

20/  
0  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

AUMENTO EN LA SENSIBILIDAD AL GLUTAMATO  
MONOSODICO (GMS) EN EL RATON TRATADO  
NEONATALMENTE CON EL PROPIO GMS

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 :

J. **ALVARO VARGAS GONZALEZ**



MEXICO, D. F. FACULTAD DE CIENCIAS  
SERVICIO ESCOLAR

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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  
AVENIDA DE  
MEXICO

M. en C. Virginia Abrin Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: Aumento en la Sensibilidad al Glutamato Monosódico (GMS) en el Ratón Tratado Neonatalmente con el Propio GMS.

realizado por J. Alvaro Vargas González

con número de cuenta 8009928-6 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis M. en C. Alfonso Efraim Campos Sepúlveda.  
Propietario

Propietario Dr. Jesús Manuel León Cázares.

Propietario M. en C. María Teresa Benítez Rodríguez.

Suplente M. en C. José Antonio Galindo Morales.

Suplente O.F.B. María Luisa López Galván.

Consejo Departamental de Biología

"Se ha dicho muchas veces que el hombre es libre como el pájaro en su jaula; pero ha debido añadirse que esta jaula se ensancha con el dinero que se tiene. ¿Somos millonarios? Pues tenemos por jaula el mundo y saltaremos a nuestro capricho desde París a Pekín. ¿Somos moderadamente ricos? Nuestra jaula podrá ser Europa, y brincaremos sin dificultad desde Cádiz a Estocolmo. En cambio, el pobre tiene por jaula su ciudad o su aldea, y su libertad se reduce a la posibilidad de saltar del taller a la taberna o del hospital al presidio.

Queda todavía a los humildes el inestimable recurso de cultivar el arte o la ciencia, cuyos hechizos tienen la virtud de dorar y alargar los barrotes de la jaula y de hacer llevadero, y hasta agradable el irredimible cautiverio".

Citado en: Santiago Ramón y Cajal

**Charlas de café**

## PARA QUIENES ME RODEAN

Es común que la gente quiera compartir lo que hace, y aquello de lo cual se siente orgullosa, con las personas que le rodean o con quienes comparte los mismos gustos e ideas. Debo decir que mi caso no es una excepción.

Este trabajo, el cual se hizo en el Laboratorio de Toxicología, dentro del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), representa un resultado de la actividad que realicé, me satisface y enorgullece, por lo que hago explícito el deseo de hacer partícipes de éste a mis parientes y amigos.

Quiero compartir este trabajo de tesis con mi familia, en particular con mis padres Elvira González Cervantes y J. Trinidad Vargas Soto; con mi ex-profesor y amigo José Luis Sánchez Acenjo y el "Círculo de Ciencias", además de mi también ex-profesor y amigo Gerardo Antonio Contreras Guerrero, con quienes tuve la oportunidad de interactuar durante mis estudios de Bachillerato, en el plantel Naucalpan del Colegio de Ciencias y Humanidades de la UNAM, e influyeron de manera decisiva en mi formación, pues con ellos aprendí que dedicarse al estudio de los fenómenos relacionados con los organismos vivos era una opción de vida, fomentaron en mí el deseo de adquirir conocimiento y sin duda su actitud ha contribuido a forjar mi manera de ver las cosas; así como con mi amiga Agustina Cano Martínez, con quien tuve la oportunidad de colaborar, en sus actividades de investigación dentro del área biológica, desde aquella época.

También deseo compartir este resultado con mis amigos

de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en particular con los integrantes del grupo "Una Ventana Estudiantil Hacia la Ciencia", con María del Carmen Cárdenas Aguayo y con mi novia Angela Ramírez García, con quienes he podido constatar que el estudio, el trabajo de laboratorio y las actividades derivadas de éstas proporcionan muchas satisfacciones; así como con los profesores Alfonso Efraín Campos Sepúlveda, Jesús Manuel León Cázares, María Teresa Benítez Rodríguez, José Antonio Galindo Morales y María Luisa García-López Galván de quienes quiero, a la vez, reconocer no su dedicación, durante algunos días o meses, a la asesoría y revisión de esta tesis, sino su contribución a mi formación como profesionista y como individuo al permitirme conocerlos como maestros, como investigadores y como personas, durante una clase, en el trabajo de laboratorio o en una plática por los pasillos de la Facultad de Ciencias. Y por último con mis compañeros y amigos del Laboratorio de Toxicología, también relacionados con la línea de investigación dentro de la cual se desarrolló esta tesis.

## INDICE

RESUMEN.....	6
1.0 INTRODUCCION.....	7
2.0 ANTECEDENTES.....	8
2.1 Aminoácidos excitatorios.....	8
2.2 Neurotransmisión glutamatérgica.....	9
2.3 El GMS: características, uso y toxicidad.....	15
2.4 Neurotoxicidad neonatal con GMS.....	17
3.0 OBJETIVOS.....	24
4.0 HIPOTESIS.....	25
5.0 MATERIAL Y METODO.....	26
5.1 Obtención del material biológico.....	26
5.2 Tratamiento neonatal con GMS.....	26
5.3 Ensayos de sensibilidad al GMS.....	27
5.4 Curvas dosis-respuesta (CDR) al GMS.....	27
5.5 Cálculo de la dosis efectiva cincuenta ( $DE_{50}$ ) y dosis letal cincuenta ( $DL_{50}$ ).....	28
6.0 RESULTADOS.....	29
7.0 DISCUSION.....	55
8.0 CONCLUSIONES.....	64
9.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	65

## RESUMEN

El glutamato monosódico (GMS) es una molécula que se emplea como saborizante en diversos alimentos para su consumo en humanos; sin embargo se sabe que su ingestión produce neurotoxicidad, y esta propiedad se ha demostrado *in vivo* e *in vitro*, observándose que el tratamiento neonatal con este fármaco en el ratón modifica la sensibilidad a la estimulación eléctrica y química en la edad adulta de estos animales. En este trabajo se analizó la influencia de este tratamiento, en el ratón, sobre la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal del propio GMS cuando se administra en la edad adulta. Los resultados muestran una disminución en la latencia a los efectos convulsivo y letal del GMS ( $P \leq 0.05$ ) y un aumento en la frecuencia con que estos efectos se presentan ( $P \leq 0.05$ ), así como una disminución de 1 a 3 veces en los valores de  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$  en los animales neurointoxicados neonatalmente respecto a los grupos control. Estos datos sugieren que el tratamiento neonatal con GMS produce un incremento en la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal del propio GMS, hallazgo que puede estar ligado a fenómenos de plasticidad neuronal.

## 1.0 INTRODUCCION

La toxicidad del glutamato monosódico (GMS), sobre el sistema nervioso central (SNC), representa un problema de salud debido a que esta sustancia se usa comercialmente como condimento en diversos tipos de alimentos destinados al consumo humano, lo que ha dado lugar a diversos estudios sobre las alteraciones que tienen que ver con la exposición a este fármaco. El consumo de GMS se ha relacionado con diversas patologías en el hombre y existe evidencia experimental de que su administración produce desórdenes de tipo neuroquímico, metabólico y conductual, así como alteraciones en la sensibilidad a algunos fármacos que ejercen sus efectos predominantemente a nivel del SNC, posiblemente ligados a alteraciones en el metabolismo de éstos.

Por lo anterior, el presente trabajo pretende contribuir a la caracterización de algunos de los efectos relacionados con la toxicidad inducida por el GMS en el ratón.

## 2.0 ANTECEDENTES

El ácido glutámico (GLU) ha sido usado como condimento o saborizante, en los alimentos destinados al consumo humano, en las culturas del Oeste y Oriente (23). Particularmente en China, se ha usado tradicionalmente el extracto de la alga marina *Laminaria japonica* como aditivo en diferentes alimentos, y en 1910 el químico japonés Ikeda sugirió que el componente de este extracto, responsable de tal efecto saborizante, era precisamente el GLU (74,92), aunque más adelante se descubrió que era el GMS, la sal monosódica de este aminoácido, el que poseía esta propiedad de potenciador del sabor. Posteriormente se encontró que había una relación entre las personas que consumían regularmente alimentos condimentados con GLU, en la forma de GMS, y las que presentaban una serie de síntomas que en su conjunto se denominó primero "Síndrome del Glutamato Monosódico" y posteriormente "Síndrome del Restaurante Chino", caracterizado, en términos generales, por una sensación de ardor en la piel, aumento de la presión facial, dolor de pecho, entumecimiento en el dorso del cuello, que se extiende gradualmente hacia los brazos y espalda, debilidad general y palpitaciones (77,149).

### 2.1 Aminoácidos excitatorios

Los aminoácidos excitatorios (AAE) que han recibido mayor atención son el GLU y el ácido aspártico; sin embargo, los AAE en general han adquirido una importancia considerable, en años recientes, básicamente por dos razones: a) se considera que

participan como neurotransmisores en la mayor parte de las funciones excitatorias del SNC y b) se les ha relacionado con una gran variedad de estados neurofisiopatológicos, entre los que destacan la epilepsia (28,101,102,113,169), la hipoglucemia (4,183,184), la hipoxia/isquemia (9,47,66,75,80,94,100,117,128,147,156,182) y el trauma físico (40,55,71). Se piensa, además, que las alteraciones en la neurotransmisión mediada por los AAE podrían estar también relacionadas con enfermedades degenerativas crónicas, que incluyen el neurolatirismo (100,161), el complejo esclerosis lateral amiotrófica de Guam/parkinsonismo/demencia (100,162), la esclerosis lateral amiotrófica clásica (136), la deficiencia de sulfito oxidasa (118), la enfermedad de Huntington (7,26,100) la enfermedad de Alzheimer (27,32), la enfermedad de Parkinson (109), el síndrome de Wernicke/Korsakoff (109) y el síndrome de Jakob-Creutzfeldt (109), el cual presenta los signos clásicos de la degeneración neuronal inducida por GLU (110).

## **2.2 Neurotransmisión glutamatérgica**

El GLU es un aminoácido que está presente en muchos nutrientes, tanto en forma libre como unido a péptidos y proteínas, y cuantitativamente es un constituyente muy importante de las proteínas corporales. Además, el GLU participa en un gran número de vías metabólicas, y posee un papel fundamental como neurotransmisor en diversas estructuras del SNC (34,43,125). De hecho, este aminoácido se considera el neurotransmisor excitatorio más abundante en el SNC, particularmente en mamíferos (29,41,43,93,179,180), y en la actualidad se acepta que participa

también en fenómenos de plasticidad neuronal, durante la adquisición de la memoria y el proceso de aprendizaje, como por ejemplo la Potenciación a Largo Plazo, que ocurre en el hipocampo, caracterizada por ser altamente perdurable e incrementarse dependiendo del uso del circuito neuronal, y la Depresión a Largo Plazo, a nivel del cerebelo, caracterizada por una depresión en la eficiencia sináptica (64,146); y también existe evidencia de que el GLU ocupa un papel importante en el desarrollo de algunos ritmos biológicos (36,98). Sin embargo, el GLU, como otros AAE, participa también en la patogénesis de algunos desórdenes neuronales (93,100,103,150), pues se piensa que las alteraciones en la neurotransmisión glutamatérgica, tales como la liberación excesiva, la liberación anormal o la captura deficiente del aminoácido, así como las modificaciones en la sensibilidad de sus sitios de unión, están relacionadas con el daño neuronal en algunas enfermedades como la degeneración olivopontocerebelar (135), la isquemia cerebral (5,51,148), la epilepsia (15,158), la esquizofrenia (18), la enfermedad de Alzheimer (25,32,91,138), la enfermedad de Huntington (96,114) y el mal de Parkinson (18,93), y se sabe en particular que, en altas concentraciones, el GLU da lugar a diversas alteraciones neuronales en ratas (1,13,70), ratones (13,111) y otras especies animales; además de que varios autores han demostrado su toxicidad en preparaciones de neuronas *in vitro* (20,21).

El efecto neurotóxico del GMS se ha observado en aquellas áreas del SNC que poseen neurotransmisión glutamatérgica: corteza, estriado, hipocampo, tálamo, hipotálamo, cerebelo, área postrema, sistemas auditivo y visual (13,43,112,108,121,178). Dentro del

hipotálamo las áreas afectadas incluyen el núcleo arqueado (13,107), el hipotálamo mediobasal (particularmente el área que rodea al núcleo arqueado) (107,110) y la eminencia media (111); así como la retina (86) dentro del sistema visual. Además, el órgano vasculoso, lámina terminal, órgano subcomisural, órgano subfornical y el área postrema, así como las áreas que los rodean, parecen poseer una susceptibilidad única a los efectos tóxicos del GMS y sus análogos estructurales (82,111,121).

Asimismo, se han identificado en estas áreas del SNC sitios de unión específicos para el GLU, los que se han clasificado, con base en estudios de tipo farmacológico, electrofisiológico, bioquímico e inmunológico en: a) receptores metabotrópicos y b) receptores ionotrópicos (103), dentro de los cuales existen diversos subtipos (59,69).

Los receptores metabotrópicos han sido caracterizados usando diferentes agonistas (85) y fueron Sugiyama y col, en 1987, los primeros en demostrar la existencia de un receptor de este tipo a GLU (165), el cual era activado por quisqualato y estaba acoplado, a través de una proteína G sensible a la toxina pertussis, al metabolismo de los fosfoinositósidos. Estos receptores están acoplados a señales de transducción intracelular vía las proteínas G (140,150), y se supone que son similares, estructuralmente, a otros receptores, ya conocidos, que están unidos a este tipo de proteínas, los cuales estimulan la formación de inositol 3-fosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DG). De hecho, existen evidencias de que los receptores que median la inhibición de la síntesis de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y la respuesta de hidrólisis de fosfoinositósidos son receptores

de tipo metabotrópico o subtipos del receptor metabotrópico al GLU (33,90,127,137,139,151); además de que se ha demostrado que el AMPc media la excitación neuronal postsináptica de la región conocida como *Cornus de Amon* (CA) del hipocampo, debido a la activación de receptores metabotrópicos al GLU (49), lo que muestra que el receptor está acoplado a la adenilato ciclasa, e incrementa la producción de AMPc. Se ha informado también que el GLU activa a la fosfolipasa D en las neuronas del hipocampo de rata a través de un receptor metabotrópico insensible al ácido DL-2-amino-3-fosfonopropiónico, tanto en organismos neonatos como en adultos (58).

Los receptores ionotrópicos, por su parte, se caracterizan por estar asociados a canales iónicos y se han obtenido evidencias, a partir de estudios farmacológicos, de que existen por lo menos 3 clases de estos receptores que son activados por el GLU y sus análogos: a) el receptor a N-metil-D-aspartato (NMDA), b) el receptor al ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionico (AMPA) y c) el receptor a kainato (142), estos dos últimos también conocidos como receptores de tipo no-NMDA; y existen evidencias del papel principal que tienen, los receptores a NMDA, en el efecto neurotóxico del GLU (20,106). Los estudios para la caracterización del receptor a NMDA han demostrado que su canal asociado contiene: a) un sitio de reconocimiento al GLU/NMDA en el cual los análogos del fosfonato, tales como el ácido amino-fosfonoaléxico y el ácido amino-fosfonoheptanoico, son antagonistas competitivos; b) un sitio regulatorio de glicina, cuya ocupación es esencial para la transducción mediada por el receptor NMDA; c) sitios moduladores

para las poliaminas y zinc; d) un sitio de unión para  $Mg^{2+}$  dependiente de voltaje; y e) un supuesto sitio intracanal en el que actúan como antagonistas no competitivos la fenciclidina y análogos relacionados (37).

Los principales subtipos de receptores a GLU están presentes, particularmente en todas las regiones hipotalámicas y preópticas, en las siguientes densidades relativas aproximadas: NMDA > receptores metabotrópicos > kainato > AMPA (97); su expresión varía regionalmente, presentando las regiones hipotalámica rostral y preóptica niveles proporcionalmente mayores de receptores no-NMDA en comparación con los de tipo NMDA (97); y tienen las siguientes densidades regionales relativas: ventromedial, dorsomedial > paraventricular, hipotalámica anterior, supraóptica > núcleo arqueado, supraquiasmática, hipotalámica lateral > área preóptica >> lóbulo neural pituitario, materia blanca > lóbulo anterior de la hipófisis (97).

