

160  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE LA INTOXICACION POR TALIO SOBRE  
LOS SISTEMAS MONOAMINERGICOS: DEGRADACION  
Y RECAMBIO DE LAS MONOAMINAS EN DIFERENTES  
REGIONES DEL CEREBRO DE RATA



T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A:  
LAURA OSORIO RICO



México, D. F.

1992

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I. INTRODUCCION.....	3
II. ANTECEDENTES.....	6
II. GENERALIDADES SOBRE TALIO .....	6
II.1.1.USOS .....	6
II.1.2.CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS .....	8
II.1.3.METABOLISMO .....	9
II.1.3.A. METABOLISMO CELULAR .....	9
II.1.3.B. ABSORCION Y EXCRECION .....	11
II.1.4. TOXICOLOGIA .....	13
II.1.4.A EFECTOS GASTROINTESTINALES .....	14
II.1.4.B.CAMBIOS DERMATOLOGICOS .....	14
II.1.4.C.EFECTO SOBRE RINON .....	15
II.1.4.D.EFECTO SOBRE SANGRE .....	15
II.1.4.E.EFECTO SOBRE HIGADO .....	15
II.1.4.F.EFECTO SOBRE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL .....	16
II.1.5. TERAPIA .....	18
II.2 GENERALIDADES SOBRE MONOAMINAS .....	21
II.2.1.CARACTERISTICAS DE LAS MONOAMINAS Y SUS METABOLITOS	20
II.2.2.RECAMBIO DE LAS MONOAMINAS .....	31
II.2.3.A.CARACTERISTICAS DE LA ENZIMA DE DEGRADACION: MONOAMINO OXIDASA (MAO) .....	36

II.2.3.B.EFECTO DEL TALIO SOBRE LA ACTIVIDAD DE MAO .....	38
III.A. HIPOTESIS.....	41
III.B. OBJETIVOS .....	41
IV. MATERIAL Y METODOS .....	42
IV.1.A. REACTIVOS .....	42
IV.1.B. MANEJO DE LOS ANIMALES... ..	42
IV.2. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD DE MAO POR FLUOROMETRIA ..	44
IV.3. EVALUACION DE LA TASA DE RECAMBIO DE LAS MONOAMINAS POR HPLC .....	45
V. RESULTADOS .....	47
V.1. ACTIVIDAD DE LA MAO .....	47
V.2. TASA DE RECAMBIO DE 5-HT Y DA .....	47
VI.DISCUSION .....	59
VII.CONCLUSION .....	62
VIII. REFERENCIAS .....	63
IX. APENDICE.....	73
IX.1. FLUOROMETRIA.....	73
IX.2. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS.....	78

## I. INTRODUCCION

El talio es un metal tóxico capaz de acumularse en el organismo. Durante algún tiempo el talio se empleo como agente terapéutico en pacientes con sífilis, tuberculosis y disenteria. Más tarde se utilizó como cosmético depilatorio, provocando síntomas de envenenamiento debido a que el talio se absorbe por piel. En la actualidad se utiliza como raticida, insecticida y en diversos productos industriales. Los orígenes más comunes del envenenamiento son: accidental, exposición ocupacional o ambiental, y con fines suicidas y criminales. Las manifestaciones que se presentan son a nivel gastrointestinal y de sistema nervioso central y periférico.

El talio produce efectos enzimáticos, coenzimáticos y sobre proteínas estructurales, causando disturbios metabólicos en tejidos y órganos, provocando anormalidades neurológicas y psiquiátricas en los pacientes. La acción de talio esta relacionada con el transporte de potasio, debido al parecido químico que el talio tiene con ese ion. El talio penetra en los organelos celulares, entre ellos la mitocondria, que se ve afectada por una hinchazón de sus membranas, además de alteración en la actividad de las enzimas relacionadas con esta. La monoamino oxidasa (MAO) es una enzima que se encuentra en la membrana externa de la mitocondria e interviene en la degradación de las monoaminas. Las monoaminas son neurotransmisores producidos en el cerebro, células cromafines, nervios y ganglios simpáticos, y han sido involucradas en el ciclo sueño-vigilia, sistema motor y área límbica.

Existe poca información acerca del efecto de talio sobre el sistema nervioso central, además de existir controversias sobre las alteraciones provocadas por este elemento en los sistemas monoaminérgicos centrales. Estudios previos informan de un aumento en la actividad de MAO en hígado de rata. En contra posición, se ha reportado que existe una disminución de esta enzima de hasta el 32% en el cerebro. Tales contradicciones nos llevaron a evaluar la actividad de la MAO y el recambio de las monoaminas que ella degrada como es el caso de dopamina (DA) y serotonina (5-HT) en el tejido cerebral de rata.

Para la determinación del efecto de talio en las monoaminas se propuso medir la actividad de MAO así como el recambio de las monoaminas. Se entiende como recambio a la tasa global a la cual toda la amina almacenada es reemplazada en un determinado tejido. La tasa de recambio se ha valorado a partir de varios tratamientos, incluyendo la estimación de los niveles de DA y 5-HT y sus respectivos metabolitos; encontrando que el tratamiento de probenecid es el más adecuado para la evaluación del recambio, usando cromatografía de líquidos de alta resolución, tal como se realizó en el presente trabajo.

Los resultados observados se correlacionan con los obtenidos por Woods y Fowler, encontrándose incrementos significativos en la actividad de la MAO en la corteza, el cuerpo estriado, el puente y el mesencefalo. En cuanto a el recambio de las monoaminas las regiones afectadas fueron el puente y el mesencefalo con incrementos en las concentraciones del ácido 5-hidroxiindolacético, mientras que en el recambio de dopamina

sólo se observó un incremento en el cuerpo estriado. Los resultados sugieren que al ser afectada la mitocondria por la penetración del talio, esta pierde su estructura normal lo que promueve que la MAO quede expuesta y posiblemente genere un incremento en la actividad conforme la dosis de talio incrementa. Al existir un incremento de la MAO podría propiciar un incremento en el recambio de las monoaminas (serotonina y dopamina).

## II. ANTECEDENTES

### II.1. GENERALIDADES SOBRE TALIO.

#### II.1.1. USOS

El talio es un metal que se descubrió espectroscópicamente por Sir. William Crookes en mayo de 1861, en Alemania. Crookes por la línea espectral que presentaba el elemento, de color verde llamó al nuevo metal talio del griego "thallos" raíz joven.

En 1862 Lamy, un francés, descubrió la misma línea espectral, estudiando las propiedades físicas y químicas del talio. El nuevo descubrimiento del metal fue clasificado por Crookes en la familia sulfuro, pero Mendelejev lo integró en el grupo III de la tabla periódica por sus propiedades fisicoquímicas. A finales del año de 1800, el sulfato de talio se usó como tratamiento para la sífilis, gonorrea, disentería y para la sudoración nocturna en pacientes con tuberculosis (Prick, 1979).

En 1920, el talio se usó como raticida e insecticida, reportándose varios casos de intoxicación en Estados Unidos, y no fue sino hasta 1957 en que su uso se restringió en este país. Sin embargo, en algunos países, entre ellos México, aún se distribuyen los raticidas a base de talio, y se han utilizado en intentos de suicidio y homicidio, como los 50 pacientes reportados a lo largo de 9 años, en la ciudad de Monterrey, Nuevo León (Rangel et al, 1990).

En 1979, un estudio realizado en Alemania por Brockhaus y colaboradores, consideraron al talio como un agente contaminante ambiental, debido a que este metal es emitido durante la elaboración de cemento. Se demostró que las poblaciones que



habitan cerca de las áreas cementeras, presentan mayor concentración del metal en sangre que en aquellas que se encuentran más alejadas de la fuente (Brockhaws et al, 1980).

El talio ha tenido un uso aún mayor en la URSS, por ejemplo, donde se extrae como subproducto de plantas metalúrgicas de plomo, zinc y cobre entre otras, produciendo una grave contaminación laboral e industrial debida a este metal.

Entre otros usos se encuentran los que a continuación se mencionan (Prick, 1979; Eyton, 1982 y Douglas et al, 1990):

- Se utiliza como semiconductor y en la ingeniería eléctrica.
- La aplicación de cantidades pequeñas de talio permite disminuir el consumo de materiales costosos como: selenio, cadmio, bismuto y otros elementos en la manufactura de rectificadores.
- El talio metálico en mezcla con otros materiales, se usa para la producción de fototriodos con sensibilidad en la región espectral de infrarrojo.
- En ingeniería nuclear los compuestos de talio encuentran aplicación como activadores de cristales de luminiscencia en varios modelos de contadores de centelleo.
- En electrónica, el talio metálico se utiliza para instrumentos espectrales involucrados en el control de calidad de films y negativos, así como para la evaluación de fotoimpresores de rayos-X en diagnosis clínica.
- En óptica, para la fabricación de prismas y lentes de espectroscopia infrarroja, así como en lentes para objetivos de microscopia.
- El malonato de talio se aplica ampliamente en investigaciones mineralógicas y análisis geológicos.

-El acetato, carbonato y sulfato de talio han sido usados como raticidas. El más común es conocido como "Zelio", que contiene un 2% de sulfato de talio.

-El acetato de talio se aplica como agente depilatorio.

-Las sales de talio se usan como antidetonantes en la gasolina.

-En varias reacciones y procesos químicos se han empleado sales del metal.

-El Tl-201 es usado en medicina clínica para el estudio de circulación miocardiaca así como para la visualización de tumores (Brismar et al. 1989).

#### II.1.2. CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

El talio es un elemento químico que se ubica en el grupo III de la tabla periódica y se considera uno de los elementos más dispersos, que se encuentra en pequeñas cantidades en varias rocas, suelos, algunas especies de plantas, aguas de algunos mares y en minerales. Las características fisicoquímicas del talio son las siguientes (Prick, 1979; Eyton, 1982):

Incoloro

Inspido

Inoloro

Valencias : I y III

Número atómico : 81

Peso atómico : 204.39

Punto de ebullición: 1 463°C

Peso específico ( 20°C ) : 11.85

Radio iónico : 1.44 Å

### II.1.3. METABOLISMO

#### II.1.3.A. Metabolismo Celular

La capacidad del talio para mimetizar la acción biológica del potasio, se atribuye a la incapacidad de las membranas celulares para distinguir entre el talio y el potasio, posiblemente por el parecido de sus cargas iónicas y el radio. El potasio tiene un radio de 1.33 Å, mientras que para el talio es de 1.44 Å; así se supone que el talio tiene la capacidad de interferir completamente en las reacciones biológicas dependientes del potasio.

Entre otras reacciones biológicas, el talio puede reemplazar la fisiología de  $K^+$  en la activación de varias enzimas dependientes de cationes monovalentes, por ejemplo: piruvato cinasa (Kayne, 1971), la aldehído deshidrogenasa (Bostian, 1982) y  $(Na^+/K^+)ATPasa$  (Jensen and Norby, 1989). El talio también reemplaza al  $K^+$  en la estabilización de los ribosomas, así como en funciones fisiológicas tales como la contracción muscular (Douglas et al. 1990) y en la actividad cardíaca (Hughes et al. 1978).

El talio además activa la acetiltransferasa y la p-nitrofenilfosfatasa en microsomas del cerebro. La afinidad del talio es aproximadamente de 9 a 10 veces más grande que la afinidad del potasio por los sitios biológicos, lo que sugiere que el ion talio y el potasio tienen un sitio común de activación de acetilfosfatasa y p-nitrofenilfosfatasa (Insturrisi, 1969).

Los hallazgos del parecido del talio con el potasio, han sugerido que el talio penetra dentro de las células por las mismas vías que lo hace el potasio, usando los mismos mecanismos, lo que ayuda a explicar la acumulación general del talio en todas las células (Cavanagh et al, 1974).

Otras reacciones en las que el talio interviene son las de antagonizar el efecto de calcio en corazón, provocando efectos cardiacos de hipocalemia.

Un importante fenómeno en pacientes que sufren por envenenamiento por talio es la presencia de porfirinas en orina. Estos productos de oxidación de precursores hemo aparecen en la orina debido a que el metabolismo hemo de algún modo llega a ser afectado. El grupo hemo es el grupo prostético de varias sustancias biológicas activas, tales como la hemoglobina, mioglobulina y los citocromos. La síntesis del grupo hemo que toma lugar en células de los compuestos elementales de succinato y glicina (Prick, 1979).

El talio como otros metales pesados tienen afinidad por los grupos sulfhidrilos (SH), interfiriendo en las enzimas que los contienen, especialmente de los enlaces de la cadena respiratoria mitocondrial y la síntesis de proteínas, particularmente en la incorporación de cisteína, que es inhibida por este ion (Saddique y Peterson, 1983).

