

100



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO NEUROPROTECTOR DE LA DAPSONA SOBRE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR EL ACIDO QUINOLINICO Y EL ACIDO KAINICO

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 :
MOISES RUBIO OSORNIO



COMISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
Director de tesis:
DR. ISABEL SANTAMARIA DEL ANGEL

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

294379



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFEECTO NEUROPROTECTOR DE LA DAPSONA SOBRE LA
NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR EL ÁCIDO QUINOLÍNICO Y EL
ÁCIDO KAÍNICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A :

MOISÉS RUBIO OSORNIO

DIRECTOR DE TESIS DR. ABEL SANTAMARÍA DEL ANGEL

2001



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: Efecto Neuroprotector de la Dapsona sobre la Neurotoxicidad inducida por el Ácido Quinolínico y el Ácido Kaínico.

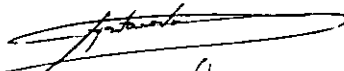
realizado por Moisés Rubio Osornio.

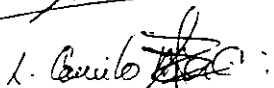
con número de cuenta 8822728-1 , pasante de la carrera de Biología.

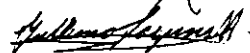
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.


Atentamente

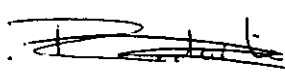
Director de Tesis

Propietario Dr. Abel Santamaría Del Angel. 

Propietario Dr. Luis Camilo Rios Castañeda. 

Propietario Dr. Guillermo Laguna Hernández. 

Suplente M en C. María de los Angeles Araceli Díaz Ruiz. 

Suplente Biol. Beatriz Rodarte Murguía. 

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Consejo Departamental de Biología


DRA. PATRICIA RAMOS MORALES



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

DEDICATORIA

Éste modesto pero significativo trabajo es para quien a compartido sus esfuerzos, sus enseñanzas y por si fuera poco su amor, o sea, a mi gran maestra y amiga: A Olivia, mi MADRE.

A ti Manuel, que a pesar de que hace años desapareciste de la faz de la tierra y ese fue el preludio de una comunión más íntima con Dios, sí a ti Papá porque entiendo que aún me acompañas en la culminación de éste bello ciclo.

He vivido todos estos largos años con la alegría de saber que son mis amigos, mis padrinos, pero más bien que soy tan afortunado de saber que he tenido unos segundos padres. Éste trabajo también se los dedico a ustedes: Juan y Raquel.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar ofrezco mi infinito agradecimiento a mis hermanos: Miguel, Carmen, Gabriel y Manuel y también a Magdalena y Mónica a pesar de que ya no están, pero es que siempre han estado todos ayudándome y soportándome, GRACIAS BROTHERS.

A los grandes amigos que siempre han estado conmigo y que la aventura en éste planeta no sería la misma sin ustedes. Gracias Abel, Jorge, Miguel, Angel, Refugio, Leonardo, Adriana, Ana, Anarella, Elsa, Martha, Norma, Memo, Hugo, Mayra (la ama), Carlos, Paloma, Evangelina y como no a Mayra Erika, estoy seguro que me faltan muchos pero también a los que no están sepan que no los olvido. Gracias a todos por existir y ser un motivo para estar alegre.

A todo el apoyo que recibí en el laboratorio de Neuroquímica por parte de Laura, Sonia, Abigail, Mireya, Sergio y Fausto, a todos muchísimas gracias por su amistad y apoyo.

La gratitud que no me puede faltar es para mi Director de tesis y amigo Dr. Abel Santamaría; para otro amigazo por su confianza y estímulo en la ciencia gracias: Dr. Luis Camilo Rios y para el buen Dr. Guillermo Laguna gracias por aceptar ser sinodal de este trabajo y gracias por su clase de Biología Celular en la carrera que fue un estímulo para seguir estudiando. Por último quiero agradecer el apoyo incondicional de dos damas que me hicieron favor de apoyarme con la revisión de este trabajo, a mis sinodales Araceli y Beatriz muchas gracias.

Y por último, dirijo un cordial agradecimiento a un grupo muy discreto que me ha acompañado durante siempre y aún más en los últimos años y principalmente al Espíritu del Universo que es el que encabeza mis cuidados y dirección.

INDICE

	Pag.
RESUMEN	1
1. ANTECEDENTES.	2
1.1. ASPECTOS GENERALES DE LA COREA DE HUNTINGTON (EH)	2
1.1.1. Hallazgos Genéticos en EH.	4
1.1.2. Hallazgos Neuroquímicos.	6
1.1.3. Hallazgos Histopatológicos.	8
1.1.4. Principios generales de la Terapia Farmacológica.	9
1.1.5. Modelos experimentales de la Enfermedad de Huntington.	15
1.2. ÁCIDO QUINOLÍNICO.	17
1.2.1. Bioquímica del QUIN.	19
1.2.2. Mecanismo de Neurotoxicidad del QUIN.	21
1.2.3. QUIN y receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA)	22
1.2.3.1. Participación del Calcio en la excitotoxicidad inducida por el QUIN.	23
1.3. ÁCIDO KAÍNICO (AK)	25
1.3.1. Neuropatología del AK.	26
1.3.2. Receptores a Ácido Káínico.	26
1.3.2.1. Caracterización Farmacológica de los receptores no-NMDA.	28
1.3.3. Efectos de la administración sistémica de AK.	28
1.3.4. Efecto del AK sobre los Neurotransmisores.	29
1.3.5. Participación del Calcio en el daño celular inducido por el AK.	30
1.3.6. Mecanismos Oxidativos inducidos por el AK.	31
1.4. DAPSONA (DDS)	32
1.4.1. Absorción.	34
1.4.2. Metabolismo.	34
1.4.3. Efectos Adversos y Toxicidad de la DDS.	36
2. HIPÓTESIS.	37
3. OBJETIVO GENERAL.	37
3.1. Objetivos Particulares.	37

4. MATERIALES Y MÉTODOS.	38
4.1. Animales.	38
4.2. Reactivos.	38
4.3. Pretratamientos y Microinyección.	39
4.4. Evaluación de la Conducta de Rotación.	40
4.5. Análisis Estadístico.	40
5. RESULTADOS.	40
5.1. Efecto de la DDS sobre la Conducta de Rotación inducida por el QUIN.	40
5.2. Efecto de la DDS sobre la Conducta de Rotación inducida por el AK.	41
6. DISCUSIÓN.	43
7. CONCLUSIONES.	48
8. APENDICE.	49
8.1. CUERPO ESTRIADO Y NÚCLEOS RELACIONADOS.	49
8.2.1. Generalidades del Cuerpo Estriado.	49
8.2.2. Aferentes Estriatales.	53
8.2.3. Eferentes Estriatales.	55
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	56

RESUMEN

En este trabajo, se probó la capacidad neuroprotectora de la Dapsona (DDS), un fármaco frecuentemente utilizado como un agente bacteriostático contra la lepra producida por *Micobacterium leprae* y el daño por *Micobacterium tuberculosis*. Recientemente se ha reportado que la DDS es capaz de prevenir las convulsiones inducidas por el ácido kaínico, es así que en este trabajo se ha probado la acción de este fármaco para atenuar la neurotoxicidad inducida por el Ácido Quinolínico (QUIN, un agonista de receptores glutamatérgico tipo NMDA) y el Ácido Kaínico (AK, un agonista de los receptores ionotrópico no-NMDA para glutamato).

La conducta de rotación, fue considerada como el factor conductual a evaluar. La conducta de rotación evaluada seis días después de la microinyección intraestriatal de QUIN (130 ± 19 giros ipsilaterales/hora, grupo control) se encontró disminuida por acción del fármaco a dosis de 12.5 y 25.0 mg/kg (63 ± 9 y 50 ± 9 g.ip/hr. respectivamente) No se observó ningún efecto neuroprotector sobre la neurotoxicidad inducida por el QUIN, cuando la DDS fue evaluada, en dosis más bajas de 6.25 y 9.375 mg/kg. La acción de la DDS a la dosis de 12.5 mg/kg, fue evaluada también seis días después de la microinyección intraestriatal de AK (106 ± 9 g.ip/hr, grupo control). Los animales tratados con DDS + AK (26 ± 7 g.ip./hr) mostraron una atenuación significativa en la conducta de rotación. Estos resultados sugieren que la DDS esta actuando como un agente neuroprotector contra la excitotoxicidad inducida por dos agonistas de receptores para glutamato que se consideran dos modelos conductuales de la corea de Huntington.

1. ANTECEDENTES.

1.1. ASPECTOS GENERALES DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON (EH)

George Huntington describió primeramente y de manera sistemática en el año de 1872 la enfermedad que lleva su nombre, como un padecimiento hereditario, asociado a la demencia y alteraciones del movimiento (Harper y Morris, 1996).

La enfermedad de Huntington es una alteración neuropsiquiátrica degenerativa que afecta en forma característica los ganglios basales y también involucra áreas extensas del sistema nervioso central. Su patrón de herencia es autosómico dominante de modo tal que cada hijo de un padre afectado tiene un 50 % de riesgo de heredar el gen de la EH. En 1983 se localizó el gen de la EH en el brazo corto del cromosoma 4; diez años más tarde se aisló el gen. El defecto genético consiste en lo siguiente: los tres pares de bases de ADN, conocidos como trinucleótidos repetidos (o tripletes), están en una secuencia con un número anormalmente aumentado de repeticiones (Huntington Disease Collaborative Research Group, 1993). Aún no se sabe el proceso mediante el cual este defecto genético produce la EH y se desconoce el funcionamiento normal del gen.

Las características clínicas de la enfermedad de Huntington se pueden conceptualizar como una triada de alteraciones emocionales, cognitivas y motoras. Los síntomas se presentan de forma gradual, generalmente dentro de los 35 y 50 años, no obstante, los primeros síntomas pueden manifestarse en cualquier momento desde la infancia hasta la vejez. La muerte ocurre como promedio a los 15 años de las primeras manifestaciones de la enfermedad. Algunos pacientes fallecen prematuramente a causa de caídas o suicidio, y otros pueden sobrevivir de 30 a 40 años.

Las alteraciones en la esfera emocional más comunes son los trastornos depresivos, la irritabilidad y la apatía. Los síntomas tipo esquizofrenia aparecen con menor frecuencia.

estos trastornos presentan una variedad de manifestaciones, incluyendo episodios de agresión, impulsividad, aislamiento social y conductas suicidas.

La alteración en la esfera de la cognición o el intelecto, inicialmente se caracterizan por una pérdida en la velocidad y flexibilidad cognitivas, estas pérdidas cognitivas se acumulan en forma progresiva. En estadios muy avanzados de la enfermedad, la mayoría de las áreas cognitivas van a verse afectadas y sólo algunas de las capacidades cognitivas se mantienen intactas, dificultando así la posibilidad de valorar las áreas preservadas (Neal, G. y col., 1996).

El trastorno motor se caracteriza por movimientos voluntarios e involuntarios: especialmente la corea. La corea es una serie de movimientos involuntarios sucesivos, vivos y naturales, de considerable complejidad, que se asemejan a fragmentos de movimientos voluntarios intencionales. Estos movimientos afectan principalmente las porciones distales de las extremidades, los músculos de la expresión facial, la lengua y los músculos de la deglución. La mayor parte de las actividades de tipo coreico se asocian con hipotonía. Aún cuando la corea es el trastorno del movimiento más característico de la EH, la alteración de los movimientos voluntarios se encuentra de hecho más relacionada con la incapacidad funcional. Los pacientes presentan una disminución de la destreza manual, habla arrastrada, problemas con la deglución y finalmente, presentan una rigidez que les impide iniciar cualquier movimiento en forma voluntaria. Los pacientes que sobreviven hasta este estado avanzado, se mantienen confinados a una cama y son incapaces de participar en su auto-cuidado (Carpenter, 1994).

Cuando la EH se inicia en la infancia o en la adolescencia, por lo regular se presenta un bajo rendimiento escolar, bradicinesia y distonía con o sin hipertonía. Los movimientos involuntarios pueden manifestarse como temblor en lugar de corea y pueden aparecer crisis convulsivas. Esta forma rígido-acinética (llamada variante de Westphal de la EH) empeora rápidamente y rara vez excede los 14 años de duración (Folstein, S. y col., 1983).

La EH de inicio en la edad adulta se puede dividir de forma general en tres etapas: En las etapas iniciales de la enfermedad, las manifestaciones incluyen cambios sutiles de coordinación, tal vez algunos movimientos involuntarios menores, dificultad para pensar en problemas y frecuentemente presentan animo deprimido o irritable. En la etapa intermedia, la corea ya se manifiesta prominente y la dificultad para llevar a cabo movimientos voluntarios es más evidente, acompañada de un empeoramiento de la disartria y la disfagia. A medida de que las deficiencias cognitivas aumentan, el paciente estará incapacitado de mantener una responsabilidad de trabajo o de llevar a cabo labores del hogar. Los pacientes en etapas tardías de la enfermedad, pueden presentar corea severa, pero más frecuentemente se encuentran rígidos y bradicinéticos; por lo general no pueden comunicarse, están confinados a una cama con una demencia más global, pero aún así retienen un grado significativo de comprensión verbal. Las alteraciones psiquiátricas se pueden presentar en cualquier etapa de la enfermedad, inclusive varios años antes del desarrollo de los síntomas motores (Folstein, 1989).

La frecuencia de esta enfermedad en poblaciones europeas es de 4-9/100 000, haciendo de la EH uno de los desordenes hereditarios neurológicos más comunes (Harper, 1996). Otros estudios, muestran zonas de alta prevalencia, localizadas en el oeste de Escocia y en la región del lago de Maracaibo en Venezuela, en donde hay una tasa aproximada de 1000-7000/100 000 casos. En ciertos grupos étnicos tales como los japoneses y negros americanos, el número de casos es notablemente bajo (Shoulson, I. 1984).

1.1.1. HALLAZGOS GENÉTICOS EN LA EH

Mediante la aplicación a nivel molecular de la tecnología del ADN recombinante a poblaciones que manifestaron la enfermedad, se demostró que un segmento del ADN del brazo corto del cromosoma 4 esta estrechamente relacionado con el gen causante de la EH (Housman y Gusella, 1983). Por digestión enzimática de este marcador de ADN, cuatro patrones o haplotipos han podido ser detectados, demostrando un patrón de segregación

particular del gen causante de la corea. En los dos pedigrees analizados se encontraron variaciones en la frecuencia de haplotipos (Venezuela y Norte América). Con suficiente información acerca de la distribución de los haplotipos en las poblaciones estudiadas durante largo tiempo, es posible hacer predicciones prenatales, e incluso, in útero, sobre la expresión del gen causante de la enfermedad de Huntington (Weiner, W. y Long, A. 1989).

Como ya se menciono la EH es una neurodegeneración heredada de la cual la mutación asociada fue aislada en 1993. La mutación es una expansión de una repetición del trinucleotido CAG, la cual se transforma para dar una vía "tract" en el extremo amino terminal de la proteína (la Huntingtina). Ni las funciones normales ni las patológicas de esta proteína han sido identificadas, pero es claro que la patogénesis es mediada a través de la vía "tract", la cual da lugar a una expansión de poliglutamina, la cual es tóxica para las células. Un gran número de proteínas que interactúan con la región amino terminal de la Huntingtina han sido aisladas, pero esto no ha producido una explicación satisfactoria para la patogénesis. La Huntingtina se encuentra en áreas del cerebro que degeneran en esta enfermedad pero está también asociada con inclusiones patogénicas en la enfermedad de Alzheimer y en el síndrome o enfermedad de Pick. Es posible que la Huntingtina tenga mecanismos en común con estas enfermedades neurodegenerativas y que este pueda relacionarse con la formación de inclusiones anormales dentro de la célula (Albin, L. y Tagle, D. 1995).

Se ha propuesto que las variaciones en la edad de inició están relacionadas a formas alélicas separadas (Wallace, D. y Hall, A. 1972). Un factor importante relacionado a la edad de inició es el sexo del padre afectado, ya que se ha visto que un paciente juvenil con la enfermedad, generalmente proviene de una familia donde el padre fue afectado por la misma. Este hallazgo sugiere que el cromosoma X tiene alguna manera de modificar el gen de la corea, aunque la controversia se presenta en el hecho de que el mal de Huntington juvenil presenta una distribución de sexos equitativos (Merrit, A. y col., 1969). Su herencia es autosómica dominante de modo tal que cada hijo de un padre afectado tiene un 50 % de riesgo de heredar el gen de la EH. Los síntomas se presentan de forma gradual, generalmente entre los 35 y 50 años, no obstante los primeros síntomas pueden

manifestarse en cualquier momento desde la infancia hasta la vejez (Neal, G y col., 1996). Por su parte, se ha observado que la variabilidad en la edad de inicio es menor dentro de una sola familia que entre las familias. Además, factores demográficos, edad reproductiva, clima y estrés ocupacional son algunos de los factores ambientales que han sido postulados con influencia sobre la edad de inicio de la enfermedad (Brackeridge, C. 1980).

1.1.2. HALLAZGOS NEUROQUÍMICOS.

En la EH se ha comprobado que existen notables alteraciones en el contenido de cobre y hierro en el cuerpo estriado (neostriado), así como en la sustancia negra de cerebros postmortem de pacientes con la EH, al ser comparados contra cerebros de pacientes control (Carrasco, L. 1986).

Existen estudios que establecen que el recambio de dopamina en la EH puede estar disminuido y sobre la consideración del incremento relativo de dopamina estriatal, se ha postulado que la pérdida de las células pequeñas en el estriado de los pacientes puede producir un incremento en la tasa de dopamina por receptor, lo que pudiera explicar la eficacia parcial de drogas antidopaminérgicas (Fahn, S. y Libach R. 1971). Sin embargo, en algunos estudios se ha sugerido que existen cambios pequeños o nulos en la concentración de la dopamina estriatal, otros sugieren cierto incremento en la concentración de dopamina en el cuerpo estriado, sustancia negra y núcleo acumbens, lo cual puede deberse inicialmente a la pérdida de tejido en el cuerpo estriado atrofiado, o bien, a factores como la pérdida de fibras gabaérgicas aferentes del estriado a la sustancia negra, provocando además una pérdida retrograda de dopamina de las terminales dopaminérgicas de la vía nigro-estriatal (Bira, D. 1980).

Se ha reportado que la concentración de ácido gamma-aminobutírico (GABA) disminuye hasta en un 60% en el cuerpo estriado, pero no en la corteza frontal o en el cerebelo de pacientes con corea de Huntington, mientras que la actividad de la descarboxilasa de ácido glutámico (GAD), la enzima de síntesis del GABA, disminuye en

el cuerpo estriado y permanece normal en la corteza frontal. La reducción del 50 % o más de GABA y de la actividad de la GAD ha sido interpretada mediante la hipótesis de que las neuronas espinosas estriatales de tamaño mediano que contienen GABA son las que degeneran en la EH (Spokes, E. y col 1979).