Sin embargo, aunque se conocen con detalle las áreas sobre las que el GLU ejerce sus efectos, hasta la fecha se ignora el mecanismo por el cual el GMS induce su neurotoxicidad, pero debido a la consistencia entre las alteraciones neuropatológicas agudas, con una marcada dilatación del soma y dendritas neuronales, y los estudios neurofisiológicos que indican que el GLU depolariza a las neuronas por apertura de los canales de  $Na^+$  (119), lo que resulta en una entrada pasiva y secundaria de agua (53), se ha propuesto que el GLU destruye a las neuronas por una depolarización persistente (112,116); aunque los estudios realizados por Choi y col (19,20,21) han delineado una forma de degeneración neuronal inducida por exposición transitoria al GLU, en la cual

la depolarización *per se*, inducida por la activación de los receptores NMDA con la neurotoxina, no es requisito para la degeneración neuronal, sino que el  $Ca^{2+}$  juega un papel importante en el proceso degenerativo y la depolarización sólo potencia su neurotoxicidad. En este modelo, el GLU activa a ambos tipos de receptores, NMDA y no-NMDA, y la activación de éstos produce un influjo de  $Na^+$ , que causa una depolarización y dilatación celular excitotóxica (después del influjo secundario de más  $Na^+$ ,  $Cl^-$  y agua), y un pequeño influjo de  $Ca^{2+}$  a través de canales dependientes de voltaje; sin embargo, sólo la activación de los receptores NMDA abre canales con alta permeabilidad intrínseca a  $Ca^{2+}$ , y ésto produce un influjo sustancial de este ión. Por tanto, el daño neuronal resulta principalmente del elevado nivel de  $Ca^{2+}$  y, de manera parcial, del hinchamiento celular excitotóxico. A causa de la combinación del daño celular y los mecanismos sinápticos evocados por el  $Ca^{2+}$ , se liberan al medio agonistas intracelulares del NMDA, entre los que abunda con frecuencia el GLU, lo que produce una retroalimentación sobre los receptores NMDA que trae como consecuencia un daño neuronal progresivo (20). Por otra parte, se ha reportado que el influjo tardío de  $Ca^{2+}$  induce la activación sostenida de la proteína cinasa C, la cual es responsable de la pérdida neuronal (88), y que la regulación negativa de esta proteína atenúa la citotoxicidad inducida por el GLU (42).

Existen también evidencias de que la neurotoxicidad por GLU está mediada por el óxido nítrico (NO), el cual estimula a la guanilato ciclasa soluble e incrementa la formación de guanosín monofosfato cíclico por activación de receptores al GLU *in vitro*

(31). Además, se sabe que algunas condiciones externas favorecen el daño neuronal por GLU, pues se ha demostrado que la restricción de la energía celular, en cultivos de neuronas cerebelares, facilita la transición del GLU de neurotransmisor a neurotoxina, a través de los receptores NMDA (106) y que la exposición crónica de células granulares al etanol incrementa la vulnerabilidad de éstas a la toxicidad del GLU, mediada también por receptores NMDA (63), por lo que los autores sugieren que este fenómeno puede ser la base de la degeneración neuronal observada en humanos y otros animales después de la ingestión crónica del etanol.

### 2.3 El GMS: características, uso y toxicidad

El GMS es la sal monosódica del GLU (Fig 1), su fórmula condensada es  $C_5H_9NNaO_4$ , y tiene un peso molecular de 187.13; posee la apariencia de un polvo cristalino blanco, prácticamente

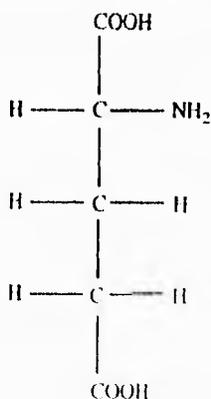


Fig 1. Estructura semidesarrollada del ácido glutámico, la cual corresponde a un ácido dicarboxílico (11).

inodoro, muy soluble en agua. Según el Index Merck (11), esta sal es manufacturada por fermentación de fuentes de carbohidratos, tales como la melaza de la remolacha azucarera, y producido por hidrólisis de proteínas vegetales, por ejemplo: por hidrólisis ácida de la melaza de remolacha o por acción de la bacteria *Micrococcus glutamicus* sobre carbohidratos y su neutralización parcial subsecuente.

El GMS se ha empleado clínicamente en el tratamiento del coma hepático, aunque el uso que con más frecuencia recibe es el de aditivo en algunos alimentos destinados al consumo humano, por ejemplo: como aditivo en los alimentos derivados del cerdo, y mezclado con azúcar en los medicamentos de sabor amargo para hacerlos más palatables (11). Se sabe además, que los fabricantes de alimentos han empleado esta sustancia con el propósito de incrementar el peso de éstos, tal es el caso del kobumaki (alimento japonés hecho de algas), vegetales en conserva y alimentos instantáneos (166); ocasionalmente se añade a la comida entre 20 y 45 % de GMS y, aún más, ha sido usado como aditivo en alimentos para bebés (126). Sin embargo, en 1957, Lucas y Newhouse (86) descubrieron que las dosis altas de GMS provocaban destrucción irreversible de la mayoría de las células en la capa interna de la retina, en un lapso de minutos a horas después de su administración parenteral, y en 1969 Schaumburg y col (149) concluyeron que el GMS era la causa del "Síndrome del Restaurante Chino". Aunque se tienen muy pocas evidencias del daño producido por el GMS en el hombre (el "Síndrome del Restaurante Chino" es una de éstas), esta característica se ha demostrado experimentalmente, tanto *in vivo*

como *in vitro*. Hay evidencia de que el GMS es neurotóxico no sólo en dosis altas parenterales, sino también después de su administración oral (2,13,82,115); y aún más, Frieder y Grimm (44) mostraron que la exposición prenatal crónica de ratas preñadas al GMS en la dieta, concretamente en el agua de beber, produce modificaciones neuroquímicas permanentes en el cerebro de sus descendientes, lo que aporta evidencias de que esta neurotoxina puede atravesar rápidamente la barrera placentaria y causar un daño irreversible agudo de las neuronas del área postrema en el feto (173). Este hallazgo permitió proponer la posibilidad de toxicidad transplacental, en fetos de humanos, después del consumo de alimentos ricos en GMS por parte de la madre (173). Además, se ha observado que la administración de GMS en dosis tóxicas, en ratas, produce cambios metabólicos, particularmente en la osmolaridad de la sangre, así como de electrolitos y algunos metabolitos (172).

#### **2.4 Neurotoxicidad neonatal con GMS**

Por otra parte, se sabe que los roedores son más susceptibles al efecto neurotóxico del GLU en la etapa neonatal. En este sentido, Lucas y Newhouse (86), fueron los primeros en reportar que el GMS administrado neonatalmente, a roedores, produce una necrosis neuronal aguda, lo cual causa lesiones que dan lugar a una disfunción metabólica y conductual en la edad adulta de los animales que lo reciben. Posteriormente Olney, en 1969 (107), caracterizó y extendió los hallazgos de las lesiones provocadas por el GMS, y este fenómeno

fue confirmado ampliamente por otros autores en diversas especies animales (13,79,120,123,124,132,160,167). Se ha observado que en un periodo de 5 a 10 horas, posterior a la administración de una dosis de GMS a roedores neonatos, hay una necrosis completa de dendritas y soma de las neuronas del núcleo arqueado, seguida de una neurofagia con una infiltración de macrófagos (13,82,110), probablemente microglia (81). El examen del núcleo arqueado realizado inmediatamente después de la administración de GMS, y también cuando los animales han alcanzado la edad adulta, sugiere que el daño inducido por los aminoácidos neurotóxicos está limitado sólo a la pericaria, situándose en el núcleo arqueado y frecuentemente en la parte media ventral del núcleo ventromedial talámico, sin afectar las células gliales, ependimales y axones del trayecto (122); sin embargo se ha visto que el GMS afecta todos los tipos celulares en las cercanías del núcleo arqueado, el cual muestra una dilatación severa y edema intracelular en las células neuronales, gliales y ependimales (13,82,110).

El GMS, así como los AAE relacionados, poseen la capacidad de inducir, de manera selectiva, una destrucción del 80 al 90 % de las células neuronales en el núcleo arqueado del hipotálamo (107,110,115,130,157), entre las que se cuentan células productoras de neurotransmisores y hormonas, pues se ha reportado que esta región del hipotálamo contiene, por lo menos, 15 tipos diferentes de neurotransmisores y neuropéptidos (22), como por ejemplo el factor liberador de la hormona del crecimiento (GHRF) (10). Se ha observado que el tratamiento neonatal con GMS, en la rata, produce un descenso de la población de neuronas que contienen tirosina hidroxilasa, ácido glutámico descarboxilasa

(GAD), GHRF, galanina, péptido intermediario de la corticotropina y dinorfina, así como una pérdida virtualmente completa de cuerpos celulares que contienen inmunoreactividad (IR) para encefalinas y neuropéptido K, en el núcleo arqueado del hipotálamo (99). También se observa un descenso en las fibras que presentan IR a GAD, neurotensina, galanina, GHRF, dinorfina y encefalinas presentes en la eminencia media (99,177), y de neuropéptido Y en los núcleos arqueado y paraventricular del hipotálamo (1,99); una reducción significativa de las concentraciones de IR a la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) y  $\beta$ -endorfina en el hipotálamo mediobasal, núcleo preóptico y amígdala (76); una disminución de neuronas contenedoras de  $\beta$ -endorfina en el núcleo arqueado y su región periférica (72); una disminución en el contenido de dopamina del núcleo arqueado debida a la destrucción neuronal (46); y la destrucción de neuronas productoras de neurotensina y con IR a GAD en el neuropilo (65). Asimismo, el GMS administrado neonatalmente, en el ratón, también produce una disminución de la IR a met-enkefalina y leu-enkefalina en el núcleo arqueado del hipotálamo y todas las capas de la eminencia media (144); un decremento en la colina acetiltransferasa y la acetilcolinesterasa en la eminencia media al igual que en el núcleo arqueado (177); además de que los péptidos ACTH (24,68,76), hormona  $\alpha$ -melanocito estimulante (24,39), factor liberador de la hormona luteinizante (8) y somatostatina (145) también han mostrado cambios inmunocitoquímicos en su distribución hipotalámica mediobasal en animales tratados con GMS, en comparación con animales control; y en particular se piensa que las alteraciones en el sistema

peptidérgico del hipotálamo mediobasal pueden contribuir a la causa de la deficiencia neuroendócrina mostrada por los animales tratados neonatalmente con GMS (144). Pero cabe señalar el daño diferencial del GMS en el núcleo arqueado, pues su porción anterior es mucho más sensible a la acción excitotóxica de esta sustancia, en ratas neonatales, que su parte posterior (153), además de que existen estudios en los que las células inmunoreactivas a tirosina hidroxilasa, GAD, neurotensina y somatostatina ubicadas en la división dorsomedial, dislocada ventralmente, del núcleo arqueado, se detectan de manera permanente a pesar de la administración de GMS (99). También se ha mostrado que el GLU administrado sistémicamente induce una degeneración selectiva de neuronas inmunoreactivas a tirosina hidroxilasa en el área postrema de ratas de 12 a 14 semanas de edad (133), y que la administración neonatal de GMS, en esta misma especie, durante los primeros 10 días de edad, produce modificaciones en el contenido de ácido gama-amino butírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, y la actividad de la GAD en algunas estructuras cerebrales. Particularmente, existen datos sobre la presencia de un sistema GABAérgico en el hipotálamo mediobasal (65,170,175) y se ha observado que el tratamiento neonatal con GMS produce una reducción tanto de GABA como de GAD en esta región en ratas machos y hembras (35); además de que se ha observado una reducción marcada de la GAD en el núcleo arqueado y la eminencia media después de este tratamiento.

Entre los efectos más prominentes del tratamiento con GMS en el SNC, está la reducción en un 40 a 60 % de dopamina en diversas

áreas del SNC (61,105), y el GMS administrado neonatalmente, en la rata, elimina el sistema dopaminérgico de manera considerable (65); produce una disminución marcada del número de cuerpos celulares que presentan inmunoreactividad a tirosina hidroxilasa, y sus ramificaciones que se proyectan hacia la eminencia media (65); posiblemente se reduzca la inervación catecolaminérgica inhibitoria que viene desde el núcleo arqueado (46) y aparentemente destruye células dopaminérgicas en esta región e interrumpe la regulación de la secreción de vasopresina en el núcleo supraóptico y la neurchipófisis (46).

Además, se ha visto que los cambios estructurales inducidos por el tratamiento neonatal con el GMS, en roedores, están acompañados por una disminución en el peso de la hipófisis, gónadas y adrenales aunado a disfunciones de tipo metabólico y conductual, tales como crecimiento retardado, obesidad, hipotiroidismo, disminución de la capacidad reproductiva, automutilación de la cola (6,60,104,105,134,141,164,168) y atrofia del nervio óptico (99). Se ha propuesto que la deficiencia del sistema GABAérgico en el núcleo arqueado podría modificar indirectamente la liberación de prolactina, gonadotropina y tirotropina, así como disminuir directamente la concentración de la ACTH y endorfinas en las áreas hipotalámica y extrahipotalámica del cerebro de los roedores (35).

En las ratas tratadas neonatalmente con GMS se ha observado una interrupción considerable en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, evidenciada por la atrofia gonadal, capacidad reproductiva reducida y una concentración baja de esteroides gonadales en plasma (65). También se observa un estado

de hiperfunción de las adrenales, lo que sugiere que la lesión central producida por el tratamiento con el GMS interfiere con los mecanismos de regulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales (164), además de que se produce una disminución de la hormona del crecimiento, lo cual trae como consecuencia un aumento en los niveles de algunas enzimas hepáticas que predominan en las hembras (181). Se ha visto también que el incremento de la actividad exploratoria en campo abierto y la reducción de la actividad nocturna, inducidos por el tratamiento neonatal con GMS en la rata, están asociados a la disminución de neuronas que contienen  $\beta$ -endorfina en el núcleo arqueado y su región periférica (72). Aún más, Rose y Weick, en 1987 (146), sugirieron que después del tratamiento neonatal con GMS, las funciones del núcleo arqueado, por ejemplo en la regulación de la secreción tónica de hormona luteinizante, pueden ser asumidas por otras estructuras hipotalámicas; además de que pueden ocurrir otros cambios plásticos adaptativos tales como un aumento en el número de contactos sinápticos (99).

Por otra parte, desde el punto de vista farmacológico, se ha reportado que el tratamiento neonatal con GMS, en el ratón, da lugar a cambios en la sensibilidad a la estimulación eléctrica y química con algunos fármacos que ejercen sus efectos a nivel del SNC, ya sea como estimulantes o depresores. En este sentido, se ha mostrado que este tratamiento incrementa la susceptibilidad a las convulsiones inducidas eléctricamente (15) y al "kindling" (modelo experimental de epilepsia inducida por la estimulación subumbral, eléctrica o química, que se caracteriza por originar una modificación permanente mediada por fenómenos de plasticidad

neuronal, que evoca el disparo neuronal de manera espontánea (46)) químico inducido con pentilentetrazol (17). También se ha demostrado que este mismo tratamiento produce una disminución en la sensibilidad al efecto hipnótico del pentobarbital en el ratón (50), un aumento de la sensibilidad al efecto hipnótico del etanol (16) y una disminución de la sensibilidad a la ketamina, tanto en modelos *in vivo* como *in vitro* (12,143).

Por lo anterior, el propósito de este trabajo fue estudiar cómo influye el tratamiento neonatal con GMS, en el ratón, sobre la sensibilidad a los efectos del propio GMS en la edad adulta de los animales.