El talio monovalente forma un fuerte enlace con grupos SH, lo que hace que, los grupos SH sean capaces de formar enlaces disulfuro (S-S) existiendo desordenes de los pasos metabólicos en la presencia de los iones talio (Prick, 1979).

### II.1.3.B. Absorción y Excreción

El talio se absorbe a través de la piel y por el tubo gastrointestinal, desde donde se distribuye rápida y uniformemente a todas las partes del cuerpo, y de los compartimentos intracelulares. La eliminación ocurre muy lentamente a través del tubo gastrointestinal y los riñones (Fig. 1). Estudios realizados en pacientes intoxicados con dosis elevadas de talio, demuestran que la eliminación del metal es mayor por la orina que por las heces, debido a la paralización del íleon (Hologgitas et al, 1980). Barclay encontró que la eliminación en humanos es mayor en la orina en contraste con la rata en donde la mayor eliminación es en las heces fecales (Chamberlain et al, 1958).

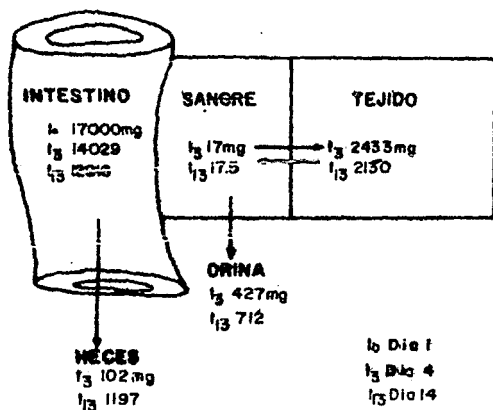


FIGURA 1. Modelo de absorción de talio en tres compartimentos: sangre, intestino y tejido y dos rutas de eliminación: heces y orina (Ref. Hologgitas et al. 1980). El talio en la sangre se distribuye hacia los tejidos de donde se elimina vía orina a partir del cuarto día. El material fecal toma varios días para que el talio pueda eliminarse debido a la paralización del ileon. t<sub>0</sub> = primer día, t<sub>3</sub> = cuarto día t<sub>13</sub> = día catorce.

La distribución de talio en órganos tales como cerebro, riñón, hígado, pulmón, corazón y músculo muestran que la mayor concentración de talio está en el riñón mientras que la concentración menor se encuentra en el cerebro tanto en humanos como en animales experimentales (Hologgitas, 1980; Ríos, 1989; Rauws 1974 y Ziskoven, 1983). Sin embargo, en el cerebro de la rata existe una acumulación rápida y diferencial del metal en las siguientes regiones : corteza cerebral, cerebelo, estriado, puente, tálamo, hipocampo, mesencéfalo e hipotálamo. Se ha encontrado que a una dosis de 32 mg/kg, en un tiempo de 24 horas, el contenido de talio es mayor en el hipotálamo mientras que en la corteza se encontró una menor concentración (Ríos, 1989).

#### II.1.4. TOXICOLOGIA

Los compuestos de talio monovalente son más tóxicos que otros iones de este elemento (Prick, 1979).

La diagnosis de envenenamiento por talio resulta difícil debido a la naturaleza tan compleja de la toxicidad involucrada en múltiples órganos y su sintomatología poco específica. Sin embargo, los síntomas iniciales provocados por la intoxicación de talio, en el hombre incluyen: fiebre, problemas gastrointestinales, delirio, temblor, parestesias en extremidades inferiores, somnolencia, convulsiones, ataxia, encefalopatía, taquicardia, erupciones en la piel, estomatitis, coma, líneas de Mees en uñas, además de cambios degenerativos del corazón, hígado y riñón (Smith y Doherty, 1964). Existe también desarrollo de

comportamiento psicótico como alucinaciones y demencia. Sin embargo, el signo más característico por esta intoxicación es la alopecia (Domitru and Kalantri, 1980).

#### II.1.4.A. Efectos gastrointestinales

Inicialmente el paciente presenta náuseas y vómito, y al término de la primera semana se presentan dolores abdominales no específicos, los cuales son generalmente severos (Saddique et al, 1983 y Chamberlain et al, 1958).

#### II.1.4.B. Cambios dermatológicos

La alopecia es el síntoma más característico por intoxicación de talio y aparece alrededor de la segunda semana posterior al envenenamiento. La cisteína contiene un grupo SH, que es un constituyente del cabello, el cual es bloqueado por el talio provocando un eritema alrededor de los folículos del cabello lo que provoca a la tercera semana, pérdida total del mismo. En el examen microscópico, las raíces del cabello tienen una apariencia negruzca. Después de tres semanas comienzan a crecer estrias blancas a través de las uñas, denominadas líneas de Mees. Su desarrollo es paralelo al crecimiento de las uñas (Prick, 1979).

El sistema glandular es afectado drásticamente produciéndose daño en las glándulas sudoríparas, que inducen una apariencia escamosa en la piel.



#### II.1.4.C. Efectos sobre el riñon

En un caso fatal de talio toxicosis, el riñon muestra cambios de necrosis aguda tubular (Hologgitas et al, 1980). Existe hinchazón de las células epiteliales glomerulares, presencia de algunas vacuolas en el tubo proximal renal e incremento en el número de cuerpos densos observados en la mitocondria; conforme pasa el tiempo, la pérdida de crestas en la mitocondria es significativa (Herman y Bensch, 1967).

#### II.1.4.D. Efectos sobre la sangre

En una fase inicial parece existir un decremento ligero de linfocitos, probablemente por la inhibición tóxica de talio, seguida por una normalización en el curso de la convalecencia. En casos severos se ha observado una marcada anemia (Moeschlin, 1980; Luckit et al, 1990).

#### II.1.4.D. Efectos sobre el hígado

Estudios realizados en hígado de rata demostraron que se producen alteraciones en los organelos celulares por intoxicación con talio además de alteraciones bioquímicas de algunas enzimas como se muestra en el cuadro I.A. Existe una relación entre el deterioro biológico de los procesos de ciertos metales y el rompimiento de las membranas de los organelos subcelulares. Los estudios morfométricos indican un incremento en el volumen de los organelos, entre ellos la mitocondria, que están asociados con alteraciones en la actividad de las enzimas presentes en sus membranas, como es el caso de la monoamino oxidasa (Woods and Fowler, 1989) Cuadro II.A.

#### II.1.4.F. Efectos en el sistema nervioso central

Por exámen del sistema nervioso central mediante microscopia de luz, se presenta una alteración en las células ganglionares de la corteza cerebral, cambios de las neuronas del tallo cerebral y estructuras subcorticales asociadas. Existen también lesiones en la materia blanca, cuya característica más importante es la presencia de edema, el cual algunas veces cambia espontaneamente, y esto podría reflejar una condición clínica en el paciente, por ejemplo: coma, seguida por signos de disturbio mental. Sin embargo, el edema puede difundirse hacia los ganglios basales produciendo temblor, corea y otros disturbios motores extrapiramidales y de rigidez (Eyton, 1982).

Se ha mostrado una variedad de cambios morfológicos de la mitocondria en los órganos anteriores. En la intoxicación por talio la membrana mitocondrial tiene un incremento aparente de crestas y alargamiento de los gránulos mitocondriales (Herman y Bensch, 1967).

La administración de acetato de talio (5mg/kg) por una semana en ratas produce una caída de los niveles de dopamina en hipotálamo, áreas límbicas y cuerpo estriado. Además de un incremento de 5-HT, en cuerpo estriado, tallo cerebral y cerebelo, mientras que en noradrenalina no hay ningún cambio significativo (Hasan et al. 1978).

**CUADRO I.A. Actividad de las enzimas  
del hígado de rata (nmoles)**

<b>Enzimas</b>	<b>Control</b>	<b>50mg/kg</b>	<b>100mg/kg</b>
<b>MAO</b>	<b>68.90</b>	<b>67.41</b>	<b>95.73 *</b>
<b>Ferroquelasa</b>	<b>1.35</b>	<b>1.87 *</b>	<b>1.89 *</b>
<b>ALA sintetasa</b>	<b>0.64</b>	<b>0.51 *</b>	<b>0.32 *</b>

**CUADRO I.B. Relación entre el volumen mitocondrial  
y la actividad de MAO**

	<b>DOSIS DE TALIO</b>		
	<b>CONTROL</b>	<b>50mg/kg</b>	<b>100mg/kg</b>
<b>Volumen mitocondria</b>	<b>0.1900</b>	<b>0.2433*</b>	<b>0.2467*</b>
<b>Actividad MAO (nmoles)</b>	<b>68.90</b>	<b>67.41</b>	<b>93.73*</b>

*Cuadro I y II.- Relación que existe entre el aumento del volumen de los organelos y el aumento en la actividad de la MAO dosis-dependiente en hígado de rata (Wood y Fowler 1989).*

### II.1.5. TERAPIA

En 1956, Lund encuentra que la administración de sales de potasio protegen parcialmente de la intoxicación por talio. El potasio parece incrementar la excreción urinaria de talio, sin embargo se ha demostrado que la dosis letal cincuenta (LD50) en ratas se incrementa cuando se ingiere una cantidad mayor de potasio. Este incremento puede deberse a que el potasio inhibe la reabsorción del talio en el tubulo renal o porque el potasio puede desplazar al talio intracelular y por lo tanto causa un incremento en la concentración del talio en la sangre, y posiblemente una redistribución del metal hacia el sistema nervioso central (Thompson, 1981). Posteriormente se consideró a la ditizona como un agente quelante muy efectivo (Lehman y Favari, 1985), que podría proteger hasta un 100% a las ratas que se les administró una dosis de talio de 30 mg/kg (Chamberlain et al 1958). Sin embargo, en humanos los resultados indican lo contrario, reportándose incrementos en la severidad de los síntomas después de la administración de ditizona (Thompson, 1981). En 1963, el dietilditiocarbamato fue usado por Bas en el tratamiento de la intoxicación por talio. La acción de este agente quelante provocó un aumento en su excreción por orina. Sin embargo existen efectos colaterales en experimentos con ratas, debido a que el dietilditiocarbamato quela al talio extracelular disminuyendo la cantidad del metal en sangre, pero se redistribuye hacia los demás órganos como son: hígado, riñón, intestino, músculo y cerebro (Cavanagh et al. 1974 y Kamerbeek et al. 1979).

Existen evidencias de que el dietilditiocarbamato quela al talio formando un complejo lipofílico, que puede cruzar la barrera hematoencefálica, rompiéndose dicho complejo, lo cual permite el paso libre de los iones talio hacia las células nerviosas (Wainwright et al, 1988). El nivel del talio en la sangre (iónico y quelado), aumenta, lo cual explica la excreción urinaria del talio; el quelato circula a través del cuerpo y se difunde dentro de las células, descomponiéndose en ion talio y metabolitos de dietilditiocarbamato. El ion talio libre extracelular se transporta de nuevo dentro de las células, y la concentración de ditiocarbamato en el fluido extracelular declina. El patrón de distribución del talio depende de las propiedades de vascularización de los diferentes tipos de tejidos (Kamerbeek et al, 1971a).

El tratamiento con hemodiálisis resulta efectivo para la extracción de talio en combinación con la hemoperfusión. Sin embargo, la cantidad de talio extraída por este método es proporcional a las concentraciones en suero, y por esta razón no resulta un método efectivo. Sólo en caso de que exista una intoxicación grave por talio o por insuficiencia renal en el paciente, es recomendable este tipo de terapia (De Backer et al, 1982; Wainwright, 1988).

En México se ha empleado a la D-penicilamina en pacientes intoxicados con talio. La D- penicilamina contiene átomos donadores de electrones del azufre y del nitrógeno, el primero tiene afinidad por talio, por el cual podría formar un quelato estable, que hipotéticamente se eliminaría por la orina, produciendo disminución de la concentración de talio sanguíneo.

(Montoya et al, 1979). Por el contrario, estudios recientes indican que la administración de D-penicilamina en ratas, potencia los efectos letales de talio, induciendo una redistribución perjudicial del metal de los órganos al cerebro (Ríos y Monroy, 1992).

Al azul de prusia (potasio férrico hexacianoferrato II), se le considera como la terapia más apropiada para el tratamiento de pacientes intoxicados con talio (Thompson, 1981). La administración de azul de prusia por vía oral resulta efectiva solo en el caso de que se ingiera una cantidad grande de talio (Hologgitas et al, 1980). El tratamiento con azul de prusia en animales experimentales provoca una excreción urinaria de talio reducida, de aproximadamente una tercera parte, mientras que la excreción fecal se incrementa al doble (Júarez, et al, 1988). Las concentraciones cerebrales de talio también se ven reducidas en una tercera parte (Raws, 1974). El mecanismo de acción del azul de Prusia parece ser el cambio de los iones potasio por los iones talio, formando un complejo que se excreta dentro del intestino, incrementando la excreción fecal de talio; debido a que el complejo no es reabsorbido y por lo tanto los efectos colaterales son mínimos (Kamerbeek et al, 1971b).

