el efecto de la administración temprana de GMS sobre el transporte de DA y su regulación por ON en la corteza cerebral y el cuerpo estriado durante el desarrollo de la rata.

OBJETIVO PARTICULAR

Determinar la captación de DA- ^3H en rebanadas de CE y corteza cerebral de ratas intactas y tratadas con GMS, en los días 1,3,5 y 7 de edad postnatal, en presencia de L-Arg y N-Arg a los 30 y 60 días de edad.

DIAGRAMA
EXPERIMENTAL



Tratamiento de los animales

Para este trabajo se utilizaron ratas de la cepa Wistar recién nacidas, que se dividieron en dos grupos :

Grupo testigo: Constituido por animales sin ninguna manipulación.

Grupo experimental: Formado por animales que en los días 1, 3, 5 y 7 fueron tratados con GMS a una dosis de 4 mg/g de peso corporal.

Preparación de tejido

Todos los animales se sacrificaron por decapitación a los 30 y 60 días de edad de acuerdo al modelo establecido³⁷; se removió el encéfalo y se lavó inmediatamente con una solución de sacarosa 0.32 M entre 0-4 °C para la disección de el CE y la corteza frontal motora. Se obtuvieron rebanadas de 25 mg que se sometieron a los experimentos de captura de DA-[³H] en presencia o ausencia de L-Arg y N-Arg a una concentración de 10 μM.

Experimentos de captación

Los experimentos de captura se realizaron de acuerdo a lo reportado previamente por Chaparro-Huerta y col. 1997³⁵ bajo el siguiente esquema: las rebanadas se preincubaron en 1 ml de medio de incubación, consistente en una solución Krebs-bicarbonato, al que se le agregó ácido ascórbico 0.1 mM para evitar la oxidación de la DA y Pargilina 25 μM como inhibidor de la MAO, ajustándose a un pH de 7.2-7.4 con una mezcla de CO₂-O₂ (5%-95%)³⁸ en un baño María con agitación a 37 °C por 10 min., después se adicionaron 20 μl de DA-[³H] para una concentración de 0.1 μM en el medio, al mismo tiempo se añadió el precursor de ON (L-Arg) o el inhibidor (N-Arg) o ambos, y se incubaron durante 20 min. (captación total).

Al mismo tiempo, se incubaron muestras a una temperatura entre 0-4 °C que permitieron conocer la captación inespecífica, misma que se restó a la que se obtuvo a 37 °C.

Posteriormente, las muestras se trasladaron a un sistema de filtración con vacío [utilizando filtros GF/B (Whatman)] y se lavaron con 10 ml del mismo medio. Finalmente, cada filtro se depositó en viales con 5 ml de líquido de centelleo y se cuantificó la radiactividad en un contador de centelleo líquido modelo Beckman LS 6500.

Con el fin de probar las diferencias significativas de ambos grupos se utilizó la prueba T de Student de dos colas.

Los resultados se expresan en pmol/25 mg de tejido.

Estriado

En los animales de 30 días de edad postnatal (EP) la presencia de 10 μM de L-Arg produjo un incremento en la captura de DA-[^3H] tanto en el grupo tratado con GMS como en el intacto, este último fue significativo con respecto a su control (figura 14).

La administración de N-Arg 10 μM sólo inhibió la captura de DA-[^3H] de manera significativa con respecto a su control en el grupo de animales intactos, mientras que en el grupo tratado con GMS se observó un incremento en la captura de DA-[^3H], misma que resultó ser significativa al ser comparada con la N-Arg del grupo intacto (figura 14).

Finalmente, en la combinación de L-Arg y N-Arg 10 μM se observó un incremento en la captura de DA-[^3H] en ambos grupos (intacto y experimental), sin embargo, este aumento sólo fue significativo para el grupo intacto con respecto a su control (figura 14).

Por otra parte, a los 60 días de EP, bajo la administración de L-Arg 10 μM , se vio un incremento significativo en la captura de DA-[^3H] tanto en el grupo intacto como experimental con respecto a su control (figura 15).

La presencia de N-Arg 10 μM disminuyó la captura de DA-[^3H] en los dos grupos (intacto y experimental), sin embargo, en el grupo de GMS esta reducción es significativa con respecto a su control y al de N-Arg del grupo intacto (figura 15).

Para terminar, la administración de L-Arg más N-Arg 10 μM , produjo una reducción en la captura de DA-[^3H] en el grupo intacto, mientras que en el grupo tratado con GMS se observó un ligero incremento (figura 15).

Corteza Cerebral

En los animales de 30 días de EP la presencia de L-Arg 10 μM produjo una disminución en la captura de DA- ^3H en el grupo intacto, mientras que en el grupo tratado con GMS la incrementó de manera significativa con respecto a su control (figura 16).

La administración de N-Arg 10 μM disminuyó la captura de DA- ^3H en el grupo intacto y se elevó en el grupo tratado con GMS; lo mismo se observó al combinar la L-Arg con N-Arg 10 μM (figura 16).

Por otro lado, a los 60 días de EP, la L-Arg indujo una reducción en la captura de DA- ^3H tanto en el grupo intacto, donde fue significativa con respecto a su control, como en el grupo tratado con GMS, donde fue significativa con respecto al que recibió L-Arg en el grupo intacto (figura 17).

La presencia de N-Arg 10 μM disminuyó la captura de DA- ^3H en ambos grupos (intacto y tratado con GMS), sin embargo, en el grupo tratado con GMS la reducción fue significativa con respecto a su control (figura 17).

Por último, la combinación de L-Arg y N-Arg 10 μM , produjo una disminución en la captura de DA- ^3H en el grupo intacto, misma que se vio incrementada en el grupo de GMS de manera significativa con respecto al que recibió L+N-Arg en el grupo intacto (figura 17).

Los avances durante la década pasada en el entendimiento de la organización de los ganglios basales han mostrado la existencia de relaciones funcionales entre los sistemas de transmisión de los aminoácidos excitadores y de la dopamina.

Un número creciente de estudios clínicos y conductuales en animales ha sugerido que no existe un balance entre las entradas mesencefálicas dopaminérgicas y los aminoácidos excitadores corticales, lo que causa deficiencias motoras y cognoscitivas³⁹, mismas que han sido asociadas a diversos padecimientos neurodegenerativos.²¹

Así mismo, se ha demostrado que el GMS administrado intraperitonealmente afecta el metabolismo, la captura y la liberación de catecolaminas en la corteza cerebral y el núcleo caudado.³⁷

En el presente trabajo se evaluó el efecto del GMS sobre el transporte de DA para intentar conocer con mayor detalle el mecanismo involucrado en los sistemas dopaminérgico y glutamatérgico en la corteza cerebral y el cuerpo estriado, así como determinar si el ON es un modulador importante de dicho transporte.

Como se sabe, el R-NMDA se expresa en edades tempranas y en cierta manera, durante el desarrollo del SNC, regula el acomodo de las células.⁴⁰

Se ha observado que el cuerpo estriado carece de una organización citoarquitectónica clara y que las subpoblaciones de neuronas estriatales están organizadas en compartimentos funcionales. En algunos casos se puede comparar con las características citoarquitectónicas de la corteza y en otros representa una organización única.⁴⁰

Los resultados obtenidos para el cuerpo estriado a los 60 días de EP, en el grupo intacto y tratado con GMS, sugieren que el establecimiento citoarquitectónico funcional de el sistema de transporte de DA se encuentra bien establecido y es regulado por ON; que las células son más resistentes al daño provocado por el GMS, o bien, que pese al daño sufrido las células son más eficientes para mantener los mecanismos normales de transporte de DA, ya que se observa un patrón similar de conducta entre ambos grupos; mientras que a los 30 días, en el grupo intacto se observó un incremento en la captura de DA-[³H] al administrar L+N-Arg, así como al recibir N-Arg y L+N-Arg en

el grupo tratado con GMS, lo cual sugiere que no sólo la ONS participa en la producción de ON, sino que, existen otros mecanismos, incluido el metabolismo de la célula, que permiten su síntesis.

Por otra parte, en la corteza cerebral, a los 30 días en los animales tratados con GMS, se observó una disminución en la captura de DA-[³H], misma que se incrementa en el grupo intacto, lo que corresponde con ciertos reportes en los que se ha observado que el GMS produce una reducción significativa en los niveles de Norepinefrina y de DA⁴¹, y un aumento en la captura de DA-[³H] en ratas adultas⁴²; esto sugiere que la corteza cerebral es más vulnerable al efecto del GMS, ya que pueden existir cambios de conformación y composición en la estructura del R-NMDA y que lo observado en el grupo intacto es el resultado de un reacomodo celular normal ya que se ha reportado que a edades tempranas los R-NMDA y no-NMDA están involucrados en la migración celular.⁴³

Para conocer el papel del ON como regulador del transporte de DA, se hicieron experimentos en presencia de un precursor, L-Arg, y un inhibidor de la síntesis de ON, la N-Arg.

En el cuerpo estriado, la administración de L-Arg 10 µM, mostró que en los animales de 30 y 60 días, intactos y tratados con GMS, incrementó la captura de DA-[³H], esto va de acuerdo con trabajos en los que se ha observado que la L-Arg, en la misma concentración utilizada, en animales intactos, no modifica de manera significativa, en rebanadas, la captura de DA, fenómeno contrario a lo observado en sinaptosomas³⁵; esto sugiere que la producción de ON participa en los procesos de transporte (captura) de DA por activación de R-NMDA y posiblemente de los no-NMDA. Se ha propuesto que la síntesis de DA, así como su sistema de transporte puede ser regulado por otros neurotransmisores, como los del sistema colinérgico, que modulan la liberación de DA⁴⁴, así como también por otro tipo de receptores a Glu, como el receptor a KA.³⁵

Sin embargo, como se sabe, la activación de la ONS no sólo tiene como consecuencia la producción de ON, sino que éste a su vez puede interactuar con otras moléculas, como el anión superóxido, y formar radicales libres, que podrían contribuir al daño celular²⁴, por lo que es importante que en un futuro se realicen estudios sobre los niveles de radicales libres y el papel que desempeñan en el transporte de DA.