Además, la actividad de la colina acetiltransferasa (CAT), enzima de síntesis de la acetilcolina, disminuye también en la EH, reflejando la degeneración de las interneuronas colinérgicas estriatales. Así mismo, se ha observado una pérdida de los sitios muscarínicos de unión específica. Los efectos del sistema colinérgico carecen de uniformidad y varían de acuerdo a la evolución del mal (McGeer, P. 1973).

La sustancia P, un neuropéptido encontrado en los ganglios basales, se ha postulado como un neurotransmisor excitador de la vía eferente del cuerpo estriado a la sustancia negra. La sustancia P y el GABA tienen actividad antagonista sobre las neuronas dopaminérgicas. En la EH, la concentración de sustancia P en el globo pálido y en la sustancia negra disminuye hasta en un 90 %, mientras que en el núcleo caudado disminuye en un 50 % y en la zona compacta de la sustancia negra se observa un tercio de la concentración normal. Se ha postulado la idea de que la pérdida de sustancia P ocurre en las proyecciones de las vías estriato-palidal y estriato-nigral. En el líquido cefalorraquídeo, la sustancia P permanece normal (Emson, P. y col., 1980).

Aunque la concentración postmortem de glutamato en el estriado de los pacientes es normal se cree que la patogenéesis de la EH puede ser explicada por la sobreproducción de glutamato o de otro aminoácido excitador en las etapas tempranas de la enfermedad (Sandberg, P y col. , 1981).

La actividad de la enolasa específica neural (enzima glicolítica) disminuye, al igual que la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), la cual convierte a la angiotensina I en angiotensina II, que actúa como neurotransmisor en el cerebro, lo que sugiere una función aberrante de la angiotensina como un factor etiológico importante en la corea de Huntington (Arregui, A. y col., 1977).

Se han observado también anomalías y una gran disminución en el número de receptores para N-metil-D-aspartato (NMDA, subtipo de receptores para aminoácidos excitadores) en el cuerpo estriado de pacientes con EH, así como notables anomalías en las proyecciones de neuronas estriadas y en receptores para NMDA en pacientes presintomáticos (Albin, R. y col., 1990)

1.1.3. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

La apariencia general del cerebro de los pacientes que murieron a consecuencia de la enfermedad es anormal. Usualmente el tamaño del cerebro es muy pequeño y con atrofia visible, de media a moderada en la corteza cerebral, preferencialmente en los lóbulos frontales y los parietales. En muchos casos el peso normal del cerebro disminuye en un 20 a 30 %. Las secciones coronales del cerebro a la altura de la cabeza del núcleo caudado, muestran una marcada atrofia del cuerpo estriado y la resultante dilatación de los ventrículos laterales. En lugar del típico abultamiento del núcleo caudado dentro de la pared del ventrículo lateral, se presenta una cavidad donde sólo quedan restos del mismo. Pueden ser observados grados menores de atrofia y pérdida celular en el globo pálido y el tálamo. En muchos casos, el tallo cerebral, médula espinal, sustancia negra y cerebelo muestran una apariencia normal. Puede haber considerable variación de los cambios observados a nivel microscópico, pero cuando estos están presentes, el diagnóstico patológico suele ser muy confiable. En los casos juveniles el grado de atrofia puede ser más severo (Corseilis, J. 1976).

La patología a nivel macroscópico se refleja principalmente en la pérdida neural en la corteza cerebral, núcleo caudado y putamen. La pérdida neural en la corteza tiende a ser predominante en la tercera, cuarta y quinta capas corticales. Los altos contenidos de lipopigmentos detectados, sugieren proliferación astrocítica. Aunque en el núcleo caudado y el putamen aproximadamente del 60 al 70 % del tejido puede perderse; se ha observado que las células pequeñas del estriado están más frecuentemente involucradas en los procesos patológicos que las células grandes y alargadas. Es de gran interés el hecho de que

el concepto de una enfermedad de células pequeñas esté más relacionada con corea y que una enfermedad de células largas tenga mayor relación con enfermedades de tipo rígido, como la misma variante rígida de la EH (Liss, L. y col., 1973). Existe controversia sobre la relación entre el tipo de células que son afectadas en la enfermedad y el tipo de variaciones de la misma. Ha llegado a postularse que la variante de rigidez puede involucrar el daño selectivo de una porción del estriado, globo pálido, sustancia negra y otras regiones (Bugiani, O. y col., 1984).

Los hallazgos histopatológicos de la EH se derivan de estudios de impregnación por la técnica de Golgi y las nuevas técnicas de tinción. La relación diferencial de las neuronas en los procesos patológicos de la corea de Huntington aún no se conoce, sin embargo, se ha demostrado que el cuerpo estriado de pacientes con la enfermedad, la morfología de las dendritas de las neuronas espinosas de tamaño mediano se ve alterada por la aparición de terminales recurvadas y apéndices, un cambio en la densidad de espinas y anomalías en el tamaño y forma de las mismas. Los cambios patológicos son poco frecuentes en las neuronas no espinosas de tamaño mediano o largo. Estos hallazgos de la degeneración de las neuronas espinosas asociados con la corea, apoyan la idea de que una población específica de neuronas neocorticales está involucrada selectivamente en este mal. La pérdida de estas neuronas espinosas de tamaño mediano se correlaciona con la disminución de ciertos neurotransmisores y moduladores (GABA, sustancia P, encefalinas) en el cerebro de los pacientes (Graveland, G. y col., 1985).

1.1.4. PRINCIPIOS GENERALES DE LA TERAPIA FARMACOLÓGICA

El diagnóstico clínico de la EH está basado en la presencia del trastorno del movimiento y una historia clínica familiar de la enfermedad. El trastorno motor se puede cuantificar utilizando el examen neurológico cuantificado, desarrollado por la Clínica de la Enfermedad de Huntington del Johns Hopkins Hospital. El hallazgo de atrofia del núcleo caudado por la Tomografía Axial Computada (TAC) o por Imagen de Resonancia Magnética (IRM) es sugestivo de EH pero no es un hallazgo suficiente o necesario para

realizar el diagnóstico. La evaluación genética para propósitos de diagnóstico, puede también ser de utilidad, especialmente cuando no se puede obtener una historia clínica familiar o ésta es poco clara, o si los signos neurológicos se encuentran presentes pero no son claramente compatibles con la enfermedad de Huntington. Una prueba de gen positivo en ausencia de signos neurológicos indica la presencia del gen de la EH pero no el inicio de la enfermedad, ya que éste continúa siendo un diagnóstico clínico (Myers, R. 1993).

El cuidar y tratar pacientes con la enfermedad de Huntington implica constantes desafíos y recompensas. En algunos casos, la ausencia aparente de remedios puede ser frustrante; por ese motivo, los médicos deben de tratar de ser creativos en la búsqueda de soluciones. Sin embargo, la observación cuidadosa de los constantes cambios de los síntomas y la buena comunicación entre los miembros de la familia, los profesionales de la salud y el individuo, pueden contribuir al manejo exitoso de la enfermedad. Dada la naturaleza progresiva de la EH, los síntomas varían en el curso de la enfermedad. Por ejemplo, la corea puede ser prominente en etapas intermedias de la enfermedad, pero tiende a disminuir a medida que la misma va avanzando (Young, A. y col., 1986).

Es importante tener conciencia de la evolución de los síntomas, ya que los medicamentos que pueden ser útiles en una etapa pueden dejar de serlo más adelante; de hecho pueden ser dañinos en algunos casos. Por ejemplo, iniciar los medicamentos neurolépticos en una etapa inicial de la corea puede exacerbar la rigidez y la disfagia que caracterizan etapas más avanzadas de la enfermedad. Aún si la corea persiste, ésta puede no responder a medicamentos neurolépticos (Shoulson, I. 1983).

Por los motivos antes expuestos, el esquema de medicamentos del paciente debe ser revisado periódicamente. Aún más cuando se examina un paciente por primera vez, los medicamentos preexistentes y las indicaciones de los mismos deben ser revisadas detalladamente.

Los trastornos psiquiátricos asociados con la EH son en general tratados menos frecuentemente de lo necesario, probablemente debido a la tendencia de atribuirlos al

contexto de las enfermedades crónicas. Estos disturbios psiquiátricos en la EH abarcan una variedad de síntomas, incluyendo la depresión, la irritabilidad, la apatía, la ansiedad, los síntomas de tipo esquizofrenia, las obsesiones y la conducta sexual anormal. La depresión en la EH responde a los mismos tratamientos utilizados en la depresión idiopática. Los antidepressivos tricíclicos (ATC's) como la nortriptilina o la imipramina son los fármacos de elección en el tratamiento de la depresión ideopática. El uso de la nortriptilina es preferible a los otros ATC's por las siguientes razones: 1) se han establecido los niveles sanguíneos terapéuticos de la droga; 2) posee actividad anticolinérgica relativamente baja, produciendo menos síntomas como boca reseca, visión borrosa, etc. 3) sus propiedades alfa-adrenérgicas bajas minimizan el riesgo de hipotensión ortostática. Sin embargo, los ATC's que producen más sedación, como la imipramina o la amitriptilina, pueden ser la mejor opción cuando existen características prominentes de insomnio y agitación. Es también apropiado elegir uno de los bloqueadores específicos de la serotonina como primer tratamiento para la depresión (Ranen, N. y col., 1993).

Los pacientes con EH pueden no requerir un tratamiento farmacológico para sus episodios de ánimo elevado, si estos son leves y no se asocian con comportamientos peligrosos para ellos mismos. Para aquellos que requieren tratamiento el litio rara vez resulta efectivo. Además los pacientes con la EH están más propensos a sufrir deshidratación, y tienen así un mayor riesgo de sufrir efectos tóxicos causados por el litio. La carbamacepina es el tratamiento inicial de elección, en dosis de 100 mg a la hora de acostarse, con incrementos graduales hasta que se obtenga un mejoramiento de los síntomas o se produzcan efectos secundarios. No se han establecido niveles sanguíneos terapéuticos con respecto a la carbamacepina cuando ésta es utilizada para tratar trastornos afectivos aunque, en general, no se debe exceder el rango terapéutico establecido para las crisis convulsivas 4-12 (mg/ml). Por otra parte el ácido valproico también se ha utilizado para el Trastorno Bipolar. El tratamiento se debe iniciar con una dosis de 250 mg por v.o. al día y aumentarse a 250 mg por v.o. tres veces al día durante varios días. La dosis puede ser aumentada y ajustada hasta llegar a 1800 mg/día, logrando un nivel sanguíneo de 50-100 mg/ml. Los efectos más importantes son náusea, sedación y vómito. El valproato se debe

utilizar con cautela en mujeres de edad reproductiva ya que incrementa el riesgo de defectos fetales del tubo neural.

Para controlar la agitación o desorganización que se presenta en la manía se pueden adicionar medicamentos neurolépticos o benzodiazepinas. Un paciente joven no demenciado, agitado o delirante puede requerir 5 mg de haloperidol por v.o. dos o más veces al día para la agitación y los síntomas psicóticos, o 1 mg de clonazepam por v.o. tres veces al día para la agitación. Se pueden requerir dosis adicionales por vía oral o intramuscular para la agitación severa, los pacientes con alteraciones cognitivas se deben empezar a tratar con dosis más bajas (Barr, A. y col., 1988).

La esquizofrenia es menos común que el trastorno afectivo en la EH, presentándose en el 4% de las personas con EH. El tratamiento es principalmente basado en el uso de neurolépticos cuyo fin es tratar las alucinaciones y los delirios. Se prescriben dosis iniciales de haloperidol de 0.5-1.0 mg por v.o. dos veces al día para un sujeto anciano o con demencia. Para un paciente joven, agitado, se prescribe una dosis de 5 mg o más de haloperidol por v.o. dos veces al día. Se recomiendan las preparaciones de depósito intramusculares de haloperidol y flufenacina para pacientes que no se adhieran al tratamiento. La clozapina es indicada para psicosis refractaria, ya que puede ser especialmente útil en la enfermedad de Huntington debido a la frecuencia relativamente baja de efectos secundarios extrapiramidales. La dosis inicial debe ser baja (25 mg/día) y ser aumentada lentamente hasta llegar a 200 mg/día. El control hematológico se debe llevar a cabo de acuerdo a los criterios clínicos establecidos (Sajatovic, M. y col., 1991).

Los inhibidores de la recaptura de serotonina como la fluoxetina, sertralina y la clomipramina se han utilizado con resultados moderados en el tratamiento de la irritabilidad y la agresión. La fluoxetina se utiliza como en el caso de la depresión y la sertralina se inicia con dosis de 25-50 mg/día y en caso necesario, se incrementa de 25 a 50 mg a lo largo de varias semanas hasta llegar a un máximo de 200 mg/día, que puede ser tomada como dosis única diaria. Se desconoce la dosis óptima para tratar la irritabilidad. Al igual que con la

fluoxetina, la respuesta a la setralina puede no parecer evidente sino hasta varias semanas después de iniciado el tratamiento (Folstein, S. y col., 1987).

En el caso de la apatía, secundaria a la depresión, por lo general esta responde a medicamentos antidepresivos, pero no se conocen medicamentos que ayuden únicamente a la apatía asociada a la EH. Los neurolépticos pueden causar o contribuir a la apatía por lo que, dentro de lo posible, se deben disminuir de forma gradual.

Algunos pacientes no van a mejorar con terapia de apoyo o con manipulaciones de medio ambiente y para el caso de la ansiedad, y según el grado de esta puede requerir intervención farmacológica. En el caso de que la ansiedad sea parte de una depresión se debe iniciar un tratamiento antidepresivo específico. La ansiedad puede también ser secundaria a un trastorno obsesivo compulsivo (TOC) y en este caso se puede adoptar un tratamiento con inhibidores de la recaptura de serotonina. Cuando la ansiedad no es secundaria a alguna de estas condiciones, puede responder a la buspirona, un ansiolítico no benzodiazepínico que no produce dependencia. La dosis inicial de la buspirona es de 5 mg, de dos a tres veces por día.

Los pacientes pueden mostrar también conductas sexuales inapropiadas tales como masturbarse en público o acariciar a extraños. Se ha obtenido cierto éxito con un tratamiento de provera. La dosis de provera usualmente utilizada para un adulto es de 60-80 mg por v.o. por día, o de provera 500 mg cada semana. Los pacientes que estén tomando provera deben ser controlados regularmente para chequear hipercolesterolemia, hipertensión y aumento de peso (Neal, G. y col., 1996).

El trastorno cognitivo en la EH generalmente carece de las características típicas de la demencia tipo Alzheimer, como son la afasia y la agnosia; tradicionalmente se refiere a ella con el nombre de demencia subcortical. Desde etapas iniciales, la demencia de la EH se caracteriza por una pérdida de la velocidad cognitiva y la flexibilidad. No existen tratamientos efectivos para la demencia, sin embargo, el cuadro se puede empeorar con situaciones ambientales complejas, situaciones nuevas y sobre medicación. Por esta razón,

se deben supervisar los medicamentos del paciente y discontinuar aquellos medicamentos innecesarios, especialmente los fármacos con actividad anticolinérgica (Neal, G. y col., 1996).

El trastorno de los movimientos en la EH consiste en dos componentes clínicos: movimientos anormales involuntarios y anomalías del movimiento voluntario. La corea (o coreoatetosis) consiste en movimientos irregulares continuos, sacudidas o contorsiones. Este movimiento involuntario anormal es el que más se asocia a la EH, sin embargo, las alteraciones del movimiento voluntario son las más altamente correlacionadas con la incapacidad funcional. Las alteraciones del movimiento voluntario incluyen: movimientos oculares anormales (movimientos sacádicos lentos, hipométricos y sacudidas, entre otros), incoordinación arrítmica y lentitud en los movimientos finos, disfagia, disartria, bradicinecia, torpeza y trastornos de la marcha (Folstein, S. E., 1989)

En el caso de la corea y cuando esta es incapacitante o es una fuente importante de ansiedad, es necesario iniciar un tratamiento farmacológico. Las primeras intervenciones usan agentes bloqueadores de receptores de dopamina o neurolépticos. El haloperidol y la flufenazina se deben iniciar a dosis bajas de 0.5-1 mg/día, además, este último a niveles de 2-5 mg/ml en sangre pueden ser los adecuados para reducir la corea (Barr, A. y col., 1988). Los agentes que disminuyen a la dopamina como la reserpina generalmente se inician con una dosis inicial de 0.1 mg/día y se puede incrementar a intervalos de cinco a siete días hasta llegar a una dosis de 3 mg/día; la tetrabenzina representan otra opción de tratamiento para la corea, con una dosis inicial de 12.5 mg de 2-3 veces al día incrementando el doble 3-4 días y de ser necesario se puede administrar 25 mg cuatro veces al día, hasta un máximo de 100 mg/día. Finalmente el clonazepam, una benzodiazepina, puede ser útil en el tratamiento de la corea y puede ser de mayor utilidad más adelante con la progresión de la enfermedad, cuando los medicamentos neurolépticos produzcan poco o ningún efecto (Peiris, J. y Lionel, N., 1976).

En cuanto a la rigidez y la espasticidad son signos problemáticos porque responden poco al tratamiento farmacológico y pueden ser muy incapacitantes. La rigidez y la distonía

generalmente son asimétricos. La distonía incluye torcer, inclinar y voltear el cuello (tortícolis), tener la espalda arqueada y arco alto del pie invertido. Se han utilizado una variedad de medicamentos para manejar la rigidez, espasticidad y distonía y ninguno ha reportado un éxito significativo. El baclofen (a dosis iniciales de 10 mg/día se puede ir incrementando lentamente hasta llegar a una dosis de 60 mg/día) y los benzodiazepínicos como el clonazepam (usada en dosis similares a las mencionadas anteriormente en la corea) pueden ser de utilidad, pero pueden incrementar la bradicinesia y la dificultad para iniciar las tareas. El uso juicioso de medicamentos anti-parkinsonicos, como la amantadina, L-Dopa, pergolida y bromocriptina, pueden en algunas ocasiones ayudar a aliviar la bradicinesia y la rigidez, pero pueden perder su efecto benéfico después de un período de 3-6 meses. Aún en dosis bajas, también pueden producir agitación, alteraciones cognitivas y aún alucinaciones en pacientes con EH. La amantadina se ha utilizado en dosis de 50-200 mg/día y L-Dopa en dosis de 25/100 2-3 veces al día e incrementarla a razón de 1.25 mg dos veces a la semana o a intervalos mensuales en caso de ser necesario. Para un tipo especial de distonía y tortícolis, se han tratado exitosamente a pacientes con la EH mediante inyección de toxina botulínica. (Jankovik, J. 1992).