La administración de D-penicilamina en combinación con azul de prusia protege significativamente a los animales de la acción letal del talio, por medio de un aumento en la excreción del metal y disminución en los niveles de talio corporal libre (Ríos y Monroy, 1992).

## II.2. GENERALIDADES SOBRE MONOAMINAS

### II.2.1 CARACTERISTICAS DE LAS MONOAMINAS Y SUS METABOLITOS

El cerebro se ha caracterizado por la organización tan compleja de sus partes y la especialización de sus células. Las células nerviosas o neuronas, transmiten las señales y se encuentran relacionadas funcionalmente con células de tipo sensorial, satélites o neuroglia, musculares y glandulares. La función de los órganos depende de estas interacciones celulares que se dan a partir de conexiones denominadas sinapsis (Gordon et al, 1976). La función de las neuronas como transmisores de los impulsos nerviosos está relacionada con el mantenimiento de los gradientes iónicos dependientes de energía y esto a su vez está asociado con la capacidad de las neuronas para elaborar y liberar en forma específica a los mensajeros químicos conocidos como neurotransmisores. En las sinapsis existe una estrecha proximidad entre la terminal de una membrana neuronal y la superficie de la otra neurona. La llegada de un impulso eléctrico causa la liberación de moléculas de los transmisores de la terminal. Las moléculas transmisoras liberadas se difunden al espacio que existe entre las dos células, llamado espacio sináptico, y actúa sobre sitios específicos receptores de la neurona vecina (Fig.2). Se conocen diferentes sustancias que podrían actuar como neurotransmisores cerebrales y producir un efecto inhibitor o excitador sobre las neuronas. Un transmisor se puede definir como una sustancia que se libera de una sinapsis a partir de una neurona y que afecta a otra célula (neurona u órgano efector) de una manera específica. Existen criterios para poder determinar qué sustancia se debe de considerar como transmisor : 1) Se debe

de sintetizar en una neurona. 2) Se encuentra presente en la terminal y es liberada en cantidades suficientes para ejercer su acción sobre la neurona postsináptica u órgano efector. 3) Cuando se aplica exogenamente (como una droga) en concentraciones razonables, mimetiza exactamente la acción del transmisor liberado endogenamente. 4) Debe existir un mecanismo específico para removerlo de su sitio de acción (el espacio sináptico) (Kandel et al 1991). Los transmisores se encuentran distribuidos en el cerebro en áreas específicas de las neuronas. Existen técnicas apropiadas que proveen de información acerca de la distribución anatómica de neurotransmisores en circuitos neuronales específicos del cerebro. Ello ha revelado que los neurotransmisores por lo general se localizan en vesículas aunque pueden encontrarse en el citoplasma en donde pueden ser degradadas. Por ejemplo la monoamino oxidasa que degrada a las monoaminas biogénicas (Schwartz, 1991). El proceso vesicular de captura tiene amplia especificidad por el sustrato y puede transportar una gran variedad de aminas biogénicas, incluyendo triptamina y tiramina. Estas aminas compiten con catecolaminas endógenas por sitios de almacenamiento vesicular. Las vesículas juegan un doble papel: mantienen el suplemento de catecolaminas en la terminal disponible a liberarse y regulan el proceso de liberación. Cuando el potencial de acción se alcanza en la terminal nerviosa, los canales de calcio se abren, permitiendo el influjo del catión al interior de la terminal, incrementado el calcio intracelular y promoviendo la fusión de las vesículas con la membrana neuronal. Las vesículas entonces descargan su

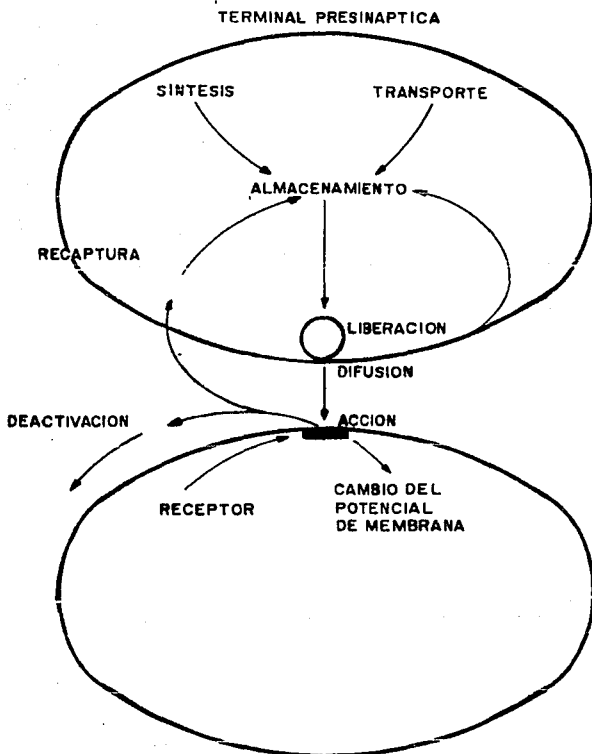


contenido soluble por exocitosis, incluyendo al neurotransmisor en el espacio extraneuronal (Weiner and Molinoff, 1989; Müller et al. 1977; Schwartz, J.M., 1991). No todas las sustancias que son liberadas por las neuronas son liberadas por mecanismos de exocitosis. Tal es el caso de metabolitos de las prostanglandinas y lipoxigenasas, que son permeables y pueden atravesar la bicapa lipídica por difusión. Otras sustancias pueden ser transportadas por acarreadores. Después de la liberación de los transmisores, pueden estar sujetos a uno de los siguientes mecanismos: difusión, degradación enzimática o recaptura. La difusión remueve una fracción del mensajero químico. La degradación enzimática del transmisor se realiza en el interior de la neurona o fuera de ella. Estas enzimas son importantes en el control de las concentraciones de los transmisores. Algunas de estas vías son importantes clínicamente. Por ejemplo los inhibidores de la MAO, los cuales bloquean la degradación de las aminas dentro de la célula, se usan para el control de la presión sanguínea alta y tratamiento de la depresión (Schwartz, 1991).

El mejor mapeo que se tiene sobre neurotransmisores es aquel de las monoaminas: norepinefrina, dopamina y serotonina (Iversen, 1979 y Kandel et al. 1991). Las catecolaminas como son dopamina (DA), norepinefrina (NE) y epinefrina (E) son neurotransmisores del sistema nervioso periférico y central. Las enzimas involucradas en la biosíntesis de catecolaminas han sido purificadas, permitiendo un análisis detallado de su cinética, especificidad del sustrato, los requerimientos de un cofactor y el desarrollo de los inhibidores (Weiner y Molinoff, 1989) (FIG. 3). Las características anatómicas de los sistemas centrales

*catecolaminérgicos* presentan cuerpos celulares localizados en el tallo cerebral dentro de las áreas consideradas como parte de la formación reticular. Las neuronas catecolaminérgicas presentan axones extremadamente delgados ( $<0.5\mu\text{m}$ ), además de no presentar mielina. Sus características fisiológicas se deben a que sus axones son finos y desmielinizados, su velocidad de conducción parece ser extremadamente baja. Se ha estimado que los impulsos viajan a una velocidad de alrededor de  $0.5\text{m/seg}$  dentro de los axones catecolaminérgicos, en contraste con  $100\text{m/seg}$  o más en neuronas motoras grandes. Además, las proyecciones catecolaminérgicas tienen una tasa de disparo baja de un rango de  $1-15\text{ hz}$  en comparación con la tasa de neuronas motoras que pueden alcanzar hasta  $100\text{ hz}$  (Stricker and Zigmond, 1984).

# SINAPSIS QUIMICA



*FIGURA. 2.\_ Esquema de la función sináptica en el sistema nervioso central. (Gordon et al, 1976). Las neuronas tienen la capacidad de elaborar o liberar neurotransmisores, los cuales se difunden al espacio sináptico y actúa sobre sitios específicos de los receptores de la neurona vecina.*

## SINTESIS DE CATECOLAMINAS

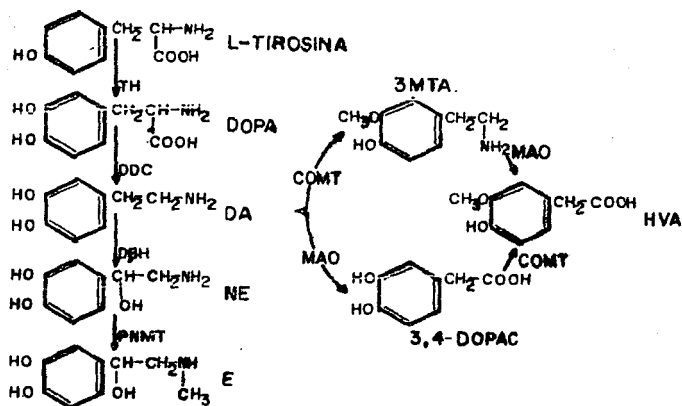


FIGURA.3.\_ Esquema de la síntesis de las catecolaminas. TH: Tirosina hidroxilasa. DDC: DOPA descarboxilasa. DBH: Dopamina B-hidroxilasa. PNMT: Feniletanolmetionina N-metiltransferasa. NE: norepinefrina DA :dopamina. HVA ácido homovanílico. MAO: monoamino-oxidasa. COMT: catecol-O-metiltransferasa. 3,4-DOPAC: 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina. (Weiner and Molinof, 1989).

La biosíntesis de las monoaminas se lleva a cabo a partir de la tirosina hidroxilasa (TH), que es una oxidasa que utiliza al oxígeno molecular, a la tirosina como sustrato y la biopterina como cofactor. La TH oxida a la tirosina la cual se convierte a L-DOPA. La TH es una enzima soluble localizada en el citosol en los procesos neuronales que contienen catecolaminas. La dopa descarboxilasa (DDC) es la enzima que cataliza el traslado del grupo carboxilo de DOPA a DA, también esta enzima descarboxila el 5-hidroxitriptofano, el precursor de la serotonina (5-HT), así como a otros aminoácidos aromáticos (Weiner and Molinoff, 1989 y Schwartz, 1991). La síntesis y la degradación de la DA cerebral ocurre en el sistema nigroestriatal, mesolímbico y tuberoinfundibular. La vía nigroestriatal esta involucrada en la función extrapiramidal motora, la tuberoinfundibular (intrínseca al hipotálamo) se relaciona con la regulación neuroendocrina y la vía mesolímbica con las funciones de motivación (Willner et al, 1991; Salamone, J.D. 1991). Otras fibras dopaminérgicas que se han identificado en el cerebro, son las de la retina y la médula espinal (Siegel et al, 1992). La vía dopaminérgica mayor en el cerebro se origina en la parte compacta de la sustancia negra, y envía sus axones que proveen una densa inervación al núcleo caudado y putamen del cuerpo estriado (Weiner y Molinoff, 1989). En el caso de la 5-HT se encuentra en el sistema nervioso central, glándula pineal y células cromafines del tracto gastrointestinal y plaquetas; la localización subcelular es predominante en terminales nerviosas. Las catecolaminas concentradas en vesículas de almacenamiento están presentes en alta densidad dentro de terminales nerviosas (Weiner and

Molinoff, 1989 y Müller et al 1977). Comúnmente existen concentraciones bajas de catecolaminas libres en el citosol, donde pueden ser metabolizadas por enzimas como a la monoamino oxidasa (MAO) y la catecol-oximetiltransferasa (COMT). Así, la conversión de tirosina a L-DOPA y de L-DOPA a DA, ocurre en el citosol. El mecanismo que concentra a las catecolaminas en vesículas es un proceso dependiente de ATP ligado a una bomba de protones. Las catecolaminas atraviesan la membrana de las vesículas por un gradiente de pH, manteniendo un pH de 5.5 dentro de la vesícula en comparación con el citoplasma que es de 7. Este mecanismo de transporte en la membrana vesicular es por hidrólisis de ATP ligado a protones. La entrada de protones hace que el interior de la vesícula sea más ácido que el citoplasma (Weiner y Molinoff, 1989). El metabolismo de la 5-HT involucra varios mecanismos: recaptura de triptofano por terminales, hidroxilación y descarboxilización hasta 5-HT (Fig.4). Tal como la tirosina hidroxilasa, la triptofano hidroxilasa requiere de oxígeno, fierro y un cofactor bipterina. En el cerebro el triptofano parece residir en las terminales nerviosas y su distribución es proporcional a la de 5-HT. El triptofano es un aminoácido parcialmente enlazado a la albúmina en el plasma, en contraste a la tirosina, la cual está libre. Una vez que el triptofano ha penetrado al cerebro realiza la síntesis de 5-HT. La degradación de 5-HT es vía MAO y el producto final de la degradación es el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA). El contenido de 5-HIAA es igual en el líquido cefalorraquídeo, el cerebro y la sangre (Müller et al. 1977 y Schwartz, 1991).