### 3.0 OBJETIVOS

El presente trabajo tuvo como objetivo general estudiar cómo influye el tratamiento neonatal con GMS, en el ratón, sobre la sensibilidad a los efectos del propio GMS, en la edad adulta de estos animales, administrado por vía intraperitoneal (ip) e intracerebral (ic), para lo cual se propusieron los objetivos específicos siguientes:

A) Medir la latencia al efecto convulsivo del GMS, y la frecuencia con que éste se presenta, así como calcular la  $DE_{50}$  a dicho efecto, cuando el GMS se administra por vía ip.

B) Registrar la latencia al efecto letal del GMS, y la frecuencia con que ocurre, así como calcular la  $DL_{50}$  después de la administración ip del GMS.

C) Medir la latencia al efecto convulsivo del GMS, y su frecuencia, así como calcular la  $DE_{50}$  a este efecto, cuando el GMS se administra por vía ic.

D) Registrar la latencia al efecto letal del GMS, y la frecuencia con que ocurre, así como calcular la  $DL_{50}$  después de la administración ic de éste.

#### 4.0 HIPOTESIS

Puesto que el tratamiento neonatal con el GMS altera la sensibilidad, en la edad adulta, a los efectos de algunos fármacos que interactúan con los sistemas neurotransmisores afectados por la neurotoxicidad de esta molécula, en este trabajo se infirió que dicho tratamiento también alteraría la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal del propio GMS en la edad adulta de los animales que lo recibieron. Esta alteración podría expresarse como una disminución, o un aumento, en la latencia a los efectos mencionados, en la frecuencia con que ocurren y por tanto en los valores de  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$ .

## 5.0 MATERIAL Y METODO

### 5.1 Obtención del material biológico

Se usaron ratones adultos de la cepa Taconic, de 25 a 30 g de peso corporal, obtenidos de la colonia del Bioterio de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de México, los cuales fueron apareados, en una proporción de cuatro hembras por un macho, y mantenidos en un ciclo luz-obscuridad 12x12 horas, a una temperatura de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , con agua y alimento *ad libitum*.

### 5.2 Tratamiento neonatal con GMS

Una vez preñadas, las hembras gestantes se colocaron individualmente en jaulas de acrílico, y el día del alumbramiento las crías se dividieron aleatoriamente en tres grupos: I. Tratados con el neurotóxico (GMS), II. Control salino (CS) y III. Control absoluto (CA).

A las crías del grupo I se les aplicó GMS, por vía subcutánea, en dosis de 2 mg/g de peso corporal el 2o y 4o día postnatal y 4 mg/g el 6o, 8o y 10o día postnatal, en un volumen de 0.01 ml por gramo de peso corporal; las crías del grupo II recibieron el volumen correspondiente de solución salina fisiológica al 0.9%, de acuerdo al esquema de administración del primer grupo y por la misma vía; y las crías del grupo III no recibieron tratamiento alguno. Todos los animales fueron destetados y sexados al mes de edad aproximadamente, y se pesaron

cada semana.

### **5.3 Ensayos de sensibilidad al GMS**

#### **A) Administración del GMS por vía ip**

Una vez que los ratones, de los grupos anteriores, cumplieron de 3 a 11 meses de edad, se formaron aleatoriamente grupos de animales (n= 8 a 22, tanto para hembras como para machos), cada uno de los cuales recibió GMS, en una sola administración por vía ip. Se usaron ocho dosis diferentes, de 1.74 a 12.00 g/kg de peso corporal, espaciadas logarítmicamente. Se registró la latencia a la primera convulsión y a la muerte, durante la primera hora postinyección, y la ocurrencia de muerte cada 24 horas durante los ocho días siguientes.

#### **B) Administración del GMS por vía ic**

En otra serie de experimentos, se administró el GMS en dosis total de 250, 500, 600 y 724  $\mu$ g, en un volumen de 5  $\mu$ l, pero ahora por vía ic con una microjeringa Hamilton, según el método de Haley y McCormick (52), y se registraron los parámetros antes mencionados en las mismas condiciones.

### **5.4 Curvas dosis-respuesta (CDR) al GMS**

Con los datos obtenidos se graficó la latencia a la convulsión y a la muerte, expresada en minutos y segundos para

la vía ip e ic respectivamente, como función de la dosis usada de GMS, y se elaboraron las CDR para ambos efectos, para lo cual se graficó el porcentaje de convulsión y muerte como función de la dosis de GMS administrada.

#### 5.5 Cálculo de la dosis efectiva cincuenta ( $DE_{50}$ ) al efecto convulsivo y dosis letal cincuenta ( $DL_{50}$ )

Los resultados obtenidos de las CDR, se sometieron al análisis de Litchfield y Wilcoxon (83) para calcular la  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$ , para lo cual se usó como criterio el porcentaje de animales que convulsionaron y el porcentaje de animales que murieron respectivamente, ambas con los límites de confianza al 95%. Los resultados de la latencia, para convulsión y muerte, se sometieron a la prueba estadística de U de Mann-Whitney, y los valores de porcentaje, para ambos efectos, a la prueba de  $X^2$ . Se consideraron estadísticamente significativos los valores de  $P \leq 0.05$ .

## 6.0 RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran que los ratones que recibieron el tratamiento neonatal con GMS, tuvieron en general una latencia significativamente menor ( $P < 0.05$ ) a la convulsión, por la administración ip de GMS, respecto a los animales control (Tabla 1), fenómeno observado tanto en hembras (Tabla 1; Fig 2) como en machos (Tabla 1; Fig 3), aunque con la dosis de 1.74 g/kg no hubo convulsiones en ninguno de los grupos, durante la primera hora postinyección, y con 2.29 g/kg el menor valor ocurrió en las hembras CS y en los machos GMS, sin embargo en ambos casos el valor de latencia corresponde a un animal solamente dado que, durante este periodo de tiempo, sólo convulsionó un ratón, aspecto que se observó con otros niveles de dosis. Además, el porcentaje de animales que convulsionaron fue claramente mayor ( $P < 0.05$ ) en los grupos GMS para todas las dosis, lo cual se muestra como un desplazamiento hacia la izquierda de la CDR tanto en hembras como en machos (Fig 4 y 5, respectivamente).

La latencia a la muerte, también por administración ip del GMS, fue menor en los ratones neurointoxicados neonatalmente tanto en hembras (Tabla 2; Fig 6) como en machos (Tabla 2; Fig 7), aunque en estos últimos, con 3.02 y 5.26 g/kg, sólo murió un animal. En el caso de las hembras, con 2.29 y 9.12 g/kg, el promedio de latencia menor correspondió al grupo CS, así como a los machos CS con esta última dosis. El porcentaje de letalidad (Tabla 2) fue mayor en los ratones tratados neonatalmente con el GMS, excepto en el caso de las hembras con la dosis de 1.74 y en los machos con 5.26 g/kg, lo cual se muestra como un

Tabla 1. Tiempo de latencia y porcentaje de respuesta al efecto convulsivo del GMS.

Dosis (g/kg)	Latencia (min)			%		
	GMS	CS	CA	GMS	CS	CA
1.74 ♀	-	-	-	0	0	0
♂	-	-	-	0	0	0
2.29 ♀	34.75±1.25	24.00	-	20	10	0
♂	31.42	-	-	8	0	0
3.02 ♀	29.67±7.83	-	-	30	0	0
♂	19.54±3.04	-	-	20	0	0
4.00 ♀	22.88±5.04	-	-	82*	0	0
♂	50.00±1.25	-	-	20	0	0
5.26 ♀	28.90±3.62*	-	42.17	75*	0	10
♂	34.54±7.38	-	-	20	0	0
6.92 ♀	20.98±3.78*	33.98±5.64	39.98±5.11	83	40	50
♂	26.36±5.41*	43.67±2.17	-	60*	20	0
9.12 ♀	27.76±3.71*	33.83±8.42	34.72±5.33	73*	20	80
♂	31.57±1.28	31.71±2.13	-	90*	67	0

La solución de GMS se administró por vía ip a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). Se registró la latencia y el porcentaje de respuesta durante la primera hora postinyección. Los resultados de latencia se expresan como el promedio ± es (n= 10 a 12 y 10 a 20, para hembras y machos respectivamente). - indica que no se presentó convulsión. \*P<0.05 en comparación con los grupos control.

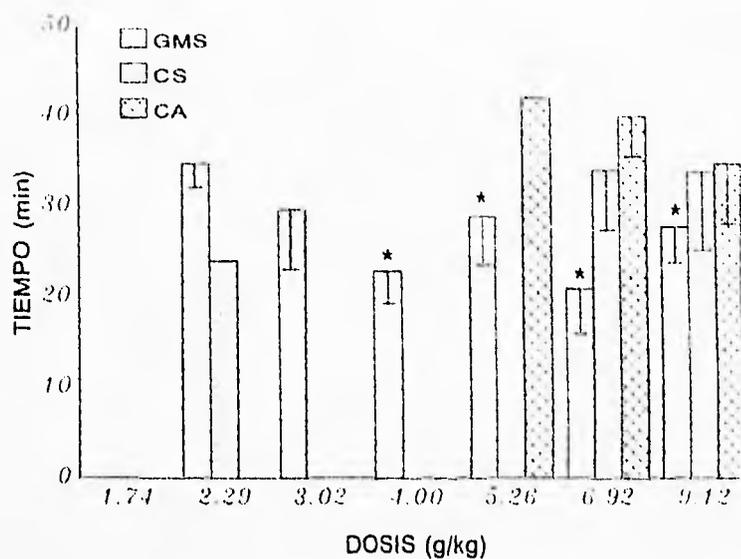


Fig 2. Tiempo de latencia al efecto convulsivo del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 10 a 12); \*P $\leq$  0.05.

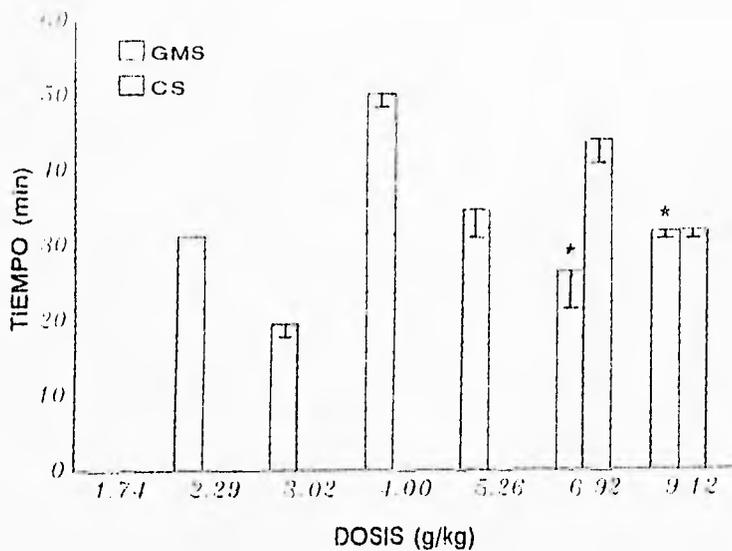


Fig 3. Tiempo de latencia al efecto convulsivo del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS) y control salino (CS). La solución de GMS se administró vía ip y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 10 a 20); \*P $\leq$  0.05.

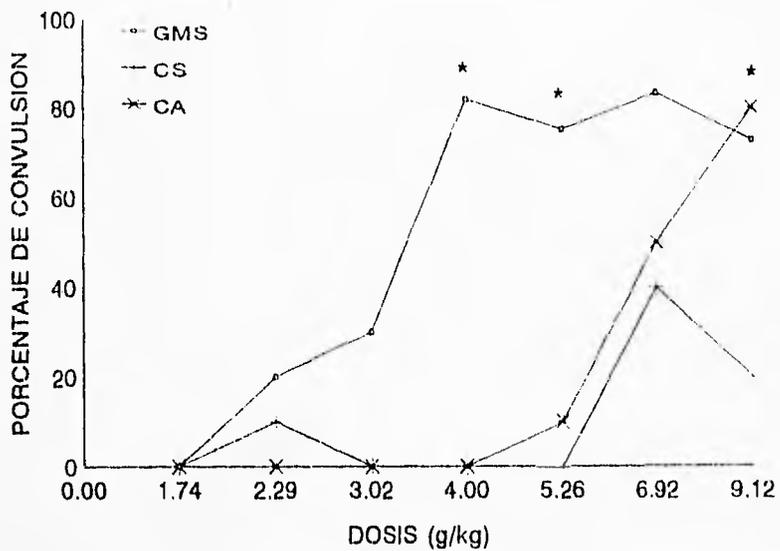


Fig 4. Curva dosis-respuesta al efecto convulsivo del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la ocurrencia de convulsiones se registró durante la primera hora postinyección. n= 10 a 12; \*P< 0.05.

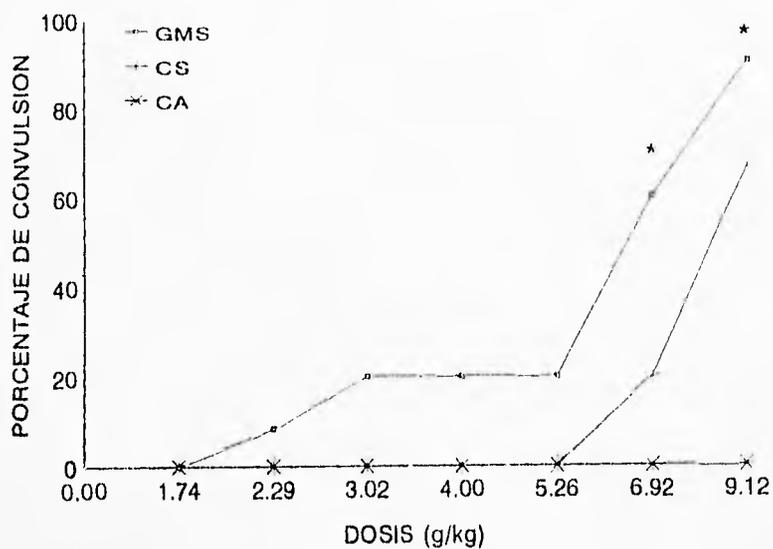


Fig 5. Curva dosis-respuesta al efecto convulsivo del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la ocurrencia de convulsiones se registró durante la primera hora postinyección. n= 10 a 20; \*P< 0.05.

Tabla 2. Tiempo de latencia y porcentaje de respuesta al efecto letal del GMS.

Dosis (g/kg)		Latencia (min)			%		
		GMS	CS	CA	GMS	CS	CA
1.74	♀	-	-	-	0	0	10
	♂	-	-	-	30	0	0
2.29	♀	34.75±1.25	24.00	-	30	20	0
	♂	-	-	-	33	10	0
3.02	♀	33.25±14.75	-	-	70*	0	0
	♂	44.50	-	-	60*	10	0
4.00	♀	27.53±5.61*	-	-	100*	0	0
	♂	-	-	-	50*	10	0
5.26	♀	31.43±4.60*	-	-	100*	20	0
	♂	41.92	-	-	40	80	5
6.92	♀	22.59±3.67*	33.98±5.64	39.53±4.57	83	90	60
	♂	26.36±5.41*	-	-	90*	80	25
9.12	♀	26.14±2.76*	17.68±4.40	31.25±5.40	100	90	80
	♂	34.80±2.17*	33.31±2.69	-	100	100	70

La solución de GMS se administró por vía ip a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). Se registró la latencia y el porcentaje de respuesta al efecto letal durante la primera hora postinyección, así como la ocurrencia de muerte durante los 8 días siguientes, cada 24 horas. Los resultados de latencia se expresan como el promedio ± es (n= 10 a 12 y 10 a 20, para hembras y machos respectivamente). - indica que no se presentó muerte. \*Ps0.05 en comparación con los grupos control.