Para la corteza cerebral se observó que a los 30 días en el grupo tratado con GMS aumenta la captura de DA- ^3H], lo que sugiere que el daño provocado por el GMS afecta los mecanismos de transmisión normal a la edad de 30 días, y lleva a la producción de ON y con ello a un aumento en la captura de DA- ^3H], esto tal vez se deba a los mecanismos ya mencionados para el cuerpo estriado, mientras que a los 60 días de EP, en el grupo intacto y tratado con GMS se observó una disminución en la captura de DA- ^3H], lo cual sugiere que existen mecanismos de compensación en respuesta a los cambios provocados por el Glu, o bien, que el ON esté directamente involucrado en el transporte de DA en esta región.

Con respecto a la administración de N-Arg en concentración de 10 μM se pensó que su efecto debía ser contrario al producido por la L-Arg tanto en el cuerpo estriado como en la corteza cerebral, en las dos edades estudiadas, ya que en estudios previos se ha visto que la N-Arg reduce la captura de DA- ^3H] en rebanadas y sinaptosomas estriatales³⁵, esto sólo se observó en el cuerpo estriado a los 60 días, en el grupo intacto y tratado con GMS, mientras que a los 30 días la disminución se observó únicamente en el grupo intacto, y por el contrario, en el grupo de GMS se presentó un incremento en la captura de DA- ^3H], lo que sugiere que el ON no es el único en regular el transporte de DA, sino que la presencia de otros compuestos, tales como radicales libres, podrían estar participando en dicho transporte.

No obstante, también se ha reportado que la inhibición de la ONS protege de la toxicidad producida por Glu en cultivo⁴⁵, esto es lo que posiblemente se observó en las figuras 14 y 16, donde se observa que la captura de DA se incrementa en presencia del inhibidor de la ONS, N-Arg, tanto en corteza como en el estriado a los 30 días de edad.

Finalmente, la combinación de L-Arg más N-Arg mostró un incremento en la captación de DA- ^3H] a los 30 días, tanto en el grupo intacto como en el tratado con GMS, en el estriado, de igual forma a los 30 días en el grupo tratado con GMS, en la corteza cerebral; mientras que a los 60 días este incremento sólo se observó en la corteza cerebral del grupo experimental; estos resultados van en contra de lo que se ha observado en otros trabajos, donde la combinación de L-Arg y N-Arg causan una reducción en la captura de DA en animales intactos³⁵. Este aumento en la captura de DA- ^3H] sugiere

que existen otros mecanismos relacionados con el transporte de DA y que tal vez puedan ser activados por la administración del GMS. Uno de estos mecanismos podría ser la existencia de cambios a nivel metabólico que estén asociados con los receptores a Glu de tipo NMDA.

La primera evidencia que relaciona al R-NMDA en la neurodegeneración causada por la inhibición metabólica fue descubierta, en la década de los setentas, por Novelli, quien observó que la inhibición del complejo IV de la cadena respiratoria por cianuro, produce concentraciones no tóxicas de Glu, sin embargo, en condiciones *in vitro* se vuelve letal y este daño es bloqueado en presencia de antagonistas al R-NMDA.⁴⁶

Existen trabajos en los que se relaciona ligeramente a los R-NMDA con las enfermedades neurodegenerativas^{12, 47, 48}, mientras que otros^{49, 50, 51} apoyan que la activación del R-NMDA es vital en la generación de neuropatologías asociadas a cambios metabólicos. Un factor que puede intervenir en el daño celular es el hecho de que las funciones metabólicas disminuyen con la edad, debido posiblemente en parte a un incremento en el daño oxidativo y del DNA mitocondrial.⁵² Otro mecanismo por el cual se puede presentar la excitotoxicidad es a través de la producción de radicales libres. Los radicales libres tales como el ON y especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden causar una toxicidad celular significativa, incluyendo daños al DNA y proteínas así como peroxidación de lípidos.⁵³

Por último, desde el punto de vista clínico, se ha sugerido que la degeneración tan selectiva de las neuronas dopaminérgicas vista en el síndrome de Parkinson puede ser resultado de una alta sensibilidad de estas neuronas a una combinación de inhibición metabólica y excitotoxicidad⁵⁴, por lo que puede existir un círculo vicioso en el que la activación de R-NMDA induce a una entrada masiva de Ca^{++} y a la producción de radicales libres mitocondriales, seguida por una disfunción de la mitocondria, lo que predispone a la neurona al daño excitotóxico. Por lo que es importante que en un futuro se realicen trabajos en los que se de a conocer más a fondo el papel de estos radicales libres y de los daños que pueden presentar las mitocondrias, ya sea por influencia de los radicales libres o porque la producción de ON desencadene la activación de segundos mensajeros que alteren la conformación de los R-Glu desde el punto de vista genético y estructural.

1.-La administración temprana de GMS no modifica la captura de DA [^3H] a los 30 y 60 días en el cuerpo estriado, aunque, al administrar N-Arg se vio aumentada a los 30 días; mientras que a los 60 la disminuye.

2.- La administración temprana de GMS no modifica la captura de DA [^3H] a los 60 días en la corteza cerebral, sin embargo, la presencia del precursor o inhibidor de la síntesis de ON o ambos disminuye la misma en el grupo intacto.

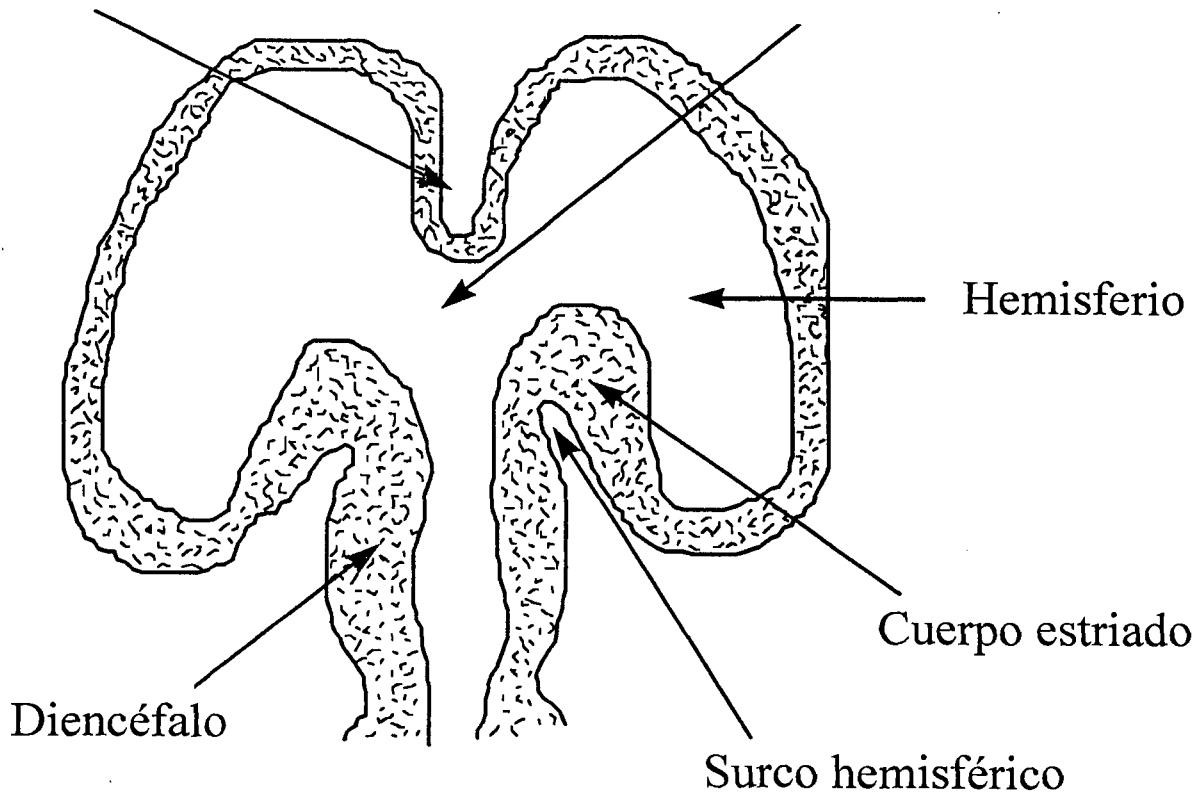
3.-La administración neonatal de GMS modifica la influencia que posee el ON sobre la captura de DA en las regiones y edades estudiadas en comparación con el grupo testigo.

FIGURA 1**Desarrollo del cuerpo estriado**

El cuerpo estriado se forma como un espesamiento en el fondo del surco hemisférico, el cual aumenta de grosor para terminar fusionándose .

Agujero de Monro

Foramen intaventricular



Hemisferio

Cuerpo estriado

Diencéfalo

Surco hemisférico

FIGURA 2**Principales aferencias y eferencias del cuerpo estriado**

Las conexiones aferentes del estriado provienen de la corteza, el tálamo y la sustancia negra, mientras que las vías eferentes se descargan principalmente al globo pálido y la sustancia negra.

GP.- Globo pálido

NPP.- Núcleo pedúnculo pontino

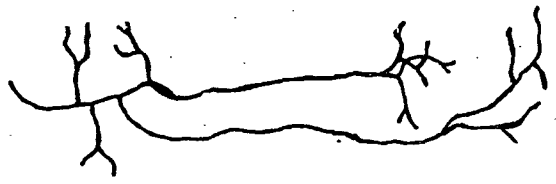
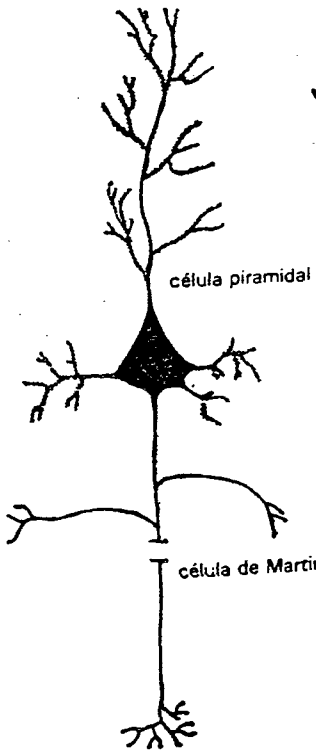
EP.-Núcleo entopeduncular

NST.- Núcleo subtalámico

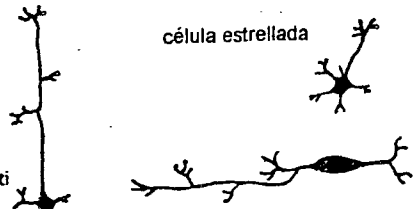
SN.- Sustancia negra

FIGURA 3**Algunos tipos celulares de la corteza cerebral**

Los principales tipos celulares que se encuentran en la corteza cerebral son: piramidales, estrelladas, fusiformes, células de Cajal, de Martinotti y las células de Betz.