Por otra parte, en cuanto a la disfagia, no se conocen medicamentos que mejoren directamente la deglución, y existen pocos estudios experimentales que hayan evaluado sistemáticamente la eficacia de cualquiera de las intervenciones utilizadas para la disfagia. Y en lo que se refiere a la disartría, no se conocen medicamentos que mejoren las dificultades en la comunicación, en este caso los neurolépticos pueden empeorar esta condición, siendo necesario considerar algunas intervenciones no farmacológicas para mejorar la comunicación (Neal, G. y col., 1996).

1.1.5. MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

En 1976 se establece el empleo de ácido káinico como el modelo más viable para reproducir las características histológicas, conductuales y bioquímicas de la corea de Huntington, lesionando neuronas gabaérgicas y colinérgicas, sin alterar neuronas

dopaminérgicas. La actividad de algunas enzimas tales como la glutamato descarboxilasa y la colina acetiltransferasa, disminuyeron al igual que en la enfermedad; sin embargo, a diferencia de la FH, los niveles de dopamina, la actividad de la tirosina hidroxilasa y la recaptura de dopamina se incrementaron significativamente (Coyle, J y Schwarcz, R. 1976).

En 1990 Hantraye y col., basados en estudios previos sobre la neurotoxicidad del ácido iboténico en hipocampo de rata, se propone a este último como modelo experimental de la corea de Huntington por la evaluación de parámetros conductuales y anatómicos de lesiones inducidas en el núcleo caudado y putamen de babuinos, observándose una proliferación astrocítica, pérdida de fibras colinérgicas, sin alterarse las fibras dopaminérgicas. También fue observada una reducción de la metencefalina. Sin embargo, también fue observada una considerable alteración en los niveles de dopamina y en la actividad de la tirosina hidroxilasa, a diferencia de lo observado en la enfermedad, así como algunas diferencias conductuales, lo cual limita un tanto la reproducibilidad del modelo, situándolo como una mejor alternativa experimental de las alteraciones de la corea de Huntington en comparación con el modelo inducido por el ácido kaínico, pero sin embargo, con ciertas limitaciones (Hantraye, P. y col., 1990).

Beal F y col., en 1986 se realizó un estudio inmunohistoquímico comparativo entre múltiples sustancias neuroexcitadoras y sus efectos neurotóxicos sobre el cuerpo estriado de la rata, donde se evaluó las alteraciones morfológicas y los perfiles neuroquímicos de ésta región. Los niveles de somatostatina, neuropéptido Y, sustancia P, vasopresina, GABA y dopamina fueron medidos después de la administración de ácido nicotínico, ácido tállico, ácido N-metil-D-aspartico, ácido iboténico, ácido kaínico y ácido quinolínico en varias concentraciones. La finalidad de dicho ensayo, fue establecer cual de estas sustancias neuroactivas reproducía de mejor forma las características de la corea de Huntington. No se observaron cambios significativos después de la administración de ácido nicotínico, ni de ácido tállico. Por su parte tanto el ácido N-metil-D-aspartico, como los ácidos iboténico, kaínico y quinolínico redujeron significativamente la inmunorreactividad a la sustancia P y a los niveles de GABA, tal como se observa en la corea de Huntington, pero con excepción

del ácido quinolínico, las otras tres sustancias también disminuyeron significativamente la inmunorreactividad a la somatostatina y el neuropéptido Y, contrario a lo que ocurre en la enfermedad (Beal, F. y col., 1986). Las inyecciones de ácido quinolínico, kaínico, iboténico y tánico produjeron toda una zona de necrosis circundada por un área de pérdida total de neuronas. Sólo el quinolínico mantuvo intactas a las neuronas que contenían somatostatina y neuropéptido Y, lo cual fue atribuido a la capacidad de dichas neuronas de metabolizar al ácido quinolínico, mediante la enzima NADPH-diaforasa, por lo que se postula que dichas neuronas podrían captar al ácido quinolínico y metabolizarlo, por lo que, se ha propuesto al ácido quinolínico como el mejor modelo experimental para reproducir las características de la enfermedad de Huntington, dadas las semejanza presentes en la enfermedad (Schwarcz, R. y col., 1984).

1.2. ACIDO QUINOLÍNICO.

Recientemente, el ácido quinolínico (QUIN) un compuesto endógeno del cerebro ha adquirido gran importancia en el estudio de procesos patológicos, no sólo como modelo de la EH, sino también en algunas alteraciones asociadas con otras enfermedades como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Heyes, P. y col., 1989), en donde se cree que los altos niveles registrados de este ácido en líquido cefalorraquídeo, puedan estar implicados en la demencia y en la atrofia cerebral observadas en estos enfermos. Adicionalmente, el QUIN ha sido utilizado en modelos de epilepsia (Schwarcz, R. y col., 1983), en hipoxia (Schurr, A. y col., 1991) e isquemia (Hagberg, H. y col., 1985). Se han observado cambios en los niveles de ácido quinolínico en el sistema nervioso en modelos de hipoglucemia (Heyes, P. y col., 1990), alcoholismo (Morgan, P. 1991) en gliomas humanos (Vezzani, A. y col., 1991), en síndromes neurológicos de hipertensión (Wardley, B y col., 1989) y septicemia (Heyes, P. y Lackner, A. 1990), entre otros, lo que sugiere una participación del metabolismo del ácido quinolínico en múltiples procesos patológicos del sistema nervioso.

Se ha propuesto al QUIN como el principal agente etiológico de la EH. Una primera indicación de lo anterior viene de estudios en los cuales se demostraron los efectos

excitotóxicos del ácido quinolínico (Beal, I. y col., 1986). Otro aspecto importante en esta hipótesis es el hecho de que las lesiones provocadas por concentraciones submicromolares de esta toxina pueden ser prevenidas con el tratamiento del MK-801, un antagonista no competitivo de los receptores para NMDA (Beal, M. y col., 1988), lo que lleva a pensar que las alteraciones observadas en la enfermedad podrían estar mediadas por la excitación de los receptores para NMDA.

Por otra parte, se ha observado que varias regiones cerebrales de pacientes con FH exhiben un incremento significativo en la actividad de la 3-hidroxiantranilato (la enzima encargada de la síntesis del ácido quinolínico) (Schwarz, R. y col., 1988). Aparentemente, el cerebro de los pacientes tiene una alta capacidad para generar la endotoxina. El hecho de que sus enzimas de síntesis y degradación estén presentes en células distintas sugiere que la síntesis de esta sustancia puede ocurrir en células incapaces de degradarlo. Por ello, si tiene lugar una sobre producción, el QUIN puede ser liberado al espacio extracelular y activar los receptores para NMDA.

En contraparte, los niveles de ácido quinolínico han sido evaluados tanto en líquido cefalorraquídeo (Schwarz, R y col., 1988 b) como en la orina (Heyes, P. y col., 1985) y en cerebros postmortem (Reynolds, G. y col., 1988), de pacientes con corea de Huntington no encontrándose niveles significativamente elevados con respecto a los pacientes control. Sin embargo, parece prematuro establecer conclusiones definitivas con base en un número pequeño de pacientes como el que se analizó en estos estudios. No debe excluirse la posibilidad de que en la fase inicial de la corea, las concentraciones de ácido quinolínico pueden estar elevadas, y en consecuencia inducir todos los eventos tóxicos que se han observado (Bruyn, R. y col., 1990). Por otra parte, se ha demostrado que la exposición crónica del tejido a la toxina a muy bajas concentraciones (submicromolares) y su administración en cuerpo estriado también a concentraciones bajas, pueden inducir una notable degeneración neuronal y pérdida de algunos neurotransmisores. Así, el papel del ácido quinolínico en la etiología de la enfermedad de Huntington no se conoce con precisión (Yamada, K. Y col., 1990)

1.2.1. BIOQUÍMICA DEL QUIN.

El ácido quinolínico (ácido 2,3-piridin-dicarboxílico). (Wildholz, M. y col., 1990) fue identificado por primera vez por Wolfensberger y colaboradores en el cerebro de la rata y en el tejido cerebral de humano (Wolfensberger, M. y col., 1983), y posteriormente en los cerebros del ratón, el conejo y otros mamíferos pequeños. A partir de estos trabajos se ha reportado que el ácido quinolínico está presente en la corteza cerebral, el cuerpo estriado, el hipocampo, el diencéfalo, el cerebelo y el tallo cerebral de varios mamíferos, y que su concentración aumenta en relación directa con la edad, de manera que en los animales seniles, los niveles de dicho metabolito son muy altos (Moroni, F. y col., 1984). Esto es de gran interés dado que el QUIN podría estar involucrado en algunos de los procesos de envejecimiento celular relacionados con la edad, siendo probablemente un factor potencialmente activo en la degeneración neuronal espontánea que ocurre durante los cambios fisiológicos vinculados con la edad. Esta idea es interesante cuando se considera el hecho de que los efectos tóxicos inducidos por este metabolito endógeno sólo se han observado en tejido nervioso maduro (Schwarz, R. y col., 1984), lo que refuerza la tendencia a pensar en un posible vínculo entre las alteraciones celulares relacionadas, la edad y la sobreproducción de esta neurotoxina. El incremento observado en el contenido del ácido quinolínico se da preferencialmente en el cuerpo estriado y en la corteza cerebral, regiones especialmente susceptibles a la toxicidad de esta molécula (Moroni, F. y col., 1984).

El QUIN es un metabolito del triptofano que se forma en la vía metabólica de la Kinurenina, que es la mayor vía de la biotransformación del triptofano (fig.1). Bajo condiciones normales, gran parte del triptofano sigue la vía hasta formar acetyl-CoA. Sólo una pequeña proporción del metabolismo diario del triptofano deriva a otros metabolitos. Sin embargo, bajo condiciones patológicas de constante disposición del triptofano, la excreción de kinurenina y de metabolitos intermediarios como el QUIN se incrementa considerablemente (Vender, A. 1975).

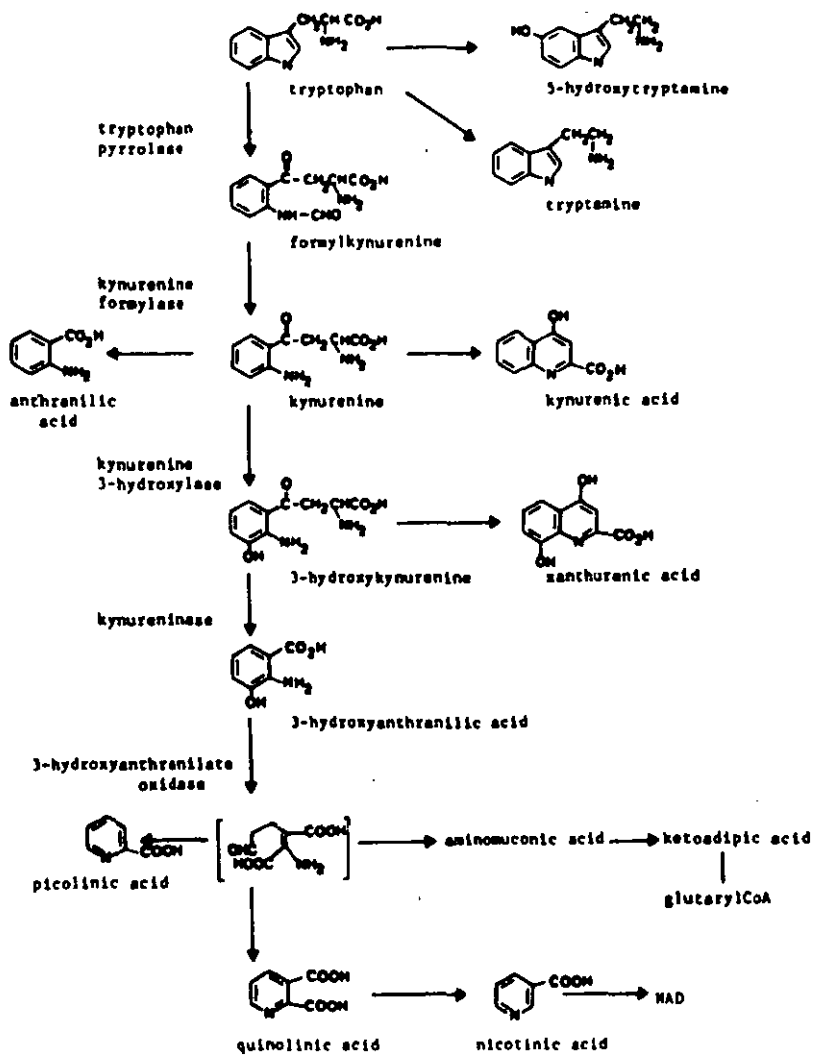


Fig. 1 Vía metabólica de la Kinurena, biotransformación del triptofano

Tomado del J. Sciences Vol. 95 (Bruyn y Stoof 1990).

La vía metabólica de la kinurenina ha sido identificada en el cerebro, el hígado y esporádicamente en intestinos de humanos, así como en cerebros e hígado de rata y otros mamíferos pequeños. Sin embargo, se cree que su presencia en intestino se debe a la presencia de bacterias y otros microorganismos, los cuales presentan estas y otras vías alternativas del catabolismo del triptofano. Muchos de los metabolitos del triptofano, incluido el ácido quinolínico, se han identificado en la orina del humano, lo cual puede ser atribuido parcialmente, a la acción de bacterias intestinales. Cualquier tipo de alteración en esta vía, puede dar como resultado una producción a favor de los metabolitos intermedios (Vender, A. 1975).

Es de gran interés el papel del ácido kainico, un agonista exógeno del ácido glutámico, en la alteración del metabolismo general del ácido quinolínico. Al ser administrado sistémicamente en corteza piriforme e hipocampo, además de producir un patrón típico de neurotoxicidad, el ácido kainico incrementa significativamente la concentración de ácido quinolínico, la actividad de su enzima de síntesis (3-HAO) y mantiene normales los niveles de actividad de la enzima de degradación de la neurotoxina (QPRT). Este notable incremento se atribuye a una alteración astrocítica en respuesta a la pérdida neuronal, lo cual justifica el incremento en los niveles de QUIN, dado que su síntesis se realiza, principalmente en las células astrogliales (Speciale, C. y col., 1988).

1.2.2. MECANISMO DE NEUROTOXICIDAD DEL QUIN.

Este mecanismo principal de acción del ácido quinolínico esta asociado con su capacidad para actuar sobre receptores presinápticos específicos, induciendo la liberación de un posible neurotransmisor endógeno que a su vez puede unirse a un receptor postsináptico del tipo NMDA en las neuronas blanco, dando lugar a los procesos degenerativos. Además el QUIN puede unirse a receptores postsinápticos para NMDA, mientras que la incapacidad del ácido kinurenico (un metabolito más de la vía de biotransformación del L-triptofano) para antagonizar los efectos tóxicos del ácido ibotenico

en los receptores postsinápticos para NMDA y aunada a su capacidad para prevenir los eventos tóxicos del quinolínicico, sugieren un bloqueo preferencial de los receptores presinápticos para el ácido quinolínicico. Haciendo a un lado las diferencias en los mecanismos de toxicidad de los ácidos kaínico, iboténico y quinolínicico, parece claro que el resultado final de la aplicación de estas sustancias es una activación de las neuronas y es posible que las células susceptibles sean simplemente excitadas hasta la muerte (Schwarcz, R. y col., 1984).

1.2.3. QUIN Y RECEPTORES N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA).

Los receptores NMDA juegan un papel crucial en las funciones cognitivas, así como en muchos procesos patológicos. Son los receptores glutamatérgicos mejor estudiados (fig. 2). Estos están funcionalmente acoplados a canales catiónicos modulados por magnesio de manera voltaje-dependiente, por lo que se necesita una despolarización persistente de la membrana para que se lleve a cabo una apertura del canal. También se caracterizan por su alta conductancia y su permeabilidad a calcio y sodio. La mayor densidad de los receptores NMDA está presente en el hipocampo, siguiéndole la neocorteza, el cuerpo estriado y el tálamo (Choi, 1988).

El flujo de iones calcio a través del canal asociado al receptor NMDA, activa procesos intracelulares que llevan a un incremento en la eficacia de la transmisión en esa sinapsis. Hay muchos sitios de control de la permeabilidad iónica del complejo del receptor NMDA, entre los que se incluye el sitio de unión NMDA, el sitio de unión a glicina insensible a estricnina y algunos sitios de unión localizados dentro del canal iónico (Deyn y col., 1992). Estos receptores pueden ser activados selectivamente por varios compuestos endógenos que incluyen al L-aspartato, el homocisteato y el ácido quinolínicico, que requiere el coagonismo de la glicina. La acción del glutamato puede ser selectivamente antagonizada de manera competitiva por el 2-amino-5-fosfonoheptanoato o no competitivamente por

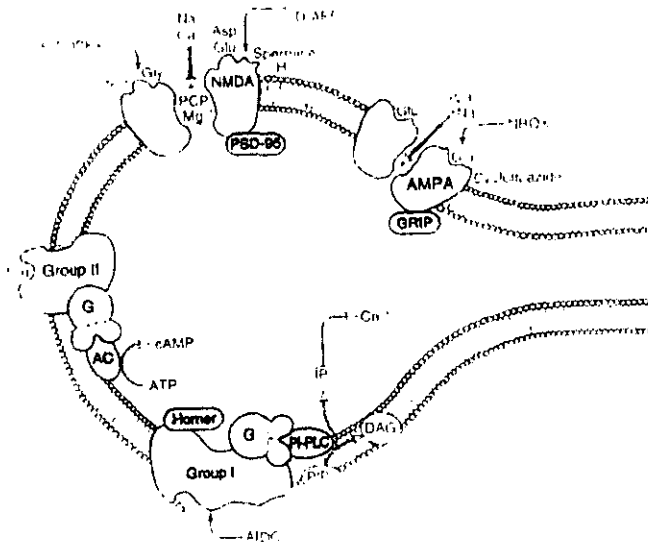


Fig. 2 Vista esquemática de los cuatro tipos diferentes de receptores para glutamato. Se ilustran dos receptores heterodiméricos ionotrópicos, los receptores NMDA y los AMPA, además de dos receptores metabotrópicos: grupo I y grupo II. El antagonista competitivo de cada receptor se encuentra en el recuadro (5,7-DCK, D-AP5, NBQX y AIDC). Siegel, G. (1998). Basic Neurochemistry.

fármacos que se unen al sitio fenciclidínico dentro del canal abierto como la fenciclidina, la dizocilpina o MK-801, el dextrorfán y la ketamina, entre otros (Westbrook, 1994).

El papel del QUIN como agonista de los receptores para NMDA y su implicación directa con el incremento del calcio intracelular representan una opción para explicar las alteraciones morfológicas y bioquímicas del modelo de la EH (Vezzani, A. y col., 1988 b).

1.2.3.1. PARTICIPACIÓN DEL CALCIO EN LA EXCITOTOXICIDAD INDUCIDA POR EL QUIN.

Los mecanismos de transducción regulados por los receptores para aminoácidos excitadores (**nae**) involucran la apertura de canales iónicos. Los canales asociados con los receptores para NMDA, quisqualato y kainato, son permeables para sodio y potasio. Por otra parte, se sabe que los receptores para NMDA son permeables para calcio. Existe evidencia de que la unión de **nae** guarda una más estrecha relación con la actividad de la enzima fosfolipasa C que con la adenilato ciclasa. Se sabe también que la activación de

receptores para aac estimula la vía de segundos mensajeros de inositol fosfato/diacilglicerol (Bruyn, R. y col., 1990).

Uno de los mecanismos que se encuentran más aceptados es el que se encuentra en la activación de los receptores para NMDA se menciona a la entrada masiva de iones calcio al interior de la célula por la apertura de canales asociados a estos receptores. La concentración normal de calcio en el citosol es de aproximadamente 100nM, mientras que en el espacio extracelular esta concentración es 10,000 veces mayor. Los incrementos sostenidos de calcio citosólico tienen repercusiones severas en los procesos fisiológicos: activación de proteasas y lipasas, generación de radicales libres y alteración de la fosforilación oxidativa mitocondrial (Cheung, Y. y col., 1986).

El calcio puede entrar por dos medios a la célula. El primero es a través de la membrana plasmática por canales de calcio específicos o por acarreadores del ion. Un gran número de canales de calcio han sido farmacológicamente identificados. La entrada de calcio puede además deberse a un daño inespecífico de la membrana celular, dado que la integridad de esta membrana es vital para mantener los enormes gradientes de calcio extra e intrae celular. En condiciones normales, la permeabilidad pasiva de la membrana al calcio es cuatro veces más baja en magnitud que la de sodio o potasio.

Otra forma de incremento en los niveles intracelulares es por la liberación del ion almacenado en organelos celulares tales como la mitocondria o el retículo endoplásmico. Menos del 1% del calcio intracelular esta en forma libre, mientras que el resto se encuentra almacenado en membranas subcelulares y organelos. El daño a la mitocondria o segundos mensajeros como el inositol trifosfato, pueden liberar calcio desde los organelos hacia el citosol celular (Bondy, C. 1989). Los altos niveles de calcio intracelular se han correlacionado con daño celular irreversible, el cual puede deberse al rompimiento generalizado de la integridad celular o a la disminución de los procesos energéticos. El incremento de calcio puede ser acompañado de eventos tóxicos en las células nerviosas sin ser necesariamente la causa de la muerte celular (Vezzani, A. y col., 1988).

1.3. ÁCIDO KAINICO.

El ácido kainico (AK) fue aislado de la alga *Digenea simplex* y originalmente se usó como ascaricida. La primera evidencia de la acción del AK en el sistema nervioso fueron sus efectos neurotóxicos en estudios ionofóricos en las neuronas corticales de la rata, donde el AK actuó directamente sobre las neuronas corticales, así como los efectos excitatorios similares al L-glutamato, actuando como un verdadero agonista de los receptores para glutamato (Johnston, y col., 1974)

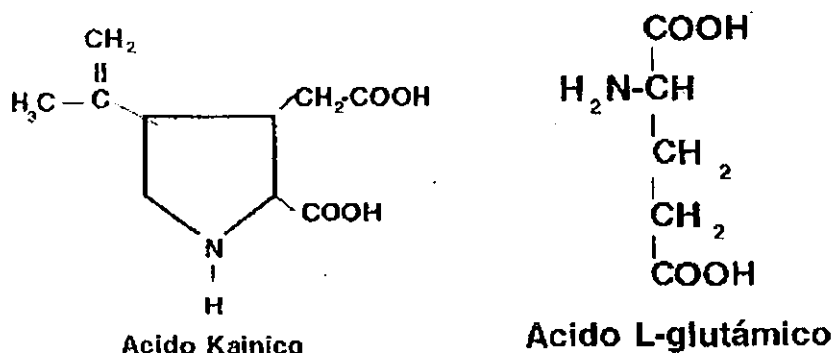


Fig. 3 Estructura química del ácido kainico y del ácido glutámico. Nótese la similitud de estas moléculas en sus grupos carboxilo.

La estructura del AK posee dos carboxilos y una cadena de isopropileno (fig. 3). Estudios sobre la relación estructural y actividad del AK, indican que los estereoisómeros derivados y análogos del AK tienen un marcado grado de especificidad para los efectos neuroexcitatorios en el sistema nervioso de los vertebrados (Biscoe y col., 1976). Se ha observado que el bloqueo del anillo de nitrógeno por alcalización o esterificación del grupo carboxilo reduce marcadamente la actividad del AK.

El ácido Kainico es menos activo que el glutamato en la inducción de la despolarización, en contraste con su más grande potencia excitatoria en el sistema nervioso central de los mamíferos. Sin embargo el kainato potencia la acción despolarizante del

glutamato en la unión neuromuscular y en las sinapsis ganglionares de insectos. El ácido kaínico actúa sobre receptores presinápticos en las terminales de las motoneuronas; estos estudios de interacción cooperativa entre el kainato exógeno y el neurotransmisor excitatorio glutamato en invertebrados es consistente con el reporte de la potenciación que ejerce el kainato en la excitación inducida por el glutamato en neuronas del SNC en mamíferos (Vornov y col., 1995).

1.3.1. NEUROPATOLOGÍA DEL ÁCIDO KAÍNICO.

La distribución de los sitios de unión del AK en el cerebro, muestran que existen en altas concentraciones en la región CA3 del hipocampo, mientras que CA1 y CA2 contienen menor cantidad de receptores. Otras regiones cerebrales que presentan receptores a AK son las capas profundas de la corteza piriforme, estriado y tálamo (Ben-Ari y col., 1983). El AK produce daños histopatológicos en áreas cerebrales como consecuencias de las crisis agudas caracterizados por hinchazón dendrítica y pienosis en la pericaria neural e hinchazón en las dendritas (Sperk G., 1983). Las regiones cerebrales más sensibles al AK son el hipocampo, principalmente el sector CA3, así como en el giro dentado observándose reorganización axonal (Buckmaster P. S. y Dudek F. E., 1997). En la amígdala existe necrosis tisular y gliosis en la corteza entorrinal, sobre todo en la capa III (Du, F. Y col., 1995).

1.3.2. RECEPTORES A ÁCIDO KAÍNICO.

Dado que los agonistas y antagonistas de los receptores glutamatérgicos se distinguen claramente por su afinidad a receptores a Kainato o AMPA se denominan colectivamente como receptores no-NMDA (Bettler y Mulle, 1995).

El AK y el AMPA en algunas condiciones operan en el mismo canal iónico, lo que sugeriría que los sitios de unión pueden ser parte del mismo complejo de receptor a aminoácidos excitadores asociados a un canal iónico (Sperk, 1992). Sin embargo estudios

recientes de clonación han demostrado claramente que los receptores a AMPA y Kainato son complejos moleculares diferentes. Ciertos subtipos de receptores no-NMDA son permeables a calcio, una propiedad anteriormente atribuida exclusivamente a los receptores glutamatérgicos tipo NMDA.

Los estudios de unión a receptores con AK han demostrado su especificidad, saturabilidad y afinidad en las membranas cerebrales. Estos sitios de unión se encuentran localizados en las neuronas y en las membranas sinápticas; se han descrito dos sitios, uno con alta afinidad y el otro de baja, estos sitios de baja afinidad se encuentran en todas las regiones cerebrales de la rata, mientras que los de alta afinidad se localizan en el procencéfalo (Coyle, J. T., 1979).

La acción principal del AK parece ser la activación de receptores de membrana para aminoácidos excitadores, en los cuales tiene una afinidad diez veces mayor que el ácido glutámico basado en estudios de unión a receptor. Se propone que el ácido glutámico y el AK podrían actuar sinérgicamente como excitadores de las neuronas cerebrales de la rata (Jonhston y col., 1979). El desarrollo de la sensibilidad neuronal a los efectos neurotóxicos del AK en el estriado de la rata se correlaciona con un incremento postnatal en la densidad de sitios de unión específicos para el AK, estos hallazgos sugieren que los receptores a AK median los efectos neurofisiológicos y neurotóxicos del AK (Campochiaro y col., 1978)

El AK activa receptores específicos en las dendritas neuronales y aun cuando este aumenta no parece insuficiente para producir neurotoxicidad, se sugiere la existencia de receptores excitatorios independientes, posiblemente específicos para los aminoácidos neurotransmisores, que pueden ser estimulados en muchos casos para generar neurotoxicidad. La entrada excitatoria del AK se aumenta por la activación de los receptores presinápticos específicos que causan la liberación de glutamato y/o aspartato. Por su parte, la estimulación combinada y cooperativa del kainato dendrítico y los receptores excitatorios pueden incrementar el calcio intracelular libre, por lo que se pueden activar proteasas dependientes de calcio. Además, de la despolarización, hay un notable incremento en el consumo de energía neuronal, lo que produce la disminución de los

almacenes energéticos de ATP y fosfocreatina (Coyle y col., 1983). Por otra parte, se ha reportado que la administración de AK es capaz de producir una disminución progresiva en la inhibición recurrente del giro dentado y éste efecto precede a la ocurrencia de convulsiones, lo que sugiere una relación entre el bloqueo de la inhibición recurrente por AK y las convulsiones (Milgram y col., 1991).

1.3.2.1. CARACTERIZACIÓN FARMACOLOGICA DE LOS RECEPTORES no-NMDA

Debido a la dificultad para desarrollar agonistas sintéticos específicos para cada subtipo de receptor glutamatérgico en el SNC, el esquema NMDA-QUIS-KA ha brindado importantes resultados (Fischer, 1991).

El orden de eficacia para los agonistas clásicos L-glutamato, kainato, AMPA y domoato puede ser usado para distinguir a los receptores de kainato, de los receptores de AMPA. Las propiedades desestabilizadoras de los agonistas mencionados anteriormente, así como los efectos de ciertos fármacos sobre la desensibilización de los receptores no-NMDA permite la discriminación entre estas dos clases de receptores (Bettler y Mülle, 1995).

1.3.3. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN SISTEMICA DEL AK.

Son dos diferentes propiedades del AK las que han tenido gran impacto en el estudio de las neurociencias: la inyección local de éste en cualquier área cerebral produce lesiones somáticas sin afectar a los axones, y por otro lado, el hecho de que este compuesto ejerce una potente acción convulsivante cuando se aplica en líquido cefalorraquídeo, por vía sistémica o en las áreas límbicas cerebrales (Nadler, 1980). El modo más conveniente de aplicación del AK es por la vía sistémica, lo que produce cambios conductuales y neuropatológicos similares a los que se obtienen cuando se administra la toxina en cualquier área cerebral (Sperk, 1992). Después de la administración local del AK en el

cerebro, histológicamente se observa cerca del sitio de inyección, la pérdida de sustancia citoplasmática de Nissl, reducción y destrucción de las dendritas y pericariones. Las observaciones histológicas y neuroquímicas indican que la pérdida de células neuronales producida por el AK es selectiva de las neuronas locales, de las escasas terminales axónicas que se proyectan desde el sitio de la inyección, así como de las fibras de paso. En la región inyectada, se desarrolla gliosis temprana después de la administración de la neurotoxina (Coyle y col., 1978).

Histológicamente, se ha descrito el engrosamiento glial y dendrítico de todo el cerebro anterior y el amplio daño neuronal después de la administración de AK, las áreas afectadas con mayor severidad son el bulbo olfatorio, la corteza, el complejo amigdalino, el hipocampo y sus partes relacionadas con el tálamo y la neocorteza (Sperk y col., 1983).

Por lo anteriormente expuesto se ha propuesto, que el AK, ya sea por sí mismo o potenciando la acción de los aminoácidos excitatorios endógenos, causa la despolarización repetitiva y sostenida y el disparo de las neuronas, que eventualmente produce la muerte celular (Schwob y col., 1980).

1.3.4. EFECTO DEL AK SOBRE LOS NEUROTRANSMISORES.

Estudios combinados de histología y bioquímica sugieren que después de la administración intraestriatal de AK tiene lugar una degeneración de las interneuronas que contienen GABA y Ach, así como de las proyecciones neuronales que contienen GABA y sustancia P (Sperk y 1981). El efecto del AK sobre los neurotransmisores, produce cambios en las vías colinérgicas, en el sistema monoaminérgico y de los aminoácidos excitadores. La actividad de la colina acetiltransferasa, un marcador neuroquímico selectivo de neuronas colinérgicas, disminuye en la amígdala y la corteza piriforme, tres días después de la administración de AK (Heggli, D. F. y col., 1982). En el hipocampo, la actividad de esta enzima no tuvo cambios significativos a los nueve días (Sperk y col., 1983). El AK interviene en el sistema monoaminérgico produciendo un incremento en la concentración

del metabolito de la serotonina, el ácido 5-hidroxiindolacético, encontrándose un aumento en un intervalo de tiempo entre 1 y 24 horas posterior a la administración de AK (Sperk y col., 1981). Un incremento similar se observa para el metabolito de la dopamina, el ácido homovanílico, en el estriado, la amígdala y el hipocampo; mientras que la concentración de noradrenalina disminuye a tiempos cortos (Sperk y col., 1985). Las concentraciones extracelulares de los aminoácidos glutamato y aspartato en la formación hipocampal no presentan cambios (Bruhn, T. Y col., 1992); sin embargo en el sistema GABAérgico el AK produce una disminución de GABA endógeno en el estriado (Schwarcz, R. y col., 1977).

1.3.5. PARTICIPACIÓN DEL CALCIO EN EL DAÑO CELULAR INDUCIDO POR EL AK

El AK produce alteraciones en el calcio intracelular en las neuronas estriatales por medio de dos vías. El AK activa la entrada de calcio por canales sensibles a voltaje y otra vía es por el canal del receptor a AK. Posiblemente la pérdida de la homeostasis del calcio puede ocurrir como el resultado de la entrada de sodio (Hack, N. y col., 1995).

Estudios de pinza de voltaje sugieren que la entrada de calcio se debe al movimiento directo de calcio a través del ionoforo de AK y no de la entrada por los canales de calcio dependientes de voltaje activados por la despolarización inducida por el AK (Meucci, O. y col., 1996).

Se ha propuesto que el calcio podría actuar a través de los canales activados por AK como lo hace sobre canales de calcio dependientes de voltaje (Oyama, Y. y col., 1996). Estas observaciones sugieren que la excitotoxicidad esta correlacionada con el calcio; y es producto de la acumulación de este ion intracelularmente a un grado que excede la capacidad de la célula para amortiguarla. En el estriado y en el hipocampo la excitotoxicidad es mucho mayor por AK seguida por quisqualato y por último por NMDA. la misma secuencia se observo para las respuestas dependientes de calcio. Se ha sugerido que el AK abre canales por los cuales pasa tanto el sodio como el calcio, pero con la corriente predominante de sodio, especialmente bajo condiciones donde el calcio

extracelular está reducido. La relación inversa entre la concentración de calcio y la excitabilidad podría reflejar el bloqueo funcional por calcio de los canales a sodio, mientras que el calcio entra en concentraciones fisiológicas o mayores que son las responsables de la toxicidad (Hori, N. y col., 1985).

Por otra parte, estudios sobre la bomba sodio/potasio muestran un incremento en su actividad en presencia del AK, produciendo una alta tasa de la entrada de potasio y la entrada de agua consecuentemente, propiciando así un hinchamiento celular (Wang, Y. y col., 1996).

La activación de todos los receptores ionotrópicos glutamatérgicos pueden llevar a la neurodegeneración por diferentes mecanismos (Frandsen, A. y col., 1993). Un elemento común puede ser el incremento del calcio intracelular dependiente de aminoácidos excitadores, como ya se menciona.

1.3.6. MECANISMOS OXIDATIVOS INDUCIDOS POR EL AK

Uno de los mecanismos de daño neuronal por el AK involucra la producción de radicales libres como son, el radical anión superóxido y el peróxido de hidrógeno (especies reactivas del oxígeno). La activación de receptores para glutamato que promueven el estrés oxidativo, pueden originarse por tres vías: 1) La activación de receptores KA/AMPA por la apertura de canales asociados al receptor de glutamato y la entrada de sodio y calcio consecuentemente. 2) La activación de receptores NMDA bajo condiciones despolarizantes, lo que permite la entrada de sodio y calcio a través de sus canales. 3) La despolarización de canales de calcio dependientes de voltaje, provocando la entrada de calcio. El aumento de calcio intraneuronal podría a su vez activar la fosfolipasa A2 iniciando la cascada metabólica del ácido araquidónico, activando proteasas tales como la calpaína para convertir a la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa y estimular la sintasa del óxido nítrico, ambas enzimas productoras de radicales libres. La despolarización también incrementa el consumo de ATP por la ATPasa de sodio/potasio, lo cual aumenta la

fosforilación oxidativa, originando al radical superóxido como subproducto (Coyle, J. y col., 1993).

La acción tóxica del AK in vivo en el cerebro de las ratas se asocia con una elevación de los iones hidrógeno (Waterfall, A. H. y col., 1995); así como la formación de radicales libres sea por su administración sistémica e intracerebral (Lee, D. K. y col., 1993). En cultivo neuronal cortical, el ácido kaínico induce la formación de radicales libres, los cuales participan en la muerte celular. El mecanismo propuesto es que el AK induce la acumulación de calcio intracelular. La activación de calpaínas podría convertir a la xantina deshidrogenasa en xantina oxigenasa y generar radicales libres por la vía metabólica de las purinas (Havimohammadreza, I. y col., 1997). También se ha propuesto que el AK activa a la oxido nítrico sintasa dependiente de calcio, la cual podría contribuir al daño neuronal inducido por este ácido a través de la formación del oxido nítrico un radical libre (Kojima, H. y col., 1997). Este oxido nítrico se ha propuesto como promotor de las crisis inducidas por el AK. Sin embargo estudios realizados demuestran que al administrar el inhibidor de la oxido nítrico sintasa, 7-nitronidazol, en las ratas con ácido kaínico no existe protección en la generación del radical hidroxilo (Tyamianski y col., 1993).

1.4. DAPSONA (DDS)

La 4,4'-diaminodifenilsulfona o Dapsona (fig. 4) fue descubierta en 1939 al realizar la síntesis de análogos de sulfonamidas antibacterianas, es un miembro de la clase de compuestos que son análogos del ácido p-aminobenzóico, que interviene con la síntesis microbiana del ácido fólico. También inhibe a la mieloperoxidasa, una enzima encontrada en células como los monocitos y los neutrófilos polimorfonucleares (Bozeman y col., 1992).

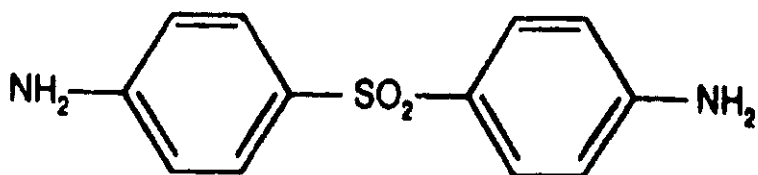


Fig. 4. Estructura Química de la 4,4'-diaminodifenilsulfona. Este fármaco de la familia de las sulfonas es mejor conocido como Dapsona.

La DDS es un compuesto liposoluble (Israili y col., 1973). Fue introducida un año después de su descubrimiento y desde entonces permanece como el tratamiento principal de la lepra (Gelber y col., 1970). Su mecanismo de acción sobre la micobacteria es por interacción con la incorporación del ácido p-aminobenzoico en la formación de dihidrofolato (Snyman y col., 1995).

La DDS es también efectiva en varios padecimientos incluyendo la malaria y enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide (Coleman y col., 1989) y dermatitis herpetiforme (Weber y Hein, 1985). Recientemente ha sido utilizada en el tratamiento de infecciones como la neumonía por pneumocistis carinii (Vage, 1994) y el sarcoma de Kaposi, enfermedades frecuentes en pacientes con inmunodeficiencia adquirida (Fleming y col., 1992).

La dapsona es un tipo de sulfona con fórmula estructural semejante a las de las sulfonamidas antiepilépticas acetazolamida y zonisamida (Ishida y col., 1992). Los efectos anticonvulsivos de la dapsona en las convulsiones experimentales agudas han sido reconocidos por el programa de desarrollo de fármacos antiepilépticos del Instituto Nacional de Desórdenes Neurológicos de los Estados Unidos de América (Hamada y col., 1991).

Reportes recientes señalan que la dapsona mostró efecto anticonvulsivo en el modelo experimental de "kindling" hipocampal y amigdalino y en el modelo de epilepsia

inducido por KA en animales de experimentación, lo que puede considerarse de gran utilidad para el estudio del mecanismo de acción de éste fármaco y su posible aplicación en el humano, ya que en la mayoría de los casos de epilepsia de lóbulo temporal humana se presentan convulsiones de origen hipocampal (Ishida y col., 1992; Altagracia y col., 1995).

1.4.1. ABSORCIÓN

Administrada oralmente la DDS se absorbe casi por completo en el tracto gastrointestinal y se distribuye ampliamente en fluidos y tejidos del cuerpo. En humanos se alcanzan niveles plasmáticos máximos de 5 µg/ml de 1 a 3 horas después de la administración de 100 mg por v.o. Además de ser distribuida a todo el cuerpo, se concentra en el hígado donde sufre acetilación y en donde el fármaco entra en circulación enterohepática.

La DDS y sus derivados son eliminados por la orina (Harvey y Champe, 1992). La DDS y sus derivados pueden ser administrados por años con ciertas precauciones: incremento gradual de la dosis, períodos de descanso para prevenir efectos por acumulación y supervisión clínica y de laboratorio (Miller, 1991).

1.4.2. METABOLISMO

La DDS se metaboliza en varios derivados más polares, por medio de dos vías metabólicas (fig. 5): la N-hidroxilación (Coleman, 1989), mediada por CYP-450 de las subfamilias 3 A y 2C6/2C11 (Vage, 1994) y la N-acetilación (Weber y Heine, 1985), mediada por N-acetiltransferasa forma metabolitos N-monohidroxidapsona, que pueden ser acetilados para formar N-acetilhidroxidapsona. Cuando se desacetilan vuelven a formar el monohidroxilado (Israili y col., 1973).

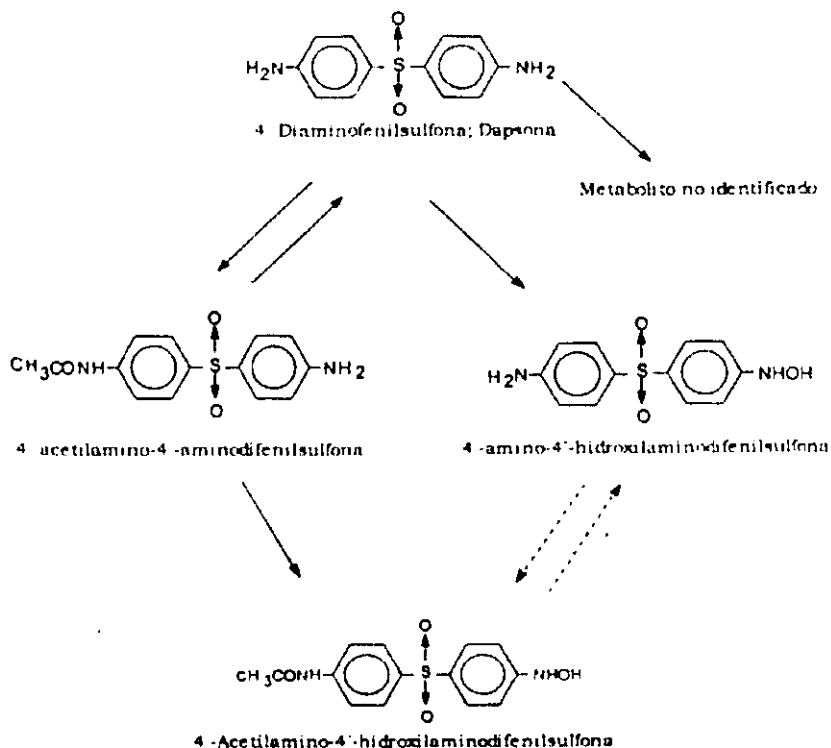


Fig. 5. Diagrama esquemático de las dos vías metabólicas más conocidas de la Dapsona: una de las vías se ha caracterizado como la N-hidroxilación y la segunda como N-acetilación.

La N-acetilación de la DDS por N-acetiltransferasa 2 (NAT2) exhibe un polimorfismo genético correlacionado con la isoniazida (Gelbert y col., 1970). Se ha reportado que la DDS es acetilada y forma monoacetildapsona (MADDS), la cual vuelve a convertirse en DDS al desacetilarse (Weber y Heine, 1985), encontrándose un rango en proporción de MADDS/DDS entre 0.4 y 2 determinado por el polimorfismo genético.

En concentraciones terapéuticas (2-20 µg/ml) la MADDS se une a un 91-100% a proteínas plasmáticas, mientras que DDS se une entre el 70 y 80 % no presentándose así diferencias con la variedad del polimorfismo genético (Gordon y col., 1995). La vida media de DDS en el Humano tiene un rango que va de 14 a 53 horas (Levy, 1972) y en ratas es de 2.4 a 5.3 horas (Israïli, 1973).

1.4.3. EFECTOS ADVERSOS Y TOXICIDAD DE LA DDS

La DDS esta asociada con varias reacciones adversas, y algunas de ellas están asociadas con las dosis administrada (Coleman, 1989). La DDS puede administrarse por años iniciando la terapia con dosis pequeñas y aumentando gradualmente. Los efectos adversos más comunes son la hemólisis y metahemoglobinemia (Coleman, 1983). Se ha reportado que estos daños en los eritrocitos son causados por metabolitos N-hidroxilados de dapsona (Grossman, 1992). Este ultimo demostró in vitro como la 4'-acetilamino-4-hidroxilaminodifenilsulfona (DDS-NOH) induce grandes cambios en las proteínas membranales debido a la formación de aductos que van acompañados por cambios en la morfología de la célula. En el tracto gastrointestinal se puede presentar anorexia, náuseas y vómito.

La DDS como ya se menciona es excretada por la orina en alto porcentaje en forma de N-glucurónido y N-sulfamato (Gordon y col.,1975). En lo que se refiere a su toxicidad, las dosis de DDS recomendada para el tratamiento de la lepra son de 2 mg/kg/día o 100 mg/día en adultos, lo que produce un rango de concentraciones plasmáticas de 1.5 a 5.0 µg/ml en pacientes sin tratamiento previo. La toxicidad aguda se reporta con niveles en el rango de 10 a 20 µg/ml, debiendo evitarse niveles en el rango de 10 a 20 µg/ml a consecuencia de la toxicidad crónica (Hamada y col., 1991).

2. HIPÓTESIS

Los patrones neurotóxicos tanto del ácido quinolínico como del kainico, se encuentran relacionados con la excitotoxicidad, es probable que la Dapsona pueda actuar con la misma eficacia en los dos modelos conductuales, o bien, que Dapsona pueda llegar a actuar como un antagonista de los efectos tanto de los receptores glutamatérgicos NMDA, como de los receptores ionotrópicos no-NMDA.

3. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la acción de la Dapsona en un modelo conductual de la EH, inducido por medio de una microinyección intraestriatal unilateral de ácido quinolínico o de ácido kainico en ratas.

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

Evaluar cuantitativamente el efecto de dosis crecientes de Dapsona sobre la conducta de rotación (giros ipsilaterales/hora) inducida por la neurotoxicidad estriatal del ácido quinolínico.

Evaluar cuantitativamente el efecto de la Dapsona a una sola dosis (12.5 mg/kg) sobre la conducta de rotación (giros ipsilaterales/hora) inducida por la neurotoxicidad del ácido kainico.

2. HIPÓTESIS

Los patrones neurotóxicos tanto del ácido quinolínico como del kaínico, se encuentran relacionados con la excitotoxicidad, es probable que la Dapsona pueda actuar con la misma eficacia en los dos modelos conductuales, o bien, que Dapsona pueda llegar a actuar como un antagonista de los efectos tanto de los receptores glutamatérgicos NMDA, como de los receptores ionotrópicos no-NMDA.

3. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la acción de la Dapsona en un modelo conductual de la EH, inducido por medio de una microinyección intraestriatal unilateral de ácido quinolínico o de ácido kaínico en ratas.

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

Evaluar cuantitativamente el efecto de dosis crecientes de Dapsona sobre la conducta de rotación (giros ipsilaterales/hora) inducida por la neurotoxicidad estriatal del ácido quinolínico.

Evaluar cuantitativamente el efecto de la Dapsona a una sola dosis (12.5 mg/kg) sobre la conducta de rotación (giros ipsilaterales/hora) inducida por la neurotoxicidad del ácido kaínico.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 ANIMALES.

Para la elaboración de este trabajo se utilizaron de cinco a once ratas Wistar machos (250-300 g) por cada grupo. Estos grupos de animales fueron puestos en cajas de acrílico, en donde se mantuvieron provistas de agua, alimento y de condiciones constantes de luz, temperatura y humedad durante todo el tiempo de experimentación.

4.2 REACTIVOS.

El QUIN, el AK, la DDS y la Apomorfina fueron obtenidos de Sigma Chemical St. Luis, MO. USA. El polietilenglicol fue obtenido de Aldrich Chemical CO. Milwaukee, WI, USA. Todos los otros reactivos fueron obtenidos de Merck (México) Las soluciones que así lo requirieron se prepararon con agua desionizada purificada por un sistema MILLIPORE modelo Milli Q. 18483.

Las dosis a administrar de cada una de las soluciones es:

1.- Ácido Quinolínico	240	nmol/ μ l (pH=7.2)
2.- Ácido Kaínico	7.5	nmol/ μ l (pH=7.2)
3.- Sol. de Dapsona	6.25	mg/Kg
4.- Sol. de Dapsona	9.375	mg/Kg
5.- Sol. de Dapsona	12.5	mg/Kg
6.- Sol. de Dapsona	25.0	mg/Kg
7.- Sol. de Apomorfina	2.50	mg/Kg
8.- Pentobarbital Sódico	50	mg/Kg
9.- Sol. salina	0.9	% NaCl
10.- Agua Desionizada		

Las primeras siete soluciones fueron preparadas pesando los reactivos en balanza analítica Sartorius basic, modelo BA 160 P y aforando a volúmenes finales de 10 ml, siendo éstas refrigeradas para su adecuada conservación.

La solución de ácido quinolínico 240 nmol/ μ l, se preparó pesando 0,401 g del reactivo y se aforó a 10 ml con solución salina, llevando la solución a un pH fisiológico de 7.2, con ayuda del potenciómetro Metruhm Henseu-E532 y con soluciones 0.1 N de NaOH. Del mismo modo y pesando sólo 0.0159 g se preparó una solución 7.5 nmol/ μ l de ácido

kaínico a un pH de 7.2.

En la preparación de la Dapsona y siendo que esta es insoluble en agua, fue necesario preparar previamente una solución de polietilenglicol al 4% en solución fisiológica, de tal forma, que habiendo pesado 0.03124, 0.04686, 0.0625 y 0.125 g y aforando a un volumen de 10 ml se obtuvieron suspensiones de 6.25, 9.375, 12.5 y 25.0 mg/10ml respectivamente, las cuales se administraron en un volumen de 0.1ml para animales de 250 g. Estas suspensiones fueron sonicadas para estabilizarlas con un sonicador Labsonic Systems modelo 9130.

La solución de apomorfina 2.5 mg/ml se preparó pesando el equivalente en gramos del reactivo (0.0025 g) y aforando a 10ml disolviéndolo previamente con agitador magnético; esta solución se utilizó para inducir la conducta de rotación.

4.3 PRETRATAMIENTO Y MICROINYECCIÓN INTRAESTRIATAL.

Los animales fueron separados en nueve grupos de cinco a once animales por grupo, los cuales se sometieron a cirugía para la administración intraestriatal de 1 μ l QUIN ó AK 240 y 7.5 nmol/ μ l respectivamente, todos estos administrados previamente con una dosis de 50 mg/kg i.p. de pentobarbital sódico 30 minutos antes de la microinyección, al mismo tiempo en que se les administró a cada grupo una dosis diferente de DDS por vía intraperitoneal (0.1ml), por lo tanto, los grupos quedaron de la siguiente forma:

- i) Dapsona 6.25 mg/kg + QUIN
- ii) Dapsona 9.375 mg/kg + QUIN
- iii) Dapsona 12.5 mg/kg + QUIN
- iv) Dapsona 25.5 mg/kg + QUIN
- v) Dapsona 12.5 mg/kg + PBS
- vi) Dapsona 12.5 mg/kg + AK
- vii) Solución salina + QUIN Control
- viii) Solución salina + AK Control
- ix) Solución salina + Solución salina Control

La microinyección unilateral sencilla de 1 μ l de QUIN o AK fue realizada con una microjeringa Hamilton de 10 μ l dentro del cuerpo estriado derecho de cada rata, en las coordenadas estereotáxicas: 0.5 mm anterior a bregma, 2.6 mm lateral a bregma y - 4.5 mm ventral a la dura, de acuerdo con el atlas de cerebro de rata de Paxinos y Watson (1984), en un aparato extereotáxico Stoelting, modelo 620 Wheat lane. Tanto el QUIN como el AK fueron inyectados lentamente en un lapso de 2 minutos. Los grupos control fueron inyectados con el mismo volumen de solución salina con un pH de 7.4.

4.4 EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA DE ROTACIÓN

La conducta de rotación fue evaluada después de la inyección subcutánea de apomorfina (2.5 mg/kg) seis días después de la microinyección de QUIN ó AK (Schwarcz y col., 1979; Susel y col., 1989; Norman y col., 1990; Santamaría y col., 1996), donde cinco minutos después de la inyección se contabilizaron los giros ipsilaterales (al lado lesionado) por periodos de cinco minutos durante una hora. Las rotaciones fueron consideradas como giros de 360°. Los resultados son expresados como el número total de giros ipsilaterales/ hora.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos obtenidos de la evaluación de la conducta de rotación fueron analizados por una prueba de ANOVA no-paramétrica Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Mann-Whitney para comparación multiple. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0.05$.

5. RESULTADOS.

5.1 EFECTO DE LA DDS SOBRE LA CONDUCTA DE ROTACIÓN INDUCIDA POR EL QUIN

Los resultados de la conducta de rotación observados en los animales tratados con 1 μ l de QUIN (240 nmol/ μ l) ya sea sólo o con la previa administración de dosis crecientes de DDS, son los que se muestran en la gráfica 1. Después de un estímulo con apomorfina, las ratas tratadas sólo con QUIN (grupo control) alcanzaron un promedio de 130 ± 19 giros ipsilaterales/hora (100%). La conducta de rotación inducida por el ácido quinolínico fue prevenida por la administración de DDS en dosis de 12.5 mg/kg (63 ± 9 g. ip/hr; 48% vs control) y 25.0 mg/kg (50 ± 9 g. ip. /hr; 38% vs control). El efecto neuroprotector de la DDS no fue significativo a la dosis de 6.25 mg/kg (114 ± 16 g. ip./hr; 88% vs control) ni a la de 9.375 mg/kg (121 ± 23 g. ip./hr; 93% vs control). Un lote adicional de animales testigo inyectados intraestriatalmente con solución salina, mostraron excitación e irritabilidad pero no se observó en éstos ningún comportamiento rotatorio después de la inyección de apomorfina. Ninguna de las dosis de DDS empleadas produjeron comportamiento de rotación circular en el grupo testigo.

4.4 EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA DE ROTACIÓN

La conducta de rotación fue evaluada después de la inyección subcutánea de apomorfina (2.5 mg/kg) seis días después de la microinyección de QUIN ó AK (Schwarcz y col., 1979; Susel y col., 1989; Norman y col., 1990; Santamaría y col., 1996), donde cinco minutos después de la inyección se contabilizaron los giros ipsilaterales (al lado lesionado) por periodos de cinco minutos durante una hora. Las rotaciones fueron consideradas como giros de 360°. Los resultados son expresados como el número total de giros ipsilaterales/ hora.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

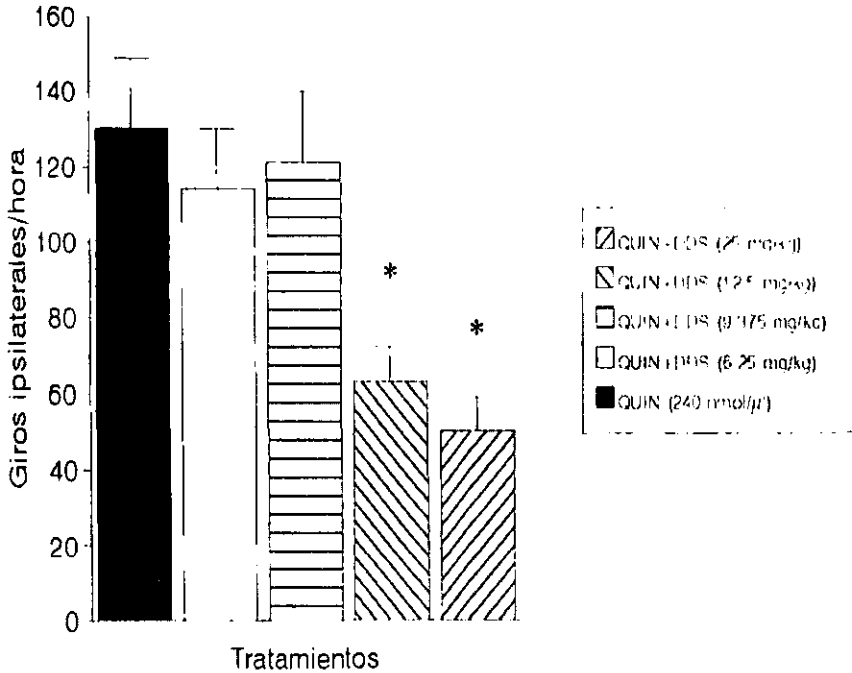
El análisis estadístico de los datos obtenidos de la evaluación de la conducta de rotación fueron analizados por una prueba de ANOVA no-paramétrica Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Mann-Whitney para comparación múltiple. Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0.05$.

5. RESULTADOS.

5.1 EFECTO DE LA DDS SOBRE LA CONDUCTA DE ROTACIÓN INDUCIDA POR EL QUIN

Los resultados de la conducta de rotación observados en los animales tratados con 1 μ l de QUIN (240 nmol/ μ l) ya sea sólo o con la previa administración de dosis crecientes de DDS, son los que se muestran en la gráfica 1. Después de un estímulo con apomorfina, las ratas tratadas sólo con QUIN (grupo control) alcanzaron un promedio de 130 ± 19 giros ipsilaterales/hora (100%). La conducta de rotación inducida por el ácido quinolínico fue prevenida por la administración de DDS en dosis de 12.5 mg/kg (63 ± 9 g. ip/hr; 48% vs control) y 25.0 mg/kg (50 ± 9 g. ip. /hr; 38% vs control). El efecto neuroprotector de la DDS no fue significativo a la dosis de 6.25 mg/kg (114 ± 16 g. ip./hr; 88% vs control) ni a la de 9.375 mg/kg (121 ± 23 g. ip./hr; 93% vs control). Un lote adicional de animales testigo inyectados intraestriatalmente con solución salina, mostraron excitación e irritabilidad pero no se observó en éstos ningún comportamiento rotatorio después de la inyección de apomorfina. Ninguna de las dosis de DDS empleadas produjeron comportamiento de rotación circular en el grupo testigo.

EFFECTO DE LA DAPSONA SOBRE LA CONDUCTA DE ROTACION INDUCIDA POR EL ACIDO QUINOLINICO



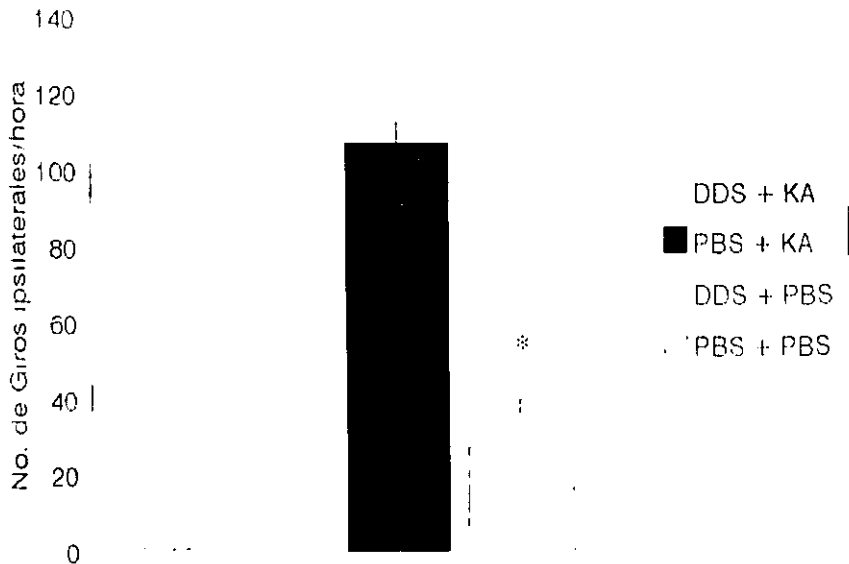
Gráfica 1. En esta gráfica se representa el efecto de la DDS administrada en 4 diferentes dosis, tal como se ilustra en el panel. Nótese que la respuesta que se describe es dosis dependiente, dejándose apreciar un efecto significativamente neuroprotector en las dos dosis más altas sobre la neurotoxicidad inducida por QUIN. Los datos obtenidos de la evaluación de la conducta de rotación, $n = 8-11$, fueron analizados por una prueba de ANOVA no-paramétrica de Kruskal-Wallis' seguida de una prueba de Mann-Whitney's; $P < 0.05$ (Siegel 1980).

5.2. EFECTO DE LA DDS SOBRE LA CONDUCTA DE ROTACIÓN INDUCIDA POR EL AK

Los resultados de la conducta de rotación inducida por $1 \mu\text{l}$ de AK ($7.5 \text{ nmol}/\mu\text{l}$) a una sola dosis de DDS de $12.5 \text{ mg}/\text{kg}$ se muestran en la gráfica 2. Después de la administración de una inyección de apomorfina subcutánea, los animales tratados sólo con AK alcanzaron un promedio de 106.9 ± 12 giros ipsilaterales/hora (grupo control). La conducta de rotación inducida por el AK fue prevenida en un 75% por la DDS a $12.5 \text{ mg}/\text{kg}$ ($26.7 \pm 8 \text{ g. ip./hr}$; 25% vs control). La combinación de la administración de solución salina

tanto intraperitoneal como intraestriatal en grupos testigos, no mostró ningún efecto sobre la conducta rotatoria.

EFFECTO DE LA DAPSONA SOBRE LA CONDUCTA DE ROTACION INDUCIDA POR EL KA



Gráfica 2. Esta gráfica ilustra el efecto neuroprotector de la DDS en una sola dosis sobre la conducta de rotación inducida por el Ácido Káinico. Un par de grupos controles más fueron tratados con solución salina intraperitoneal e intraestriatal sin mostrar efecto rotatorio alguno. Los datos obtenidos de la evaluación de la conducta de rotación, $n=5-11$, fueron analizados por una prueba de Kruskal-Wallis' seguida de una prueba de Mann-Whitney's: $P<0.05$ (Siegel 1980).

DISCUSIÓN.

En el área de las neurociencias y en lo que se refiere a la investigación de los ganglios basales se han elaborado conceptos consistentes acerca de las interacciones neuronales, actividades de la neurotransmisión y funciones de los receptores en los ganglios basales.

En este trabajo se hizo evidente la conducta de rotación ipsilateral después de una administración de un agonista de receptores dopaminérgicos, la apomorfina, seis días después de una lesión por medio de una microinyección intraestriatal unilateral de Ácido Quinolínico o de Ácido Kaínico, los cuales activan los receptores glutamatérgicos del tipo NMDA y no-NMDA, respectivamente. El QUIN y el AK al ser inyectados intraestriatalmente son capaces de producir una zona de necrosis circundada por un área de pérdida parcial de neuronas. El QUIN mantiene intactas las neuronas que contienen somatostatina y neuropeptido Y, haciendo de éste el mejor modelo experimental para reproducir las características de la corea de Huntington, y el AK lo consideran Coyle y col. como el modelo más adecuado para reproducir las características histológicas, conductuales y bioquímicas de la corea de Huntington, ya que este, lesiona neuronas GABAérgicas y colinérgicas, sin alterar neuronas dopaminérgicas.

Los receptores para glutamato sobre los que actúan tanto el QUIN como el AK son esenciales para las funciones de los ganglios basales, de los cuales la mayor densidad se localiza en el cuerpo estriado, por lo que la principal entrada a los ganglios basales es glutamatérgica (Werner, 1997). Otros estudios muestran que el sistema glutamatérgico está involucrado en la manifestación de variables conductuales, ya que la lesión de los aferentes corticoestriatales es capaz de inducir efectos conductuales similares a la EH e incrementar los efectos del sistema dopaminérgico (Scatton, 1982).

Estos resultados muestran que la administración de apomorfina pone de manifiesto la aferencia de un agonista dopaminérgico a los ganglios basales, lo cual produce conducta de giro por la asimetría en los neurotransmisores dopaminérgicos de un lado del cerebro.

estando éste hipersensitivo, mientras el lado contralateral no lesionado se muestra normosensitivo, ya que, la región lesionada o hipersensitiva genera mayor cantidad de receptores dopaminérgicos por célula como respuesta adaptativa al daño inducido por la toxina. A partir de la lesión excitotóxica del estriado, la pérdida de neuronas postsinápticas, expresan receptores para dopamina y a consecuencia de la lesión unilateral, la asimetría en la neurotransmisión dopaminérgica resulta en la conducta rotacional, en respuesta al agonista dopaminérgico (Norman, 1990). Los animales que sólo fueron microinyectados intraestriatalmente con solución salina mostraron irritación y excitabilidad después de la administración de apomorfin, ya que la dopamina inhibe la liberación de acetilcolina en el estriado y esto aumenta la liberación de GABA, lo cual da lugar a la respuesta conductual de los animales control como había sido reportado con anterioridad por Norman en 1990.

Cuando la dopamina estriada sea anormal y el GABA esté disminuido, como en el caso de los pacientes con la enfermedad de Huntington, donde se ha demostrado que las neuronas estriadas además presentan concentraciones disminuidas de descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y colín acetiltransferasa (ChAT) como se presentó experimentalmente en este trabajo. La presencia de sistemas dopaminérgicos anormales en asociación con la disminución de GABA y acetilcolina pueden ser las características farmacológicas clave en la enfermedad de Huntington

Es de nuestro conocimiento que este trabajo es el primero que muestra un efecto neuroprotector de la DDS en dos modelos neurotóxicos de daño neuronal. Los resultados sugieren que la DDS es capaz de antagonizar en contra de la neurotoxicidad inducida por el ácido quinolínico y por el ácido kaínico tal y como se apreció en la evidencia conductual de los ensayos que este trabajo ilustra. El efecto protector de la DDS sobre la toxicidad del ácido quinolínico observada en este estudio fue dosis-dependiente, lo cual, semeja hallazgos de reportes previos acerca del efecto neuroprotector de este fármaco descrito en dosis similares en algunos modelos de convulsiones (Ishida et al. 1992; Altagracia et al. 1994). Es posible que la DDS esté ejerciendo su efecto neuroprotector al actuar al menos parcialmente bloqueando o modulando los receptores para glutamato, de la misma forma que dizocilpine ejerce protección sobre la neurotoxicidad del ácido quinolínico al

antagonizar el efecto de éste en receptores NMDA (Santamaría et al. 1996). Aunque, Bence, y col., en el año 2000 sugieren que dado que los grupos amino aromáticos de la DDS pueden ser N-acetilados, N-glucoronidados, N-sulfatados y además hidroxilados, puede por lo tanto deberse a estos derivados del metabolismo de la DDS a los que se les pueda atribuir las propiedades inhibitorias de la excitotoxicidad inducida por el QUIN en los receptores NMDA y no a la DDS por si misma.

En este estudio es importante notar que la DDS en dosis de 12.5 mg/kg fue igualmente efectiva para atenuar la conducta de rotación inducida por el efecto de la neurotoxicidad del ácido quinolínico como la del ácido kaínico, sugiriendo así que la DDS está actuando con una eficacia similar en contra de esta dos neurotoxinas, a pesar de que éstas activan dos diferentes poblaciones de receptores glutamatérgicos. Este amplio efecto protector de la DDS puede ser explicado si nuestro fármaco se encuentra actuando no específicamente sobre los receptores glutamatérgicos NMDA y no-NMDA. Sin embargo, las evidencias que aquí se presentan no son suficientes para aceptar o refutar esta posibilidad.

Por otra parte la DDS ha incrementado su utilidad terapéutica, alcanzando una amplia aplicación en los años recientes; este fármaco viene siendo utilizado desde su origen en el tratamiento contra la lepra, hoy en día es también efectiva en varios padecimientos incluyendo la malaria y enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide (Fleming y col., 1992) y dermatitis herpetiforme (Weber y Heine, 1985). En la actualidad es usada en el tratamiento de infecciones como la neumonía por pneumocistis carinii (Vage, 1994) y el sarcoma de Kaposi, enfermedades frecuentes en pacientes con inmunodeficiencia adquirida (Snyman y col., 1995). Sin embargo, el mecanismo terapéutico de DDS en estos desordenes es atribuido a sus propiedades antibióticas y anti-inflamatorias, lo cual no está relacionado en este trabajo donde se muestra un efecto neuroprotector de este fármaco en dos modelos de daño neuronal excitotóxico.

El QUIN es un aminoácido excitador endógeno derivado del L-Triptofano, el cual, al ser administrado tópicamente en el estriado de la rata a concentraciones nanomolares

produce lesiones neuronales específicas sobre neuronas estriatales GABA-érgicas y colinérgicas, además de disminuir significativamente los niveles normales del ácido gamma-aminobutírico (GABA), acetilcolina (Ach) y otros neurotransmisores (Beal y col., 1986). El mecanismo por medio del cual el QUIN ejerce sus efectos tóxicos en SNC involucra la activación de los receptores NMDA y un consecuente cambio en la permeabilidad para los iones calcio y sodio, por la apertura masiva de canales membranales, o bien una liberación desde el interior celular, a nivel mitocondrial, del ion calcio, incrementando los niveles citosólicos del mismo (Schwarz y col., 1984). Dado este mecanismo de acción, la DDS puede intervenir en los procesos asociados con la entrada masiva de calcio en el modelo.

La DDS también fue capaz de antagonizar el daño producido por el Ácido Káinico, éste es un agonista glutamatérgico no-NMDA que presenta actividad excitotóxica como análogo del glutamato. su acción es debida a la activación de receptores para α (Jonshton y col., 1974). El daño inducido por el AK se produce por el incremento de calcio intracelular, de una manera directa o indirecta. Se propone que el AK abre los canales de calcio dependientes de voltaje, o bien, el calcio pasa a través del poro del canal (Balzs R., 1995), directa e indirectamente en el daño producido por el aumento del calcio intracelular inducido por el AK activando la liberación de glutamato, que a su vez activa los receptores NMDA y causa la liberación de calcio intracelular (Berg, M. y col., 1995). A partir de estos mecanismos que promueven muerte neuronal por sobre excitación, el AK aumenta el calcio intracelular y puede activar la fosfolipasa Λ_2 , propiciando el metabolismo del ácido araquidónico. activando proteasas como la calpaina (Hajimohammadreza y col., 1997) para convertir la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa y generar radicales libres. Además, el AK activa la sintasa del óxido nítrico, dependiente de calcio, la cual produce daño celular a través del óxido nítrico (Kojima, H. y col., 1997).

Dos posibles efectos protectores pueden ser postulados para la acción de esta sulfona: bloqueo de procesos excitatorios mediados por receptores para glutamato, o incremento de inhibición neuronal, probablemente mediado por neuronas GABAérgicas (Milgram et al. 1991), incrementando la inhibición recurrente en algunas regiones

cerebrales. Además ha sido mostrado que zonisamida, un fármaco que presenta un grupo sulfonamida similar al de DDS, actúa como un agente antiepiléptico por prevenir el influjo de calcio (Suzuki et al. 1992).

Como ya se mencionó, la DDS es empleada para muchos propósitos terapéuticos en humanos y los datos aquí presentados sugieren su posible utilidad terapéutica en alteraciones neurológicas e inflamatorias, sin embargo, su potencial clínico aún debe ser probado en estudios posteriores dirigidos a la caracterización de sus mecanismos específicos de neuroprotección.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que:

Por medio de un pretratamiento de DDS, a concentraciones de 12.5 y 25.0 mg/kg existe una prevención significativa de la conducta de rotación inducida por el QUIN, lo cual representa un efecto antagónico de la DDS en contra de la neurotoxicidad que induce dicho metabolito.

El efecto protector de la DDS en contra de la neurotoxicidad inducida por el ácido quinolínico observada en este estudio fue dosis-dependiente.

La DDS fue capaz de bloquear significativamente la conducta de rotación inducida por el AK, a la concentración de 12.5 mg/kg, antagonizando así en contra del daño provocado por esta toxina.

La DDS actúa con la misma eficacia en contra de la neurotoxicidad inducida tanto por el QUIN como por el AK, los cuales actúan sobre diferentes receptores glutamatérgicos.

APENDICE

1.2. CUERPO ESTRIADO Y NÚCLEOS RELACIONADOS

Los ganglios basales son grandes núcleos subcorticales clásicamente considerados como derivados en gran medida, aunque no en forma exclusiva, del telencéfalo. Las principales divisiones de los ganglios basales son: 1) el cuerpo estriado, que se considera principalmente vinculado con funciones motoras somáticas, y 2) el complejo nuclear amigdalino que tiene vinculación funcional con el hipotálamo y se considera parte integrante del sistema límbico. El cuerpo estriado consta del putamen, núcleo caudado y globo pálido. El putamen y el núcleo caudado, derivados del telencéfalo, forman el neostriado, la parte más grande del cuerpo estriado. El globo pálido consta de dos segmentos paralelos citológicamente similares, mediales con respecto al putamen. Los segmentos del globo pálido constituyen el paleostriado. El complejo nuclear amigdalino, un derivado telencéfalo, se denomina arquiestriado. La amígdala se localiza en el lóbulo temporal, por debajo del uncus y rostral al asta inferior del ventrículo lateral. Algunas funciones de los ganglios basales no se aíslan con facilidad, y el neostriado consta de subdivisiones límbicas y no límbicas.

El núcleo caudado y el putamen reciben los principales sistemas aferentes que se proyectan al cuerpo estriado. Las principales fibras aferentes se originan en la corteza cerebral, partes de la amígdala, los núcleos talámicos intralaminares, la sustancia negra y el núcleo dorsal de rafe (Carpenter, 1994)

1.2.1. GENERALIDADES DEL CUERPO ESTRIADO

El cuerpo estriado consta de dos partes distintas, el neostriado (núcleo caudado y

putamen) y el paleoestriado (globo pálido) El putamen se encuentra por debajo de la cápsula externa en la región insular. El núcleo caudado está dispuesto en forma de C y mantiene una relación constante con el ventrículo lateral. Los dos segmentos paralelos del globo pálido se encuentran en situación medial al putamen, y están separados entre sí y con respecto al putamen por las láminas medulares, que contienen grandes neuronas colinérgicas. Ambos segmentos del globo pálido y el núcleo subtalámico son derivados diencefálicos. El putamen y el globo pálido, en conjunto reciben la denominación de núcleo lenticular (Carpenter, 1981)

La mayor parte de los sistemas aferentes del neostriado se relacionan con diferentes neurotransmisores. Las actividades nerviosas del neostriado comprenden el mayor número de tipos celulares distintos y un gran número de neurotransmisores diferentes, que incluyen la acetilcolina, monoaminas, péptidos y aminoácidos. El neostriado tiene conexiones recíprocas con las distintas subdivisiones citológicas de la sustancia negra, de manera tal que las fibras se originan y terminan en diferentes poblaciones celulares. Las alteraciones de la síntesis y la transmisión de los neurotransmisores que intervienen en las funciones del neostriado constituye una importante característica de los trastornos metabólicos relacionados con dos formas de discinesia (trastornos de la motilidad) relativamente frecuentes, a saber, el parkinsonismo y la corea de Huntington (Groves, P. 1983)

El globo pálido, que forma la parte más pequeña y más medial del núcleo lenticular, consta de dos segmentos citológicamente similares que poseen sistemas de ingreso de impulsos con neurotransmisores comunes y diferentes. Cada segmento del globo pálido da origen a proyecciones diferentes. Las proyecciones del segmento medial del globo pálido se dirigen a los núcleos talámicos ipsilaterales, que a su vez tienen acceso a las regiones motoras de la corteza cerebral. El segmento medial del globo pálido se proyecta principalmente a porciones del núcleo subtalámico. Las conexiones recíprocas interrelacionan porciones del segmento lateral del globo pálido y e núcleo subtalámico. Los sistemas de egreso del cuerpo estriado se originan en el segmento medial del globo pálido y en la parte reticular de la sustancia negra (Van Der Kooy, D. Hattori, T. 1980)

El núcleo caudado es una masa gris alargada y arqueada, relacionada en toda su extensión con la superficie del ventrículo lateral. Su porción anterior más ancha, o cabeza, se encuentra rostral al tálamo y sobre sale en el interior del asta anterior del ventrículo lateral. La cabeza del núcleo caudado y el putamen están separados por las fibras del brazo anterior de la cápsula interna, excepto en dirección rostroventral, donde se mantiene la continuidad. El cuerpo del núcleo caudado se extiende a lo largo del borde dorsolateral del tálamo, respecto del cual está separado por la estria terminal y la vena terminal. Se considera que esta parte del núcleo caudado es supratalámica. La cola del núcleo caudado es la porción caudal afinada que se extiende dentro del lóbulo temporal en el techo del asta inferior del ventrículo lateral y entra en relación con el núcleo central del complejo amigdalino (Greybiel, A. y col., 1983).

El putamen, la parte de mayor tamaño y de situación más lateral de los ganglios basales, se encuentra dentro de la cápsula externa y la lámina medular lateral del globo pálido. En su mayor parte, el putamen se halla situado por debajo de la corteza insular, separado de este por la cápsula externa, el claustró y la cápsula externa. En los cortes transversales se presenta escasamente coloreado y está atravesado por numerosos fascículos de fibras mielínicas que corren en dirección centro medial en dirección hacia el globo pálido. El núcleo caudado y el putamen tienen continuidad rostroventralmente, por debajo del brazo anterior de la cápsula interna, y en las regiones dorsales en las que delgados puentes celulares grises atraviesan el brazo posterior de la cápsula interna. A nivel del septum pellucidum, el núcleo acumbens se encuentra adyacente a las porciones ventromediales del neocóstriado. Desde el punto de vista ontogénico, el núcleo acumbens tiene una relación más próxima con el núcleo caudado y el putamen que con los núcleos septales, y emite proyecciones tanto al globo pálido como a la sustancia negra (Greybiel, A. y col., 1983).

Citológicamente, el núcleo caudado y el putamen son idénticos y están compuestos por un gran número de células que no presentan laminación ni disposición particular. El neocóstriado puede no ser tan uniforme como parece, porque en su desarrollo células de

diferentes tipos migran en grupos, la actividad histoquímica tiene una distribución irregular y las neuronas eferentes muestran cierta separación.

Las neuronas del estriado se dividen en dos categorías: las que poseen dendritas espinosas y las que poseen dendritas lisas. Las neuronas espinosas, consideradas las neuronas más numerosas del neocortico, son redondeadas y ovals, de mediano tamaño, emiten múltiples dendritas primarias cubiertas con espinas y tienen axones largos. En el neocortico se identifican dos tipos de neuronas espinosas. Las neuronas espinosas tipo I se presentan en grandes cantidades, tienen somas lisas y dendritas proximales que distalmente se hallan cargadas de espinas; las dendritas se irradian en un espacio esférico de unos 200 μm . Los axones largos de estas células dan origen a colaterales proximales y distales. Las neuronas tipo II suelen ser más grandes, con dendritas espinosas que se extienden 600 μm desde los somas. Los axones de las neuronas espinosas tipo II son largos y emiten colaterales cerca de los somas: Las neuronas espinosas del neocortico sirven como neuronas receptoras y de proyección. La mayor parte de los aferentes de diversos orígenes terminan en prolongaciones espinosas de estas neuronas, todas las fibras que se proyectan más allá del neocortico se originan en neuronas espinosas del neocortico. Desde el punto de vista inmunocitoquímico, las neuronas espinosas del neocortico son heterogéneas, contienen ácido gamma-aminobutírico (GABA), sustancia P, encefalina y tal vez neurotensina. Muchas neuronas espinosas del neocortico contienen más de un neurotransmisor y las sustancias transmisoras se presentan en diversas combinaciones. A pesar de esta heterogeneidad química el GABA es el neurotransmisor predominante (Carpenter, 1981).

Las neuronas no espinosas tienen axones cortos y son intrínsecas del neocortico. Se han descrito tres neuronas de Golgi de tipo II de axón corto. Las neuronas no espinosas de tipo I se distinguen por su tamaño pequeño, dendritas varicosas y recurrentes, y un axón corto muy arborecido. Grandes cantidades de neuronas no espinosas de tipo I son gabaérgicas. Pero muchas neuronas de este tipo son inmunorreactivas al neuropéptido Y y a la somatostatina. La mayor parte de las neuronas del neocortico inmunorreactivas para la somatostatina lo son también para el neuropéptido Y. Las neuronas no espinosas de tipo II

tienen grandes cuerpos celulares, núcleos excéntricos y dendritas que se prolongan más de 250 μm . Estas células corresponden a una subpoblación de neuronas gigantes distribuidas de manera uniforme en todo el neocórtex. Inmunohistoquímicamente, las neuronas no espinosas de tipo II presentan colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa, se ha demostrado que las neuronas no espinosas colinérgicas gigantes del neocórtex establecen sinapsis simétricas con neuronas espinosas de mediano tamaño, que son el principal destino de las terminaciones dopaminérgicas procedentes de la sustancia negra. Se considera que estas neuronas colinérgicas desempeñan una función fundamental en el mantenimiento del equilibrio neocórtex entre dopamina y GABA. Al parecer hasta ahora no se ha identificado el neurotransmisor de las neuronas no espinosas de tipo III (Carpenter, 1994).

1.2.2. AFERENTES ESTRIATALES

El núcleo caudado y el putamen reciben los principales sistemas aferentes que se proyectan al cuerpo estriado, estas son conocidos como fibras corticoestriadas. Las principales fibras aferentes se originan en la corteza cerebral; virtualmente todas las regiones de la neocórtex proyectan fibras al neocórtex y todas las partes del neocórtex reciben fibras de la corteza. Estudios autorradiográficos han demostrado que las terminaciones corticoestriadas forman en el neocórtex patrones en forma de mosaico, que muchas áreas corticales tienen extensas proyecciones en varias partes del neocórtex y que áreas corticales ampliamente separadas dan origen a campos terminales superpuestos. La distribución terminal de fibras corticoestriadas es extensa y se caracteriza por un patrón en mosaico. Las fibras corticoestriadas que se originan en el área motora primaria (área 4) se proyectan de manera bilateral y somatotópica al putamen donde las terminaciones en forma de placa son mayores en las regiones laterales del putamen. El área premotora se proyecta en forma ipsilateral al núcleo caudado y al putamen. El área premotora se proyecta en forma ipsilateral al núcleo caudado y al putamen. Los aferentes neocórtex de la corteza cerebral terminan principalmente en las espinas dendríticas de las neuronas espinosas del neocórtex, son excitadores y se presume que tienen glutamato como neurotransmisor (Moon, E. y col., 1983).

Las proyecciones de la amígdala laterobasal a la región ventromedial del núcleo caudado y a las partes ventrocaudales del putamen indican que el neostriado se puede dividir en porciones límbica y no límbica. Esta parcelación del neostriado en distintas regiones sobre la base de las proyecciones amigdalinas sugiere que grandes porciones del neostriado límbico pueden estar relacionados con el fenómeno conductual

Se ha establecido que los núcleos tálamicos intralaminares más grandes (el complejo nuclear centromediano parafascicular) tiene proyecciones subcorticales al neostriado. Los estudios autorradiográficos realizados muestran que las fibras talamoestriadas terminan en el núcleo caudado y el putamen, como las cortico estriadas, en conjuntos con forma de disco en mosaico o anillos huecos. Las fibras talamoestriada terminan en las neuronas espinosas del neostriado y se cree que son excitadoras (Parent, A. y col., 1983).

Estudios realizados con técnicas histoquímicas fluorescente no sólo probaron que las células de la parte compacta de la sustancia negra se proyectan al neostriado, sino además indican que conducen dopamina hasta sus terminaciones. Las espinas dendríticas de las neuronas espinosas del neostriado han sido identificadas como el sitio sináptico de la mayoría de las terminaciones inmunorreactivas para la tirosina hidroxilasa (enzima que sintetiza dopamina) (Carpenter, 1994).

En general se acepta que la dopamina ejerce una acción inhibitoria sobre las neuronas del neostriado. En el neostriado de los mamíferos se han identificado farmacológicamente dos receptores diferentes para la dopamina, denominados: D1 y D2. La activación de los receptores D1 disminuye la excitabilidad de la membrana, en tanto que la activación de D2 coacciona una disminución de la liberación de la sustancia neurotransmisora en las terminaciones sinápticas. Aun cuando los receptores D1 y D2 se pueden distinguir, parece funcionar de manera sinérgica para modular las actividades neuronales. Sólo un 20% de las fibras nigroestriadas se consideran no dopaminérgicas (Richfield, E. y col., 1987).

Los núcleos dorsal y medio del Rafe suministran dos sistemas serotoninérgicos (5-hidroxitriptamina) ascendentes distintos que se superponen de manera parcial. Las proyecciones serotoninérgicas que se originan en el núcleo dorsal del Rafe terminan en las regiones ventrocaudales del neostriado. La estimulación del núcleo dorsal del Rafe produce una inhibición prolongada de las neuronas del estriado (Greybiel, A. y col., 1983).

1.2.3. EFERENTES ESTRIATALES.

Diferentes poblaciones de neuronas estriadas espinosas que contienen los mismos neurotransmisores (GABA, sustancia P y encefalina) se proyectan al globo pálido y a la parte reticular de la sustancia negra (SNr). Las proyecciones estriado nigras que establecen relaciones sinápticas con células de la SNr y las neuronas gabaérgicas junto con la SNr constituyen parte del sistema eferente del cuerpo estriado. Las fibras estriado palidales que terminan en el segmento medial del globo pálido (SMGP) y las neuronas gabaérgicas del globo pálido que se proyectan al tálamo forman el sistema eferente más grande del cuerpo estriado. Las principales proyecciones de la SNr y el SMGP se dirigen a diferentes núcleos talámicos rostrales del grupo ventral, que envían proyecciones a distintas regiones de la corteza relacionadas con funciones motoras (Parent, A. y col., 1982).

Las fibras estriado nigras se originan en neuronas espinosas estriadas y se proyectan de manera topográfica principalmente a células de la parte reticular de la SNr. En la rata virtualmente todas las células de la SNr son gabaérgicas. Fibras y terminaciones gabaérgicas se hallan presentes en todas las partes de la SNr y las sinapsis estriado nigras son de tipo simétrico. La estimulación eléctrica da lugar a un acentuado incremento en la liberación de GABA en la sustancia negra ipsilateral (Parent, A. y col., 1982).

REFERENCIAS

1. Albin, L. R. et al. (1990). "Abnormalities of Striatal Projection Neurons and N - Methyl - D - Aspartate Receptors in Presymptomatic Huntington's Disease". *Science*. 241: 981-983.
2. Albin, R. L. y Tagle, D. A. (1995). *Trends Neurosci*. 18: 11-14.
3. Altagracia, M. et al. (1994). "Dapsone attenuates Kainic acid-induced seizures in rats". *Neurosci. Lett*. 176: 52-54.
4. Arregui, A. et al. (1977). "Huntington's Chorea: Selective Depletion of Activity of Angiotensin Converting Enzyme in the Corpus Striatum". *Ann. Neurol*. 2: 294-298.
5. Balazs, R. y Hack, N. (1995). "Properties of AMPA receptors expressed in rat cerebellar granule cell culture: Ca²⁺ influx studies". *J. Neurochem*. 65 (3): 1077-1084.
6. Barr, A. N. et al. (1988). "Serum halopendul concentration and choreiform movements in Huntington's disease". *Neurology*. 38: 84-88.
7. Beal, F. M. et al. (1986). "Replication of the Neurochemical Characteristics of Huntington's Disease by Quinolinic Acid". *Nature (letter)*. 321:168-171.
8. Beal, M. F. et al. (1988). "Sistemic Approaches to Modifying Quinolinic Acid Striatal Lesions in Rats". *J. Neurosci*. 8 (10): 3901-3908.
9. Ben-Ari, Y. (1985). "Limbic seizure and brain damage produced by Kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy". *Neuroscience*. 14: 375-403.
10. Bence, K. y col., (2000). "Dapsone analogs as potential polyamine binding site modulators of the N-methyl-D-aspartate receptor complex". *Drug Development Research* 51: 268-272
11. Berg, M. et al. (1995). "Kainic acid-induced seizures and brain damage in rat: Role calcium homeostasis". *J. Neuroscience Res*. 40: 641-646.
12. Bettler, B. y Mülle, C. (1995). "Neurotransmitter receptors II. AMPA and Kainate receptors". *Neuropharmacol*. 34: 123:39.
13. Bird, E. D. e Iversen, L. L. (1974). "Huntington's Chorea: Postmortem Measurements of Glutamic Acid Decarboxylase, Choline Acetyltransferase and Dopamine in Basal Ganglia". *Brain*. 97: 457- 472.
14. Biscoe, T. J. et al. (1976). "Structure activity relations of excitatory amino acids on frog and rat spinal neurons". *Br. J. Pharmacol*. 58: 373-382.
15. Bondy, C. S. (1989). "Intracellular Calcium and Neurotoxic Events". *Neurotoxicol. Teratol*. 11:527-531.
16. Boundy, S. C. y Lee, D. K. (1993). "Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists". *Brain Res*. 610: 229-233.

17. Brackeridge, C.J. (1980). "Factors Affecting the Age at Onset of Huntington's Disease". *Med. J. Aust.* 1: 261-263.
18. Bruyn, R. P. M. y Stoof, J. C. (1990). "The Quinolinic Acid Hypothesis in Huntington's Chorea". *J. Neurol. Sci.* 95: 29-38.
19. Buckmaster, P. S. (1977). "Neuron loss, granule cell axon reorganization and functional changes in the dentate gyrus of epileptic Kainate-treated rats". *J. Comparative Neurology.* 385: 385-404.
20. Bugiani, O. et al. (1984). "Huntington's Disease: Survival of Large Striatal Neurons in the Rigid Variant". *Ann. Neurol.* 15: 154-156.
21. Campochiaro, P. et al. (1978) "Ontogenetic development of Kainate Neurotoxicity: Correlates with glutamatergic innervation". *Pro. Natl. Acad. Sci. USA.* 75: 2025-2029.
22. Carpenter, B. *Fundamentos de Neuroanatomía.* Editorial Panamericana, 4ª ed. Batimore, U.S.A. 478 pp.
23. Carpenter, M. (1994). *Fundamentos de Neuroanatomía.* Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana.
24. Carpenter, M. et al. (1981). "Interconnection and organization of pallidal and subthalamic nucleus neurons in the monkey". *J. Comp. Neurol.* 197: 579-603.
25. Carrasco, L. y Mukherji, C. (1986). "Atrophy of Corpus Striatum in Normal Maleat Risk of Huntington's Chorea". *Lancet (letter).* 1: 1388-1389.
26. Coleman, M. et al, (1983). Bioactivation of dapsone to a cytotoxic metabolite by human hepatic microsomal enzyme. *J. Clin. Pharmac.* 28: 389-395.
27. Coleman, M. et al. (1989). "Inhibition of dapsone-induced methahaemoglobinaemia by cimetidine in the presence of trimethoprim in the rat". *J. Pharm. Pharmacol.* 44: 144-148.
28. Corsellis, J. A. (1976). "Aging and Dementia". En: Blackwood, W. y Corsellis, J. A. *Greenfield's Neuropathology.* Third Edition. London, Edward Arnolds Publishers.
29. Coyle et al. (1978). "The non excitatory mechanisms of glutamate induced neurotoxicity". *Epilepsy Res.* 10: 41-48.
30. Coyle, J. et al. (1978). "In situ injection of Kainic acid: a new method for selectively lesioning neuronal cell bodies while sparing axons of passage". *J. Comp. Neurol.* 180: 301-324.
31. Coyle, J. T. et al. (1983). "Neurotoxic action of Kainic acid". *J. of Neuroscience.* 41 (1):1-11.
32. Coyle, J. T. y Puttfarcken, P. (1993). "Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders". *Science.* 262: 689-694.
33. Coyle, J. T. y Schwarcz, R. (1976). Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature.* 263: 244-246.
34. Cheung, Y. J. et al. (1986). "Calcium and Ischemic Injury". En: Epstein, H.F.

Mechanisms of disease. New Engl. J. Med. 314 (26): 1670-1676.