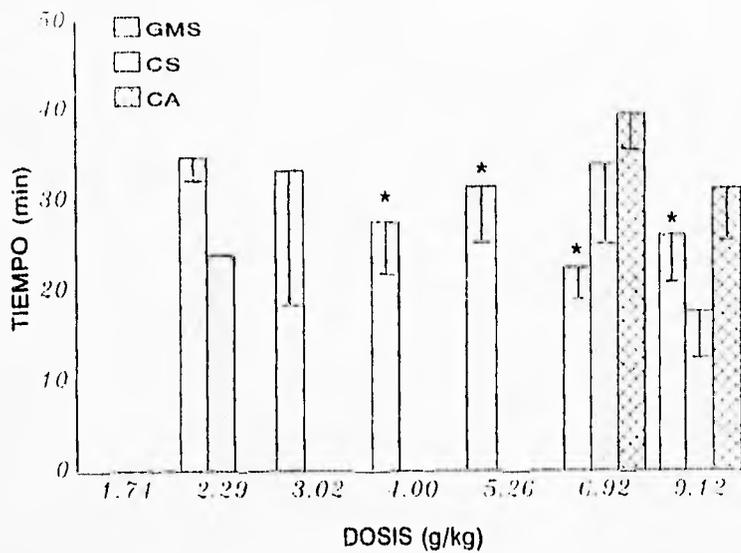


Fig 6. Tiempo de latencia al efecto letal del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 10 a 12); \*P $\leq$  0.05.

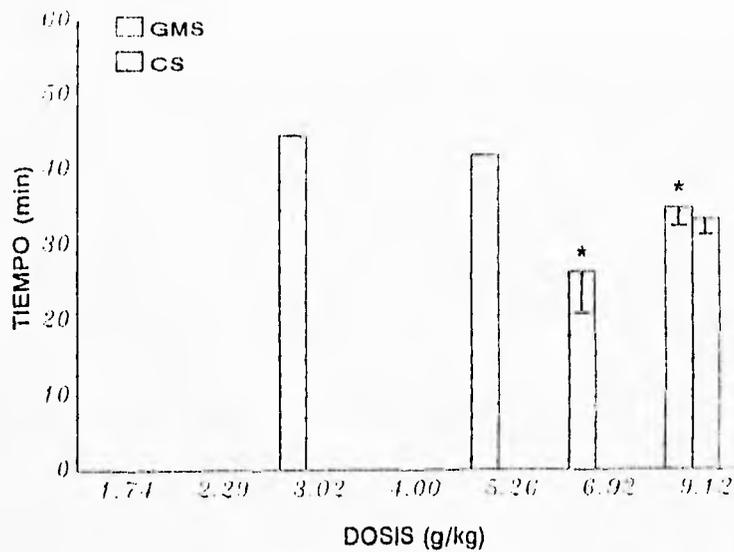


Fig 7. Tiempo de latencia al efecto letal del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS) y control salino (CS). La solución de GMS se administró vía ip y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 10 a 20); \*P $\leq$  0.05.

desplazamiento hacia la izquierda de la CDR, tanto en hembras como en machos (Fig 8 y 9, respectivamente), ya que en las hembras del grupo control el 100 % de letalidad se alcanzó con 9,12 g/kg, mientras que en el grupo GMS se alcanzó este valor con apenas 4.00 g/kg; y un comportamiento similar se observó en los animales machos tratados neonatalmente con la neurotoxina.

Al aplicar el GMS por vía ic, nuevamente la latencia a la convulsión, en términos generales, fue menor en los ratones neurointoxicados neonatalmente (Tabla 3), comparada con el promedio de latencia del grupo control; sin embargo en el caso de las hembras de los grupos control (Tabla 3; Fig 10) que recibieron 500  $\mu$ g del GMS, el promedio de latencia fue discretamente menor que en el grupo neurointoxicado (Tabla 3; Fig 11); en los ratones macho con 500 y 724  $\mu$ g, el valor menor lo presentó el grupo CS y el grupo CA respectivamente, y con 600  $\mu$ g la latencia en los animales GMS fue igual al valor obtenido en el grupo CS. El porcentaje de animales que convulsionaron fue mayor en los grupos GMS (tabla 3), aunque en las hembras con 500  $\mu$ g, y en los machos con 250 y 724  $\mu$ g, el valor mayor se presentó en el grupo CA; sin embargo, se nota un desplazamiento hacia la izquierda de la CDR en los ratones, hembras y machos, que fueron neurointoxicados en la etapa neonatal con el GMS (Fig 12 y 13, respectivamente).

La latencia a la muerte, también por administración ic del GMS, fue menor (Tabla 4) en los animales que recibieron el tratamiento neonatal con GMS; aunque en las hembras (Tabla 4; Fig 14), con 500 y 724  $\mu$ g, el valor menor de latencia lo presentaron los grupos CS, y el grupo CA en los machos (Tabla 4; Fig 15) con esta última dosis. El porcentaje de muerte (Tabla 4) fue mayor

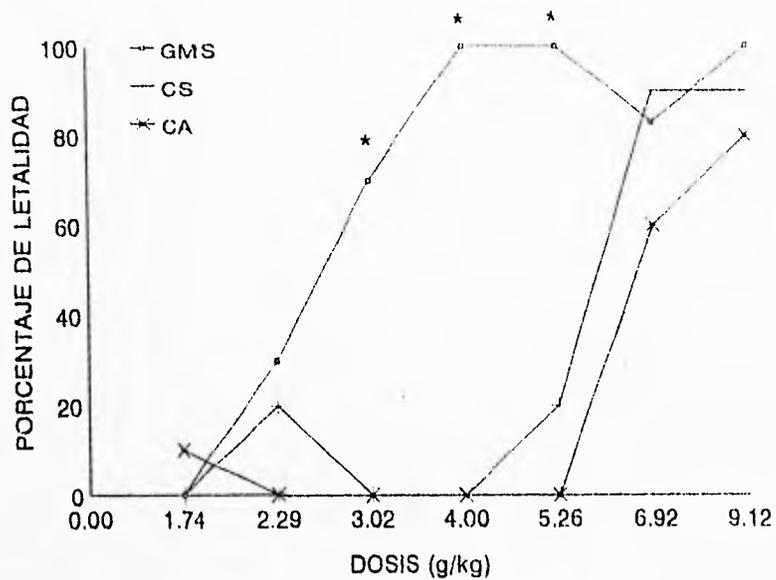


Fig 8. Curva dosis-respuesta al efecto letal del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la ocurrencia de muerte se registró durante los 8 días siguientes. n= 10 a 12; \*P< 0.05.

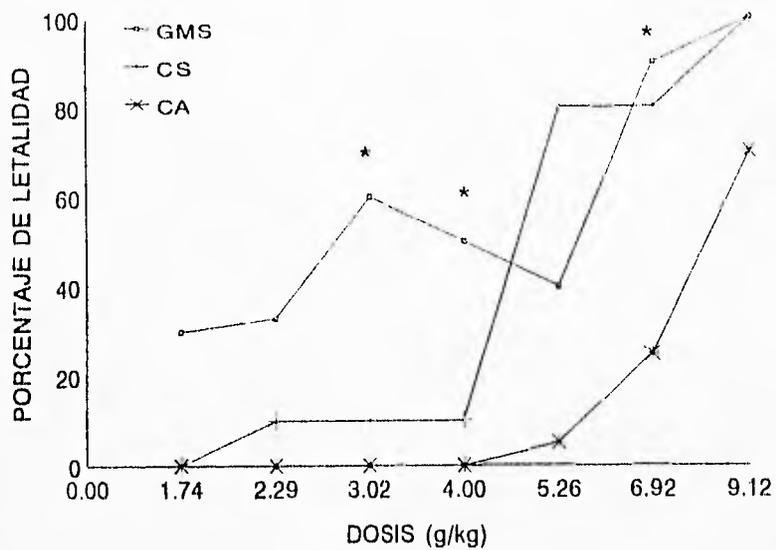


Fig 9. Curva dosis-respuesta al efecto letal del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ip y la ocurrencia de muerte se registró durante los 8 días siguientes. n= 10 a 20; \*P< 0.05.

Tabla 3. Tiempo de latencia y porcentaje de respuesta al efecto convulsivo del GMS.

Dosis ( $\mu\text{g}$ )		Latencia (s)			%		
		GMS	CS	CA	GMS	CS	CA
250	♀	8.67 $\pm$ 4.7	-	-	38	0	0
	♂	1.50 $\pm$ 0.4	5.00 $\pm$ 4	2.00 $\pm$ 0.8	40	13	50
500	♀	8.00 $\pm$ 2.8	5.92 $\pm$ 2	4.93 $\pm$ 1.3	73	67	93
	♂	762.00 $\pm$ 294	1.00 $\pm$ 0.5	40.67 $\pm$ 39.7	80	50	30
600	♀	3.39 $\pm$ 0.8*	3.50 $\pm$ 0.6	7.63 $\pm$ 2.3	93	80	76
	♂	1.00 $\pm$ 0	1.00 $\pm$ 0	1.30 $\pm$ 0.3	100	90	80
724	♀	3.80 $\pm$ 1.3*	3.83 $\pm$ 1.1	4.57 $\pm$ 0.6	100	60	70
	♂	11.33 $\pm$ 4.6	3.22 $\pm$ 0.5	3.00 $\pm$ 0.3	86	90	100

La solución de GMS se administró por vía ic a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). Se registró la latencia y el porcentaje de respuesta durante la primera hora postinyección. Los resultados de latencia se expresan como el promedio  $\pm$  es (n= 8 a 25 y 10 a 15, para hembras y machos respectivamente). - indica que no se presentó convulsión. \*P $\leq$ 0.05 en comparación con los grupos control.

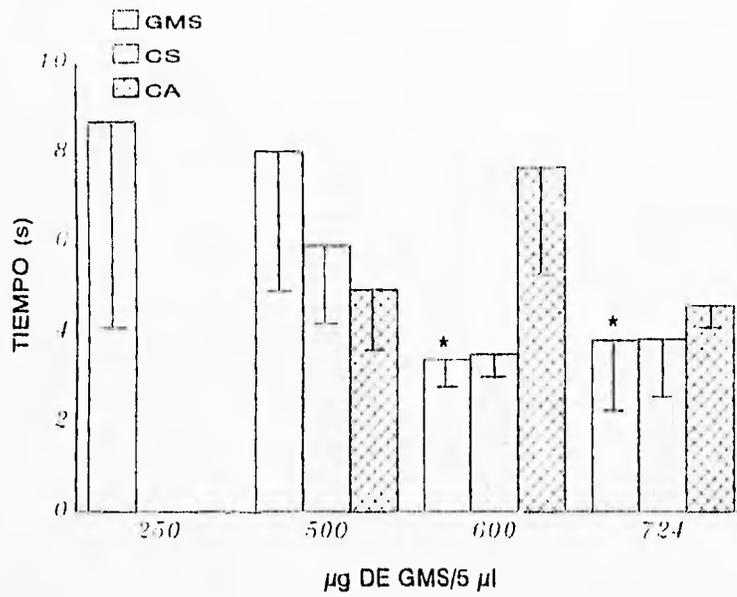


Fig 10. Tiempo de latencia al efecto convulsivo del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 8 a 25); \*P $\leq$  0.05.

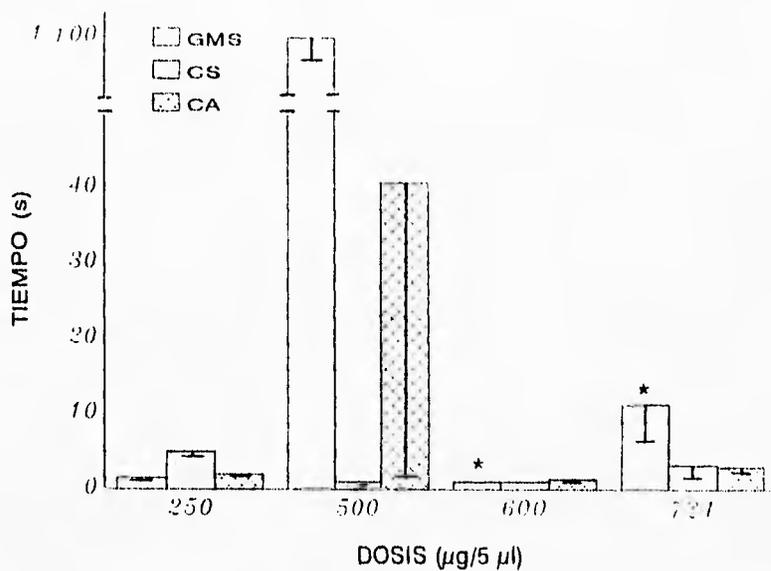


Fig 11. Tiempo de latencia al efecto convulsivo del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 10 a 15); \*P= 0.05.

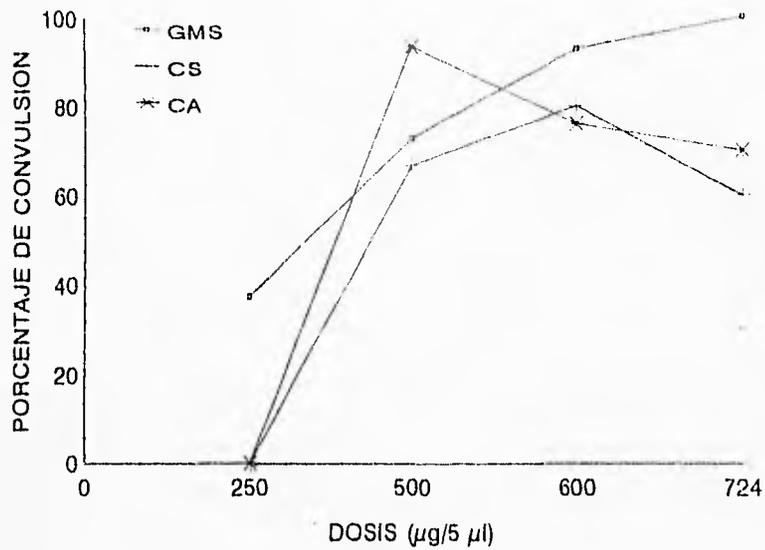


Fig 12. Curva dosis-respuesta al efecto convulsivo del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la ocurrencia de convulsiones se registró durante la primera hora postinyección. n= 8 a 25.

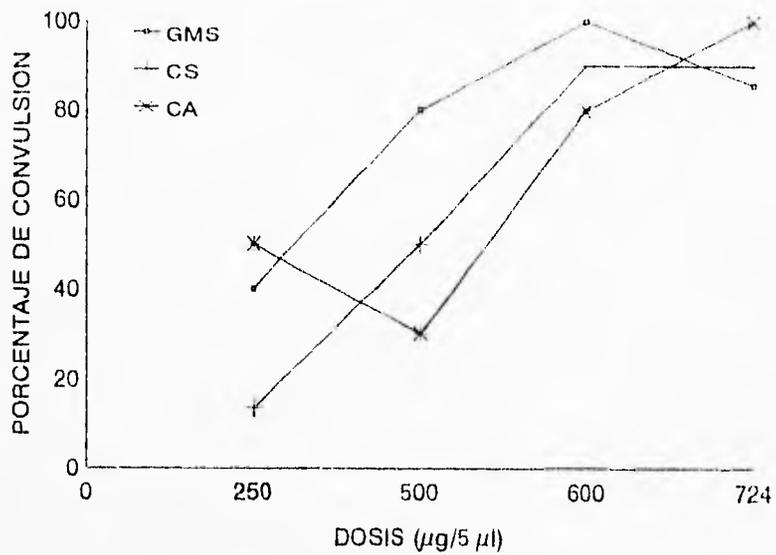


Fig 13. Curva dosis-respuesta al efecto convulsivo del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la ocurrencia de convulsiones se registró durante la primera hora postinyección. n= 10 a 15.

Tabla 4. Tiempo de latencia y porcentaje de respuesta al efecto letal del GMS.