## BIOSINTESIS DE 5-HT

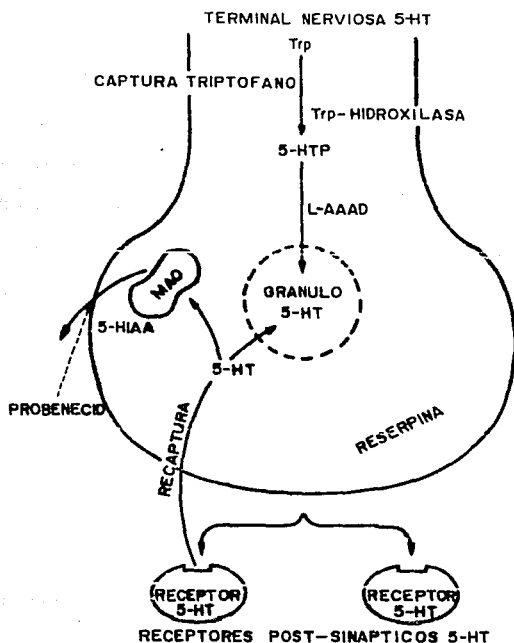


FIGURA 4. Esquema del metabolismo de serotonina (5-HT). (Muller et al, 1977). El metabolismo de serotonina implica varios mecanismos: La captura de triptofano por la terminal nerviosa. El triptofano se degrada por la enzima triptofano hidroxilasa para dar origen a la síntesis de 5-HT. Este último puede ser almacenado en vesículas, degradado por la MAO o liberado de la terminal nerviosa.

Numerosas investigaciones han demostrado que las alteraciones en la actividad de varios neurotransmisores en el sistema nervioso central, especialmente DA, NE y 5-HT provocan alteraciones en varias funciones como el aprendizaje, la memoria, el sueño, la motivación y la actividad motora. Algunas de estas funciones están moduladas por el sistema Hipotálamo-pituitaria. Estas alteraciones también están relacionadas con la edad, mostrando una disminución en la actividad de las monoaminas en el cerebro y otros tejidos conforme aumenta la edad. Por lo anterior se ha podido concluir que la disminución de las catecolaminas y el aumento en la actividad de la MAO en ciertas áreas cerebrales podrían ser las responsables de la depresión asociada con la edad (Pradhan, 1980). La actividad de serotonina también se relaciona con el insomnio como lo reportan los estudios realizados por Depoortere, 1988; en donde la disminución de la actividad de 5-HT produce insomnio, mientras que un incremento en la actividad de esta monoamina llega a producir un incremento en el sueño. La destrucción de neuronas serotoninérgicas modifican las siguientes actividades: en la actividad locomotriz, modulación del dolor, movilidad intestinal, regulación de la presión sanguínea, agresión, comportamiento sexual, aprendizaje, ansiedad y depresión (Rogawski and Barker, 1985); así como una importante influencia sobre la termorregulación (Sanders-Bosh, 1988).

La dopamina interfiere en el comportamiento de acciones específicas en algunas especies. El bloqueo de dopamina causa disminución en la locomoción, casos severos de afagia y reducción en la respiración (Trendelenburg and Weiner, 1989).



## II.2.2 RECAMBIO DE LAS MONOAMINAS

En estudios *in vivo*, el sistema nervioso central se considera como un sistema abierto. Esto significa que, un precursor entra al sistema y los metabolitos salen de él. La localización de una sustancia no necesariamente es uniforme dentro del sistema, y por lo tanto, un sistema puede contener varios campos o compartimentos. Un compartimento se define como la cantidad de una sustancia que tiene cierta cinética distinguible y de transformación uniforme. Por ejemplo, en la dopamina se distinguen dos compartimentos en el sistema nigroestriatal, que consiste de dos tipos de células nerviosas o alternativamente cada célula nerviosa contiene dos compartimentos. Esto a menudo supone que un sistema o compartimento pueden estar en su estado basal. Este término indica que la tasa de traslado de una sustancia es igual a su estado de entrada dentro del compartimento o sistema, la entrada de esta sustancia al sistema se da por conversión química (síntesis) o por traslocación (transporte). La tasa de traslado de un sistema es determinado tanto por un proceso enzimático (degradación de la sustancia) o por traslocación ( transporte activo o de difusión). Bajo condiciones de estado basal, la tasa de entrada o de traslado de un compartimento es igual a la tasa de recambio. La tasa de recambio puede ser denotada mediante aspectos cuantitativos mientras que la palabra recambio indica en el sentido cualitativo los procesos de transferencia o transformación de una determinada sustancia entre los compartimentos. Por lo tanto la tasa de recambio implica la síntesis, el transporte y la degradación de

una sustancia (Korf, 1985).

Los estudios realizados sobre los neurotransmisores cerebrales, indican que su conversión es a menudo lineal. Esto significa que existe una secuencia simple de eventos : del precursor a la sustancia y de la sustancia a los metabolitos. El precursor puede ser un derivado de la sangre o de un compartimento intracelular relacionado al sitio de síntesis, y los metabolitos son formados a partir de la sustancia y eventualmente salen del sistema nervioso central. Este esquema es aplicable a las aminas biogénicas, tales como noradrenalina, dopamina, adrenalina y serotonina, pero no a otros neurotransmisores, entre ellos los aminoácidos y la acetilcolina (Korf, 1985). El recambio de las catecolaminas en el cerebro puede ser ajustado por los factores ambientales, de la fisiología y del comportamiento, tales como son temperatura, sonido, luz, privación de comida o agua, locomoción y vida social. Se ha encontrado que el metabolismo de la dopamina y norepinefrina se incrementan como resultado de los factores anteriormente mencionados. (Seiden and Heffner, 1984) Fig.5.

Para el análisis de la tasa de recambio se han empleado drogas que causan un bloqueo de las conversiones de una sustancia de sus precursores o sus productos. La droga ideal debería de producir un bloqueo específico de uno de los procesos involucrados, sin interferir con alguna otra conversión de la sustancia, su precursor o sus metabolitos o con otros procesos regulatorios involucrados en la tasa metabólica de la sustancia (korf, 1985).

## SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

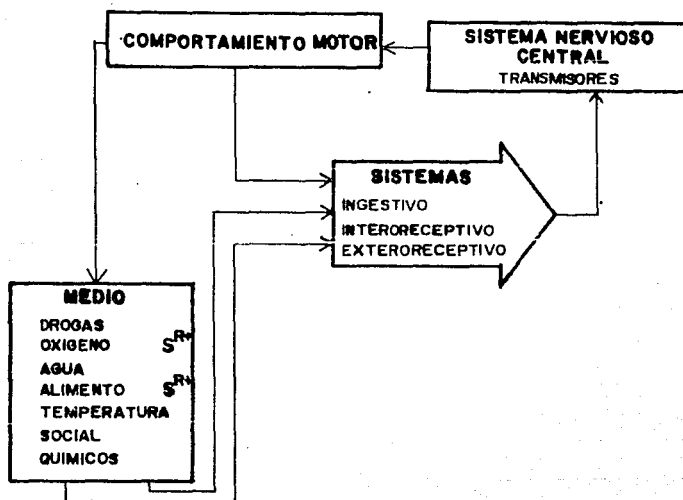


FIGURA.5.- Esquema que muestra las relaciones entre sistema nervioso central y el medio ambiente.(Seiden and Heffner, 1984). Los factores que influyen en el recambio de las catecolaminas cerebrales son tanto de tipo interno como externo con relación al sistema.

Actualmente, la evaluación del recambio de monoaminas como dopamina y serotonina se ha realizado por cromatografía de líquidos en las regiones cerebrales de la rata. Los tratamientos para evaluar el recambio incluyen la estimación en los cambios de los niveles de la dopamina y sus metabolitos en homogenados de cerebro, en donde se ha empleado para obtener una evaluación en la tasa de recambio de dopamina, por ejemplo, en el tratamiento con apomorfina, la cual produce una disminución de los niveles de sus metabolitos, el ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido homovanillico (HVA), mientras que el haloperidol incrementa los niveles de dichos metabolitos sin causar cambios en las concentraciones de dopamina.

Por el contrario, la d- Anfetamina incrementa los niveles de dopamina y sus metabolitos (Cheng and Wooten, 1982). Otros trabajos que se han realizado para el estudio de la tasa de recambio de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) y su metabolito el ácido 5-Hidroxiindolacético (5-HIAA), es administrar pargilina, que es un inhibidor de la MAO, obteniendo así un incremento en 5-HT y una disminución de 5-HIAA. Esto permite evaluar el recambio en diferentes núcleos cerebrales (Jhonson y Crowley, 1982). También se ha valorado el recambio de ambas monoaminas (5-HT y DA) y sus respectivos metabolitos, después de la administración de probenecid (Werdinius, 1967; Tamarkin et al, 1970; Korf y Praag, 1971; Diggory y Buckett, 1984).

El probenecid es un derivado del ácido benzoico, cristalino e incoloro; altamente liposoluble. Su estructura se muestra en la Figura 6. La acción farmacológica del probenecid está confinada

grandemente a la inhibición del transporte de ácidos orgánicos a través de barreras epiteliales. El probenecid es absorbido después de la concentración máxima que se alcanza entre las dos y cuatro horas (Goodman and Gilman's, 1985) .

La evaluación de la tasa de recambio de monoaminas, dopamina y serotonina, en el sistema nerviosos central, a partir del uso de probenecid esta basado en las siguientes evidencias:

- a) El probenecid inhibe el transporte renal de varios ácidos orgánicos, incluyendo 5-HIAA y el HVA.
- b) El 5-HIAA Y el HVA son removidos del sistema nervioso central hacia la sangre, por mecanismos de transporte activo.
- c) La inhibición de este transporte por administración de probenecid causa incrementos lineales de 5-HIAA y HVA en el cerebro, fluido ventricular y cisternal (Korf y Praag, 1971).

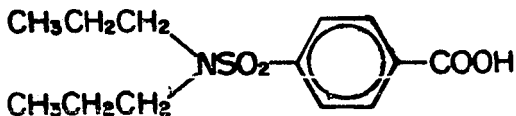


FIGURA.6. Fórmula química del probenecid.

### II.2.3.A. CARACTERISTICAS DE LA ENZIMA DE DEGRADACION DE LAS MONOAMINAS : LA MONOAMINO OXIDASA (MAO).

La MAO es una enzima que se localiza en la membrana externa de la mitocondria (Schnaitman et al,1967). Su mayor actividad se ha observado en el hígado, el cerebro y las glándulas salivales de cerdo, la rata y el hombre. También se encuentra en las gónadas, el músculo liso, el corazón, la glándula adrenal, el pulmón, el páncreas, la placenta, la glándula tiroides y el útero. En el caso del cerebro, la mayor actividad de la MAO está en el hipotálamo y los ganglios basales, mientras que la actividad menor se encuentra en la corteza y el cuerpo calloso. La actividad de la MAO también se ha observado en las plaquetas sanguíneas de una gran variedad de especies, incluyendo al hombre (Youdim and Holzbaver,1976 y Hall and Urefa, 1983).

La MAO es una enzima que desamina a las catecolaminas para formar su correspondiente aldehído. Por su localización intracelular, la MAO es importante en la inactivación de las monoaminas que están libres dentro de las terminales nerviosas.

La inhibición selectiva de la MAO por clorgilina y deprenil indica que existen dos tipos farmacológicamente distintos de MAO, la MAO A y la MAO B. Mientras que la MAO A es sensible a clorgilina, la MAO B lo es al deprenil. Las diferencias de estos dos tipos de MAO han sido verificadas por su secuencia de aminoácidos, el microambiente lipídico y las modificaciones postraduccionales en la enzima. (Weyler et al, 1990 y White y Stine, 1982)

Varios estudios han demostrado que la MAO A se localiza en las regiones de las neuronas noradrenérgicas y la MAO B en las neuronas serotoninérgicas del cerebro de monos y ratas. En el cerebro de humano la MAO A se correlaciona con la distribución de las neuronas noradrenérgicas y las adrenérgicas en las partes dorsales y bilateral del cuarto ventrículo, mientras que una gran proporción se encuentra en el núcleo del locus coeruleus. En el mesencéfalo predominan las neuronas dopaminérgicas por lo que en esta región existe una menor cantidad de MAO A.

La localización de la MAO B es generalmente en las neuronas serotoninérgicas, como aquellas del tallo cerebral, el núcleo de rafé y en la parte posterior del hipotálamo. La MAO B se encuentra en las áreas sensoriales de la medula en una menor concentración que en áreas motoras, mientras que la actividad de MAO A es más importante en las áreas sensoriales (Westlund et al, 1988). Algunas de las características implicadas en las diferencias de los dos tipos de monoamino oxidasa se muestran en la tabla II (Yang and Neff, 1974).

La actividad de MAO durante el desarrollo de los vertebrados, aparece en la vida embrionaria. En el nacimiento, la actividad de MAO aumenta en varios tejidos y algunas veces excede los niveles encontrados en los animales adultos, mostrando que no hay un patron consistente con el desarrollo en las diferentes especies. Por ejemplo en el pollo, rata y conejo hay disminución de la actividad de MAO durante el periodo perinatal. Los factores de desarrollo de la MAO son desconocidos, mostrando que varias hormonas podrian estar involucradas en este proceso. En el humano y otras especies de mamíferos, entre ellos la rata y el ratón,

la actividad de la MAO ha sido examinada en organos y tejidos, fetos, neonatos y adultos; encontrando en tejidos fetales, con excepción del hígado, un valor pequeño de la actividad de la MAO, pero en el nacimiento algunos tejidos contienen una cantidad similar a la de los adultos. En el cerebro aparece antes la MAO-A que la MAO-B; por lo tanto, el desarrollo de la actividad de MAO esta relacionado aparentemente con el desarrollo funcional del tejido. Estos estudios apoyan el concepto de que la MAO-B es necesaria en la vida terrestre (Hall and Ureña, 1983). El gran incremento de MAO-B en el cerebro después del nacimiento, es atribuido a la proliferación de astrocitos en el cerebro, debido a que la mayor concentración de la MAO-B se localiza en este tipo de células (Weyler, 1990).

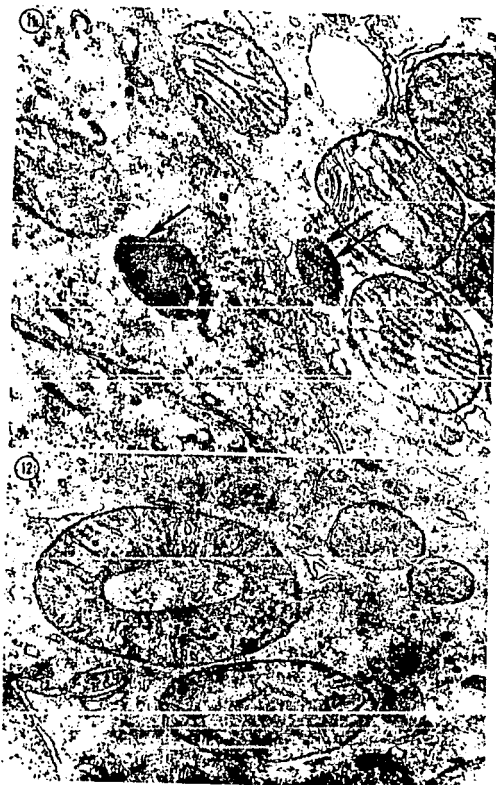
#### II.2.3.B. EFEECTO DE TALIO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA MAO

Se ha indicado hasta este momento sobre los efectos tóxicos del talio en el sistema nervioso central. Tales efectos estan involucrados en la acción sobre los sistemas monoaminérgicos. Se ha reportado un incremento en la actividad de la MAO en hígado de rata, por administración de talio, promoviendo así hinchazón en la membrana mitocondrial (Wood and Fowler, 1986), como se observa en la microfotografía. Sin embargo, estudios realizados en cerebro indican que la actividad de esta enzima, en cuerpo estriado, se ve disminuida hasta en un 32% con respecto al control en un tratamiento agudo de talio (Hasan et al, 1977a y b).



## CUADRO II. Características de la MAO cerebral

	MAOA	MAO B
<b>Localización</b>	neuronas noradrenérgicas	neuronas serotoninérgica
<b>Inhibidores</b>	clorgilina pargilina	deprenil pargilina
<b>Sustratos</b>	Noradrenalina norepinefrina	benzilamina feniletilamina
<b>Sustratos en común</b>	kinuramina serotonina triptamina dopamina	



*MICROFOTOGRAFIA .- La administración de talio promueve una hinchazón en la membrana de la mitocondria.*

### III.A. HIPOTESIS

Con base a los antecedentes en donde se describe la entrada de talio en las mitocondrias provocando una alteración en sus membranas y en las enzimas que estan relacionadas con éstas, proponemos que la administración de talio provoca daño celular y alteración en las mitocondrias promoviendo una hinchazón de sus membranas, quedando expuesta la MAO y posiblemente alterar las aminas que esta degrada (serotonina y dopamina).

### III.B. OBJETIVOS

-Evaluar el efecto de la administración aguda de acetato de talio sobre la actividad de la enzima monoamino oxidasa en diferentes regiones del cerebro.

-Estimar la tasa de recambio de las monoaminas, serotonina y dopamina y observar el posible efecto del talio sobre esta actividad regional en el cerebro de la rata.

-Relacionar la participación de las monoaminas en la respuesta tóxica del cerebro de la rata a la acción del talio.

#### IV. MATERIAL Y METODOS

##### IV.1.A. REACTIVOS

El acetato de talio ( $\text{CH COOTl}$ ), dibromuro de Kinuramina,  
3  
4-hidroxiquinolina, octilsulfato, dopamina-HCl, ácido  
Homovanillico (HVA), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), ácido  
5-hidroxitriptamina (5-HT) y probenecid se adquirieron de Sigma.  
Los reactivos potasio dihidrogenofosfato ( $\text{KH PO}$ ), ácido  
2 4  
tricloracetico, ácido perclórico e hidroxido de sodio se  
obtuvieron de Merck. El EDTA se obtuvo de productos químicos  
Moterrey y el metanol HPLC de Backer. El metabisulfito se obtuvo  
de los laboratorios Aldrich.

Como disolvente para la preparación de las soluciones se  
utilizó agua desionizada en un purificador Milli R/Q de  
Millipore.

##### I.V.1.B. MANEJO DE LOS ANIMALES.

Los experimentos se realizaron con ratas Wistar machos de  
peso entre 250 y 300 g. Para el estudio de la actividad de la  
MAO se inyectaron el primer día con acetato de talio por vía  
intraperitoneal (i.p.) a dos diferentes dosis. A un grupo se le  
administró solución salina siendo tomado como control. Un segundo  
grupo se inyectó con acetato de talio a una dosis de 32 mg/kg,  
que es la dosis letal 50 (Ríos et al., 1989). Un último grupo se  
trató con una dosis de 50 mg/kg de talio. Venticuatro horas  
después de la administración del talio, las ratas se sacrificaron  
por decapitación y se extrajo el cerebro. Posteriormente se  
disecaron cuatro regiones: corteza cerebral, mesencefalo, puente  
y cuerpo estriado.

Para el estudio de recambio de dopamina y serotonina se usaron también ratas macho Wistar del mismo peso. Las soluciones se administraron intraperitonealmente. Para la evaluación de la tasa de recambio de las monoaminas se inyectó a las ratas con las dos dosis de talio anteriormente mencionadas. Después de veinticuatro horas los animales recibieron la administración de probenecid a una dosis de 280 mg/kg (Diggory y Bucket, 1984). Dos horas más tarde las ratas se sacrificaron por decapitación y se disecaron las regiones ya mencionadas. Los tratatamientos se dividieron en tres grupos:

- 1.- SALINA + PROBENECID
- 2.- TALIO 32 mg/kg + PROBENECID
- 3.- TALIO 50 mg/kg + PROBENECID

El grupo número 1 sirvió como grupo control para medir el recambio de las aminas a partir de la evaluación de las concentraciones de sus respectivos metabolitos. Los grupos 2 y 3 se utilizaron para evaluar el efecto del talio sobre el recambio de las monoaminas.

I.V.4. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD DE LA MAO POR ESPECTROFLUOROMETRIA.

El análisis de la actividad de MAO se hizo de acuerdo con la técnica de Krajl (1965). Una vez disecadas las regiones estudiadas se pesaron por separado. El tejido se homogenizó en 3ml de agua y se tomó 1 ml de la enzima a la que se agregó una solución que contenía 0.5 ml de kinuramina (100 micro gramos de Kinuramina dibromuro), que funcionó como sustrato; 0.5 ml de buffer de fosfatos (0.5 M y pH=7.4) y 3ml de agua. Las muestras se incubaron a una temperatura de 37°C por media hora en un baño con agitación constante. Después de la incubación se agregaron 2ml de ácido tricloroacético al 10%, para detener la reacción. Posteriormente se centrifugaron los tubos a 12 000 rpm por 10 minutos, tomando 1ml del sobrenadante y agregando 2ml de NaOH 1N. Por último, se midió la fluorescencia, estandarizando las muestras con una curva de calibración de concentraciones conocidas de 4-hidroxiquinolina (4HOQ), que es el compuesto que se forma a partir de la degradación de kinuramina en presencia de MAO (Figura 10). La actividad de la MAO se evaluó en micromoles de 4HOQ formado en 30 minutos de incubación.



FIGURA 7.- Formación de 4-HOQ a partir de la degradación de kinuramina.

El equipo que se utilizó para la evaluación de MAO fue un espectrofotómetro de fluorescencia Perkin-Elmer modelo MPF-44A. las condiciones del aparato fueron : una longitud de onda de excitación de 325 nm y una longitud de emisión de 356 nm. la sensibilidad fue de  $3 \times 10^{-18}$  unidades y anchura de banda de 10 nm.

#### IV.3. EVALUACION DE LA TASA DE RECAMBIO DE LAS MONOAMINAS POR CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS CON DETECCION ELECTROQUIMICA (HPLC-ED).

Las regiones disecadas del cerebro de la rata se retiraron y se depositaron en tubos de polipropileno. se pesó el tejido y se agregó ácido perclórico en diferentes volúmenes. Para el cuerpo estriado y el puente se agregó medio mililitro de ácido, mientras que para el meséncefalo y la corteza fue un mililitro. Las muestras se homogenizaron y se guardaron a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo Perkin-Elmer modelo 250. Las condiciones fueron:

VOLTAJE DEL DETECTOR	0.80 V
CORRIENTE	10 nA
FLUJO DE LA FASE MOVIL	1.2 ml/min.

Para la lectura, las muestras se filtraron con un filtro de tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{M}$ . Posteriormente se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  en el cromatógrafo. El recambio a evaluar fue el de DA y 5-HT, a partir de las concentraciones de sus respectivos metabolitos: HVA y 5-HIAA.

#### Tratamiento de datos.

Los datos de las concentraciones de MAO y de recambio de las monoaminas en las diferentes regiones cerebrales se analizaron estadísticamente por análisis de varianza seguida por la prueba de Tukey (Bruning y Kintz, 1979), siendo los valores de  $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ , los niveles de significancia.



## V. RESULTADOS

### V.1. ACTIVIDAD DE LA MAO

La actividad de la MAO en las diferentes regiones cerebrales estudiadas, se muestra en la gráfica 1. Se observó que la actividad de la enzima monoamino oxidasa presentó un incremento significativo en mesencéfalo a una dosis de 32 mg/kg de acetato de talio, del 30.95% con respecto al control. Mientras que a una dosis de 50 mg/kg de talio, la actividad de la enzima sufrió un incremento mayor en el mesencefalo del 36.90% y un incremento del 15.38% en la corteza, en el cuerpo estriado del 36.36% y en el puente de un 33.33% con respecto al control respectivo. El incremento en la actividad de la MAO posiblemente se debió a una exposición de la enzima al penetrar el talio en la membrana mitocondrial y alterar su estructura.

### V.2. RECAMBIO DE 5-HT Y DA.

El recambio de serotonina y dopamina se midieron a partir de la administración del probenecid cuya función es una inhibición del transporte de los ácidos orgánicos a través de barreras epiteliales, causando incrementos en las concentraciones de los metabolitos de las aminas como se observa en la gráfica 2 (ejemplo del recambio de 5-HT).