35. Choi, W.D. (1988). "Calcium-Mediated Neurotoxicity: Relation ship to Specific Channel Types and Role in Ischemic Damage". *TINS*. 11 (10): 465-469.
36. Deyn et al. (1992). "The NMDA Receptor Mediates Cortical Induction of Fos and Fos-Related Antigens Following Cortical Injury". *Exp. Neurol.* 109: 323-332.
37. Du, F. et al. (1995). "Preferential Neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy". *J. Neuroscience*. 15 (10): 6301-6313.
38. Emson, P. C. et al. (1980). "Reduction in cholecystoknin - Like Immunoreactivity in the Basal Ganglia in Huntington's Disease". *Brain Research*. 198: 497-500.
39. Fahn, S. y Libach, R. (1971). "Monoamines in de Human Neostriatum". *J. Neurol. Sci.* 14: 427-455.
40. Fischer, R. S. (1991). "Introduction to the excitatory amino acid system". *Epilep.: Res.* 10: 3-8.
41. Fleming, C. et al.(1992). "Human liver microsomal N-hydroxylation of dapsone by cytochrome P.
42. Folstein, S. (1989). "Huntington's disease: A Disorder of families". Baltimore. The Johns Hopkins University Press.
43. Folstein, S. E. et al. (1987). "Huntington's Disease in Maryland: Clinical aspects of racial vanation". *American of Human Genetics*. 41: 168-79.
44. Folstein, S. E. et al. (1989). *Huntington's Disease: A Disorder of Families*. Baltimore, The Johns Hopkins University Press.
45. Folstein, S. et al. (1983). "The measurement of abnormal movement: Methods developed for Huntington's disease". *Neurobehavioural Toxicology and Toratology*. 5: 605-9.
46. Frandsen, A. y Schousboe, A. (1993). "Excitatory amino acid medisted cytotoxicity and calcium homeostasis in cultured neurons". *J. Neurochem*. 60: 1202-1211.
47. Gelber, R. et al. (1970). The polymorphic acetylation of dapsone in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 12 (2): 225-238.
48. Gelbert, R. et al. (1995). "Activity of combinations of dapsone, rifampin, mino cycline, clarithromycin and sparfloxacin against M.leprae- infected mice". *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 63: 259-264.
49. Goodman, G. A. et al. (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Vol. II. México, D.F., McGraw-Hill. pp. 1905.
50. Gordon, G.H. et al. (1975). Disposition of dapsone of monoacetyldapsone in rats. *P.S.E.B.M.* 150: 485-492.
51. Graveland, G. A. et al. (1985). "Evidence for Degenerative and Regenerative Changes in Neostriatal Spiny Neurons in Huntington's Disease". *Science*. 22: 770-773.
52. Graybiel, A. y Ragsdale, C. (1983). "Biochemical anatomy of the striatum". En: P. C., Emson. *Chemical Neuroanatomy*. New York, Reven Press. pp. 427-504.

53. Grossman, S. et al. (1992). Dapsone-induced hemolytic anemia: effect of N-hydroxy dapsone on the sulphhydryl status and membrane proteins of rat erythrocytes. *Toxic. App. Pharm.* 117: 208-217.
54. Groves, P. (1983). "A theory of the functional organization of the neostriatum and the neostriatal control of voluntary movement". *Brain Res. Rev.* 5: 109-132.
55. Hack, N. y Balazs. (1995). "Properties of AMPA receptors expressed in rat cerebellar granule cell culture: Ca²⁺ influx studies". *J. Neurochem.* 65 (3): 1077-1084.
56. Hagberg, H. et al. (1985). "Ischemia-Induced Shift of Inhibitory and Excitatory Amino Acids From Intra- to Extracellular Compartments". *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 5: 413-419.
57. Hamada, et al. (1991). "Anticonvulsive effect of dapsone (4,4'-diaminodiphenyl sulfone) on amygdala-kindled seizures in rats and cats". *Epilepsy.* 10: 93-102.
58. Hantrage, P. et al. (1990). "A Primate Model of Huntington's Disease: Behavioural and Anatomical Studies of Unilateral Excitotoxic Lesions of the Caudate Putamen in the Baboon". *Exp. Neurol.* 108: 91-104.
59. Harper, P. S. (1991). "Huntington's disease". London, W. B. Saunders.
60. Harvey, R. y Champe, P. (1992). Pharmacology. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, Pa. U.S.A. pp. 143-177, 305-306.
61. Hauimohammadreza, I. et al. (1997). "Neuronal nitric oxide synthase and calmodulin-dependent protein kinase alpha undergo neurotoxin-induced proteolysis". *J. Neurochem.* 69 (3): 1006-1113.
62. Heggli, D. E. et al. (1982). "Systemic injection of Kainic acid: Effect on neurotransmitter markers in piriform cortex, amigdaloid complex and hippocampus and protection by cortical lesioning and action anticonvulsinants". *Neuroscience.* 7: 1257-1264.
63. Heyes, M. P. et al. (1989). "Cerebrospinal Fluid Quinolinic Acid Concentrations are Increased Immune Deficiency Syndrome". *Ann. Neurol.* 26 (2): 275-277.
64. Heyes, P. M. et al. (1990). "Brain and Plasma Quinolinic Acid in Profound Insulin-Induced Hypoglicemia". *J. Neurochem.* 54 (3): 1027-1033.
65. Heyes, P. M. et al. (1985). "Normal Excretion of Quinolinic Acid in Huntington's Disease". *Life Sci.* 37: 1811-1816.
66. Heyes, P. M. y Lackner, A. (1990). "Increased Cerebrospinal Fluid Quinolinic Acid, Kinurenic Acid and L-Kynurenine in Acute Septicemia". *J. Neurochem.* 55 (1): 338-341.
67. Hori, N. et al. (1985). "Kainic acid responses and toxicity pronounced Ca²⁺ dependence". *Brain Res.* 358: 380-384.
68. Housmain, et al. (1983). "A Polymorphic DNA Marker Genetically Linked to Huntington's Disease". *Nature.* 306: 234-238.
69. Huntington's Disease Collaborative Research Group. (1993). "A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

- chromosomes". *Cell*. 72: 971-98.
70. Ishida, S. et al. (1992). "Comparing the anticonvulsive effects of dapsone on amygdala-kindled seizures and hippocampal-kindled seizures in rats". *Acta neurol. scand.* 85: 132-135.
 71. Israili, Z. et al. (1973). Studies of the metabolism of dapsone in man y experimental animals: formation of N-hydroxy metabolites. *J. Chromatography*. 163: 179-185.
 72. Jamkovic, J. (1992). "Diagnosis and classification of ties and Tourette Syndrome". En: T. Chase et al. *Tourette Syndrome*. New York, Raven Press Advanced Neurology.
 73. Johnston, G. A. et al. (1974). "Spinal Interneurones excitation by conformationally restricted analogues of L-Glutamic acid". *Nature*. 248: 804-805.
 74. Johnston, R. et al. (1974). "Spinal interneurone excitation by coformationally restricted analogues of L-Glutamic acid". *Nature*. 248: 804-805.
 75. Kojima, H. et al. (1997). "Real-time measurement of nitric oxide production in rat brain by the combination of luminol-H₂O₂ chemiluminescence and microdialysis". *Neurosci. Lett.* 233 (2-3): 157-159.
 76. Kojima, H. et al. (1997). "Real-time measurement of nitric oxide production in rat brain by the combination of luminol-H₂O₂ chemiluminescence and microdialysis". *Neurosci. Lett.* 233 (2-3): 157-159.
 77. Levy, L. et al. (1972). "Clofazimine therapy of lepromatous leprosy caused by dapsone-resistant Mycobacterium leprae". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 315-321.
 78. Levy, L. y Peters, J. (1976). "Susceptibility of Mycobacterium leprae to dapsone as determinant of patient response to acedapsone". *Antimicrob. Agents Chemother.* 9: 102-112.
 79. Lionel, J. et al. (1976). "Clonazepam in the treatment of choreiform activity". *Medical Journal of Australia*. 1: 225-227.
 80. Liss, L. et al. (1973). "Rigids Forms of Huntington's Chorea: A Clinicopathological Study of three cases". En: *Advances in Neurology*. Vol. 1. New York, Raven Press.
 81. MaGeer, P. et al. (1973). "Choline Acetylase and Glutamic Decarboxylase in Huntington's Chorea". *Neurology*. 23: 912-917.
 82. Merritt, A. D. et al. (1969). "Juvenile Huntington's Chorea". *Prog. Neurogen. Excerpta Med.* 175: 645.
 83. Meucci, O. et al. (1996). "Developmental regulation of toxin sensitivity of Ca²⁺-permeable AMPA receptors in cortical glia". *J. Neurosci.* 16 (2): 519-530.
 84. Milgram et al. (1991). "Changes in inhibitory processes in the hippocampus following recurrent seizures induced by system administration of Kainic acid". *Brain Res.* 551: 236-246.
 85. Miller, R. A. (1991). "Origin of antimycobacterial drugs". *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 12a. Ed. pag. 645.
 86. Moon, E. et al. (1983). "The afferent and efferent connections of the feline nucleus

- tegmenti pedunculopontinus, pars compacta". *J. Comp. Neurol.* 217: 187-215.
87. Morgan, P. F. (1991). "Is Quinolinic Acid an Endogenous Excitotoxin in Alcohol Withdrawal?". *Med. Hypotheses.* 36 (2): 118-121.
 88. Moroni, F. et al. (1984). "The Excitotoxin Quinolinic Acid is Present in Several Mammals and Its Cortical Content Increases During the Aging Process. *Neurosci. Lett.* 47:51-55.
 89. Myers, R. (1993). "New considerations in genetic testing for Huntington's Disease". En: *The Marrier.* Vol. 6 No. 2. Huntington's Disease Society of America.
 90. Nadler, J. V. et al. (1980). "Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and fascia dentata after destruction of Ca3-Ca4 afferents with Kainic acid". *Brain Res.* 182: 1-9.
 91. Neal, G. et al. (1996). *Una Guía Médica para el Manejo de la Enfermedad de Huntington.* Internacional Huntington Association.
 92. Norman, A. et al. (1990). "Sensitization of rotation behaviour in rats with unilateral 6-hydroxydopamine or Kainic acid-induced striatal lesions". *Pharmacol. Biochem. Behav.* 37: 755-759.
 93. Oyama, Y. et al. (1996). "Flow-cytometric estimation on glutamate and Kainate-induced increases in intracellular Ca²⁺ of brain neurons: A technical aspect". *Brain Res.* 728 (1): 121-124.
 94. Parent, A. et al. (1983). "The output organization of the substantia nigra in primate as revealed by a retrograde double labeling method". *Brain Res. Bull.* 10: 529-537.
 95. Parent, A. y De Bellefeuille, L. (1982). "Organization of efferent projections from the internal segment of the globus pallidus in primate as revealed by fluorescence retrograde labeling method". *Brain Res.* 245: 201-213.
 96. Parent, A. y Smith, Y. (1987). "Organization of efferent projections of the subthalamic nucleus in the squirrel monkey as revealed by retrograde labeling methods". *Brain Res.* 436: 296-310.
 97. Paxinos, G. y Watson, G. (1984). "The rat brain in stereotaxic coordinates". Nueva York, U.S.A., Academic Press. pp. 80.
 98. Pengelly, C.D. (1963). "Dapsone-induced hemolysis". *Br. Med. J.* 2: 662-664.
 99. Ramen, N. G. (1993). *ECT treatment of depression in Huntington's Disease.* San Francisco, 146th Annual American Psychiatric Association Meeting, Abstract, May 27th.
 100. Rapoport, A. y Guss, S. (1972). "Dapsone-induced peripheral neuropathy". *Arch. Neurol.* 27: 184-186
 101. Reynolds, G. P. et al. (1988). "Brain Quinolinic Acid in Huntington's Disease". *J. Neurochem.* 50: 1959-1960.
 102. Richfield, E. et al. (1987). "Comparative distribution of dopamine D1 y D2 receptors in the basal ganglia of turtles, pigeons, rats, cats and monkeys". *J.Comp. Neurol.* 262: 446-463.

103. Sajatovic, M. et al. (199_). "Clozapine treatment of psychiatric symptoms resistant to neuroleptic treatment in patients with Huntington's chorea". *Neurology*. 41: 156.
104. Sandberg, P. y Johnston, G. A. (1981). "Glutamate and Huntington's Disease". *Med. J. Aust.* 2: 460-465.
105. Scatton, B. et al. (1982). "Cortical modulation of striatal function". *Brain Res.* 232: 331-343.
106. Schurr, A. et al. (1991). "Neurotoxicity of Quinolinic Acid and its Derivates in Hypoxic Rat Hippocampal Slices". *Brain Res.* 568: 199-204.
107. Schwarcz, R. et al. (1983). "Quinolinic Acid: An Endogenous Metabolite that Produce Axon-Sparing Lesions in Rat Brain". *Science*. 219: 316-318.
108. Schwarcz, R. et al. (1984). "Excitotoxic Models for Neurodegenerative Disorders". *Life Sci.* 35: 19-32.
109. Schwarcz, R. et al. (1988). "3Hydroxianthranilate Oxygenase Activity is Increased in the Brain of Huntington's Disease Victims". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 4079-4081.
110. Schwarcz, R. et al. (1988). "Cerebrospinal Fluid Levels of Quinolinic Acid in Huntington's Disease and Schizophrenia". *Ann. Neurol.* 24: 580-582.
111. Schwarcz, R. y Coyle J. T. (1977). "Striatal lesions with Kainic acid neurochemical characteristics". *Brain Res.* 127 : 235-279.
112. Schwob, J. et al. (1980). "Widespread patterns of neuronal damage following systemic or intracerebral injections of Kainic acid: A histological study". *Neuroscience*. 5: 991-1014.
113. Shepard, C. et al. (1976). "Experimental chemotherapy of leprosy". *Bull. W. H. O.* 53: 425-433.
114. Shoulson, I. (1983). "Huntington's Disease: anti - neurotoxic therapeutic strategies". En: F. Fuxe et al. *Excitotoxins* (Wenner-Gren Symposium Series). New York, McMillan. pp. 343-353.
115. Shoulson, I. (1984). "Huntington's Disease: A Decade of Progress". *Neurol. Clin.* 2(3):515-526.
116. Siegel, G. (1998). *Basic Neurochemistry*. Lippincott-Raven. Sexta Edición. Philadelphia, U.S.A. pp. 1183.
117. Snyman, J. R. et al. (1995). Dapsone as an immunomodulator in vivo using the tuberculin skin test as a parameter. *Clin. Drug Invest.* 10 (3): 179-182.
118. Speciale, C. et al. (1988). "Effect of Systemic Kainate Administration on Cerebral Quinolinic Acid Metabolism in the Rat". *Exp. Neurol.* 99: 213-218.
119. Sperk, G. (1992). "Kainic acid seizures in the rat". *Progress in Neurobiol.* 42: 1-32.
120. Sperk, G. et al. (1980). "Kainic acid induced seizures: Neurochemical and histopathological changes". *Neuroscience*. 10 (4): 1301-1315.
121. Sperk, G. et al. (1981). "Kainic acid-induced changes of serotonin a dopamine

- metabolism in the striatum and substantia nigra of the rat". *Eur. J. Pharmacol.* 74: 279-86.
122. Sperk, G. et al. (1985). "Kainic acid induced seizures: Dose-relationship of behavioural, neurochemical and histopathological changes". *Brain Res.* 338: 289-295.
 123. Spokes, E. et al. (1979). "Differential Effects of Agonal States of Measurements of GABA and Glutamate Decarboxylase in Human Postmortem Brain Tissue from Control and Huntington's Chorea Subjects". *J. Neurol. Sci.* 48: 303-313.
 124. Trautman, J. R. (1965). "The management of leprosy and its complications". *N. Engl. J. Med.* 273: 756-758.
 125. Tyamianski, M. et al. (1993). "Source specificity or early calcium neurotoxicity in cultured embryonic spinal neurons". *J. Neuroscience.* 13: 2085-2104.
 126. Vage, Ch. y Svensson, C. K. (1994). Evidence that the biotransformation of dapsone and monoacetyldapsone to their respective hydroxylamine metabolites in rat liver microsome is mediated by cytochrome P450 2C6/2C11 and 3A1. *Am. Soc. Pharm. Exp. Ther.* 22 (4): 572-577.
 127. Van Der Kooy, D. y Hattori, T. (1980). "Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra: A fluorescent retrograde double labeling study in the rat". *Brain Res.* 186: 1-7.
 128. Varnov, J. J. (1995). "Neurotoxicity of acute glutamate transport blockade depends on coactivation of both NMDA and AMPA/Kainate receptors in organotypic hippocampal culture". *Exp. Neurol.* 133 (1): 7-17.
 129. Vender, A. D. (1975). "The Kynurenic Pathway of Tryptophan Catabolism". En: *Amino Acid Metabolism.* U.S.A, John Wiley and Sons. pp. 172-177
 130. Vezzani, A. et al. (1988). "Quinolinic Acid-Induced Seizures, But Decrease Assessed in the Hippocampus by Brain Dialysis". *Brain Res.* 454: 289-297.
 131. Vezzani, A. et al. (1991). "Production of Quinolinic Acid and Kynurenic Acid by Human Glioma". *Adv. Exp. Med. Biol.* 294: 691-695.
 132. Wallace, D. y Hall, A. (1972). "Evidence of Genetic Heterogeneity in Huntington's Chorea". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 35: 789-800.
 133. Wang, Y. et al. (1996). "Postictal alteration of sodium content and apparent diffusion coefficient in epileptic rat brain induced by Kainic acid". *Epilepsia.* 37 (10): 1000-1006.
 134. Wardley-Smith, B. et al. (1989). "The Effects of Kynurenic Acid, Quinolinic Acid and Other Metabolites of Tryptophan on the Development of the High Pressure Neurological Syndrome in the Rat". *Neropharmacol.* 28 (1): 243-47.
 135. Waterfall, A. H. et al. (1995). "Detection of lipid peroxidation product malonaldehyde in brain in vivo". *Neuroscience Letters.* 200: 69-72.
 136. Weber, W. W. y Hein, D. W. (1985). N-acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol. Rev.* 37 (1): 25-29.

137. Weiner, W. y Long, A. (1989). En: Mount Kisko. *Movement disorders: A Comprehensive Suvey*. Chap. 6. N.Y., Futura Publishing Co.
138. Werner, J. y Beate, D. (1997). "Behavioural Pharmacology of Glutamate Receptors in the Basal Ganglia". *Neuroscience and Biobehavioural Rewews.* 4: 381-392.
139. Westbrook (1994). "MK-801 Prevents Quinolinic Acid-Induced Behavioural Deficits and Neurotoxicity in the Striatum". *Brain Res. Bull.* 24: 313-319.
140. Wildholz, M. et al. (1976). En: The Merck Index. Ninth Edition. New Jersey, Merck and Co. Inc.
141. Wolfensberger, M. et al. (1983). "Identification of Quinolinic Acid in Rat and Human Brain Tissue". *Neurosci. Lett.* 41: 247-252.
142. Yamada, K. Et al. (1990). "Neurotoxicity Induced by Continuos Infusion of Quinolinic Acid Into the Lateral Ventricle in Rats". *Neurosci. Lett.* 118: 128-131.
143. Young, A. B. et al. (1986). "Huntington's Disease in Venezuela: neurological features and functional decline". *Neurology.* 36: 244-249.