Dosis ( $\mu\text{g}$ )		Latencia (s)			%		
		GMS	CS	CA	GMS	CS	CA
250	♀	8 $\pm$ 3.45*	-	-	50	0	39
	♂	-	-	153 $\pm$ 117.50	0	27	20
500	♀	361 $\pm$ 197.37	132 $\pm$ 69.55	359 $\pm$ 216.37	48	56	53
	♂	561 $\pm$ 353.86*	374 $\pm$ 373.00	90	60	30	10
600	♀	56 $\pm$ 28.52*	358 $\pm$ 174.30	98 $\pm$ 28.21	71	33	68
	♂	14 $\pm$ 2.14*	153 $\pm$ 94.38	239 $\pm$ 207.25	100	70	80
724	♀	141 $\pm$ 79.30	126 $\pm$ 93.83	131 $\pm$ 82.50	90	60	70
	♂	117 $\pm$ 89.49	63 $\pm$ 32.97	24 $\pm$ 2.24	67	90	80

La solución de GMS se administró por vía ic a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). Se registró la latencia al efecto y el porcentaje de respuesta al efecto letal durante la primera hora postinyección, así como la ocurrencia de muerte durante los 8 días siguiente, cada 24 horas. Los resultados de latencia se expresan como el promedio  $\pm$  es (n= 8 a 25 y 10 a 15, para hembras y machos respectivamente). - indica que no se presentó muerte. \*P $\leq$ 0.05 en comparación con los grupos control.

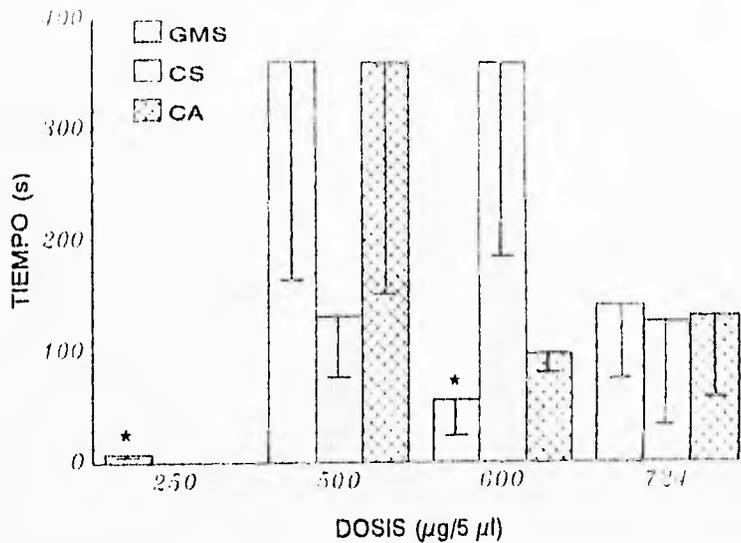


Fig 14. Tiempo de latencia al efecto letal del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 8 a 25); \*P $\leq$  0.05.

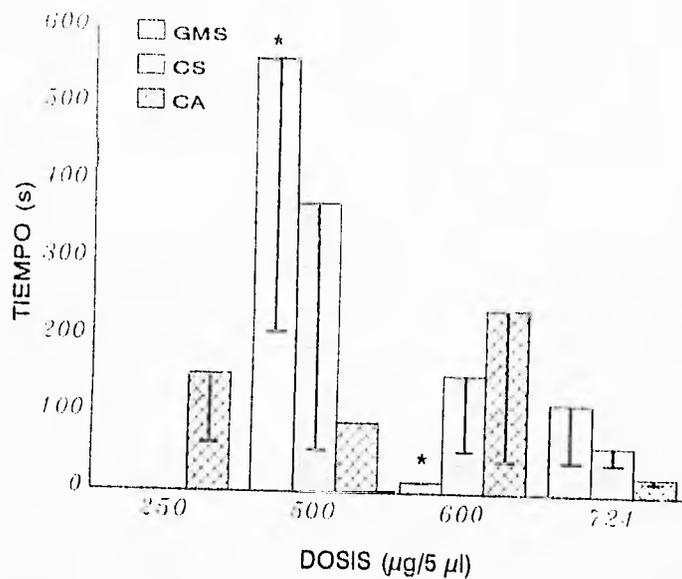


Fig 15. Tiempo de latencia al efecto letal del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la latencia se registró durante la primera hora postinyección. Los datos representan el promedio  $\pm$  es (n= 8 a 25); \* $p \leq 0.05$ .

en los ratones GMS, aunque en los machos, con 250 y 724  $\mu\text{g}$ , este porcentaje fue mayor en los grupos CS. Esto se muestra como un desplazamiento hacia la izquierda de la CDR, al efecto letal, en los animales GMS tanto hembras (Fig 16) como machos (Fig 17), aunque en el caso de las hembras este desplazamiento fue discreto con respecto al grupo CA.

Finalmente, los valores de  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$ , cuando el GMS se administró por las dos vías y en ambos sexos, fueron menores en los animales experimentales respecto a sus controles. Cuando la solución se administró vía ip, tanto el valor de  $DE_{50}$  como de  $DL_{50}$  fueron aproximadamente 1 a 3 veces menor en el caso de los animales GMS (Tabla 5), y cuando la administración se hizo por vía ic, estos valores fueron aproximadamente de 1 a 2 veces menores respecto a los animales control (Tabla 6); e incluso no se pudo calcular la  $DE_{50}$  del grupo CA de ratones macho, cuando se hizo la administración ip, debido a la ausencia de convulsiones durante la primer hora postinyección.

Cabe señalar que, salvo cuando el GMS se administró por vía ic en los ratones macho GMS, CS y CA, el valor de la  $DL_{50}$  fue menor que el de la  $DE_{50}$ .

Por otra parte, es importante mencionar que la administración del GMS, por ambas vías, produjo en los animales experimentales, en una mayor proporción y con una mayor intensidad, otros efectos conductuales como hiperactividad, saltos, acicalamiento, rascado de cabeza y costados del cuerpo, movimientos circulares estereotipados e hiperexcitabilidad a la estimulación manual.

También se observó que cuando el GMS se administró por vía ip, en términos generales, hubo una sensibilidad diferencial,

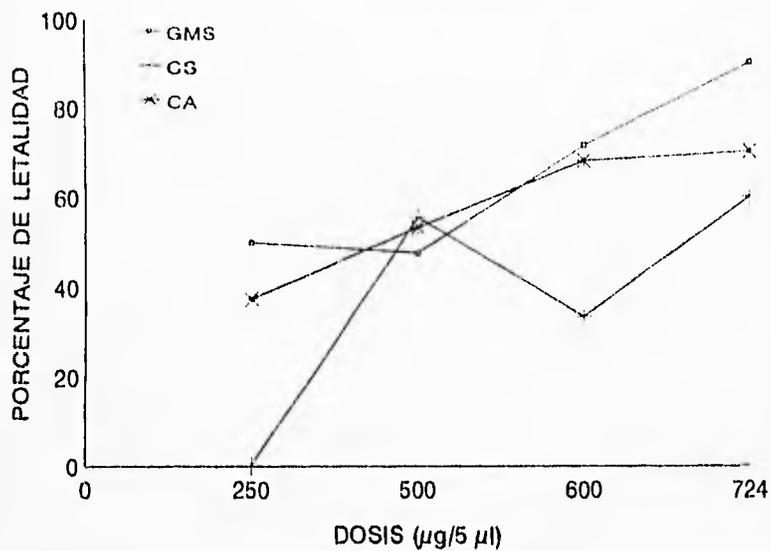


Fig 16. Curva dosis-respuesta al efecto letal del GMS en ratones hembra neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la ocurrencia de muerte se registró durante los 8 días siguientes. n= 8 a 25.

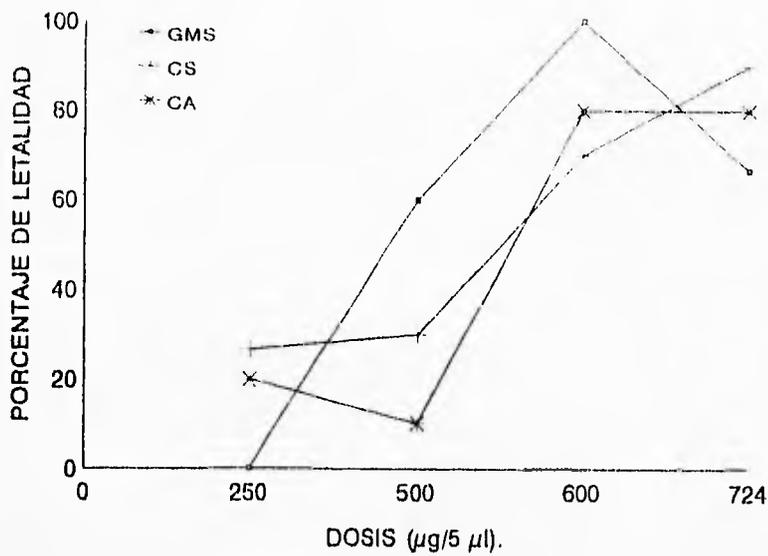


Fig 17. Curva dosis-respuesta al efecto letal del GMS en ratones macho neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA). La solución de GMS se administró vía ic y la ocurrencia de muerte se registró durante los 8 días siguientes. n= 10 a 15.

Tabla 5. Dosis efectiva cincuenta al efecto convulsivo (DE<sub>50</sub>) y letal (DL<sub>50</sub>) del GMS.

	GMS	CS	CA
DE <sub>50</sub> ♀	3.9 (3.1-4.9)	>12.00	7.6 (6.1-9.6)
♂	5.8 (4.6-7.38)	11.2 (8.8-14.3)	>12.00
DL <sub>50</sub> ♀	2.8 (2.1-3.7)	5.3 (2.9-9.6)	5.1 (3.6-7.4)
♂	3.2 (2.3-4.4)	4.7 (3.7-5.9)	8.4 (7.1-9.8)

La solución de GMS se administró vía ip a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA), a varios niveles de dosis. Se realizaron curvas dosis-respuesta al efecto convulsivo y letal del GMS, y con los resultados obtenidos se calculó la DE<sub>50</sub> y DL<sub>50</sub> por el método de Litchfield y Wilcoxon (83), con los límites de confianza al 95 %. Los valores están expresados en g/kg.

Tabla 6. Dosis efectiva cincuenta al efecto convulsivo ( $DE_{50}$ ) y letal ( $DL_{50}$ ) del GMS.

	GMS	CS	CA
$DE_{50}$ ♀	309.5 (244.5-391.7)	955.0 (657.2-1387.0)	842.6 (708.4-1002.3)
♂	282.3 (186.9-427.0)	414.0 (286.0-600.0)	331.1 (41.3-2655.4)
$DL_{50}$ ♀	307.3 (470.9-2006.0)	619.3 (435.7-880.2)	382.8 (244.7-598.7)
♂	430.8 (308.1-602.9)	435.1 (323.8-584.6)	517.2 (124.7-2144.4)

La solución de GMS se administró vía ic a los ratones neurointoxicados neonatalmente (GMS), control salino (CS) y control absoluto (CA), a varios niveles de dosis. Se realizaron Curvas dosis-respuesta al efecto convulsivo y letal del GMS, y con los resultados obtenidos se calculó la  $DE_{50}$  y  $DL_{50}$  por el método de Litchfield y Wilcoxon (83), con los límites de confianza al 95 %. Los valores están expresados en  $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ .

entre sexos, tanto para el efecto convulsivo como para el efecto letal de este fármaco, pues las hembras fueron más sensibles que su respectivo grupo de machos, como lo muestran los valores de  $DE_{50}$  y  $DI_{50}$  (Tabla 5 y 6). Sin embargo este fenómeno no se observó de igual manera cuando se hizo la administración ic.

## 7.0 DISCUSION

Los resultados obtenidos señalan que el tratamiento neonatal con GMS en el ratón, tanto en las hembras como en los machos, produce un incremento en la sensibilidad a la administración del propio aminoácido excitatorio en la edad adulta de los animales. Estos resultados son acordes con los reportados en otros estudios (15,16,17,50,143) acerca de que el tratamiento neonatal con GMS, en esta especie, modifica la sensibilidad a la estimulación eléctrica y química en la edad adulta de los animales. Esta afirmación está sustentada en la latencia menor y porcentaje mayor de ambos indicadores: convulsión y muerte; si bien son una excepción los grupos de hembras cuando el GMS se administró vía ic, donde los animales CA murieron en tiempos más cortos que los ratones GMS. Esta discordancia la atribuimos a la influencia que puede ejercer el factor hormonal particularmente notable en hembras.

Hasta ahora se desconoce el mecanismo que participa en el incremento observado en la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal inducidos por el GMS, pero la observación de que la denervación quirúrgica, así como la destrucción neuroquímica y el desuso neuronal, inducen cambios fisiológicos mediados por fenómenos de plasticidad neuronal, en las células que presentan en su membrana receptores para las moléculas producidas por las células nerviosas afectadas (174), y la destrucción de neuronas provocada por la administración neonatal de GMS, permiten pensar que esta neurotoxina podría destruir células nerviosas glutamatérgicas, y que la disminución en la cantidad de estas

terminales traería como consecuencia un descenso en la cantidad de GLU capturado y liberado. Debido a fenómenos de plasticidad del SNC en la etapa juvenil, las neuronas que poseen receptores para el neurotransmisor podrían sintetizar receptores nuevos, así como formar un número mayor de contactos sinápticos, lo que aumentaría la cantidad de ambos como una forma de compensar las cantidades bajas del GLU (Fig 18). Tal incremento daría como resultado una mayor excitabilidad neuronal en la etapa adulta de los organismos, al permitir que un número mayor de moléculas de GLU interaccionen con estos receptores y provoquen un incremento en la entrada de  $Ca^{2+}$  que da como resultado una hiperexcitación, la cual se expresa como convulsiones e incluso muerte a niveles de dosis claramente menores que las administradas a los animales no neurointoxicados neonatalmente. Esta hipótesis es factible si consideramos la capacidad del GLU para actuar como un factor de crecimiento neuronal e influenciar la diferenciación neuronal (3,129), así e inducir cambios plásticos en las células nerviosas (99), lo que sugiere que la exposición neonatal al GLU, a la vez que destruye neuronas puede, de forma secundaria, promover el desarrollo de sinapsis en otras, y se ha propuesto que de esta forma las neuronas no dañadas por el GMS pueden ser estimuladas inapropiadamente para iniciar su desarrollo (30), y que esta propiedad del GLU podría resultar en una conectividad anormal de los circuitos neuronales que participan en procesos tales como el control de la liberación tónica de hormonas u otras funciones hipotalámicas integrativas (30). Además existen evidencias de que se puede estimular esta plasticidad con respecto

MODELO DE REGULACION POSITIVA INDUCIDA  
POR LA EXCITOTOXICIDAD DEL GLUTAMATO

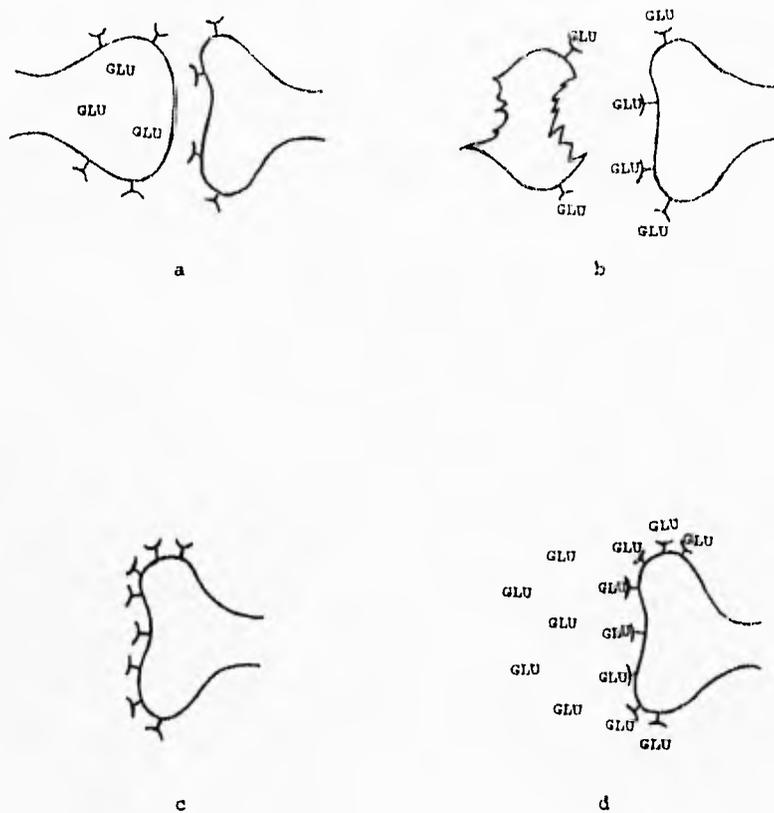


Fig 18. Representación del modelo de regulación positiva inducida por la excitotoxicidad del glutamato (GLU) y mediada por fenómenos de plasticidad neuronal: a) Sinapsis glutamatérgica, b) Lisis neuronal (excitotoxicidad), c) Incremento en la expresión de receptores mediado por la plasticidad neuronal y d) Unión de un número mayor de moléculas de GLU.

a los receptores relacionados con el GLU. En este sentido, Hikiiji y col (57) reportaron datos que indican que el "Kindling" amigdalino en ratas produce un incremento en la síntesis de receptores a kainato en la región CA3 del hipocampo, y se ha mostrado que el "kindling" químico con pentilentetrazol, en esta misma especie, produce un aumento en la unión de GLU a la membrana celular en hipocampo y varias estructuras neocorticales, aparentemente por un incremento en la densidad de receptores (152). De igual manera, los datos neurofisiológicos y de unión claramente han mostrado que en el incremento de la unión del GLU, observado en ratas sometidas al "kindling" eléctrico, participan los receptores de tipo NMDA (14,185).