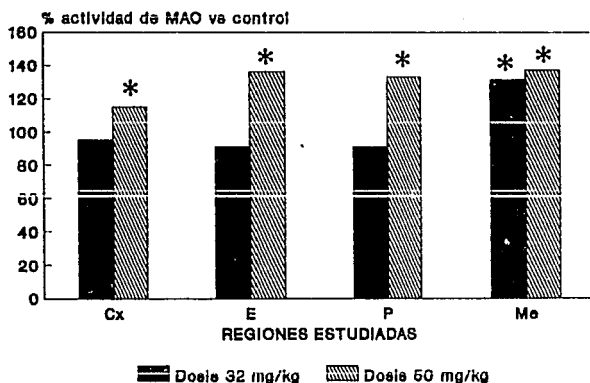
Los resultados obtenidos en el recambio de las monoaminas se observan en las gráficas 3 y 4. El recambio de serotonina fue evaluado con respecto a su metabolito el 5-HIAA, presentando incrementos significativos a una dosis de 32 mg/kg en el puente con un porcentaje del 58.12% de aumento con respecto al control.

A una dosis de 50 mg/kg se observó el aumento en el puente y el mesencefalo de un 50% y 37.43 % respectivamente (Gráfica. 3 y cuadro III). Los resultados encontrados en el recambio de aminas se correlacionan con los encontrados con la actividad de la MAO existiendo un incremento en las concentraciones de 5-HIAA en puente y mesencefalo.

Con respecto al recambio de DA sólo se observaron alteraciones en el cuerpo estriado de un 43.87% con respecto al control a una dosis de 50 mg/kg. (gráfica.4 y cuadro IV).

En el cuadro V se muestra la concentración la 5-HT . Observándose una disminución en la concentración de 5-HT a una dosis de 32mg/kg en corteza con un decremento del 69.48%. Por el contrario, se encontró un incremento en la concentración de 5-HT en el puente y el mesencefalo a una dosis de 50 mg/kg en un 69.75% y 30.68% respectivamente. El cuadro VI muestra la concentración de DA, no existiendo cambios significativos con respecto al control.

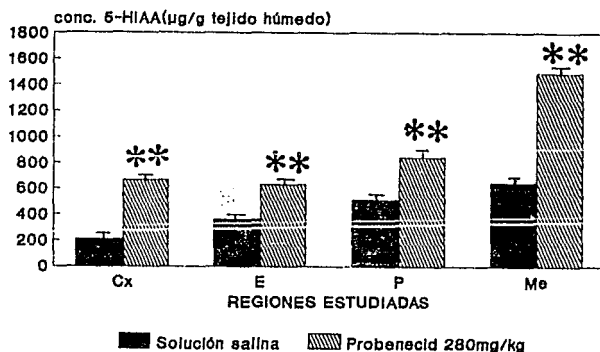
## ACTIVIDAD DE MAO



n=4-5

GRAFICA.1.- ACTIVIDAD DE MAO. Regiones Estudiadas: corteza (Cx), cuerpo estriado (E), Puente (P) y Mesencefalo (Me). Grupo control 100% y grupos tratados con dosis de talio i.p. de 32 y 50 mg/kg. Resultados expresados como promedio y error estandard n=4-6 experimento independientes. Analizados por ANOVA seguido de la prueba de Tukey. \*  $p < 0.05$ .

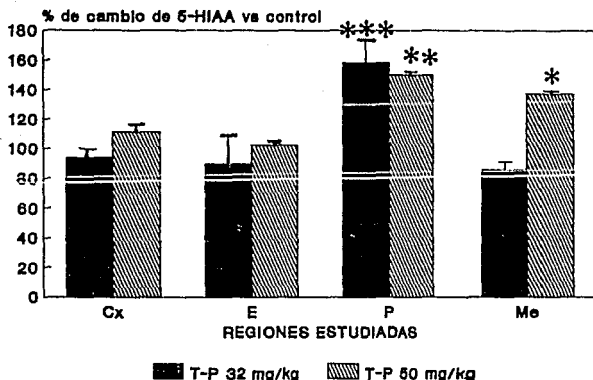
## EVALUACION DEL RECAMBIO DE 5-HT



n=5-8

GRAFICA. 2. EVALUACION DEL RECAMBIO DE MONOAMINAS. La evaluación del recambio de serotonina se analizó por la administración de probenecid a una dosis de 280 mg/kg después de 2 horas que promueve una acumulación de 5-HIAA. Los resultados son expresados como promedio y error estandar de n=5-8 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos de la prueba de Tukey \*\* p < 0.01.

## RECAMBIO DE 5-HT



n=5-8

GRAFICA.3. RECAMBIO DE SEROTONINA (5-HT). Recambio medido como los niveles de 5-HIAA con respecto al control (100%). TP: Tratados con talio y probenecid. Dosis de talio 32 y 50 mg/kg; dosis de probenecid 280 mg/kg. Resultados expresados como promedio y error estandar de n=6-8 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos de la Pruba de Tukey \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ . \*\*\* $p < 0.001$ .

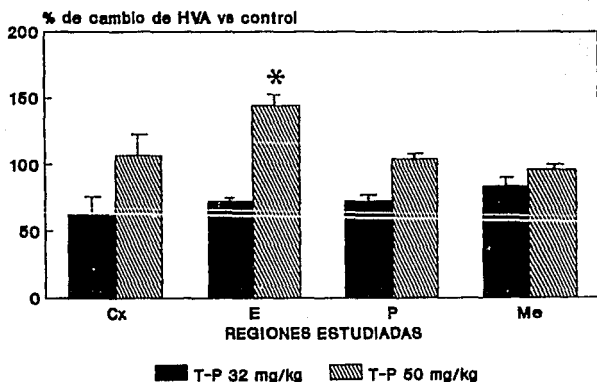
### CUADRO III

Concentración de 5-HIAA ( $\mu\text{g/g}$  peso húmedo)

	X	SEM
<b>CORTEZA</b>		
SP	587.50	23.50
TP 32mg/kg	550.19	62.33
TP 50mg/kg	653.23	50.03
<b>ESTRIADO</b>		
SP	653.42	57.55
TP 32mg/kg	583.88	52.50
TP 50mg/kg	669.18	35.70
<b>PUENTE</b>		
SP	948.10	96.95
TP 32mg/kg	1499.22	121.40
TP 50mg/kg	1422.17	69.10
<b>MESENCEFALO</b>		
SP	1333.58	128.90
TP 32mg/kg	1143.28	97.60

CUADRO III. Concentración de 5-HIAA ( $\mu\text{g/g}$ ). Resultados correspondientes a la gráfica 2. SP: administración i.p. de solución salina y probenecid. TP: administración de talio (32 y 50 mg/kg) y probenecid (280 mg/kg). Los resultados se expresan como promedio del error estandar de  $n=5-8$  experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos de la prueba de Tukey.

## RECAMBIO DE DA



n=5-8

GRAFICA.4. RECAMBIO DE DOPAMINA (DA). Resultados medidos como los niveles de HVA con respecto a el control (100%). Administración i.p. de talio (32 y 50 mg/kg) y probenecid (280 mg/kg) en diferentes regiones cerebrales: Corteza (Cx), Cuerpo Estriado (E), Puente (P) y Mesencéfalo (Me). Los resultados se expresan como promedio y error estandar de n=5-8 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos de la prueba de Tukey \* $p < 0.05$

## CUADRO IV

### Concentración de HVA ( $\mu\text{g/g}$ peso húmedo)

	X	SEM
<b>CORTEZA</b>		
SP	180.42	21.59
TP 32mg/kg	112.98	16.33
TP 50mg/kg	192.40	32.65
<b>ESTRIADO</b>		
SP	587.20	43.18
TP 32mg/kg	424.49	22.94
TP 50mg/kg	844.83	63.59
<b>PUENTE</b>		
SP	126.97	16.44
TP 32mg/kg	91.56	10.29
TP 50mg/kg	132.24	14.06
<b>MESENFALO</b>		
SP	134.80	22.45
TP 32mg/kg	112.35	24.80
TP 50mg/kg	129.43	8.56

*CUADRO IV. Concentración de HVA ( $\mu\text{g/g}$ ). Resultados correspondientes a la gráfica 3. SP: administración i.p. de solución salina y probenecid. TP: administración de talio y probenecid. X: promedio. SEM: error estandar. Los resultados son expresados como promedio del error estandar de n=5-8 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos de la prueba de Tukey.*



## CUADRO V

Concentración de 5-HT ( $\mu\text{g/g}$  peso húmedo)

REGIONES	DOSIS DE TALIO			
	32mg/kg		50mg/kg	
	X	SEM	X	SEM
<b>CORTEZA</b>				
SP	915.5	47.8	551.9	49.9
TP	635.9**	33.3	525.3	90.4
<b>ESTRIADO</b>				
SP	562.5	33.9	551.2	23.3
TP	631.9	55.1	628.3	68.8
<b>PUENTE</b>				
SP	1024.5	154.1	452.5	31.0
TP	573.6	92.4	768.1**	65.0
<b>MESENCEFALO</b>				
SP	1270.6	320.5	888.9	61.8
TP	1360.7	65.9	1161.6**	25.3

CUADRO V.- Concentración de serotonina ( $\mu\text{g/g}$ ). SP: administración de solución salina y probenecid. TP: administración de talio y probenecid. X: promedio. SEM : error estandar. Los resultados se expresan como promedio del error estandar de n=4-7 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguidos por la prueba de Tukey \*p < 0.05 y \*\*p< 0.01.

**CUADRO VI**  
**Concentracion de DA ( $\mu\text{g/g}$  peso húmedo)**

REGIONES	DOSIS DE TALIO			
	32mg/kg		50mg/kg	
	X	SEM	X	SEM
<b>CORTEZA</b>				
SP	572.0	97.7	589.5	74.8
TP	763.9	93.3	500.9	68.0
<b>ESTRIADO</b>				
SP	4054.7	430.9	6287.7	170.1
TP	5091.1	539.1	6069.8	252.3
<b>PUENTE</b>				
SP	150.9	51.2	120.4	12.1
TP	92.0	13.2	170.0	10.7
<b>MESENCEFALO</b>				
SP	292.6	24.6	300.1	15.5
TP	235.2	19.4	283.9	13.8

*CUADRO VI. Concentración de dopamina ( $\mu\text{g/g}$ ). SP: ratas tratadas con solución salina y probenecid. TP: administración de talio y probenecid. X: promedio. SEM : error estandar. Los resultados son expresados como promedio y error estandar de n=5-6 experimentos independientes. Analizados por ANOVA seguido por la prueba de Tukey \*\* $p < 0.01$ .*

## VI. DISCUSION

El talio es un metal tóxico que mimetiza la acción biológica del potasio, penetrando en las células, por la misma vía que lo hace este ion ( Prick, 1979; Bostian y Betts, 1982; Jensen y Norby, 1989.), produciendo hinchazón en la mitocondria y alteraciones en las enzimas que se relacionan con sus membranas (Woods and Fowler, 1986). El posible mecanismo que se propone como iniciador de la toxicidad de talio es la peroxidación de lípidos (Hasan et al, 1981). El mecanismo de peroxidación consiste en la descomposición de los ácidos grasos poli-insaturados de las membranas celulares por efecto de radicales libres generados durante la respiración mitocondrial y algunos otros procesos celulares.

Las alteraciones producidas por el talio a nivel enzimático están relacionadas con la actividad de las enzimas, como es el caso de la MAO, que se encarga de la degradación de las monoaminas y se encuentra en la membrana externa de la mitocondria (Schneiman et al, 1967). Existen controversias con respecto a la acción de talio sobre los sistemas monoaminérgicos, reportándose disminución en la actividad de MAO hasta de un 32% en cuerpo estriado (Hasan et al, 1977a) y ningún cambio en cerebro (Hasan et al, 1977b). Sin embargo otro reporte de la literatura indica que la actividad de la MAO aumenta por efecto del talio en hígado de ta. El aumento fue dependiente de la dosis (Woods and Fowler, 1986). Estos últimos resultados coinciden con los obtenidos en el presente trabajo, en el que se encontraron incrementos en la actividad de la MAO en el

mesencéfalo y el puente. Estos incrementos también fueron dependientes de la dosis de talio. El aumento de la actividad de la enzima de degradación de las monoaminas, podría deberse a la exposición de la MAO al ser dañada la membrana mitocondrial, promoviendo así un incremento en su actividad.

Al existir un incremento en la actividad de MAO, resultó importante medir de qué manera la tasa de recambio se ve alterada, por lo que la medición de la tasa de recambio de las monoaminas se hizo a partir de la administración de probenecid (Diggory, G.L. and Buckett, W.R. 1984), debido a que permite su evaluación sin afectar la síntesis, degradación u otro paso metabólico de 5-HT y DA (Korf, 1971).

Los resultados obtenidos indican que al igual que en la actividad de MAO, el puente y el mesencéfalo incrementaron la tasa de recambio de serotonina a una dosis de 50 mg/kg, mientras que a la dosis de 32 mg/kg sólo se observó un incremento en el puente. La tasa de recambio de la dopamina, por otra parte, sólo se vio alterada en el cuerpo estriado. Estos resultados indican que la administración de talio provoca una alteración dosis-dependiente y diferencial en los sistemas monoaminérgicos cerebrales principalmente en la tasa de recambio de serotonina por la administración del talio. En comparación con las alteraciones sobre las concentraciones de 5-HT sólo existen cambios en la corteza, observándose una disminución en corteza a una dosis de 32 mg/kg, sin embargo a una dosis de 50 mg/kg existe un incremento en el caso del puente y mesencéfalo. Estos resultados son contrarios a los reportados por Hasan y

colaboradores en 1978 quienes evalúan la actividad de DA y 5-HT después de la administración crónica de talio, encontrando una disminución en el cuerpo estriado para ambas aminas. Mientras que en este trabajo, en el cuerpo estriado no se observó ningún cambio en la concentración de dichas aminas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo las regiones cerebrales más afectadas son el puente y el mesencéfalo en la actividad de la MAO y la tasa de recambio de 5-HT. Estos resultados sugieren que al penetrar el talio en la mitocondria, esta pierde su estructura normal lo que promueve que la MAO quede expuesta y genere un incremento en su actividad conforme la dosis de talio se incrementa. La MAO, al actuar sobre sus sustratos endógenos (DA y 5-HT), produce peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el cual además puede generar a su vez radicales libres ya que por sí mismo produce peroxidación de lípidos (Lebel C.P. and Bondy S.C. 1991). Por lo tanto, al existir mayor concentración de la enzima de degradación de las monoaminas posiblemente se propicie una mayor degradación de 5-HT y esto lleve consigo a un incremento en la tasa de recambio, produciendo un mayor contenido de 5-HIAA.

La escasa información en relación al papel que el talio desempeña sobre los sistemas monoaminérgicos, requiere de una mayor investigación para poder señalar las posibles rutas metabólicas del talio y proponer una terapia apropiada en las personas intoxicadas por este elemento.

## VII. CONCLUSIONES

- La administración de acetato de talio i.p. en rata provoca un incremento en la actividad de MAO en el puente y el meséncéfalo.
- El incremento en la actividad de la MAO puede ser dosis-dependiente en las regiones alteradas en el cerebro.
- La tasa de recambio de serotonina posterior a la administración de talio provoca una alteración dosis-dependiente y diferencial en los sistemas monoaminérgicos cerebrales. Provocando incrementos en el recambio de 5-HT en el puente y el meséncéfalo y en el recambio de DA en el cuerpo estriado.
- El incremento en la actividad de la enzima de degradación de monoaminas, posiblemente sea lo que propicia una alteración en el recambio de 5-HT y DA.

## VII. REFERENCIAS

- Anderson, G.M. (1985). Liquid chromatographic analysis of monoamines and their metabolites. *Neuromethods. Series I. Neurochemistry. Humana Press New Jersey. 129-141 pp.*
- Aoyama, H. (1989). Distribution and excretion of thallium after oral and intraperitoneal administration of thallos malonate and thallos sulfate in hamsters. *Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42: 256-463.*
- Backer, M.J., Butter, R.F. y Dewhurst, G.W. (1985). Fluorescence analysis of amines and their metabolites. *Neuromethods. Series I. Neurochemistry. Humana Press. New Jersey. 1-21 pp.*
- Bostian, K.A. y Betts F.G. (1982). Multiple binding of thallium and rubidium to potassium-activated yeast aldehyde deshydrogenase. *Biochem. J. 207: 73-83.*
- Brismar, T. Collins P.U. y Kesselberg, M. (1989). Thallium-201 uptake relates to membrane potential and potassium permeability in human glioma cells. *Brain Res. 500: 30-36.*
- Brockhaus, R. Dolgmer, R. Ewers, U. Wiegand, H. Freier, I. Jerman, E. y Kramer, U. (1980). Excessive thallium absorption among a population living near a thallium emitting cement plant. *Holland biomedical press mechanisms of toxicity and hazard evaluation: 565-580.*
- Bruning J.L. y Kintz B.L. (1977). *Computational Handbook of Statistic. 2nd Ed. Sott. Foresman and Co. Glievien. III.*

- Cavanagh, B. Fuller N.H. Johnson H.R.M. y Rudge P. (1974). *The effects of thallium salts, with particular reference to the nervous system changes. Quarterly Journal of Medicine, new series, 170:293-319.*
- Chamberlain. M. D. Stavinoha B.W. Davis H. Kniker T.W. y Panos C. T. . (1958). *Thallium Poisoning. Pediatrics, 1170-1182.*
- Cheng, C. H. y Wooten, G.F. (1982). *Dopamine turnover stimated by simultaneous LCEC assay of dopamine and dopamine metabolites. J. Pharmacol. Methods 8: 123-133.*
- De Backer, Zachee P. Verpooten G.A; Mayelyne W. Vanheule A. y De Broe. (1982). *Thallium intoxication treated with combined hemoperfusion-temodialysis. J. Toxicol. Clin.Toxicol. 19(3) : 259-264.*
- Depoortere, H. (1988). *Role of norepinephrine and serotonin in sleep-wakefulness regulation : A pharmacologic approach. Progress in Catecholamines Research Part B: Central Aspects. 55-559 pp.*
- Diggory, G.L. y Buckett, W.R. (1984). *An automated methods to measure monoamines and metabolites using elevated temperature reserved phase HPLC with electrochemical detection. J. Pharmacol. Methods, 11: 207-217.*
- Domitru D. and Kalantri A. (1980). *Electrophysiologic investigation of thallium poisoning. Muscle and Nerve 13:433-437.*
- Douglas, K.T, Bunni, M.A. y Baidur, S.R. (1990). *Minireview. Thallium in biochemistry. J. Biochemistry 22(5):429-438.*



-Eyton, A.I. (1982). *Thallium. Centre of International Projects GKNT* edited By N.F. Izmerou. USSR.

-Gooman y Gilman's. (1985). *The pharmacological basis of therapeutics*. 7a ed. Macmillan publishing company. 922-923 pp.

-Gordon M. Lephherd, M.D. y Phil. 1976. *The Sinaptic Organization of Brain. An Introduction*. New York Oxford University Press.

-Grunfeld, O. y Hinostroza, G. (1964). *Thallium Poisoning*. Arch. Inter. Medicine 114: 122-138.

-Hall T.R. y Urefia G. (1983). *Pharmacology and physiology of monoamine oxidase activity in vertebrates - A comparative study*. Comp. Biochem. Physiol. 76B (3) : 393-397.

-Hasan M, Chandra S.V, Dua P.R, Raghbir R, y Ali S.F. (1977a). *Biochemical and electrophysiologic effects of thallium poisoning on the rat corpus striatum*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41:253-259.

-Hasan, M, Chandra S.V, Bajpai V.K, y Ali S.F. (1977). *Electron microscopic effect of thallium poisoning on the rat hypothalamus and hippocampus : Biochemical changes in the cerebrum*. Brain Res. 2: 255-261.

-Hasan M, Ali, S.F, y Tariq M. (1978). *Levels of dopamine, norepinephrine and 5-Hydroxytryptamine in different regions of the rat Brain in thallium toxicosis*. Acta Pharmacology et Toxicol. 43:169-173.

-Hasan M. y Fatehyab A.S. (1981). Effect of thallium nickel and cobalt administration on the lipid peroxidation in different regions of the rat brain. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 57: 8-13.

-Herman, M. M. y Bensch, K. C. (1967). Light and electron microscopic studies of acute and chronic thallium intoxication in rats. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 10: 199-222.

-Hologgitas, J. Grauerholz, J. y Martin, H. (1980). Thallium elimination kinetics in acute thallotoxicosis. *J. of Anal. Toxicol.* 4: 68-73.

-Hughes, M.N., Man, W.K. and Whaler B.C. (1978). The toxicity of thallium (I) to cardiac and skeletal muscle. *Chem. Biol. Interac.* 23: 85-97.

-Inturrisi, C.E. (1969). Thallium activation of  $K^{+}$ -activated phosphatases from beef brain. *Biochim. Biophys. Acta.* 173: 567-569.

-Iversen. 1979. *The chemistry of the brain. A scientific American Book.*

-Jensen, J. y Norby, G. (1989). Thallium binding to native and radiation-inactivated  $Na^{+}/K^{+}$  ATPase. *Biochim. Biophys. Acta.* 985:248-254.

-Jhonson, M.D. y Crowley, W.R. (1982). Serotonin turnover in individual brain nuclei: evaluation of three methods using liquid chromatography with electrochemical detection. *Life Sc.* 31: 589-595.

-Juárez A.G. Manzo P.E. y Díaz de León P. M. (1988). Intoxicación por Talio. Presentación de un caso y revisión de su manejo. *Rev. Med. IMSS (Méx)* 26:315.

-Kamerbeek, H.H; Rauws A.G; ten Ham M. y van Heijst. (1971). Dangerous redistribution of thallium by treatment with sodium diethyldithiocarbamate. *Acta Med.Scand.* 189: 149-154.

-Kamerbeek, H.H; Rauws A.G. ten Ham M. y van Heijst. (1971). prussian blue in therapy of thallotoxicosis. *Acta Med. Scand.* 189: 321-324.

-Kamerbeek, H.H. et al. (1979). Dangerous redistribution of thallium by treatment with sodium diethyldithiocarbamate. *Acta Med. Scand.* 189: 149-154.

-Kandel. E.R; Schwartz, J.M. y Jessell, T.M. (1991). *Principles of Neural Science. Third Edition Elsevier. New York.* 18-32 pp.

-Kayne F.J. (1971). Thallium (I) Activation of pyruvate kinase. *Archives Biochemi. and Biophys.* 143:232-239.

-Korf, J. (1985). Turnover rate assessments of cerebral neurotransmitter. Amines and acetylcholine. *Cap. 10. Neurochemistry. Human Press New Jersey* 407-422pp.

-Korf, J. y Praag H. M. (1971). Amine metabolism in the human brain: Further evaluation of the probenecid test. *Brain Res.* 35: 221-230.

- Krajl, M. (1965). A Rapid microfluorometric determination of monoamine oxidase. *Bioch. Pharmacol.* 14: 1683-1685.
- Lebel C.P. y Bondy S.C. (1991). Oxygen radicals: Common mediators of neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.* 13:341-346.
- Lehman P.A. y Favari L. (1985). Acute Thallium intoxication: Kinetic study of the relative efficacy of several antidotal treatments in rats. *Arch. Toxicol.* 57: 56-60.
- Luckit J. Mir N. Hargreaves, C. Costello y B. Gazzard. (1990). Thrombocytopenia associated with thallium poisoning. *Hum. Exp. Toxicol.* 9:47-48.
- Moeschlin, S. (1980). Thallium Poisoning. *Clinical Toxicol.* 17(1): 133-146.
- Montoya C.M. Pérez L.C. Badillo T.F. y López B.J. (1979). Intoxicación por talio tratamiento con D-Penicilamina. *Rev. Méd. de IMSS (Méx)* 18:211
- Müller, E.E. Nisticó, G. y Scapagnini, U. (1977). Neurotransmitters and anterior pituitary function. *Academic Press. New York:* 32-83.
- Perkin-Elmer. *Curso de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.*
- Perkin-Elmer. (1976). *Instruction- MPF-43/MPF-44 Fluorescence spectrophotometers.*

- Pradhan, S. N. (1980). Minireview. Central Neurotransmitters and Aging. *Life Sc.* 26 : 1643-1656.
- Prick, J.J.G. (1979). Thallium Poisoning. In *Handbook of Clinical Neurology* 36. 239-278.
- Rangel, G. R, Martinez, R.H. y Villarreal, J. H. (1990). Intoxicación por talio. Experiencia con 50 pacientes. *Gaceta Médica de México.* 126(60): 218-229.
- Rauws, A.G. (1974). Thallium pharmacokinetics and its modification by prussian blue. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Phamacol.* 284 : 295-306.
- Rios, C. Galván-Arzate S. y Tapia R. (1989). Brain regional thallium distribution in rats acutely intoxicated with Tl2SO4. *Arch. Toxicol.* 63: 34-37.
- Rios, C. y Monroy-Noyola. (1992). A. D-Penicilamine and prussian blue as antidotes against thallium intoxication in rats. *Toxicol.* 74:69-76.
- Rogawski M.A. y Barker, J.L. (1985). Neurotransmitter actions. In *the vertebrate nervous system.* Plenum Press. New York and London.
- Saddique, A. y Peterson, C.D. (1983). Thallium Poisoning: A Review. *Vet. Hum. Toxicol.* 25:16-22.
- Salamone, J.D. (1991) Behavioral pharmacology of dopamine systems: A new synthesis. *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action.* Edited by Willner and Scheel-Kruger: 599-613.

- Sanders-Bosh. (1980). *The serotonin receptor*. The Humana Press., Clifton New Jersey.
- Schnaitman, C. Erwin, G.V. y Greenawalt, J.W. (1967). *The submitochondrial localization of monoamine oxidase*. *J. Cell. Biol.* 32: 719-735
- Seiden L.S. y Heffner T.G. (1984). *Alteration of brain catecholamine metabolism by environmental and Behavioral Enents : An explication of drug-behavior interactions. Catecholamines: neuropharmacology and central nervous system-theoretical aspects, 275-284pp. Liss Inc. 150 Avenue N.Y.*
- Siegel, G. J., Agranoff, B. Alber, R.W. y Molinoff, P. (1989). *Basic neurochemistry : Molecular, Cellular and Medical Aspects, 4th edition. Raven Prees. New York. 233-251 pp.*
- Smith, D.H. y Doherty, R.A. (1964). *Thallitoxicosis : Report of three cases in Massachusetts. Pediatrics:480-490.*
- Stricker E.M. y Zigmund J.M. (1984). *Brain catecholamine and motivated behavior: specific or nonspecific contributions?. Catecholamines: neuropharmacology and central nervous system theoretical aspects, 259-269. Liss Inc. 150 Avenue N.Y.*
- Tamarkin, N.R. Goodwin, F. K. y Axelrod, J. (1970). *Rapid evaluation of biogenic amine metabolites in human CSF following probenecid. Life Sc. 9: 1397-1408.*

COPIA  
LIBR  
TESIS NO DEBE  
DE LA BIBLIOTECA

-Thompson, D.F. (1981). Management of thallium poisoning. *clinical toxicology* 18(8):979-990.

-Trendelenburg M. y Weinner N. (1989). *Catecholamines II*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York.

-Wainwright, A.P; Kox, W.J; House, IM; Heaton, R. y Seed, W.A.(1988). Clinical feature and therapy of acute thallium poisoning. *Quarterly J. Med.* 69 (258): 939-944.

-Westlund, K. N. Denney, R.M. Rose, R.M. y Abell, C.W. (1988). Localization of distinct monoamine oxidase A and monoamine oxidase B cell populations in human brainstem. *Neuroscience* 25(2): 439-456.

-Weiner N. y Molinoff B.P. (1989). *Cathecolamines. Basic Neurochemistry : Molecular, cellular and medical aspects*, 4a ed. New York. 233-251pp.

-Werdinius, B. (1967). Effect of Probenecid on the levels of Monoamine Metabolites in the Rat Brain. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 25: 18-23.

-Weyler, W. Yun-Pung y Breakfield, O.X. (1990). Biochemistry and genetics of monoamine oxidase. *Pharmac. Ther.* 47: 391-417.

-White, H.L. y Stine, D.K. (1982). Monoamine A and B as components of a membrane complex. *J. Neurochemistry* 38(5): 1429-1436.

-Willard, H. W. et al (1980). *Instrumental methods of analysis*. 7a Edition. Wadscuort Publishing Company Belmont. 197-223 pp.

-Willner, P; Altlenius, S; Muscat, R. y Scheel--Kruger. (1991). *The mesolimbic dopamine system : The mesolimbic dopamine system: from motivation to action. The mesolimbic dopamine system: from motivation to action.* editado por Willner y Scheel-Kruger. 3-15 pp.

-Woods, J.S. y Fowler, A. B. (1986). *Alteration of hepatocellular structure and function by thallium chloride : Ultrastructural, morphometric and biochemical studies.* Toxicol. Pharmacol. 83:218-229.

-Yang, H.Y.T. y Neff N.H. (1974). *The monoamine oxidases: selective inhibition with drugs and the consequences for the metabolism of the biogenic amines.* J. Pharmacol. Exp. Ther. 189 (3): 733-740.

-Youdim, M.B.H. y Holzbaver, M. (1976). *Physiological and pathological changes in tissue monoamine oxidase activity.* J. Neural Transm. 38: 193-229.

-Ziskoven, R. Achenbach, C. Schulten, H. R. y Roll, R. (1983). *Thallium determinations in fetal tissues and maternal brain and kidney.* Toxicol. Lett. 19:225-231.



**A P E N D I C E**

## IX. GENERALIDADES DE LAS TECNICAS

### IX.1. FLUOROMETRIA

La luminiscencia resulta de la absorción de la luz, y subsecuentemente la emisión de esa luz de por una molécula. La luz emitida es de más baja energía que la luz de absorción por la cantidad correspondiente a la pérdida por relajación vibracional. El proceso de luminiscencia depende de la energía dentro de la molécula en una cierta longitud de onda de absorción y una longitud de onda de emisión (Perkin-Elmer, 1976).

La espectroscopia de fluorescencia tiene como objetivo el análisis, particularmente en la determinación de los contaminantes traza en el ambiente y el análisis de compuestos fluorescentes de alta sensibilidad y gran especificidad. La alta sensibilidad resulta de la diferencia de las longitudes de onda de excitación y de emisión. Los compuestos pueden tener como característica similar, una misma longitud de onda de excitación, pero emiten a diferente longitud de onda; por lo que el fenómeno de fluorescencia está sujeto a la absorción de la estructura molecular de los compuestos (Backer, et al, 1985).

Existen varios factores que intervienen en el análisis por fluorometría, como es el factor estructural. Por ejemplo, los sistemas policíclicos donde el número de electrones es más grande que los del benceno, son mucho más fluorescentes que el mismo benceno y sus derivados.

Los compuestos que contienen  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OCH}_3$ ,  $-\text{NHCH}_3$  y  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ .

menudo realzan la fluorescencia porque tienden a incrementar la posibilidad de transición entre el estado singulete excitado más bajo y el estado basal. La intensidad de la fluorescencia y la longitud de onda varía con el solvente, debido a que los solventes son capaces de exhibir fuertes enlaces de Vander Waals con las especies de estado excitado. Para la medición de fluorescencia es necesario seleccionar solventes no fluorescentes, que no tengan bandas de absorción o impurezas en la intensidad de la longitud de excitación. Otro factor que afecta la fluorescencia es el pH del sistema.

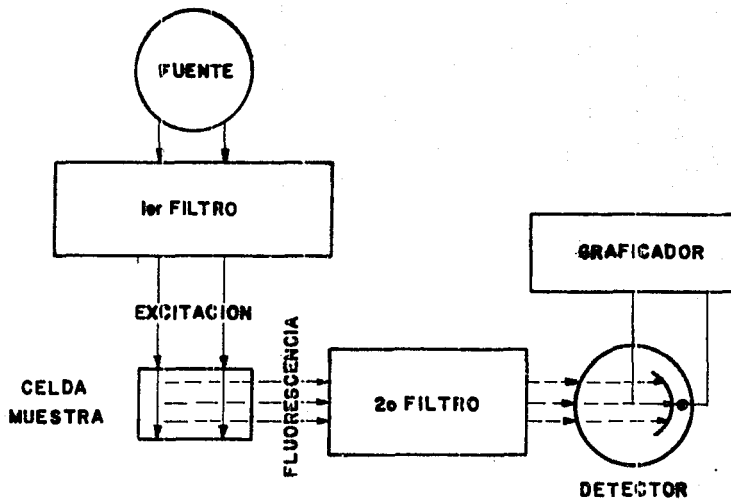
La instrumentación de flurometría consiste de una fuente de radiación, un filtro primario o de excitación, una celda, un filtro secundario o de emisión, un fotodetector y un dispositivo de lectura (Fig.8). El filtro de excitación selecciona las bandas específicas o longitudes de onda de radiación de la fuente y las dirige a través de la muestra que se encuentra en la celda. La luminiscencia es aislada por un filtro de emisión y dirigida al fotodetector el cual mide la potencia de la radiación emitida.

La geometría de la celda depende del instrumento comercial y puede tener un ángulo de  $37^\circ$  a  $90^\circ$ , el más común es de  $90^\circ$  por su eficiencia. En el análisis de sólidos, soluciones de alta densidad óptica y muestras de alta turbidez se necesita un ángulo de  $45^\circ$  o menos para la  $\lambda$  de excitación (Perkin-Elmer, 1976).

Los factores primarios a considerar para una fuente selectiva de radiación es la intensidad de la lámpara, la distribución de la longitud de onda de la radiación emitida y la estabilidad. Por

lo que las lámparas de Xenon son las más usadas, debido a que emiten una radiación intensa, continua y estable, además de ser una fuente de bajo costo. También se han utilizado lámparas de baja presión de vapor de mercurio; el resultado de esta lámpara es que el arco de descarga es más difuso y menos intenso (Willard, 1980).

# INSTRUMENTACION DE FLUORESCENCIA



## IX.2. CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS

La cromatografía se ha convertido en uno de los medios más eficaces por su relativa sencillez, para la separación, identificación y cuantificación de sustancias. La cromatografía líquida consta de una fase móvil (líquida) que se le denomina solvente o eluyente; y una fase estacionaria que se encuentra en la columna, que es de diversa composición química. Gracias a esto último, se realizan las separaciones, escogiéndose la fase de acuerdo con la composición química de la muestra a analizar. Los componentes de una mezcla química, disueltos en un disolvente líquido, pasan a través de la columna cromatográfica a un flujo de alta presión. Cada componente que eluye de la columna se detecta, ya sea por un detector universal o uno selectivo, dependiendo de las propiedades de los componentes a medir.

La respuesta del detector en la presencia de cada componente pasa a en un graficador. La señal producida por el detector se presenta en forma de picos que representa la concentración de los componentes eluidos (Fig.9).

Es evidente el crecimiento explosivo que ha ocurrido en los últimos años en el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para evaluar catecolaminas, indolaminas y aminas traza. Su alta sensibilidad es la razón principal para su amplia aceptación. Es también clara la preponderancia de los métodos de HPLC en neuroquímica que utilizan sistemas de detección amperométrica o electroquímica. La utilización de estos sistemas de detección se han empleado en la determinación de noradrenalina, adrenalina, dopamina, serotonina y de numerosas

*aminas traza, así como sus correspondientes metabolitos; en el cerebro, el líquido cefalorraquídeo, la sangre y la orina.*

*La determinación de catecolaminas en el cerebro por métodos de HPLC dependen de la extensión y el tipo de purificación de la muestra empleada, el modo cromatográfico usado para la separación analítica y la cantidad final de detección. Los aspectos adicionales de los métodos pueden discutirse en cuanto al número de especies que han de determinarse, ya sea catecolaminas o indolaminas simultáneamente. (Anderson, 1985).*

# CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS

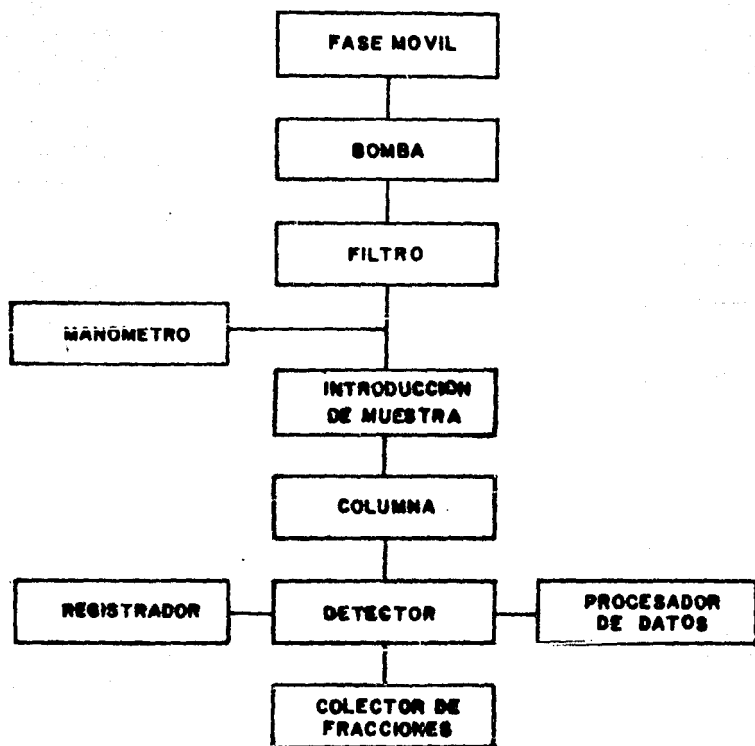


FIGURA.9. ESQUEMA DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCION  
(Manual de Perkin- Elmer).