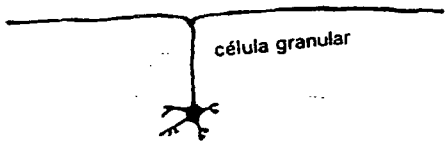


célula fusiforme



célula estrellada

célula horizontal de Cajal



célula granular

FIGURA 4

Acomodo de las capas de la corteza cerebral y algunas vías aferentes y eferentes

De manera general, las aferencias de la corteza van de la capa 1 a la 4, mientras que las eferencias van de la capa 5 a la 6.

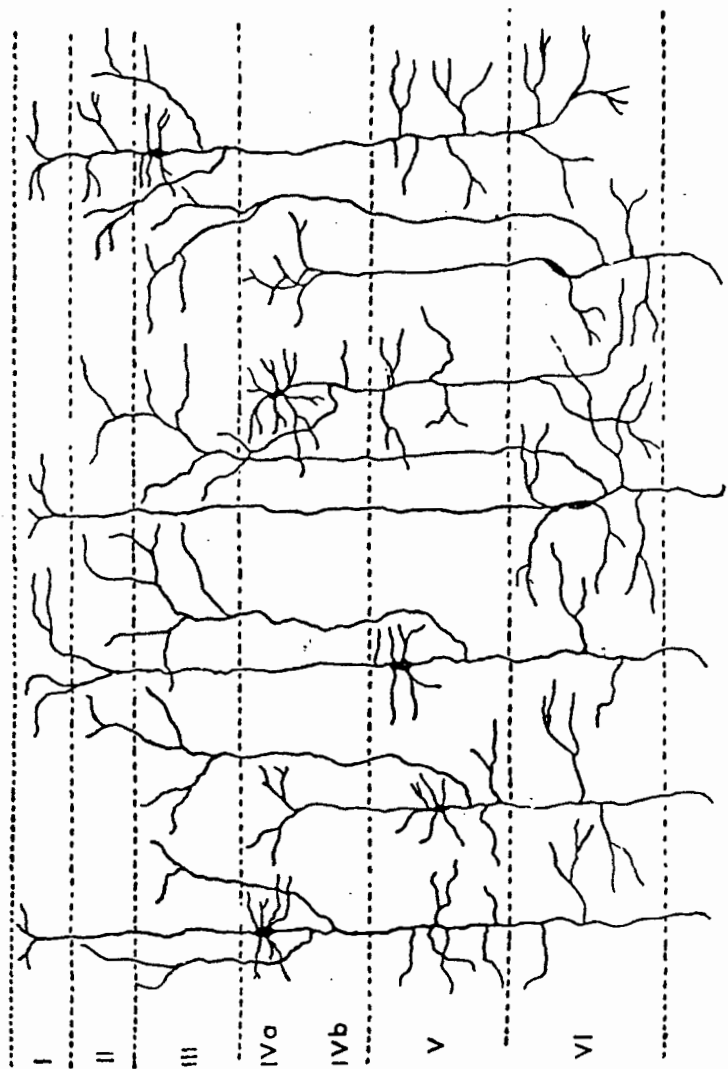
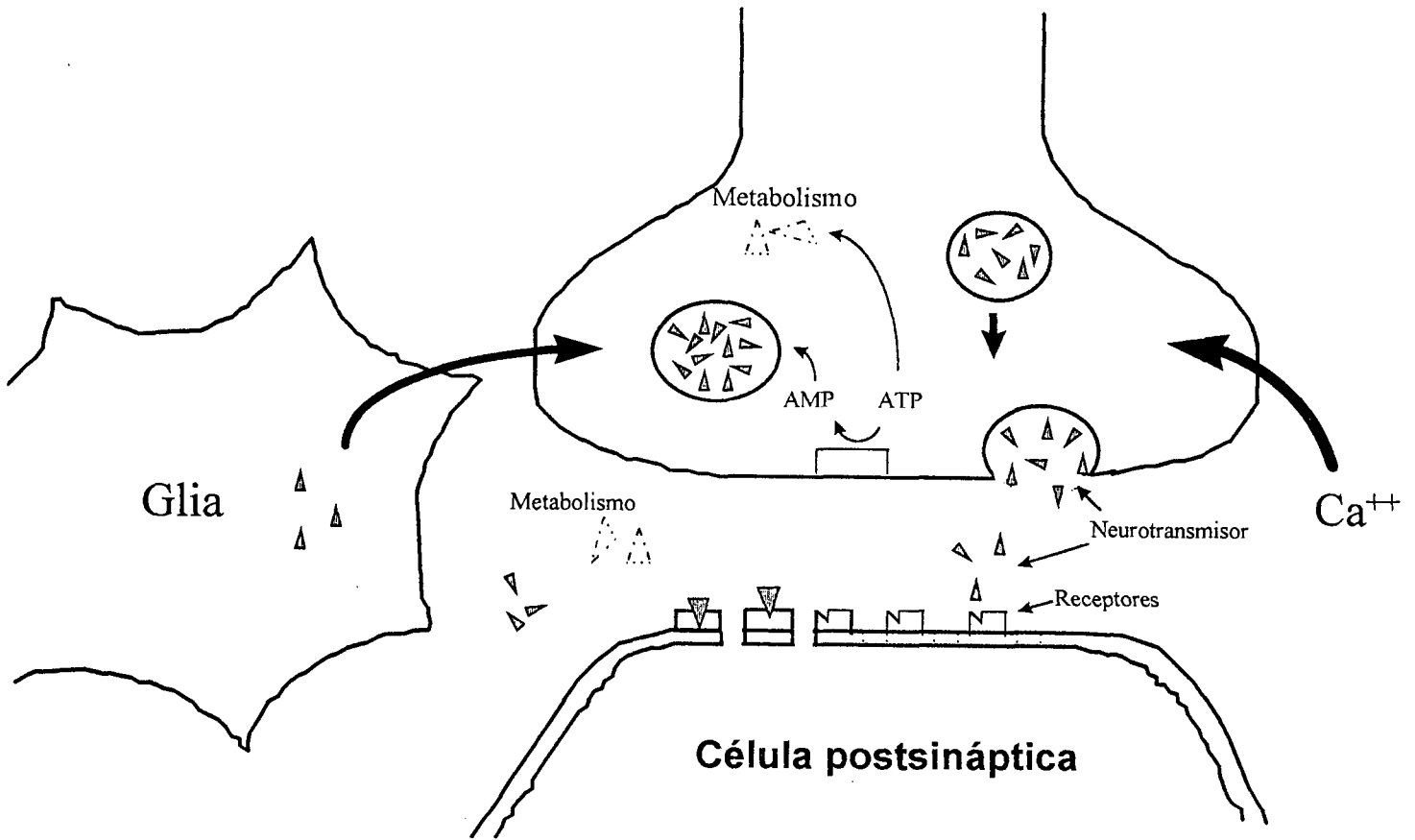


FIGURA 5

Mecanismo de liberación y recaptura de un neurotransmisor

Cuando un estímulo llega a la célula, aumenta la entrada de calcio a la terminal nerviosa haciendo que los microtúbulos a los que están enganchadas las vesículas que contienen los neurotransmisores se muevan hacia la membrana celular para fusionarse y permitir la salida del neurotransmisor (NT), el cual unirá a su receptor en la célula postsináptica, una vez que termina la acción del NT, puede ser metabolizado en el espacio intersináptico o bien, se puede recapturar desde la sinápsis por la terminal nerviosa sináptica o las células gliales, a través de mecanismos activos, para ser metabolizada. Estos procesos son dependientes de energía

Terminal presináptica



Glia

Célula postsináptica

Metabolismo

Metabolismo

AMP

ATP

Ca^{++}

Neurotransmisor

Receptores

FIGURA 6**Principales vías glutamatérgicas**

(C) Corteza cerebral

(CE) Cuerpo estriado

(Am) Amígdala

(Cb) Cerebelo

(NC) Núcleo caudado

(CS) Colículo superior

(Hp) Hipocampo

(NGL) Núcleo geniculado lateral

(NR) Núcleo rojo

(OI) Oliva inferior

(SN) Sustancia negra

(T) Tálamo

FIGURA 7

Síntesis, liberación y recaptura del glutamato (Glu)

El glutamato es sintetizado a partir de la glucosa mediante el ciclo de los ácidos tricarbóxicos por reacciones de transaminación; a partir de la glutamina (Gln) por acción de la enzima glutaminasa o por la fijación del Nitrógeno a través de la enzima deshidrogenasa glutámica para ser vesiculado. Cuando un estímulo alcanza a la célula, el Glu es liberado e interactúa con sus receptores postsinápticos abriendo canales iónicos de membrana o activando cascadas de segundos mensajeros al acoplarse a proteínas G. El Glu puede ser recapturado por la célula presináptica o por las células gliales para ser reciclado o metabolizado.

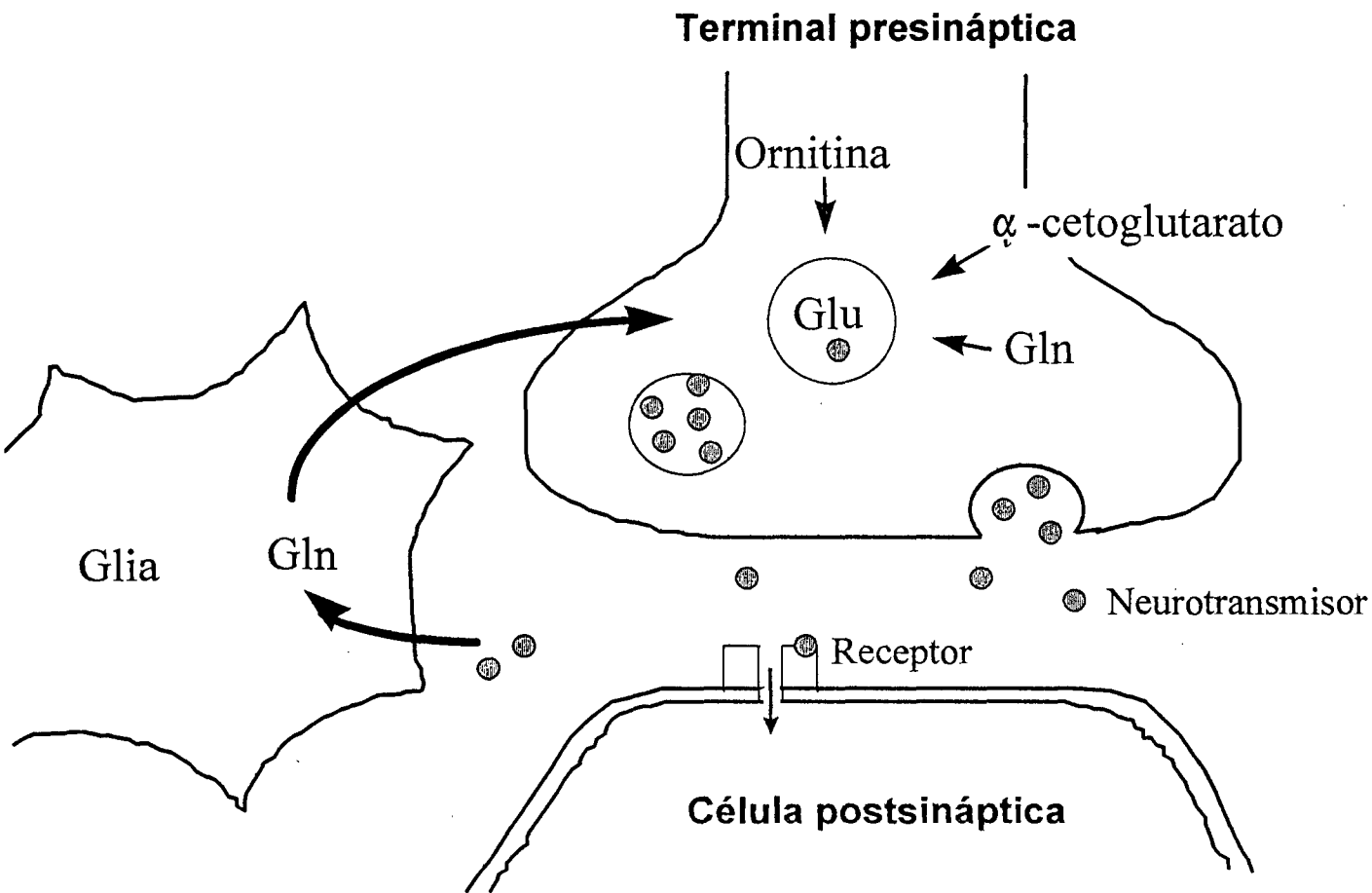


FIGURA 8

Tipos de receptores a glutamato

Los receptores a Glutamato se dividen en dos tipos :

Ionotrópicos:

NMDA (N-metil-D-aspartato) (1)

no-NMDA (AMPA (3) y Kainato(2))

y Metabotrópicos (4):

acoplados a proteínas G, desencadenan cascadas de segundos mensajeros, como la de trifosfato de inositol y nucleótidos cíclicos.

PP	Fosfolípido	G	Proteína G	PIP ₂	Fosfatidil inositol-4, 5-bifosfato
IP ₃	Inositol-1, 4, 5-trifosfato	DAG	Diacilglicerol	ibo	Ibotenato
ACPD	1-amino-ciclopentil-1,3-dicarboxilato	PA	poliaminas	Gly	Glicina
REDOX	óxido-reducción				

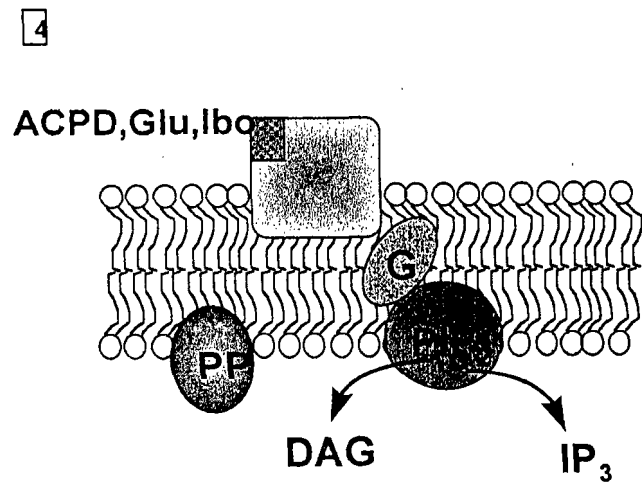
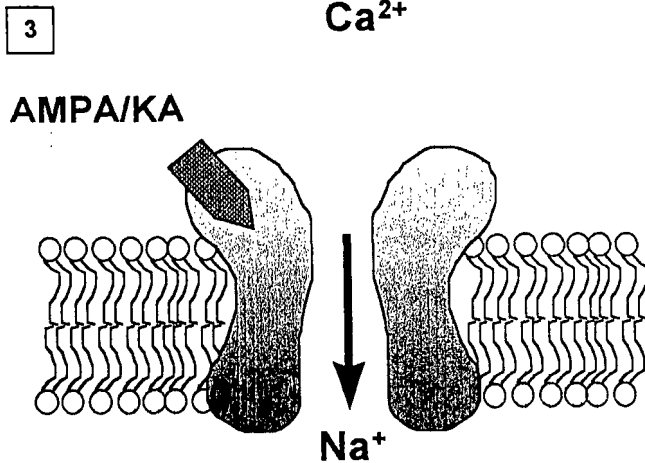
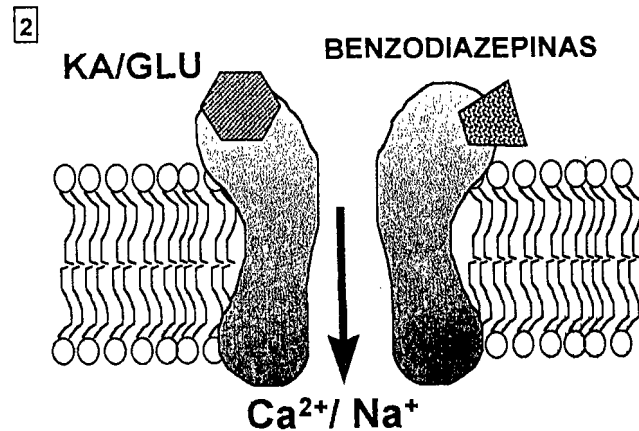
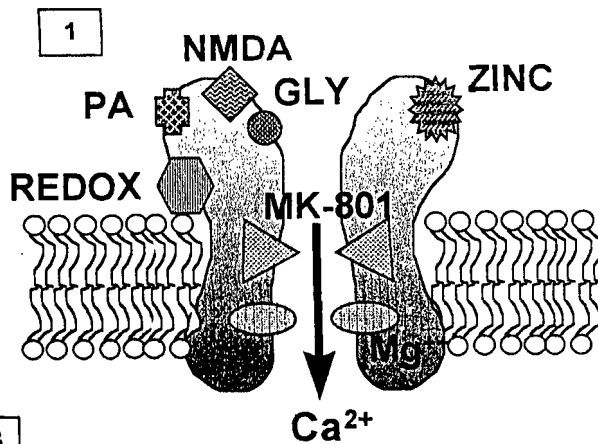
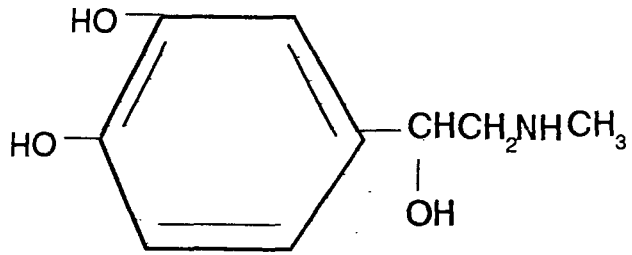
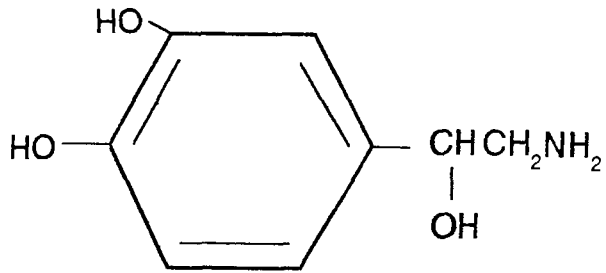


FIGURA 9**Estructura general de las catecolaminas**

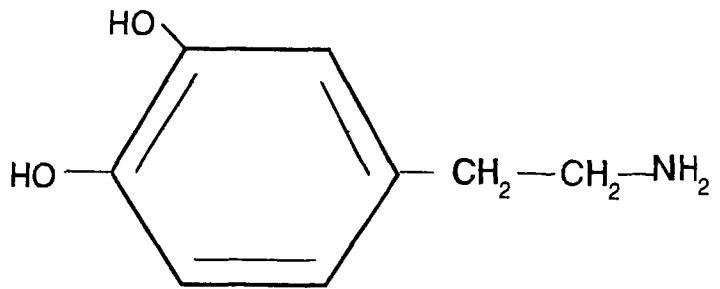
Las catecolaminas son derivados del catecol con una cadena lateral que lleva un grupo amino, el catecol es el dihidroxifenol con dos grupos hidroxilo adyacentes.



Epinefrina



Norepinefrina



Dopamina

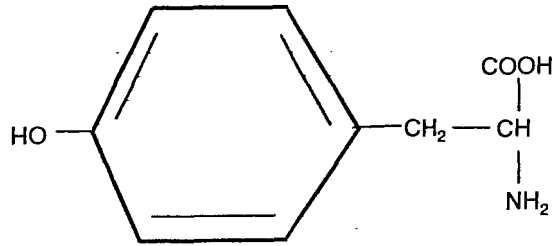
FIGURA 10**Síntesis de la Dopamina**

(TH) Tirosina hidroxilasa

(L-DOPA) L-Dihidroxifenilalanina

(DAAA) Descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos

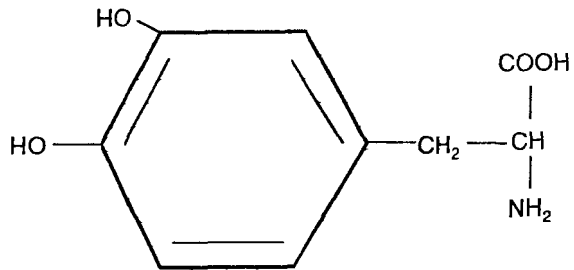
(DA) Dopamina



Tirosina



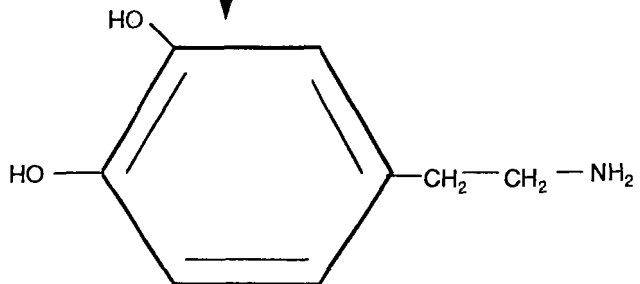
TH
(Tetrahydrobiopterina, O₂)



L-DOPA



DAAA
(Fosfato de piridoxal)



DA

FIGURA 11**Síntesis, liberación y metabolismo de la dopamina**

(TIR) Tirosina

(DOPA) L-Dihidroxiifenilalanina

(DA) Dopamina

(MAO) Enzima monoaminoxidasa

(COMT) Enzima catecol-O-metiltransferasa

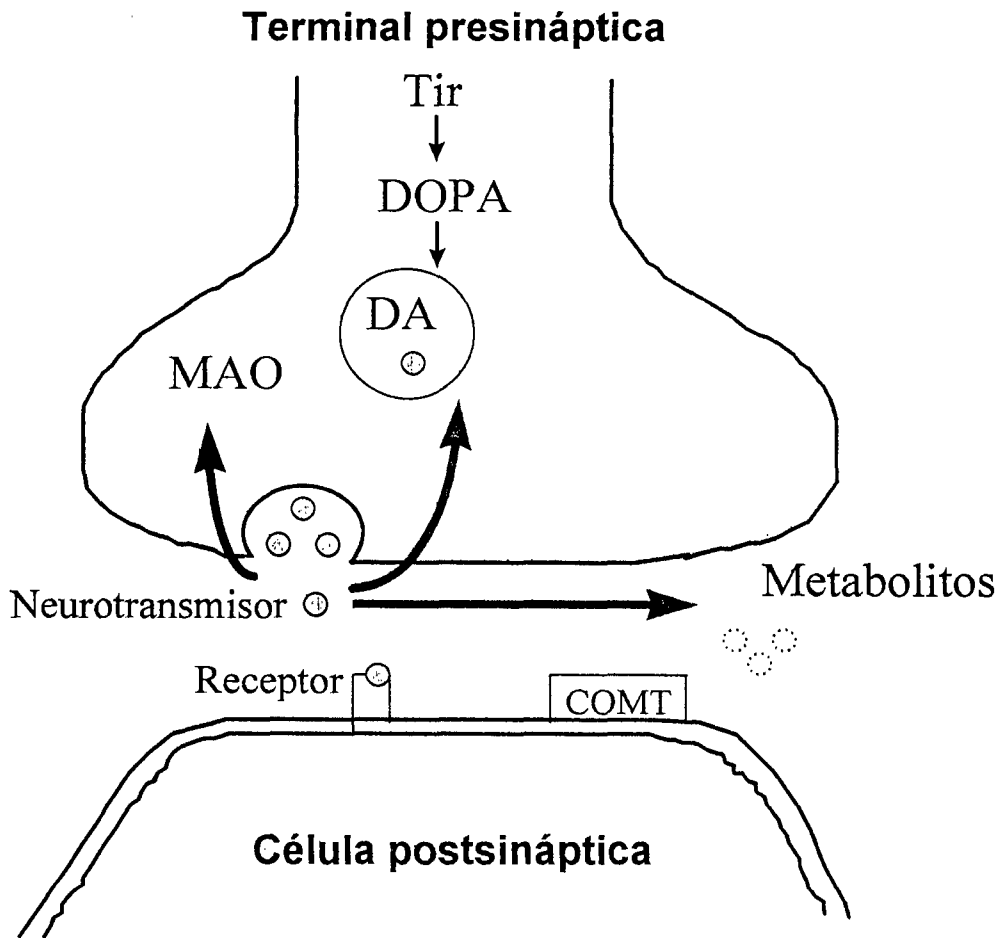


Figura 12

Vías dopaminérgicas

Principales vías: Nigroestriatal, mesocortical y tuberohipofisial

(SN) Sustancia negra

(CCA) Corteza cingulada anterior

(CF) Corteza frontal

(NA) Núcleo de Acumbens

(TO) Tubérculo olfatorio

(EM) Eminencia media

(E) Estriado

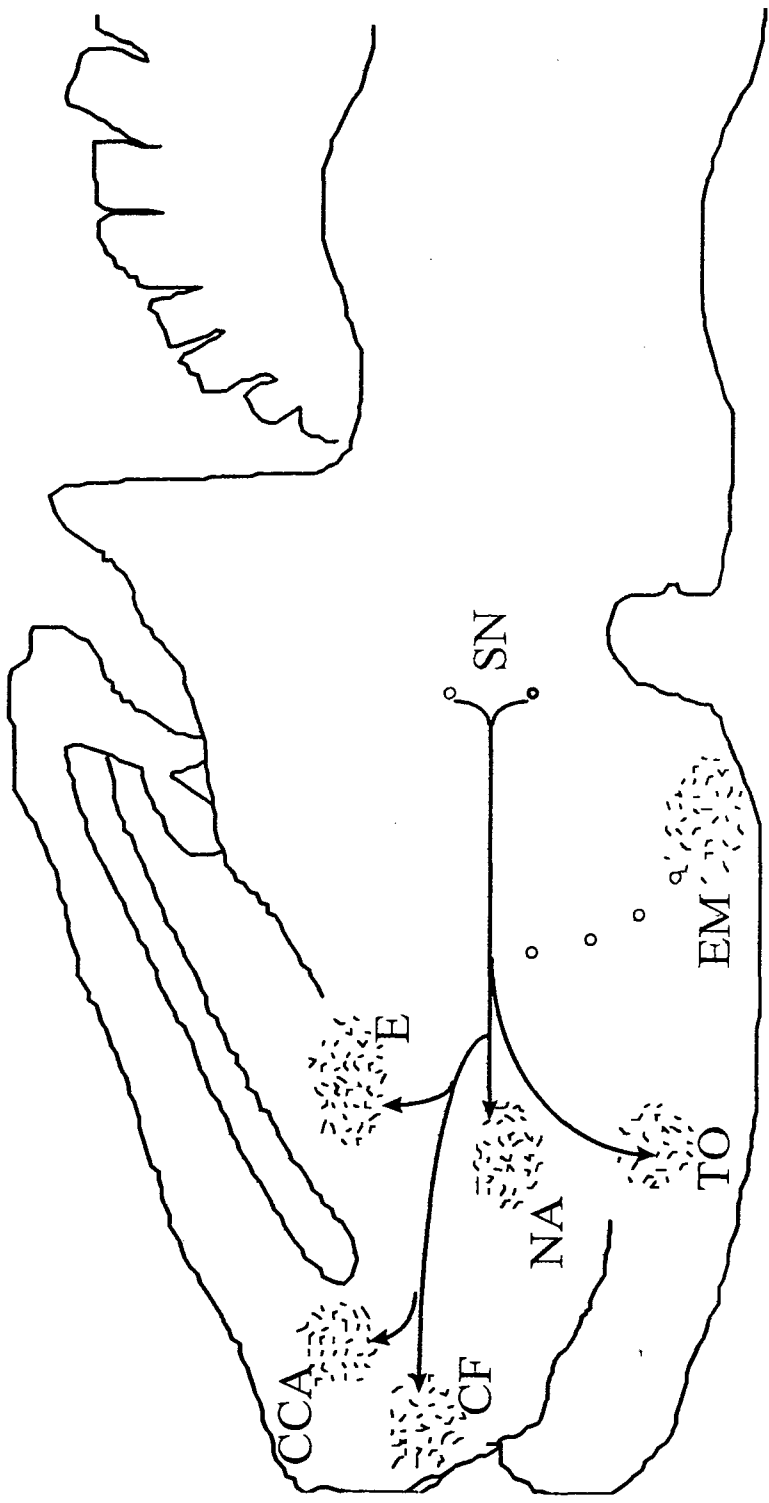


FIGURA 13**Activación de la síntesis de óxido nítrico**

1. Liberación de Glu
2. Activación de R-Glu postsináptico
3. Entrada de Ca^{++} a la terminal postsináptica
4. Formación del complejo Ca^{++} -Calmodulina
5. Activación de la ONS
6. Síntesis de ON
7. Difusión de ON a elementos neuronales circunvecinos

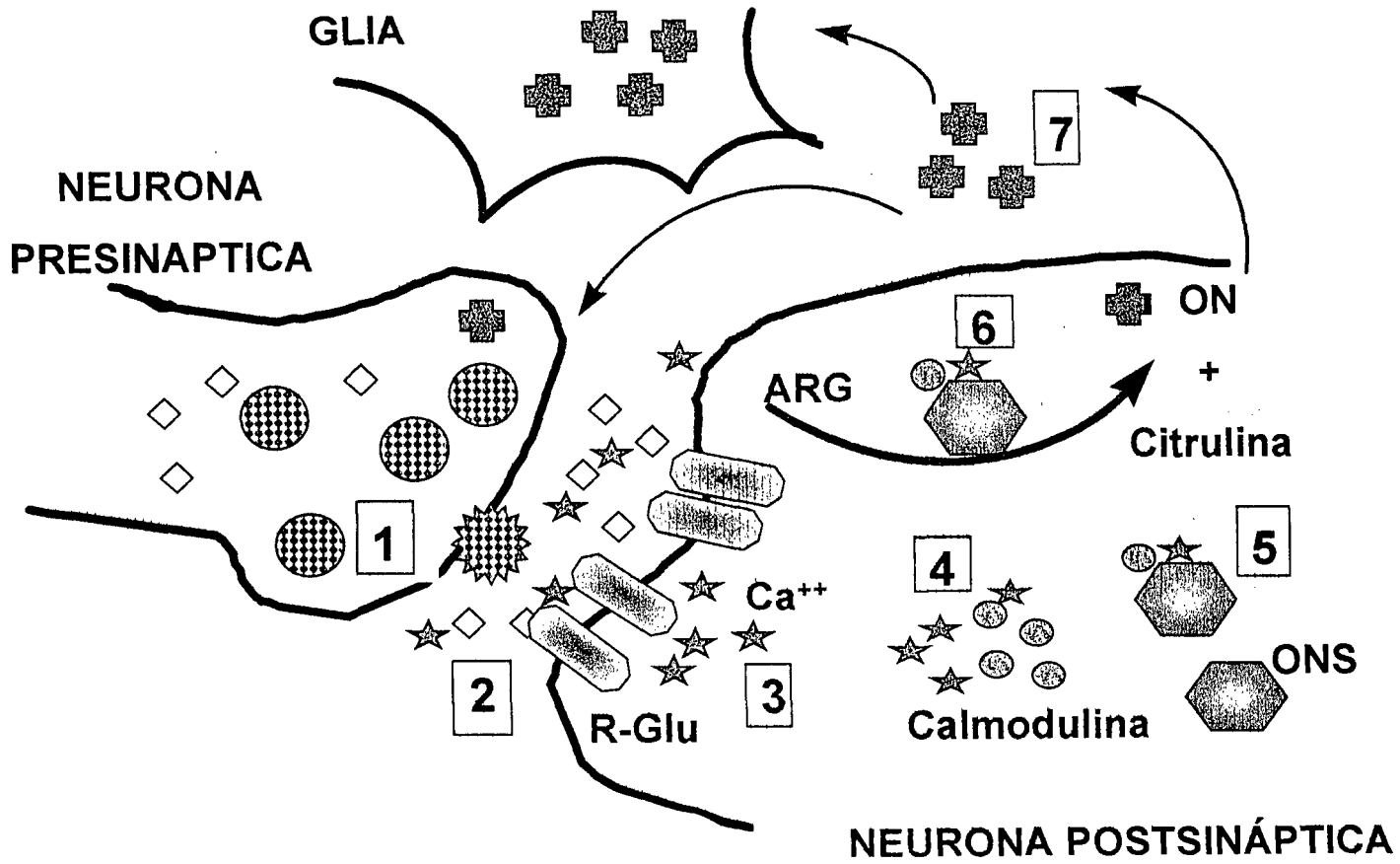


FIGURA 14

Efecto de la L-Arg, N-Arg y L+N-Arg 10 μ M sobre la captura de DA-[3 H] en rebanadas estriatales a los 30 días en ratas intactas y tratadas con GMS neonatalmente. Los resultados expresan la media \pm error estandar de 6 experimentos por duplicado.

Las diferencias estadísticamente significativas fueron:

• $p < 0.05$, ★ $p < 0.001$ con respecto a su control

□ $p < 0.001$ con respecto al que recibió N-Arg en el grupo intacto.

CUERPO ESTRIADO 30 DIAS DE EDAD POSTNATAL

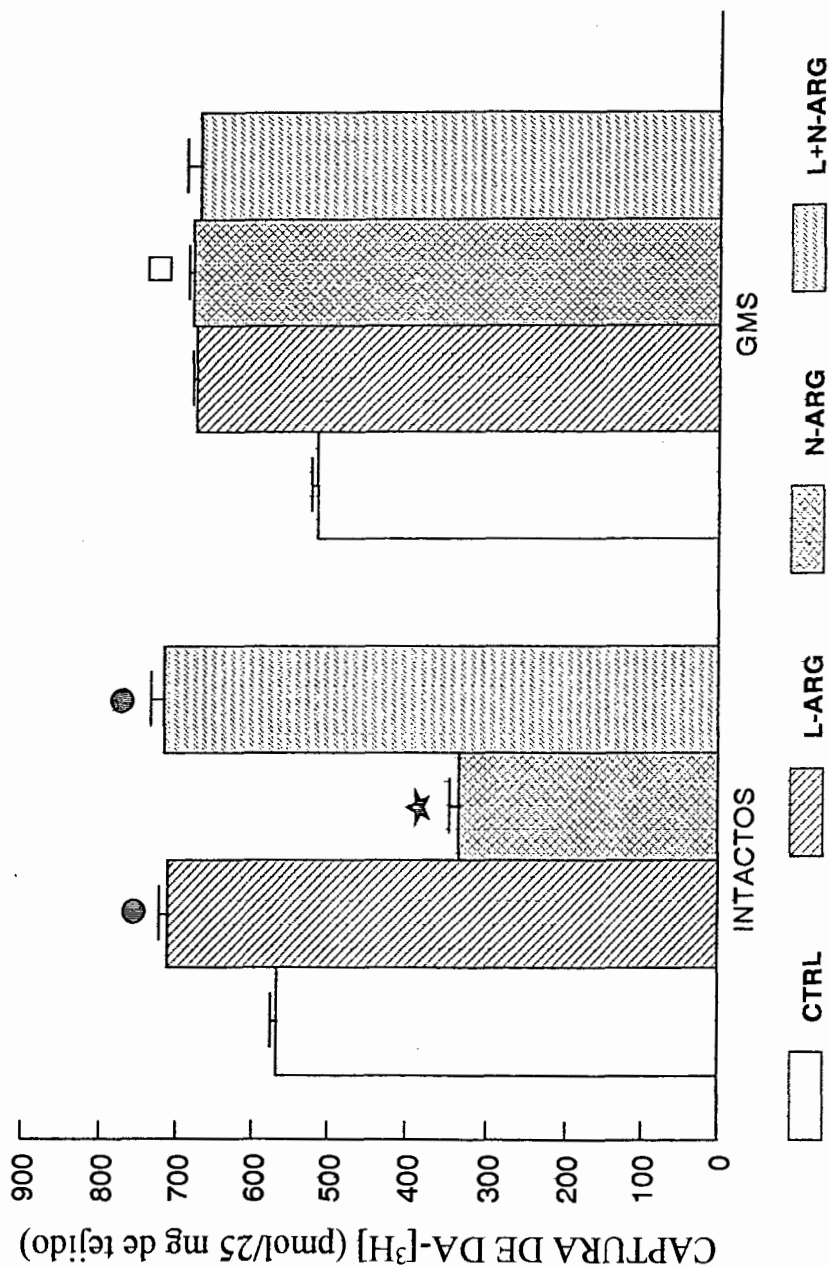


FIGURA 15

Captura de DA-[^3H] en rebanadas estriatales a los 60 días en ratas intactas y tratadas con GMS neonatalmente, en presencia de L-Arg, N-Arg y L+N-Arg 10 μM . Los resultados representan la media \pm error estandar de 4-6 experimentos por duplicado.

Las diferencias estadísticamente significativas fueron:

- ⊛ $p < 0.01$ con respecto al que recibió N-Arg en el grupo intacto.
- $p < 0.05$ con respecto a su control.
- $p < 0.05$ con respecto al que recibió L-Arg en el grupo tratado con

GMS.

CUERPO ESTRIADO 60 DIAS DE EDAD POSTNATAL

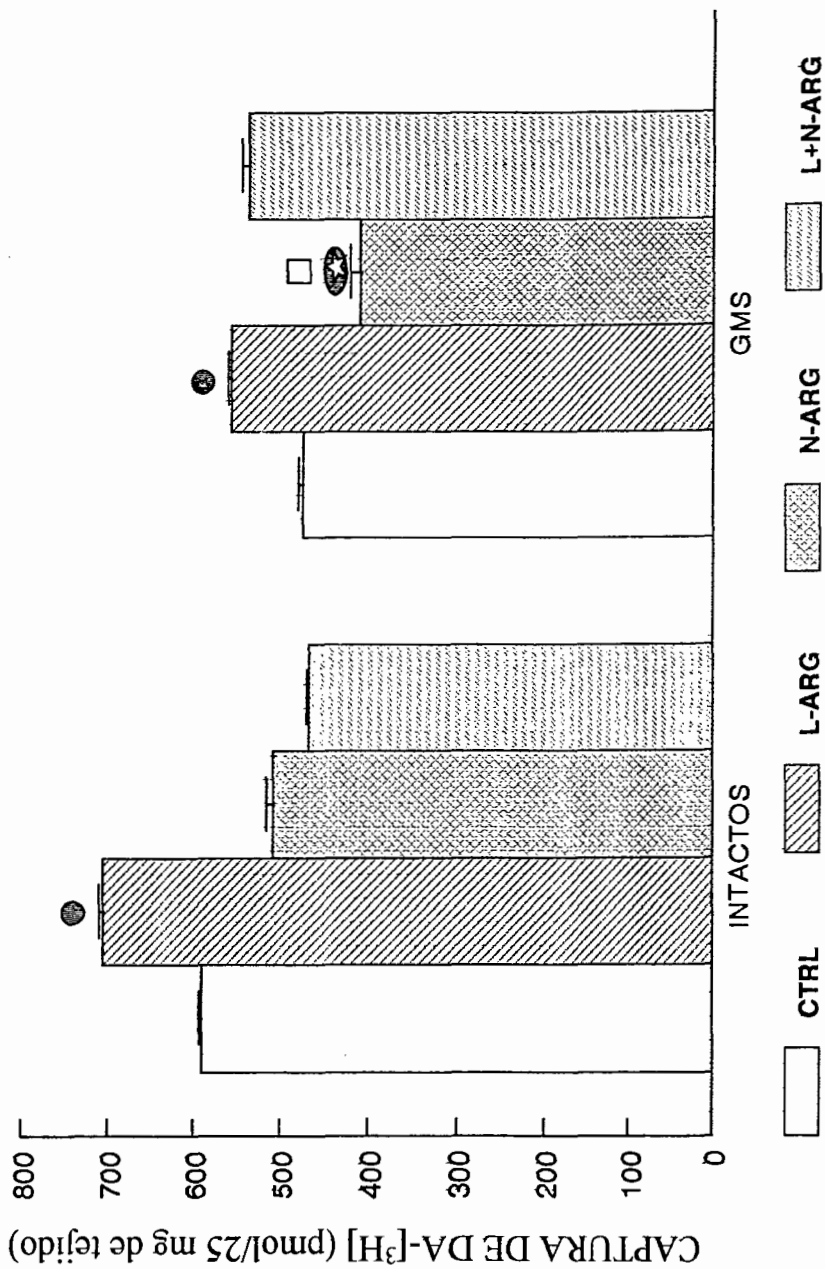


FIGURA 16

Efecto de la L-Arg, N-Arg y L+N-Arg 10 μ M sobre la captura de DA-[3 H] en rebanadas de corteza cerebral a los 30 días en ratas intactas y tratadas con GMS neonatalmente. Los resultados expresan la media \pm error estandar de 6 experimentos por duplicado.

Las diferencias estadísticamente significativas fueron:

- $p < 0.05$ con respecto a su control.

CORTEZA CEREBRAL 30 DIAS DE EDAD POSTNATAL

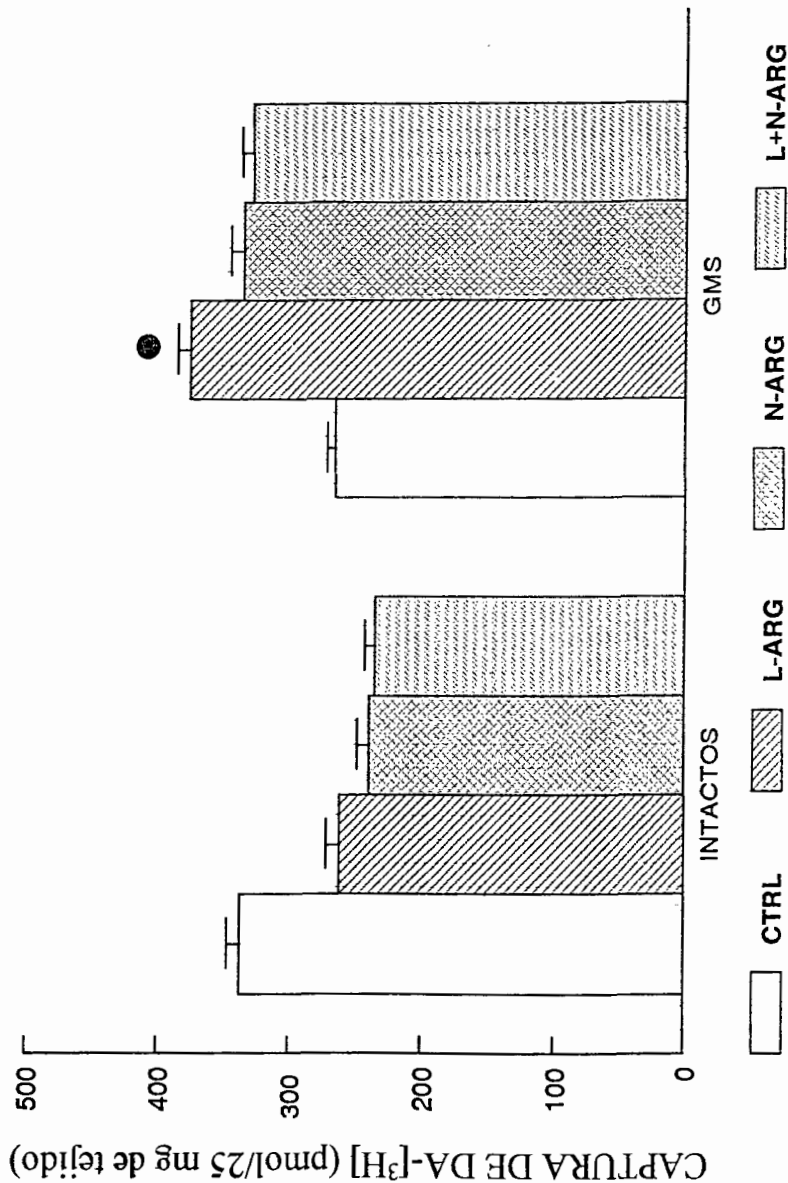


FIGURA 17

Captura de DA-[³H] en rebanadas de corteza cerebral a los 60 días en ratas intactas y tratadas con GMS neonatalmente, en presencia de L-Arg, N-Arg y L+N-Arg 10 μ M. Los resultados representan la media \pm error estandar de 6 experimentos por duplicado.

Las diferencias estadísticamente significativas fueron:

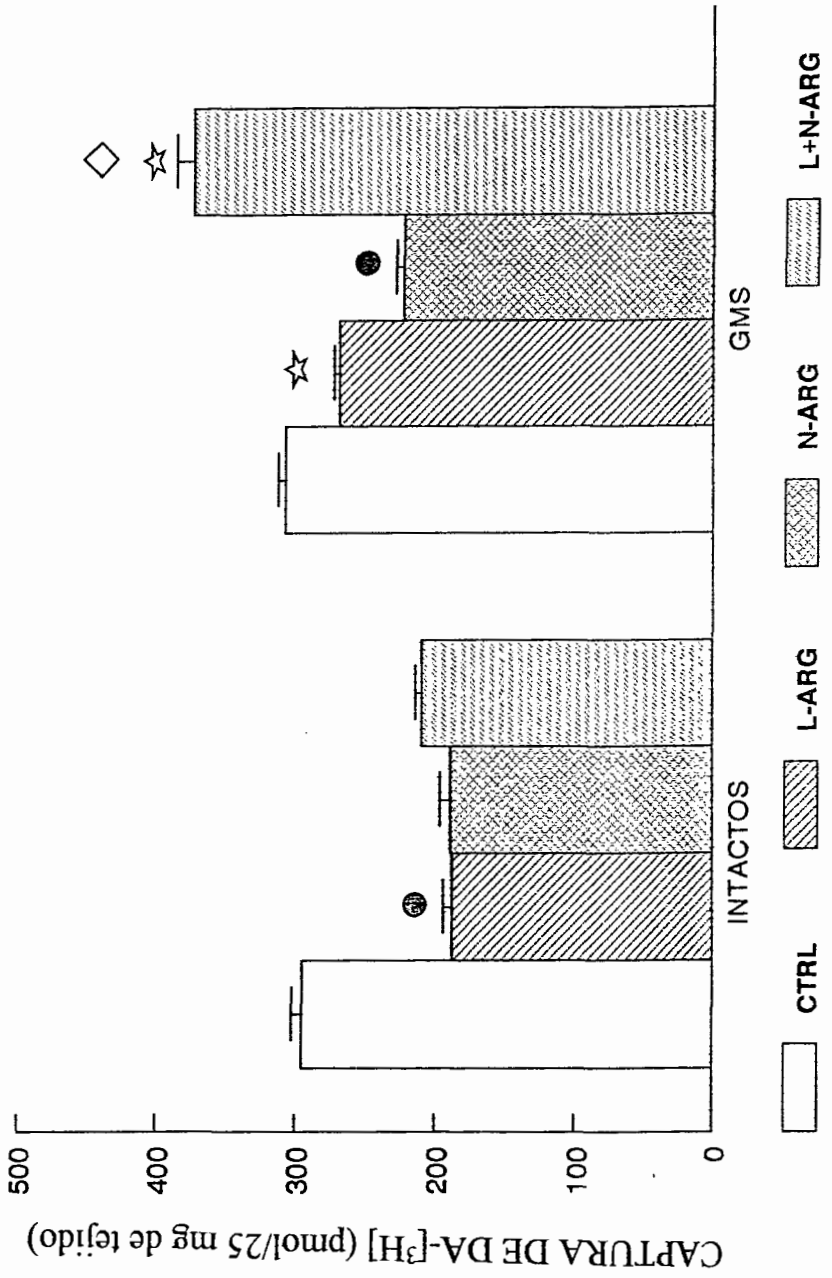
☆ $p < 0.05$ con respecto a su similar en el grupo intacto.

• $p < 0.05$ con respecto a su control.

◇ $p < 0.05$ con respecto al que recibió N-Arg en el grupo tratado

con GMS.

CORTEZA CEREBRAL 60 DIAS DE EDAD POSTNATAL



- 1.- Truex R. C. (1963) Cap.1 : Origen y composición del sistema nervioso. Cap. 19 : El diencefalo y el cuerpo estriado. Cap. 21 : La corteza cerebral. En: "Neuroanatomía humana". El Ateneo S.A., Argentina, p. 501
- 2.- Reid C. (1981) Cap. 1 : Introducción y desarrollo. En: "Neuroanatomía". Interamericana S. A. de C. V., México, D. F., p. 199
- 3.- Noback C. R. y Demarest R. J. (1980) Sistema Nervioso humano. En: "Fundamentos de Neurobiología". Mc Graw-Hill, México, p. 33-34.
- 4.- Barr L. M. (1979) Cap. 2: Cells of the central nervous system. En: "The human nervous system; an anatomical viewpoint". Harper International, USA, p. 339
- 5.- Rivera A. y Ramón F. (1986) Cap. 2: Introducción a la electrofisiología. En: "Temas Selectos de Biología celular". SEP-COSNET-CINVESTAV, México D.F., p. 171-193.
- 6.- Cooper R.J., Bloom F. E. y Roth R. H. (1984) Cap. 6: Catecolaminas I: aspectos generales. Cap. 7: Catecolaminas II: aspectos en el SNC. En: "Las bases bioquímicas de la neurofarmacología". Manual Moderno, México D.F., p.86-178.
- 7.- Meister B. (1991) Cap. 6: Monosodium Glutamate (MSG) Lesions. En: "Lesions and Transplantation. Vol. 7". Academic Press, San Diego Ca., p. 70-89.
- 8.- López C.A.M. (1983) Aminoácidos: Acido glutámico y Aspartico. En: "Aminoácidos y péptidos en la integración de funciones nerviosas". UNAM, México D.F., p. 93-105.
- 9.- Curtis A. B. (1990) Cap. 8: Chemical neuroanatomy. En: "Neurosciences: the basics". Lea and Febiger editors, London, p. 145-150.
- 10.- Choi D. W. (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1: 623-634.
- 11.- Greene G. J. y Greenamyre T. (1996) Bioenergetics and glutamate excitotoxicity. *Progress in neurobiology*, 48: 613-634.
- 12.- Lipton A. S. y Rosenberg A. P. (1994) Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurologic disorders. *The New England Journal of Medicine*, 330: 613-622.
- 13.- Coyle J. T. y Puttfarcken P. (1984) Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science*, 262: 989-995.
- 14.- Tresguerran J. A. F. (1995) Neurotransmisores y neuromoduladores. En: "Fisiología Humana". Interamericana, Mc Graw Hill., USA, p. 67-78
- 15.- Mc Geer P. L. y Mc Geer E. G. (1989) Cap. 11: Catecholamines. Cap. 15: Amino acid neurotransmitters En: "Basic Neurochemistry" Raven Press, New York, p. 311-322.

- 16.- Yun Hye-Y., Dawson L. V. y Dawson M. T. (1996) Neurobiology of Nitric Oxide. *Critical reviews in Neurobiology*, 10: 291-316.
- 17.- Marletta M. A., Yoon P. S., Iyengar R., Leaf C. D. y Wishnock J. S. (1988) Macrophage oxidation of L-Arginine to nitrite and nitrate: Nitric Oxide is an intermediate. *Biochemistry*, 27: 8706-8711.
- 18.- Garthwaite J., Charles S. J. y Chess-Williams R. (1988) Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggest role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, 336: 385-388.
- 19.- Knowles R. G., Palacios M., Palmer R. M. J. y Moncada S. (1989) Formation of nitric oxide from L-Arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*, 86: 5159-5162.
- 20.- Bredt D. S. y Snyder S. H. (1989) Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in the cerebellum. *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*, 86: 9030-9033.
- 21.- Dugan L. L. y Choi D. W. (1994) Excitotoxicity, free radicals and cell membrane changes. *Annals of Neurology*. 35: 517-521.
- 22.- Zhang J. y Snyder H. (1995) Nitric oxide in the nervous system. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 35: 213-233.
- 23.- Moncada S. y Higgs A. (1993) The ON-L-Arginine pathway. *The New England Journal of Medicine*, 30: 2002-2010.
- 24.- Garthwaite G. y Garthwaite J. (1994) Nitric oxide does not mediate acute glutamate neurotoxicity, nor is it neuroprotective, in rat brain slices. *Neuropharmacology*, 33: 1431-1438.
- 25.- Moncada S., Palmer J. R. M. y Higgs E. A. (1991) Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43: 109-142.
- 26.- Fagg G. E. y Lane J. D. (1979) The uptake and release of putative aminoacid neurotransmitters. *Neuroscience*, 4: 1015-1035.
- 27.- Chusid J. G. (1987) Capítulo: 3 El Encéfalo. En: "Neuroanatomía correlativa y neurología funcional". El Manual Moderno, México D.F., p. 21-94.
- 28.- Adams H. R. (1996) Physiologic, pathophysiologic, and therapeutic implications for endogenous nitric oxide. *Journal American Veterinary Medical Association*, 29: 1297-1302.
- 29.- Lucas D. R. y Newhouse J. P. (1957) The toxic effect of sodium L-glutamate in the layer of the retina. *American Medical Association Archives of Ophthalmology*, 58: 193-201.
- 30.- Robinson M. B. y Coyle J. T. (1987) Glutamate and related acidic excitatory neurotransmitters: from basic science to clinical application. *FASEB Journal*, 1: 446-455.

- 31.- Olney J. W. (1969) Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*, 164: 719-721.
- 32.- Olney J. W. (1979) Excitotoxic Amino Acids: Research applications and safety implications. En: "Glutamic Acid. Advances in Biochemistry and Physiology". Raven Press, New York, p. 287-319.
- 33.- Olney J. W. (1971) Glutamate induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. *J. Neuropathology and Experimental Neurology*, 30: 75-90.
- 34.- Shimizu I. y Prasad Ch. (1991) Relationship Between [³H] Mazindol Binding to Dopamine Uptake Sites and [³H] Dopamine Uptake in Rat Striatum During Aging. *Journal of Neurochemistry*, 56: 575-579
- 35.- Chaparro-Huerta V., Beas-Zárate C., Ureña-Guerrero M. y Feria-Velasco A. (1997) Nitric oxide involvement in regulating the dopamine transport in the striatal region of rat brain. *Neurochemistry International*, 31: 607-616.
- 36.- Difilia M. (1990) Excitotoxic injury of the neostriatum a model for Huntingtons disease *Trends in Neurosciences*, 13: 286-289.
- 37.- Beas Zárate C., Schliebs R., Ortuño-Sahagun D., Morales-Villagran A. y Feria-Velasco A. (1994) Effect of systemic monosodium L-Glutamate on muscarinic cholinergic receptors in selected rat brain regions during development, *Archives of Medical Research*, 25: 341-346.
- 38.- O'Dell T. J., Hawkins R. D., Kandel E. R. y Arancio O. (1991) Test of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: Evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proceedong of the National Academy of Sciences USA.*, 88: 11285-11289.
- 39.- Amalric M., Ouagazzal A., Baunez C. y Nieoullon A. (1994) Functional interactions between glutamate and dopamine in the rat striatum ; *Neurochemistry International*, 25: 123-131.
- 40.- Gerfen Ch. R. (1992) The neostriatal mosaic: Multiple levels of compartamental organization in the basal ganglia, *Annual Review of Neurosciences*, 15: 285-320.
- 41.- Beas-Zarate C., Arauz-Contreras J., Velazquez A. y Feria-Velasco A. (1985) Monosodium L-glutamate-induced convulsions. II. Changes in catecholamine concentrations in various brain areas of adult rats, *General Pharmacology*, 16: 489-493.
- 42.- Beas-Zarate C., Schliebs R., Morales-Villagran A. y Feria-Velasco A. (1989) Monosodium L-Glutamate-induced convulsions : changes in uptake and release of catecholamines in cerebral cortex and caudate nucleus of adult rats, *Epilepsy Research*, 4: 20-27.

- 43.- Komuro H. y Rakio P. (1993) Modulation of neuronal migration by NMDA receptors, *Science*, 260: 95-97.
- 44.- Hirsch D. B., Steiner J. P., Dawson T. M., Mammen A., Hayek E. y Snyder S. H. (1993) Neurotransmitter release regulated by nitric oxide in PC-12 cells and brain synaptosomes, *Currents in Biology*, 3: 749-754.
- 45.- Dawson V. L., Dawson T. M., London E. D., Brecht D. S. y Snyder S. H. (1991) Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures, *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*, 88: 6368-6371.
- 46.- Bowling A. C. y Beal M. F. (1995) Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life Sciences*, 56: 1151-1171.
- 47.- Greene J. G. y Greenamyre J. T. (1996) Bioenergetics and excitotoxicity: the weak excitotoxicity hypothesis. En: "Neuroprotective Approaches to the Treatment of Parkinson's disease and Other Neurodegenerative Disorders". Eds. C.W. Olanow, P.Jenner and M. Youdim. Academic Press, London. p.125-142.
- 48.- Beal M. F. (1992) Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses? *Annals of Neurology*, 31: 119-130.
- 49.- Zeevalk G. D. y Nicklas W. J. (1990) Chemically induced hypoglicemia and anoxia: relationship to glutamate receptor-mediated toxicity in retina. *Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics*, 253: 1285-1292.
- 50.- Zeevalk G. D., Derr-Yellin E. y Nicklas W. J. (1995) NMDA receptor involvement in toxicity to dopamine neurons *in vitro* caused by the succinate dehydrogenase inhibitor 3-nitropropionic acid. *Journal of Neurochemistry*, 64: 455-458.
- 51.- Weller M. y Paul S. M. (1993) 3-Nitropropionic acid is an indirect excitotoxin to cultured cerebellar granule neurons. *European. Journal of Pharmacology*, 248: 223-228.

- 52.- Dubinsky J. M. y Rothman S. M. (1991) Intracellular calcium concentration during "chemical hypoxia" and excitotoxic neuronal injury. *Journal of Neurosciences*, 11: 2545-2551.
- 53.- Beal M. F. (1995) Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annals of Neurology*, 38: 357-366.
- 54.- Marey-Semper I., Gelman M. y Lévi-Strauss M. (1995) A selective toxicity toward cultured mesencephalic dopaminergic neurons is induced by the synergistic effects of energetic metabolism impairment and NMDA receptor activation. *Journal of Neurosciences*, 15: 5912-5918.