Ahora bien, debemos considerar que el aumento en la sensibilidad al GMS, en los animales neurointoxicados previamente, también podría radicar en una supresión del sistema GABAérgico, pues hay evidencias de que la activación de los receptores metabotrópicos a GLU induce una depresión de la actividad de este sistema (84), así como que la activación de los receptores NMDA en las neuronas de la región CA1 induce una reducción de la neurotransmisión GABAérgica (163), lo que resulta en una mayor excitabilidad sináptica; además de que el ácido kaínico inhibe la expresión de la subunidad  $\alpha$  del receptor a GABA (45), y ésto puede dar como consecuencia una alteración de la inhibición GABAérgica. Existen además evidencias de la influencia que pueden ejercer las hormonas sexuales, y sus metabolitos activos, sobre la sensibilidad de los receptores a neurotransmisores convencionales, pues se ha reportado que los receptores a quisqualato y NMDA son afectados, en su función, por

los esteroides (159). En este sentido, el efecto mejor estudiado es la potenciación de las funciones inhibitorias GABAérgicas por la progesterona y la desoxicorticosterona, además de los metabolitos activos de éstas, tales como la 3- $\alpha$ -hidroxidihidroprogesterona, 5- $\alpha$ -pregnanolona, 5- $\beta$ -pregnanolona y 5- $\alpha$ -pregnandiolona (78,87,95,159); y se ha mostrado que la progesterona suprime la respuesta excitatoria de las células de Purkinje al GLU, mientras que el estradiol tiene el efecto opuesto (159). Este hecho permite suponer que el desarrollo gonadal deficiente, provocado por el tratamiento neonatal con GMS, da como resultado niveles anormalmente bajos de hormonas sexuales que coadyuven a la acción inhibitoria del GABA, y ésto da lugar a una excitación exacerbada producida por el GLU. Además existe una estrecha relación entre la biosíntesis de GABA y GLU (56) pues, en este sentido, se ha observado que las ratas fetales son más sensibles al GLU que las adultas (173), y se piensa que esta vulnerabilidad mayor de las neuronas embrionarias puede ser explicada parcialmente por los niveles bajos de GAD presente en el cerebro fetal (154), enzima que a partir del GLU como substrato sintetiza GABA; y ya otros autores (155) han considerado la posibilidad de que en la modulación de la toxicidad del GLU, bajo condiciones patológicas, participen algunas anormalidades en el proceso mismo de biosíntesis del GABA (155). Lo anterior sugiere que el aumento en la sensibilidad al GMS puede ser consecuencia de una disminución, o posiblemente inhibición, de la enzima GAD, debido a la exposición neonatal a la neurotoxina, lo que da como resultado un exceso de GLU, al administrarlo en la edad adulta, y niveles de GABA insuficientes

para contrarrestar la neuroexcitación por este aminoácido excitatorio.

Por otra parte, desconocemos la causa, o causas, de la diferencia intersexual en la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal del GLU administrado en la etapa adulta de los animales, aunque este hallazgo es acorde con otras observaciones acerca de un dimorfismo sexual en la respuesta a diversos fármacos que actúan en el SNC, y a fármacos que afectan la transmisión GABAérgica (131), incluido el GLU y algunos agonistas y antagonistas de los receptores a este neurotransmisor. Este fenómeno también es acorde con las evidencias de que existen diferencias sexuales en las respuestas mediadas por el receptor NMDA en ratas, ya que se ha observado que las hembras de esta especie son mucho más sensibles que los machos a los efectos conductuales del MK-801, un antagonista del receptor NMDA (62). Además existen otras diferencias, entre sexos, en las modificaciones fisiológicas resultantes del daño con GMS, tal es el caso de la diferencia en el efecto del GMS sobre la secreción de hormona del crecimiento provocada por el factor liberador de ésta (176).

Por una parte se sabe que las ratas hembra eliminan varios fármacos más lentamente que las ratas macho (62), lo que permite sugerir una diferencia intersexual en la compartimentalización del aminoácido, en los ratones, y con ésto se permitiría que la neurotoxina ejerza su acción de manera más intensa y prolongada en las hembras, diferencia que se muestra como una intensidad mayor en sus efectos sobre los ratones de este sexo. En tal caso la diferencia observada podría ser consecuencia únicamente de una

diferencia de tipo farmacocinético.

Las hormonas sexuales también podrían considerarse entre las causas posibles de la diferencia observada entre sexos, pues se sabe que las diferencias intersexo que afectan las funciones del cerebro resultan de los niveles distintos de estas hormonas, así como de diferencias de desarrollo u organización entre los sexos (67), y que a su vez estas diferencias estructurales intersexo en el SNC pueden ser inducidas por los esteroides gonadales (54), los cuales pueden afectar los cambios inducidos por fármacos a nivel de receptores en el cerebro (73) e influir en el metabolismo de monoaminas en el SNC (171). De esta forma, es posible que la diferencia observada, en la sensibilidad al GMS, sea consecuencia de una diferencia de tipo funcional a nivel del SNC y de la diferencia intrínseca en los niveles de hormonas sexuales, en particular de algunas hormonas que depriman la transmisión glutamatérgica y que potencien la inhibición GABAérgica en los machos, o bien que tenga un efecto opuesto en las hembras, lo que da como resultado una sensibilidad mayor al GLU en los animales de este último sexo. Así, al retomar la idea de una disminución en los niveles de hormonas sexuales por desarrollo gonadal deficiente, podría explicarse que aún en los animales neurointoxicados neonatalmente pueda apreciarse esta diferencia, y esta idea apoya la posibilidad de que los niveles bajos de hormonas sexuales son responsables de la respuesta excitatoria exacerbada en la etapa adulta de los ratones. Por otra parte, existen evidencias de que las hormonas gonadales pueden afectar la concentración y síntesis del GABA (38,186), pues se ha observado que en el ratón la orquidectomía incrementa

la concentración de GABA en varias regiones cerebrales (54), mientras que el decremento en la concentración y síntesis de este neurotransmisor, obtenido en varias regiones cerebrales, después de la castración en ratas, ha podido revertirse por la administración de testosterona (38); además de que Manev y Pericic (89) mostraron que en ratones y ratas macho, la sensibilidad a las convulsiones, relacionadas con el bloqueo de la neurotransmisión mediada por GABA, dependen de la presencia de las hormonas gonadales masculinas.

Por lo anterior podemos pensar que el desarrollo testicular deficiente que resulta del tratamiento neonatal con GMS, en los animales macho, contribuye a la disminución de la sensibilidad a los efectos convulsivo y letal del GLU al permitir el aumento de los niveles de GABA, y este neurotransmisor podría inhibir el efecto neuroexcitador del GLU, que se mostraría como una disminución en la sensibilidad a sus efectos cuando éste se administra en la edad adulta de los animales; mientras que el desarrollo deficiente de los ovarios podría no alterar la respuesta a los efectos del GLU. Este hallazgo es acorde con observaciones preliminares de que la extirpación de las gónadas, en ratas adultas, interfiere con las convulsiones inducidas por picrotoxina en los machos pero no en las hembras (89), lo que da como consecuencia una mayor respuesta en las hembras en comparación con los machos. Esto permite pensar que además de la disminución en la actividad de la GAD, por efecto del GLU, la ausencia o disminución de las hormonas gonadales, producida por el efecto neurotóxico del neurotransmisor, también podrían estar influyendo en la respuesta al GMS.

Por otra parte, el hecho de que esta diferencia se haya observado de manera menos clara, cuando el GMS se administró por vía ic, puede ser consecuencia de la dificultad para registrar las convulsiones en este caso, pues debido a que el fármaco penetra de manera directa y rápida al SNC el efecto excitatorio es exacerbado y en muchos casos los animales mueren sin que se haya presentado convulsión de manera clara.

Debemos señalar también que hubo animales que murieron sin que se presentaran, de manera clara, convulsiones durante la primera hora postinyección, lo cual podría explicar que los valores de la  $DL_{50}$  sean menores que aquellos para la  $DE_{50}$ .

## 8.0 CONCLUSIONES

A) El tratamiento neonatal con GMS en el ratón, tanto en hembras como en machos, produce un incremento en la sensibilidad a los efectos del propio GMS por la administración de este, tanto por vía ip como por vía ic, en la edad adulta de los animales.

B) Las hembras muestran una mayor sensibilidad que los machos a la administración del GMS en la etapa adulta.

Estos hallazgos podrían estar mediados por fenómenos de plasticidad neuronal y por un desequilibrio, entre los sistemas de neurotransmisión excitatoria glutamatérgica e inhibitoria GABAérgica, que a su vez pueden estar influenciados por las hormonas gonadales; sin embargo, se requieren estudios que analicen el efecto del tratamiento neonatal con GMS sobre la síntesis y liberación del GABA así como la actividad de la GAD, y que traten de establecer la manera en que influyen las hormonas sexuales sobre los efectos de este neurotransmisor excitatorio.

#### 9.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Abe M., Saito M. y Shimazu T. Neuropeptide Y in the specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate. *Brain Res. Bull.* 24: 289-291 (1990).
- 2) Abraham R., Dougherty W., Goldberg L. y Coulston F. The response of the hypothalamus to high doses of monosodium glutamate in mice and monkeys. *Cytochemistry: an ultra-structural study of lysosomal changes. Exp. Mol. Pathol.* 15: 43-60 (1971).
- 3) Aruffo C., Ferszt R., Hildebrandt A. G. y Cervos-Navarro J. Low doses of L-monosodium glutamate promote neuronal growth and differentiation *in vitro*. *Dev. Neurosci.* 9: 228-239 (1987).
- 4) Auer R.N., Kalimo H., Olsson Y. y Wieloch T. The dentate gyrus in hypoglycemia. Pathology implicating excitotoxin-mediated neuronal necrosis. *Acta Neuropathol.* 67: 279-288 (1985).
- 5) Auer R.N. y Siesjo B.K. Biological differences between ischemia, hypoglycemia and epilepsy. *Ann. Neurol.* 54: 699-707 (1988).
- 6) Bakke J.L., Lawrence N., Bennet J., Robinson S. y Bowers C.Y. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. *Neuroendocrinology* 26: 220-228 (1978).
- 7) Beal M.F., Kowall N.W., Ellison D.W., Mazurek M.F., Swartz K.J. y Martin J.B. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid. *Nature* 321: 168-171 (1986).
- 8) Bennett-Clarke C.A., Romagnano M.A., Joseph S.A. y Pilcher W.H. Immunocytochemical analysis of changes in hypothalamic LHRH distribution following neonatal administration of monosodium glutamate. *Neurosci. Abstr.* 6: 757 (1980).
- 9) Benveniste H., Drejer J., Schousboe A. y Diemer N.M. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J. Neurochem.* 43: 1369-1374 (1984).
- 10) Bloch B., Brazeau P., Ling N., Böhlen P., Esch F., Wehrenberg W.B., Benoit R., Bloom F. y Guillemin R. Immunohistochemical detection of growth hormone-releasing factor in brain. *Nature* 301: 607-608 (1983).
- 11) Budavari S., O'Neil M.J., Smith A. y Heckelman P.E. **The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals.** Merck and Co. Inc., Rahway N.J., 1989. pp. 984.
- 12) Buendía R.L., Barrón T.M.T., Martínez E.M.E. y Campos S.A.E. Disminución de la sensibilidad a la ketamina en el útero aislado de la rata glutamatizada en el periodo neonatal. XVIII Congreso

Nacional de Farmacología. San Luis Potosí, S.L.P. 1995, p. 66.

13) Burde R.M., Schainker B. y Kayes J. Acute effect of oral and subcutaneous administration of monosodium glutamate on the arcuate nucleus of the hypothalamus in mice and rats. *Nature* 233: 58-60 (1971).

14) Cain D.P., Desborough K.A. y McKritick D.J. Retardation of amygdala kindling by antagonism of NMDA-aspartate and muscarinic cholinergic receptors: evidence for the summation of excitatory mechanisms in kindling. *Exp. Neurol.* 100: 179-187 (1988).

15) Campos-Sepúlveda A.E., Gómez A.C., Sanvicente-Sánchez L., Castellanos-Pérez C., Aguilar M.H., Servin-Hernández D. y Luján-Estrada M. Susceptibilidad a las convulsiones inducidas eléctricamente en el ratón tratado neonatalmente con glutamato monosódico. *XXXIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*. Colima, Col., México. 1991. C26.

16) Campos S.A.E., Gómez A.C., Vargas-González A., Alonso O.F., Reyes A.A., Sanvicente S.L., Castellanos P.C.A., Garduño L.J., Gutiérrez L.S. y Luján E.M. Sensibilidad al efecto depresor del etanol en ratones tratados neonatalmente con glutamato monosódico. *XV Congreso Nacional de Farmacología*. San Miguel de Allende, Gto., México. 1992. p. 39.

17) Campos-Sepúlveda A.E., Roldán R.G., Galindo M.J.A., Vargas-González A., Gómez A.C., Luján M. y Castellanos P.C. Los ratones tratados con glutamato monosódico en la etapa neonatal son más sensibles al "kindling" inducido por pentilentetrazol. *XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*. Mérida, Yuc., México. 1994. O193.

18) Carlsson M. y Carlsson A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 272-276 (1990).

19) Choi D.W. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1: 623-634 (1988).

20) Choi D.W., Koh J.Y. y Peters S. Pharmacology of glutamate neurotoxicity in cortical cell culture: attenuation by NMDA antagonists. *J. Neurosci.* 8: 185-196 (1988).

21) Choi D.W., Maulucci-Gedde M.A. y Kriegstein A.R. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J. Neurosci.* 7: 357-368 (1987).

22) Chronwall B.M. Anatomy and physiology of the neuroendocrine accurate nucleus. *Peptides* 6(Suppl. 2): 1-11 (1985).

23) Collingridge G.L. y Lester R.A.J. Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system. *Pharmacol. Rev.* 40: 143-208 (1989).

- 24) Conte-Devolx B., Giraud P., Castanas E., Boudouresque F., Orlando M., Gillioz P. y Oliver C. Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate on the secretion of  $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -endorphin and ACTH in the rat. *Neuroendocrinology* 33: 207-211 (1981).
- 25) Cowburn R., Hardy J., Roberts P. y Briggs R. Presynaptic and postsynaptic glutamatergic function in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 86: 109-113 (1988).
- 26) Coyle J.T., McGeer E.F., McGeer P.L. y Schwarcz R. Neostriatal injections: a model for Huntington's chorea. En: **Kainic Acid as a Tool in Neurobiology**, (eds: McGeer E., Olney J.W. y McGeer P.). Raven, New York, 1978. pp. 139-159.
- 27) Coyle J.T., Price D.L. y De Long M.A. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219: 1189-1190 (1983).
- 28) Croucher M.J., Collins J.F. y Meldrum B.S. Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists. *Science* 216: 899-901 (1982).
- 29) Curtis D.R. y Johnston G.A.R. Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergebn. Physiol.* 69: 97-188 (1974).
- 30) Dawson R.Jr., Simpkins J.W. y Wallace D.R. Age- and dose-dependent effects of neonatal monosodium glutamate (MSG) administration to female rats. *Neurotoxicol. Teratol.* 11: 331-337 (1989).
- 31) Dawson V.L., Dawson T.M., London E.D., Brecht D.S. y Snyder S.H. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 6368-6371 (1991).
- 32) DeBoni U. y McLachlan D.R.C. Controlled induction of paired helical filaments of the Alzheimer type in cultured human neurons by glutamate and aspartate. *J. Neurol. Sci.* 68: 105-118 (1985).
- 33) Desai M.A. y Conn P.J. Selective activation of phosphoinositide hydrolysis by a rigid analogue of glutamate. *Neurosci. Lett.* 109: 157-162 (1990).
- 34) Di Chara, G.D. Glutamate as a neurotransmitter. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 27: 1-445 (1981).
- 35) Di Giorgio R.M., De Luca G.C., Garofalo M.P., Conti C. e Ientile R. GABA-ergic system in brain regions of glutamate-lesioned rats. *Ital. J. Biochem.* 34: 19-28 (1985).
- 36) Ding J.M., Chen D., Weber E.T., Faiman L.E., Rea M.A. y Guillelte M.V. Resetting the biological clock: mediation of nocturnal circadian shifts by glutamate and NO. *Science* 266: 1713-1717 (1994).

- 37) Dingledine R., Boland L. y Verdoorn T. Amino acid receptors and uptake systems in the mammalian central nervous system. *CRC Crit. Rev. Neurobiol.* 4: 1 (1988).
- 38) Early C.J. y Leonard B.E. GABA and gonadal hormones. *Brain Res.* 155: 27-34 (1978).
- 39) Eskay R.L., Brownstein M.J. y Long R.T.  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone: reduction in adult rat brain after monosodium glutamate treatment of neonates. *Science* 205: 827-829 (1979).
- 40) Faden A.I., Demediuk P., Panter S.S. y Vink R. The role of excitatory amino acids on NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science* 244: 798-800 (1989).
- 41) Fagg G.E. y Foster A.C. Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system. *Neuroscience* 9: 701-719 (1983).
- 42) Favaron M., Manev H., Siman R., Bertulino M., Szekely A.M., DeErasquin G., Guidotti A. y Costa E. Down-regulation of protein kinase C protects cerebellar granule neurons in primary culture from glutamate-induced neuronal death. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 1983-1987 (1990).
- 43) Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J. Neurochem.* 42: 1-11 (1984).
- 44) Frieder B. y Grimm V.E. Prenatal monosodium glutamate causes long-lasting cholinergic and adrenergic changes in various brain regions. *J. Neurochem.* 48: 1359-1365 (1987).
- 45) Friedman L.K., Pellegrini-Giampietro, D.E., Sperber E.F., Bennett M.V., Moshe S.L. y Zukin R.S. Kainate-induced status epilepticus alters glutamate GABA<sub>A</sub> receptor gene expression in adult rat hippocampus: an in situ hybridization study. *J. Neurosci.* 14: 2697-2707 (1994).
- 46) Gerstberger R., DiPaolo T. y Barden N. Impaired regulation of neurohypophyseal vasopressin secretion in rats treated neonatally with monosodium-L-glutamate. *Neurosci. Lett.* 81: 193-198 (1987).
- 47) Gill R., Foster A.C. y Woodruff G.N. Systemic administration of MK-801 protects against ischemia induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil. *J. Neurosci.* 7: 3343-3349 (1987).
- 48) Goddard G.H., McIntyre D.C. y Leech C.K. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exptl. Neurol.* 25: 295-330 (1969).
- 49) Goh J.W. y Ballyk B.A. A cAMP-linked metabotropic glutamate receptor in hippocampus. *NeuroReport* 4: 454-456 (1993).
- 50) Gómez C., Luján M., Rodríguez R., Servín D. y Campos-Sepúlveda A.E. Neonatal monosodium glutamate reduced pentobarbital hypnotic

- susceptibility in adult mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 34: 469-471 (1991).
- 51) Greenamyre J.T. The role of glutamate in neurotransmission and in neurologic disease. *Arch. Neurol.* 43: 1058-1063 (1986).
- 52) Haley T.J. y McCormick W.G. Pharmacological effects produced by intracerebral injection of drugs in the conscious mouse. *Brit. J. Pharmacol.* 12: 12-15 (1957).
- 53) Harvey J.A. y McIlwain H. Excitatory acidic amino acids and the cation content and sodium ion flux of isolated tissues from the brain. *Biochem. J.* 108: 269-274 (1968).
- 54) Haug M., Simler S., Ciesielski L. y Moutier R. Influence of castration and brain GABA levels in three strains of mice on aggression towards lactating intruders. *Physiol. Behav.* 32: 767-770 (1984).
- 55) Hayes R.L., Chapouris R., Lyeth B.G., Jenkins L., Robinson S.E., Young H.F. y Marmarou A. Pretreatment with phencyclidine (PCP) attenuates long-term behavioral deficits following concussive brain injury in the rat. *Neurosci. Abstr.* 13: 1254 (1987).
- 56) Hertz L., Kvamme E., McGeer E.G. y Schousboe A. (eds.). **Glutamate, Glutamine and GABA in the Central Nervous System.** Alan R. Liss, New York, 1983.
- 57) Hikiji M., Tomita H., Ono M., Fujiwara Y. y Akiyama K. Increase of kainate receptor mRNA in the hippocampal CA3 of amygdala-kindled rats detected by *in situ* hybridization. *Life Sci.* 53: 857-864 (1993).
- 58) Holler T., Cappel E., Klein J. y Löffelholz K. Glutamate activates phospholipase D in hippocampal slices of newborn and adult rats. *J. Neurochem.* 61: 1569-1572 (1993).
- 59) Hollmann M., O'Shea-Greenfield A., Rogers S.W. y Heinemann S. Cloning by functional expression of a member of the glutamate receptor family. *Nature* 342: 643-648 (1990).
- 60) Holzwarth-McBride M.A., Hurst E.M. y Knigge K.M. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of the median eminence. *Anat. Rec.* 186: 185-196 (1976).
- 61) Holzwarth-McBride M.A., Sladek J.R. y Knigge K.M. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. II: Fluorescence histochemistry of catecholamines. *Anat. Rec.* 186: 197-206 (1976).
- 62) Hönack D. y Löscher W. Sex differences in NMDA receptor mediated responses in rats. *Brain Res.* 620: 167-170 (1993).
- 63) Iorio K.R., Tabakoff B. y Hoffman P.L. Glutamate-induced

neurotoxicity is increased in cerebellar granule cells exposed chronically to ethanol. *Eur. J. Pharmacol. Env. Toxicol. Pharmacol. Sec.* 248: 209-212 (1993).

64) Ito M. Long-term depression. *Annu. Rev. Neurosci.* 12: 85-162 (1989).

65) Jennes L., Stumpf W.E., Bissette G. y Nemeroff C.B. Monosodium glutamate lesions in rat hypothalamus studied by immunohistochemistry for gonadotropin releasing hormone, neurotensin, tyrosine hydroxylase, and glutamic acid decarboxylase and by autoradiography for (<sup>3</sup>H) estradiol. *Brain Res.* 308: 245-253 (1984).

66) Jensen M.L. y Auer R.N. Intraventricular infusion of 2-amino-7-phosphonoheptanoate (APH) mitigates ischaemic brain damage. *Neurol. Res.* 11: 37-40 (1989).

67) Johnston G.A.R., Majewska M.D., McEwen B.S., Dubrovsky B., Martini L., Hall E.D., Lambert J.J. y Feldman S. Sex differences in GABA-mediated responses. En: *Steroids and Neuronal Activity* (ed: Simmonds M.A.). Wiley, Chichester, 1990. pp. 220-224.

68) Joseph S.A., Pilcher W. y Knigge K.M. Immunocytochemical analyses of the ACTH component of the opiocortin system in normal and MSG treated animals. *Neurosci. Abstr.* 6: 521 (1980).

69) Kainanen K., Wisden W., Somer B., Werner P., Herb A., Verdoorn T., Sakmann B. y Seeburg P.H. A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science* 249: 556-560 (1990).

70) Karcsú S. Na-glutamate-sensitive nervenzelleu in the area postrema bei der ratte. *Acta Histochem.* 68: 181-187 (1981).

71) Katayama Y., Cheung M.K., Gorman L., Tamura T. y Becker D.P. Increase in extracellular glutamate and associated massive ionic fluxes following concussive brain injury. *Neurosci. Abstr.* 14: 1154 (1988).

72) Katz R.J. Neonatal monosodium glutamate differentially alters two models of behavioral activity in conjunction with reduced hypothalamic endorphins. *Physiol. Behav.* 31: 147-151 (1983).

73) Kendall D.A., Stancel G.M. y Enna S.J. The influence of sex hormones on antidepressant-induced alterations in neurotransmitter receptor binding. *J. Neurosci.* 2: 354-360 (1982).

74) Kizer J.S., Nemeroff Ch.B. y Younblood W.W. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. *Pharmacol. Rev.* 29(4): 301-317 (1978).

75) Kochhar A., Zivin J.A., Lyden P.D. y Mazzarella V. Glutamate anagonist therapy reduces neurologic deficits produced by focal central nervous system ischemia. *Arch. Neurol.* 45: 148-153 (1988).

- 76) Krieger D.T., Liotta A.S., Nichol森 G. y Kizer J.S. Brain ACTH and endorphin reduced in rats with monosodium glutamate-induced arcuate nuclear lesions. *Nature* 278: 562-563 (1979).
- 77) Kwok R.H.M. Chinese restaurant syndrome. *N. Engl. J. Med.* 278: 796 (1968).
- 78) Lambert J.J., Belelli D., Hill-Venning C. y Peters J.A. Neurosteroids and GABA<sub>A</sub> receptor function. *Trends Pharmacol. Sci.* 16: 295-303 (1995).
- 79) Lamperti A. y Blaha G. The effects of neonatally-administered monosodium glutamate on the reproductive system of adult hamsters. *Biol. Reprod.* 14: 362-369 (1976).
- 80) Lawrence J.J., Fuller T.A. y Olney J.W. MK-801 and PCP protect against ischemic neuronal degeneration in the gerbil hippocampus. *Neurosci. Abstr.* 13: 1079 (1987).
- 81) Lemkey-Johnston N., Butler V. y Reynolds W.A. Glial changes in the progress of a chemical lesion: an electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 167: 481-502 (1976).
- 82) Lemkey-Johnston N. y Reynolds W.A. Nature and extent of brain lesions in mice related to ingestion of monosodium glutamate. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 23: 74-97 (1974).
- 83) Litchfield J.T. y Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-113 (1949).
- 84) Liu Y., Disterhoft J.F. y Slater N.T. Activation of metabotropic receptor induces long-term depression of GABAergic inhibition in hippocampus. *J. Neurophysiol.* 69: 1000-1004 (1993).
- 85) Lombardi G., Alesiani M., Leonardi P., Cherici G., Pellicciari R. y Moroni F. Pharmacological characterization of the metabotropic glutamate receptor inhibiting D-[<sup>3</sup>H]-aspartate output in rat striatum. *Br. J. Pharmacol.* 110: 1407-1412 (1993).
- 86) Lucas D.R. y Newhouse J.P. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *Arch. Ophthalmol.* 58: 193-204 (1957).
- 87) Majewska M.D. Steroid regulation of GABA<sub>A</sub> receptor: ligand binding, chloride transport and behavior. En: *Steroids and Neuronal Activity* (ed: Simonds M.A.). Wiley, Chichester, 1990. pp. 83-106.
- 88) Manev H., Favaron M., Guidotti A. y Costa E. Delayed increase of Ca<sup>2+</sup> influx elicited by glutamate: role in neuronal death. *Mol. Pharmacol.* 36: 106-112 (1989).
- 89) Manev H. y Pericic D. Orchidectomy affects picrotoxin-induced convulsions differently in mice compared to rats. *IRCS Med. Sci.*

14: 1048-1049 (1986).

90) Manzoni O., Prêzeau L., Sladeczek F. y Bockaert J. Trans-ACPD inhibits cAMP formation via a pertussis toxin-sensitive G protein. **Eur. J. Pharmacol.** 225: 357-358 (1992).

91) Maragos W.F., Greenamyre J.T., Penney J.B.Jr. y Young A.B. Glutamate dysfunction in Alzheimer's disease: an hypothesis. **Trends Neurosci.** 10: 65-68 (1987).

92) Marshall A.E. **Monosodium Glutamate, a Symposium, Quartermaster Food and Container Institute for the Armed Forces and Associates.** Chicago, Ill., 1948. p. 4.

93) Mayer M.L. y Westbrook G.L. The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. **Prog. Neurobiol.** 28: 197-276 (1987).

94) McDonald J.W., Silverstein F.S. y Johnston M.V. MK-801 protects the neonatal brain from hypoxic-ischemic damage. **Eur. J. Pharmacol.** 140: 359-361 (1987).

95) McEwen B.S. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. **Trends Pharmacol. Sci.** 12: 141-147 (1991).

96) McGeer E.G. y McGeer P.L. Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acids. **Nature** 263: 517-519 (1976).

97) Meeker R.B., Greenwood R.S. y Hayward J.N. Glutamate receptors in the rat hypothalamus and pituitary. **Endocrinology** 134(2): 621-629 (1994).

98) Meijer J.H., Van der Zee E.A. y Dietz M. Glutamate phase shifts circadian activity rhythms in hamsters. **Neurosci. Lett.** 86: 177-183 (1988).

99) Meister B., Ceccatelli S., Hökfelt T., Andén N.-E., Andén M. y Theodorsson E. Neurotransmitters, neuropeptides and binding sites in the rat mediobasal hypothalamus: effects of monosodium glutamate (MSG) lesions. **Exp. Brain Res.** 75: 343-368 (1989).

100) Meldrum B. y Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. **Trends Pharmacol. Sci.** 11: 379-387 (1990).

101) Meldrum B.S., Croucher M.J., Badman G. y Collins J.F. Antiepileptic action of excitatory amino acid antagonists in the photosensitive baboon, *Papio papio*. **Neurosci. Lett.** 39: 101-104 (1983).

102) Mody I., Stanton P.K. y Heinemann U. Activation of N-methyl-D-aspartate receptors parallels changes in cellular and synaptic properties of dentate gyrus granule cells after kindling. **J. Neurophysiol.** 59: 1033-1054 (1988).

- 103) Monaghan D.T., Bridges R.J. y Cotman C.W. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology and distinct properties in the function of the central nervous system. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 29: 365-402 (1989).
- 104) Nemeroff C.B., Grant L.D., Bissette G., Ervin G.N., Harrell L.E. y Prange A.J. Growth, endocrinological and behavioral deficits after monosodium L-glutamate in the neonatal rat: possible involvement of arcuate dopamine neuron damage. **Psychoneuroendocrinology** 2: 179-196 (1977).
- 105) Nemeroff C.B., Lipton M.A. y Kizer J.S. Models of neuroendocrine regulation: use of monosodium glutamate as an investigational tool. **Dev. Neurosci.** 1: 102-109 (1978).
- 106) Novelli A., Reilly J.A., Lysko P.G. y Henneberry R.C. Glutamate becomes neurotoxic via the N-methyl-D-aspartate receptor when intracellular energy levels are reduced. **Brain Res.** 451: 205-212 (1988).
- 107) Olney J.W. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science** 164: 719-721 (1969).
- 108) Olney J.W. Excitatory amino acids and neuropsychiatric disorders. **Biol. Psychiatry** 26: 505-525 (1989).
- 109) Olney J.W. Excitotoxic amino acids and neuropsychiatric disorders. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 30: 47-71 (1990).
- 110) Olney J.W. Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.** 30: 75-90 (1971).
- 111) Olney J.W. Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.** 28: 455-474 (1969).
- 112) Olney J.W. Neurotoxicity of excitatory amino acids. En: **Kainic Acid as a Tool in Neurobiology**. (eds: McGeer E.G., Olney J.W. y McGeer P.L.). Raven, New York, 1978. pp. 95-121.
- 113) Olney J.W., Collins R.C. y Sloviter R.S. Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. En: **Basic Mechanisms of the Epilepsies: Molecular and Cellular Approaches** (eds: Delgado-Escueta A.V., Ward A.A., Woodbury D.M. y Porter R.J.). Raven, New York, 1986. pp. 857-878.
- 114) Olney J.W. y De Gubareff T. Glutamate neurotoxicity and Huntington's chorea. **Nature** 271: 557-559 (1978).
- 115) Olney J.W. y Ho O. Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. **Nature** 227: 609-611 (1970).
- 116) Olney J.W., Ho O. y Rhee V. Cytotoxic effects of acidic and

sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system. **Exp. Brain Res.** 14: 61-76 (1971).

117) Olney J.W., Ikonomidou C., Mosinger J.L. y Friedrich G. MK-801 prevents hypobaric-ischemic neuronal degeneration in infant rat brain. **J. Neurosci.** 9: 1701-1704 (1989).

118) Olney J.W., Misra C.H. y DeGubareff T. Cysteine-S-sulfate: brain damaging metabolite in sulfite oxidase deficiency. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.** 34: 167-176 (1975).

119) Olney J.W., Price M.T., Samson L. y Labruyere J. The role of specific ions in glutamate neurotoxicity. **Neurosci. Lett.** 65: 65-71 (1986).

120) Olney J.W., Rhee V. y De Gubareff T. Neurotoxic effects of glutamate. **N. Engl. J. Med.** 289: 1374-1375 (1973).

121) Olney J.W., Rhee V. y De Gubareff T. Neurotoxic effects of glutamate on mouse area postrema. **Brain Res.** 120: 151-157 (1977).

122) Olney J.W., Schainker B. y Rhee V. Chemical lesioning of the hypothalamus as a means for studying neuroendocrine function. En: **Hormones, Behavior and Psychopathology** (ed: Sachar E.J.). Raven, New York, 1976. pp. 153-158.

123) Olney J.W. y Sharpe L.G. Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. **Science** 166: 386-388 (1969).

124) Olney J.W., Sharpe L.G. y Feigin R.D. Glutamate-induced brain damage in infant primates. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.** 31: 464-488 (1972).

125) Olverman H.J., Jones A.W. y Watkins J.C. [<sup>3</sup>H]D-2 amino-5-phosphonopentanoate as a ligand for N-methyl-D-aspartate receptors in the mammalian central nervous system. **Neuroscience** 26: 1-5 (1988).

126) Oser B.L., Carson S., Vogin E.E. y Cox G.E. Oral and subcutaneous administration of monosodium glutamate to infant rodents and dogs. **Nature** 229: 411-413 (1971).

127) Palmer E., Monaghan D.T. y Cotman C.W. Trans-ACPD, a selective agonist of the phosphoinositide-coupled excitatory amino acid receptor. **Eur. J. Pharmacol.** 166: 585-587 (1989).

128) Park C., Nehls D.G., Ozyurt E., Graham D.I. y McCulloch J. Ischemic brain damage is reduced by systemic administration of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist, MK-801. **Neurosci. Abstr.** 13: 1029 (1987).

129) Pearce I.A., Cambray-Deakin M.A. y Burgoyne R.D. Glutamate acting on NMDA receptors stimulates neurite outgrowth from cerebellar granule cells. **FEBS Lett.** 223: 143-147 (1987).

- 130) Perez V.J. y Olney J.W. Accumulation of glutamic acid in the arcuate nucleus of the hypothalamus of the infant mouse following subcutaneous administration of monosodium glutamate. *J. Neurochem.* 19: 1777-1782 (1972).
- 131) Pericic D., Manev H. y Lakic N. Sex differences in the response of rats to drugs affecting GABAergic transmission. *Life Sci.* 36: 541-547 (1985).
- 132) Peter R.E., Kah O., Paulencu C.R., Cook H. y Kyle A.L. Brain lesions and short-term endocrine effects of monosodium L-glutamate in goldfish *Carassius auratus*. *Cell Tissue Res.* 212: 429-442 (1980).
- 133) Phelix C.F. y Hartle D.K. Systemic glutamate induces degeneration of a subpopulation of tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the rat area postrema. *Brain Res.* 516: 335-340 (1990).
- 134) Pizzi W.J., Barnhart J.E. y Fanslow D.J. Monosodium glutamate administration to the newborn reduces reproductive ability in female and male mice. *Science* 196: 452-454 (1977).
- 135) Plaitakis A., Berl S. y Yarh M.D. Abnormal glutamate metabolism in an adult-onset degenerative neurological disorder. *Science* 216: 193-196 (1982).
- 136) Plaitakis A. y Caroscio J.T. Abnormal glutamate metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 22: 575-579 (1987).
- 137) Prêzeau L., Manzoni O., Homburger V., Sladeczek F., Curry K. y Bockaert J. Characterization of a metabotropic glutamate receptor: direct negative coupling to adenylyl cyclase and involvement of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 8040-8044 (1992).
- 138) Procter A.W., Palmer A.M., Francis P.T., Lowe S.L., Neary D. Murphy E., Doshi R. y Bowen D.M. Evidence of glutamatergic denervation and possible abnormal metabolism in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 50: 790-802 (1988).
- 139) Ratti E., Michieli P., Ferraguti F., Van Amsterdam F.Th.M., Gaviraghi G., Cavicchini E. y Nicoletti F. The metabotropic glutamate receptor is coupled to adenylate cyclase in primary cultures from mouse cerebral cortex. *Neurosci. Abstr.* 18: 572.5 (1992).
- 140) Récasens M., Mayat E. y Guiramand J. Excitatory amino acid receptors and phosphoinositide breakdown: facts and perspectives. En: *Current Aspects of the Neurosciences, Vol. 3* (ed: Osborne N.N.). Macmillan, New York, pp. 103-175.
- 141) Redding T.W., Schally A.V., Arimura A. y Wakabayashi I. Effect of monosodium glutamate on some endocrine functions. *Neuroendocrinology* 8: 245-255 (1971).

- 142) Robinson M. y Coyle J.T. Glutamate and related acidic excitatory neurotransmitters: from basic science to clinical application. *FASEB J.* 1: 446-455 (1987).
- 143) Rojas-Buendía L., Barrón-Tapia T., Vargas-González A., Gómez-Acevedo C., Castellanos-Pérez C. y Campos-Sepúlveda A.E. Disminución de la sensibilidad a la ketamina en ratones tratados neonatalmente con glutamato monosódico. *XVII Congreso Nacional de Farmacología*. Morelia, Mich., México. 1994. p. 33.
- 144) Romagnano M.A., Chafel T.L., Pilcher W.H. y Joseph S.A. The distribution of enkephalin in the mediobasal hypothalamus of the mouse brain: effects of neonatal administration of MSG. *Brain Res.* 236: 497-504 (1982).
- 145) Romagnano M.A., Pilcher W.H., Bennett-Clarke C., Chafel T.L. y Joseph S.A. Distribution of somatostatin in the mouse brain: effects of neonatal MSG treatment. *Brain Res.* 234: 387-398 (1982).
- 146) Rose P.A. y Weick R.F. Evidence for reorganization of neuroendocrine centres regulating pulsatile LH secretion in rats receiving neonatal monosodium-L-glutamate. *J. Endocrinol.* 113: 261-269 (1987).
- 147) Rothman S.M. Synaptic release of excitatory amino acid neurotransmitter mediates anoxic neuronal death. *J. Neurosci.* 4: 1884-1891 (1984).
- 148) Rothman S.M. y Olney J.W. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann. Neurol.* 19: 105-111 (1986).
- 149) Schaumburg H.H., Ryck R., Gerstl R. y Mashman J.H. Monosodium L-glutamate: its pharmacology and role in the Chinese restaurant syndrome. *Science* 163: 826-828 (1969).
- 150) Schoepp D., Bockaert J. y Sladeczek F. Pharmacological and functional characteristics of metabotropic excitatory amino acid receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 11: 508-515 (1990).
- 151) Schoepp D.D., Johnson B.G., True R.A. y Monn J.A. Comparison of (1S,3R)-1-aminocyclopentane-1,3-dicarboxylic acid (1S,3R-ACPD)- and 1R,3S-ACPD-stimulated brain phosphoinositide hydrolysis. *Eur. J. Pharmacol.* 207: 351-353 (1991).
- 152) Schröder H., Becker A. y Lössner B. Glutamate binding to brain membranes is increased in pentylenetetrazole-kindled rats. *J. Neurochem.* 60: 1007-1011 (1993).
- 153) Seress L. Divergent effects of acute and chronic monosodium L-glutamate treatment on the anterior and posterior parts of the arcuate nucleus. *Neuroscience* 7: 2207-2216 (1982).
- 154) Seress L., Lázár G.Y., Kosaras B. y Robertson R.T. Regional effect of monosodium-L-glutamate on the superficial layers of superior culliculus in rat. *Cell Tissue Res.* 235: 435-457 (1984).

- 155) Simantov R. gamma-aminobutyric acid (GABA) enhances glutamate cytotoxicity in cerebellar cell line. *Brain Res.* 24: 711-716 (1990).
- 156) Simon R.P., Swan J.H., Griffiths T. y Meldrum B.S. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors may protect against ischemic damage in the brain. *Science* 226: 850-852 (1984).
- 157) Simpson E.L., Gold R.M., Standish L.J. y Pellett P.L. Axon-sparing brain lesioning technique: the use of monosodium L-glutamate and other amino acids. *Science* 198: 515-517 (1977).
- 158) Sloviter R.S. "Epileptic" brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I. Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Brain Res. Bull.* 10: 675-697 (1983).
- 159) Smith S.S. The effects of estrogen and progesterone on GABA and glutamate responses at extrahypothalamic sites. En: *Neurosteroids and Brain Function* (eds: Costa E. y Paul S.M.). Thieme, New York, 1991. pp. 87-94.
- 160) Snapir N., Robinson B. y Perek M. Brain damage in male domestic fowl treated with monosodium glutamate. *Poult. Sci.* 50: 5 (1971).
- 161) Spencer P.S., Ludolph A., Dwivedi M.P., Roy D.N., Hugon J. y Schaumburg H.H. Lathyrism: evidence for role of the neuroexcitatory amino acid BOAA. *Lancet* 2: 1066-1067 (1986).
- 162) Spencer P.S., Nunn P.B., Hugon J., Ludolph A.C. y Ross S.M. Guam amyotrophic lateral sclerosis-Parkinsonism-dementia linked to a plant excitant neurotoxin. *Science* 237: 517-522 (1987).
- 163) Stelzer A., Slater N.T. y Ten Bruggencate G. Activation of NMDA receptor blocks GABAergic inhibition in an *in vivo* model of epilepsy. *Nature* 326: 698-701 (1987).
- 164) Sterman D.M., Elias K.C., Egami M., Senna de A.I. y Regina M.M. Neonatal treatment with monosodium glutamate increases plasma corticosterone in rat. *Neuroendocrinology* 48: 645-649 (1988).
- 165) Sugiyama H., Ito I. y Hirono C. A new type of glutamate receptor linked to inositol phospholipid metabolism. *Nature* 325: 531-533 (1987).
- 166) Tadokoro S., Higuchi Y., Kuribara H. y Okuizumi K. Behavioral suppression induced by oral administration of monosodium L-glutamate in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2: 619-625 (1974).
- 167) Tafelski T.J. Effects of monosodium glutamate on the neuroendocrine axis of the hamster. *Anat. Rec.* 184: 543 (1976).
- 168) Tanaka K., Shimada M., Nakao K. y Kusunoki T. Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling

period and subsequent development of obesity. *Exp. Neurol.* 62: 191-199 (1978).

169) Tancredi V., Hwa G.G.C., Bona C., Brancati A. y Avoli M. Low magnesium epileptogenesis in the rat hippocampal slices: electrophysiological and pharmacological features. *Brain Res.* 511: 280-290 (1990)

170) Tappaz M.L., Oertel W.H., Wassef M. y Mugnaini E. Central GABAergic neuroendocrine regulations: pharmacological and morphological evidences. En: *Progress in Brain Research Vol. 55: Chemical Transmission in the Brain* (eds: Buijs R.M., Pevet P. y Swaab D.F.). Elsevier Biomedical, Amsterdam, 1982. pp. 77-96.

171) Tonge S.R. y Greengrass P.M. The acute effects of oestrogen and progesterone on the monoamine levels of the brain of ovariectomised rats. *Psychopharmacologia* 21: 374-381 (1971).

172) Torii K., Takasaki Y., Iwata S. y Wurtman R.J. Changes in blood osmolarity, electrolytes and metabolites among adult rats treated with a neurotoxic dose of MSG. *Life Sci.* 28: 2855-2864 (1981).

173) Tóth L., Karcsu S., Feledi J. y Kreutzberg G.W. Neurotoxicity of monosodium-L-glutamate in pregnant and fetal rats. *Acta Neuropathol.* 75: 16-22 (1987).

174) Trendelenburg U., Muskus A., Fleming W.W. y Gomez Alonso De La Sierra B. Modification by reserpine of the action of sympathomimetic amines in spinal cats; a classification of sympathomimetic amines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 138: 170-180 (1962).

175) Vincent S.R., Hökfelt T. y Wu J.Y. GABA neuron systems in hypothalamus and the pituitary gland. *Neuroendocrinology* 34: 117-125 (1982).

176) Wakabayashi I., Hatano H., Minami S., Toneyawa Y., Akira S., Sugihara H. y Ling N.C. Effects of neonatal administration of monosodium glutamate on plasma growth hormone (GH) response to GH-releasing factor in adult male and female rats. *Brain Res.* 372: 361-365 (1986).

177) Walaas J. y Fonnum F. The effect of parenteral glutamate treatment on the localization of neurotransmitters in the mediobasal hypothalamus. *Brain Res.* 153: 549-562 (1978).

178) Watkins J.C. Excitatory amino acids. En: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology* (eds: McGeer E.G., Olney J.W. y McGeer P.L.) Raven, New York, 1978. pp 37-69.

179) Watkins J.C. Pharmacology of excitatory amino acid transmitters. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 29: 205-212 (1981).

180) Watkins J.C. y Evans R.H. Excitatory amino acid transmitters.

**Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 21: 165-204 (1981).

181) Waxman D.J., Morrissey J.J., McLeod J.N. y Shapiro B.H. Depletion of serum growth hormone in adult female rats by neonatal monosodium glutamate treatment without loss of female-specific hepatic enzymes P<sub>450</sub> 2d (IIC12) and steroid 5 $\alpha$ -reductase. **Endocrinology** 126: 712-720 (1990).

182) Weiss J., Goldberg M.F. y Choi D.W. Ketamine protects cultured neocortical neurons from hypoxic injury. **Brain Res.** 380: 186-190 (1986).

183) Wieloch T. Hypoglycemia-induced neuronal damage prevented by an N-methyl-D-aspartate antagonist. **Science** 230: 681-683 (1985).

184) Wieloch T., Engelsen B., Westerberg E. y Auer R. Lesions of the glutamatergic cortico-striatal projections in the rat ameliorate hypoglycemic brain damage in the striatum. **Neurosci. Lett.** 58: 25-30 (1985).

185) Wu K., Wasterlain C., Sachs L. y Siekewitz P. Effect of septal kindling on glutamate binding and calcium/calmodulin-dependent phosphorylation in a postsynaptic density fraction isolated from rat cerebral cortex. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 87: 5298-5302 (1990).

186) Wuttke W. y Mansky T. **Gonadal Steroids and Brain Function** (eds: Wuttke W. y Horowski R.). Springer Verlag, Berlin, 1981. pp. 130-141.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA