



CASA ABIERTA AL TIEMPO

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA - IZTAPALAPA**

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

“ CAMBIOS EN LA EXCITABILIDAD NEURONAL DE LA RATA Y EL RATON PRODUCIDOS POR EL TRATAMIENTO NEONATAL CON GLUTAMATO MONOSODICO” \

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL**

P R E S E N T A:

**CESAR ARMANDO CASTELLANOS PEREZ**

MEXICO, D.F.,

1995

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
IZTAPALAPA

DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD

28-VI-02  
"CAMBIOS EN LA EXCITABILIDAD NEURONAL DE LA RATA Y EL RATON PRODUCIDOS POR EL TRATAMIENTO NEONATAL CON GLUTAMATO MONOSODICO" \ \

TUTOR DE LA TESIS: Prof Inv ALFONSO EFRAIN CAMPOS SEPULVEDA

ASESORES: M en C JOSE ANTONIO GALINDO MORALES  
M en C GABRIEL ROLDAN ROLDAN  
Dr RUBEN ROMAN RAMOS

ALUMNO: BIOL EXP CESAR ARMANDO CASTELLANOS PEREZ

SITIO EN DONDE SE REALIZO LA TESIS:

Laboratorio de Toxicología del Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina, UNAM y Laboratorio de Formación Reticular,  
Unidad de Investigaciones Cerebrales, Instituto Nacional de  
Neurología y Neurocirugía, "Dr Manuel Velasco Suárez" Secretaría  
de Salud. México, D. F.

La Maestría en Biología Experimental cuenta con el apoyo de CONACyT según el convenio PFPN/66/92 por considerarse con el nivel de excelencia.

DEDICATORIA

A MI PADRE: RICARDO CASTELLANOS VELASCO

A MI MADRE: ALICIA PEREZ DE CASTELLANOS

A MIS HERMANOS: RICARDO, CARMEN ALICIA, GUADALUPE ELENA Y OSVALDO  
GERARDO

A TODOS LOS QUE CON SU PRECIOSA AYUDA HICIERON POSIBLE LA  
REALIZACION DE ESTA TESIS: EFRAIN CAMPOS, CLAUDIA GOMEZ, ALVARO  
VARGAS, ANTONIO VIDAL, Ma. de LOURDES SANVICENTE, GABRIEL ROLDAN,  
JOAQUIN MANJARREZ Y RAUL ALVARADO.

MUY ESPECIALMENTE A GLORIA de LOURDES CASTORENA POR DARME LA  
ENERGIA NECESARIA PARA CONCLUIR ESTE TRABAJO.

Y ESPECIALMENTE A LAS RATAS Y A LOS RATONES QUE DIERON SU VIDA PARA  
REALIZAR ESTOS ESTUDIOS.

Agradezco a CONACyT el apoyo económico que me brindó durante mis estudios, a través de la beca con número de registro 81598

---

## RESUMEN

Los aminoácidos excitatorios (AAE), están involucrados en procesos fisiológicos tales como el aprendizaje, la memoria y en el desarrollo de plasticidad neuronal. Pero bajo condiciones patológicas también están involucrados en neuropatologías agudas como: hipoxia/isquemia y trauma hipoglucémico y neuropatologías crónico-degenerativas como: Alzheimer, Huntington, **epilepsia**, Parkison y esclerosis múltiple. Por todo lo anterior, se consideró de interés estudiar la sensibilidad de los roedores tratados en la etapa neonatal con **glutamato monosódico (GMS)** a la estimulación eléctrica hipocampal en la rata y al "kindling" inducido químicamente con pentilene-tetrazol (PTZ) en el ratón. Se emplearon ratas wistar y ratones taconic, ambos machos, recién nacidos, los cuales se separaron en tres grupos, I experimental, II control salino (solo las ratas) y III control absoluto (solo ratones). A los animales del grupo I se les administró 2mg/g SC de GMS el 2o. y 4o. día y 4mg/g el 6o., 8o. y 10 día postnatal. El grupo II recibió con el mismo calendario solución fisiológica salina (0.01ml/g) y el grupo III no recibió tratamiento alguno. En la etapa adulta las ratas se sometieron a cirugía estereotáxica, se hicieron cuatro trepanos, el primero [Anteroposterior (AP) -3.3 mm, Lateral (L) -2 mm, Vertical (V) -3.5mm], con respecto a bregma (**giro dentado del hipocampo (GDH)**), y los otros tres en la zona frontoparietal lateral (**corteza somatosensorial(CSS)**). Se colocó un electrodo de acero inoxidable en cada uno de los trepanos. Se hizo el análisis de frecuencias del electroencefalograma (**EGG espectral**) del GDH y CSS y así observar posibles anormalidades en la excitabilidad neuronal de las ratas tratadas con GMS. Se estimuló el GDH (100 Hz, 1 mseg, 250  $\mu$ A) cada 20 min, 10 veces, antes y después del estímulo del GDH y corteza se registro el electroencefalograma por 2 min. Los ratones, en la etapa adulta se les administró PTZ en las siguientes dosis: 40, 50, y 60 mg/kg sc cada 24 hrs durante 10 días y después de aplicada la inyección se evaluó la latencia a la primera mioclonía (M), número de M, latencia a la primera crisis parcial (CP), número de CP, latencia a la primera crisis generalizada (CG) y número de CG durante 30 min. Los resultados indican que las ratas tratadas en la etapa neonatal con el GMS presentan alteraciones en el análisis del espectro de EEG en GDH y de la CSS mostrando un incremento significativo en la actividad de ondas **delta** y menor actividad de ondas **alfa** y **beta** ( $P < 0.05$ ). los ratones tratados en la etapa neonatal con GMS son significativamente más sensibles al PTZ manifestada por un mayor número de M, CP y CG ( $P < 0.05$ ) como una menor latencia a las mismas que los ratones control. Concluimos que la exposición de los roedores estudiados en la etapa neonatal al aminoácido excitatorio determina una disminución en el umbral de excitabilidad neuronal en la etapa adulta que da lugar a una facilitación en la inducción del "kindling" por PTZ.

## CONTENIDO

1. INTRODUCCION.....	1
2. NEUROINTOXICACION CON GLUTAMATO MONOSODICO.....	2
2.1 Antecedentes.....	2
2.2 Síndrome del glutamato monosódico.....	3
2.3 Mecanismos de la neurotoxicidad.....	4
3.4 Patologías relacionadas con la excitotoxicidad.....	6
3. LOS RECEPTORES A GLUTAMATO.....	7
3.1 El receptor NMDA.....	8
3.2 El receptor AMPA.....	8
3.3 El receptor kainato.....	9
3.4 El receptor metabotrópico.....	9
4. LOS AMINOACIDOS EXCITATORIOS Y LA EPILEPSIA.....	16
5. EL HIPOCAMPO.....	18
5.1 Anatomía hipocampal.....	18
5.2 Plasticidad neuronal y el hipocampo.....	20
6. MODELOS ANIMALES DE EPILEPTOGENESIS.....	21
6.1 El "Kindling" como modelo de epileptogénesis.....	22
6.2 Modelo de epiepsia con pentilenetetrazol.....	26

---

7. HIPOTESIS.....	28
8. OBJETIVO.....	29
9. MATERIAL Y METODOS.....	30
9.1 Tratamiento neonatal con glutamato monosódico en roedores.....	30
9.1.1 En las ratas.....	30
9.1.2 En los ratones.....	31
9.2 Cirugía estereotáxica de implantación crónica de electrodos en las ratas.....	31
9.3 Inducción del "kindling" químico con pentilenetetrazol.....	35
9.4 Análisis estadístico.....	35
10. RESULTADOS.....	36
10.1 Actividad relativa de las bandas del EEG en el GDH y CSS de la rata.....	36
10.2 Sensibilidad a la inducción de "kindling" por PTZ en los ratones.....	37
10.2.1 Latencia a presentar la primera mioclonia.....	37
10.2.2 Latencia a presentar la primera crisis parcial.....	38
10.2.3 Incidencia en el número de mioclonias con PTZ.....	38

---

10.2.4 Número de crisis parciales y crisis generalizadas.....	40
11. DISCUSION DE RESULTADOS.....	41
12. CONCLUSIONES.....	45
13. BIBLIOGRAFIA.....	46

---

## 1. INTRODUCCION.

El Acido Glutámico (Glu) es un aminoácido no esencial que forma parte del 20% de las proteínas de la dieta normal humana. Este aminoácido tiene múltiples funciones biológicas. En los animales forma parte del metabolismo del carbón y del nitrógeno y según las necesidades del organismo sirve como fuente de energía. También participa como precursor de moléculas como el glutatión y de grandes moléculas como son los péptidos y las proteínas. Igualmente se ha caracterizado como un neurotransmisor excitatorio (CURTIS Y WATKINS, 1960).

El Glu se localiza selectivamente, pero no exclusivamente en terminaciones nerviosas de algunas regiones del Sistema Nervioso Central (SNC) cuya función es mediada por receptores del tipo N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA) y no-NMDA (WENTHOLD, 1992; LODGE, 1990). En diversos organismos animales el Glu es el aminoácido intracelular más abundante. Su concentración es particularmente alta en el cerebro de los mamíferos, encontrándose las concentraciones más altas en estructuras cerebrales tales como en la corteza, el núcleo caudado y en la región hipocámpal, y menores concentraciones en el hipotálamo y el tallo cerebral. El Glu también es el precursor del principal neurotransmisor inhibitorio, el ácido gamma-aminobutírico (GABA). De este modo, el Glu tiene en el SNC dos funciones primordiales una función como neurotransmisor excitatorio y otra como precursor del GABA, el neurotransmisor inhibitorio más abundante de los vertebrados.

---

En condiciones normales, la neurotransmisión sináptica glutamatérgica da lugar a efectos excitatorios y metabotrópicos que participan en procesos de aprendizaje, memoria y en el desarrollo de plasticidad neuronal. Pero bajo la administración exógena del Glu o sus agonistas, ACIDO KAINICO (KA), ACIDO QUISQUALICO (QA) y N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA) el efecto que se manifiesta es de neurotoxicidad (KIZER, 1978; COYLE, 1983; WINN, 1991).

## 2. NEUROINTOXICACION CON GLUTAMATO MONOSODICO.

### 2.1 Antecedentes

El glutamato monosódico (GMS) cuya fórmula semicondensada es,  $\text{HOOC CH}(\text{NH}_2)\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{ COONa}$ , de PM 169.12, es la sal monosódica del Glu. El GMS es obtenido por la acción del *Micrococcus glutamicus* (KINOSHITA). El GMS posee propiedades de saborizante y se le emplea como aditivo alimenticio para la carne, propiedad descubierta por primera vez en 1908 por Ikeda. En 1950 aparece en el mercado y hasta ahora su uso se ha incrementado en la industria alimentaria, produciéndose toneladas de esta sustancia para el consumo humano.

LUCAS y NEWHOUSE (1957), fueron los primeros en demostrar que la administración neonatal de GMS, a roedores da lugar a neurotoxicidad; posteriormente OLNEY (1969), amplió estas observaciones y caracterizó las lesiones producidas por el GMS. Dentro de los daños producidos en diversas áreas del SNC podemos destacar, la eminencia media del hipotálamo, el núcleo arqueado del hipotálamo, el núcleo del tracto solitario, (OLNEY, 1972), el área postrema (OLNEY, 1977) y la retina (LUCAS, 1957).

## **2.2 Síndrome del glutamato monosódico.**

Los daños producidos por el GMS fueron ampliamente confirmados por otros autores, en otras especies animales. Dichas lesiones se manifiestan como importantes alteraciones endócrinas, metabólicas y conductuales, que en su conjunto, se les identifica con el nombre del "Síndrome del Glutamato Monosódico" (BURDE, 1974; KRIEGER, 1979; ANTONI, 1982).

Desde el punto de vista endócrino, la neurotoxicidad producida por el GMS da lugar a cambios en la síntesis y/o en la liberación de diversas hormonas, dentro de las que destacan: adrenocorticotrópica (ACTH) (STERMAN, 1988), la del crecimiento (ANTONI, 1982), estimulante de la tiroides, luteinizante, estimulante del folículo (OLNEY, 1969) y de la insulina (SCALLET, 1986; ABE, 1990). Estas alteraciones se traducen a hipotiroidismo, hipogonadismo y esterilidad; asimismo, ocurren alteraciones metabólicas que se manifiestan como obesidad, disminución del crecimiento, incremento de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y alteraciones en la termorregulación (TOKUYAMA, 1986).

Se han reportado alteraciones en el aprendizaje de conductas, en la ingesta de agua y alimento (BODNAR, 1986), en la actividad locomotora y en la conducta sexual, así como en el patrón de sueño (ZHANG, 1988). Por otro lado, el núcleo arqueado del hipotálamo ha sido involucrado en la síntesis y liberación de péptidos opioides (encefalinas, endorfinas y dinorfinas), por lo que la necrosis ocasionada por el tratamiento neonatal con GMS da lugar a una

---

disminución en la síntesis de péptidos opioides. En este sentido la neurotoxicidad por el GMS ha sido de utilidad como modelo experimental para caracterizar la participación de las opiopeptinas en diversas funciones endócrinas, metabólicas y conductuales. Algunos estudios señalan que la analgesia producida por péptidos opioides (Met-enkefalina, Leu-enkefalina, y  $\beta$ -endorfina) y por la administración de morfina se ve modificada por la acción del GMS (BODNAR, 1985; YOUNG, 1983). También se ha reportado la existencia de alteraciones en las vías colinérgicas, adrenérgicas y dopaminérgicas.

### **2.3 Mecanismos de la neurotoxicidad.**

A la fecha el mecanismo por el cual este aminoácido excitatorio y sus congéneres inducen neurotoxicidad no está plenamente establecido, sin embargo existe evidencia de la participación del ion calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) intracelular como evento que contribuye a producir neurointoxicación, provocando el hinchamiento de las dendritas, axones y soma de la neurona, desencadenando su muerte (OLNEY, 1979; ROTHMAN, 1992). También se ha encontrado una correlación entre neurotoxicidad y el fenómeno excitatorio, así como de la existencia de una relación estructura-actividad con su receptor (SCHAWARCZ, 1979; STONE, 1981). Se ha propuesto que dicha neurotoxicidad no sólo se debe a la acción excitatoria del aminoácido, sino que también contribuyen las alteraciones metabotrópicas que se manifiestan como cambios en los niveles, energéticos intracelulares entre ellos, disminución de compuestos

---

de enlace fosfato de alta energía (TRIFOSFATO DE ADENOSINA y FOSFOCREATINA) y un aumento importante de las concentraciones de metabolitos de la glucólisis como en el caso del lactato (RETZ, 1982; JACQUIN, 1988; ZEEVALK, 1990; YOUNG, 1991).

Los agonistas de los receptores NMDA, tales como Glu y NMDA tienen la capacidad de estimular a la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) dando como resultado la producción de óxido nítrico ( $\text{NO}^\circ$ ) y con ello la formación de guanosin monofosfato cíclico ( $\text{GMP}_c$ ). Empero se reportó que el QA no estimula a la NOS (KIEDROWSKI, 1992). La enzima guanilato ciclasa es activada ya que el  $\text{NO}^\circ$  se une al grupo hemo de dicha enzima estimulando la producción de  $\text{GMP}_c$ . Los inhibidores de la NOS tales como  $\text{N}^G$ -nitro-L-Arginina (NOArg) y  $\text{N}^G$ -monometil-L-Arginina (N-Arg) previenen la neurotoxicidad, esta evidencia sugiere que el  $\text{NO}^\circ$  pudiera ser el causante de la neurotoxicidad y muerte celular provocada por el Glu (DAWSON 1991, BONDY 1993). Por otro lado se ha informado que las neuronas que poseen receptores NMDA también suelen expresar a la NOS. Estas neuronas están en contacto con la mayoría de las neuronas corticales y ello podría estar relacionado con la neurotoxicidad de las mismas, a causa de la producción de radicales libres (DAWSON, 1993).

No solo el radical  $\text{NO}^\circ$  es responsable de la muerte celular sino también el radical superóxido ( $\text{O}_3^\circ$ ) que es producido tras la activación del receptor NMDA. La activación del receptor a kainato no parece producir  $\text{O}_3^\circ$ . Por otro lado se observó que el 1-oxido,5,5-dimetil pirrolina (DMPO), es el agente más eficaz para

---

evitar la muerte neuronal, aún más que la NOArg, pues esta sustancia no parece evitar la neurotoxicidad (LAFON-CAZAL, 1993). El aspecto en donde se involucra a los radicales libres como principales inductores de intoxicación neuronal no está del todo claro ya que estudios realizados por PAUWELS (1992), demostraron que aún bloqueando la NOS, enzima responsable de la producción del radical NO° células de hipocampo de la rata. Los antecedentes mencionados sugieren que la neurotoxicidad producida por los agonistas glutamatérgicos son la consecuencia de diversos factores, que se despliegan en la célula, causando daño irreversible cuando los receptores al glutamato son estimulados.

#### **2.4 Patologías relacionadas con la excitotoxicidad.**

La excitotoxicidad provocada por el GMS también afecta a algunas enzimas disminuyendo su actividad. Tal es el caso de la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y la colina acetil transferasa (CAT), mientras que la actividad de la enzima hidroxilasa de la tirosina (TH) se ve aumentada de acuerdo a la cantidad de excitóxico administrado. Lo anterior determina, una disminución considerable en el contenido de neurotransmisores en las neuronas GABAérgicas y colinérgicas, en tanto que los niveles de la dopamina no está afectada (COYLE, 1976). Por lo que concierne a las alteraciones en la neurotransmisión de los aminoácidos excitatorios se les ha relacionado con cuadros neuropatológicos agudos tales como hipoxia, anoxia y trauma hipoglucémico, y algunos transtornos crónicos neurodegenerativos como la esquizofrenia, la

---

corea de Huntingtong, la enfermedad de Parkinson y de Alzheimer y en la génesis de la epilepsia (COYLE 1976, GREENAMYRE, 1986; ZEEVALK, 1990).

### 3. LOS RECEPTORES AL GLUTAMATO

MATHIS (1992) comunicó que las excitotoxinas KA, NMDA Y QA podían inducir diferentes patrones de actividad eléctrica cerebral, proponiendo que cada uno de estos agonistas glutamatérgicos tienen diferentes mecanismos de acción y por tanto diferentes tipos de receptores caracterizados por respuestas bioquímicas y electrofisiológicas diferentes, encontrándose en las mismas células con diferente densidad y función. Este aspecto apoyó la identificación de los diferentes tipos de receptores hasta ahora conocidos.

A la fecha se han caracterizado 5 tipos de receptores al Glu los cuales son: el receptor NMDA, el receptor AMPA, el receptor al kainato, el receptor al L-AP4 y el receptor metabotrópico (mGluR). Los receptores NMDA, AMPA Y kainato están acoplados a canales iónicos por lo que también son conocidos como receptores ionotrópicos. El receptor L-AP4 está relacionado con procesos de inhibición presináptica. El receptor metabotrópico está acoplado a efectores celulares a través de proteínas reguladoras de nucleótidos de guanina (proteínas G) que aumentan o disminuyen los segundos mensajeros (trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>), diacilglicerol (DAG) y calcio intracelular).

---

### **3.1 El receptor NMDA.**

El receptor NMDA es llamado así porque el ligando selectivo es un aminoácido semisintético derivado del ácido aspártico el N-metil-D-aspartato (NMDA). El receptor NMDA está distribuido ampliamente en el SNC especialmente en el hipocampo y corteza cerebral. Este receptor está relacionado con los procesos de plasticidad neuronal y en el fenómeno de potenciación a largo plazo (LTP), así como en el proceso de la inducción de epileptogénesis (SHIN, 1992; LAHTINEN, 1993). El receptor NMDA interactúa con los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y ciertos receptores isomorfos interactúan con  $\text{Ca}^{++}$ , el ion  $\text{Mg}^{++}$  puede bloquear al canal acoplado al receptor actuando como un antagonista. (COLLINGRIDGE, 1990; WATKINS, 1990). También se ha reportado que no solo la estimulación del receptor da como resultado fenómenos excitatorios, sino que también está relacionado con la regulación de la liberación de otros neurotransmisores como en el caso de la liberación de norepinefrina (NE) del hipocampo de la rata (PITTALUGA, 1992).

### **3.2 El receptor AMPA.**

El receptor a AMPA se expresa paralelamente a la distribución de los receptores NMDA. Este receptor está relacionado con el potencial postsináptico excitatorio y con el fenómeno de LTP (COLLINGRIDGE, 1990; WATKINS, 1990). Se han identificado dos tipos de respuestas diferentes al estimular el receptor AMPA de neuronas hipocampales de rata. La primera respuesta se caracterizó por un incremento moderado de la permeabilidad al  $\text{Ca}^{++}$  intracelular en un

---

rectificador de corriente-voltaje saliente. En contraste, la respuesta tipo dos se caracterizó por una gran permeabilidad de corriente entrante de  $\text{Ca}^{++}$  (OZAWA, 1993).

### **3.3 El receptor kainato.**

El receptor a kainato se localiza en pocas áreas específicas del SNC y su distribución es complementaria a los receptores NMDA/AMPA. Se encuentra localizado principalmente en el estriado y el hipocampo. Este receptor interactúa con los iones  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (COLLINGRIDGE, 1990; WATKINS, 1990). Al igual que para el receptor AMPA se han identificado 2 tipos de respuesta al activar en el receptor a kainato. Estas repuestas tienen las mismas características del receptor al AMPA (OZAWA, 1991). Recientemente se ha reportado que al estimular el receptor al kainato de las células hipocampales de la región CA1/CA4 de la rata con su agonista principal KA, produce degeneración neuronal y también inhibe la expresión de la subunidad alfa para el receptor a GABA lo cual indica que este cambio podría jugar un papel clave en la producción de crisis convulsivas y la consiguiente excitotoxicidad (FRIEDMAN, 1994).

### **3.4 El receptor metabotrópico.**

Se han identificado 7 subtipos diferentes de receptores metabotrópicos, todos ellos están acoplados a efectores celulares. Los mGluR no poseen agonistas ni antagonistas selectivos pero la estimulación de cada uno de ellos tiene efectos celulares

---

diferentes. La estimulación del mGluR por algunos de sus agonistas específicos como el 1S,3R-ACDP, provoca la producción diferencial de monofosfato cíclico de adenosina ( $AMP_c$ ), primero en el hipocampo seguido por la amígdala/corteza piriforme y la neocorteza. La producción de  $AMP_c$  es más discreta en el bulbo olfatorio y en el estriado. En el cerebelo y en el puente/médula, no se detectó un incremento en la producción del nucleótido cíclico.

El mGluR es activado discretamente por Glu, en el caso de ratas adultas; pero sí se estimula el mGluR de ratas neonatas (6-8 días) la respuesta es intensa y aumentan considerablemente los niveles de  $AMP_c$  y la hidrólisis de fosfoinosítidos, por lo que varios autores han propuesto que el efecto resultante de la activación de mGluR es variable en algunas zonas del cerebro y en diferentes etapas del desarrollo postnatal de la rata (WINDER, 1993). Los mGluR1, mGluR2, mGluR3, mGluR4 y mGluR5, están acoplados a la fosfolipasa C. Los mGluR2, mGluR3, mGluR4, mGluR6 y mGluR7 están acoplados negativamente con la adenilato ciclasa inhibiendo la producción de  $AMP_c$ . Este aspecto también se ha observado en células de la glía (PREZEAU, 1994). Este tipo de receptores también están involucrados en el fenómeno de LTP ya que la estimulación química pero no eléctrica se induce este fenómeno en la región CA1 del hipocampo de la rata la cual depende de las zonas hipocámpales CA3-CA1 y también por la estimulación eléctrica del receptor NMDA (BORTOLOTTO, 1993). Este aspecto se ve apoyado ya que la administración de un antagonista, el (R,S)-alfa-metil-4-carboxifenil-Glicina (MCPG) del mGluR en el giro dentado del

---

hipocampo (GDH) de la rata previene el desarrollo de LTP (RIEDEL, 1993). En este mismo sentido McDONALD reportó en 1993 que la estimulación química por un agonista del receptor mGluR, el 1S,3R-ACPD podía producir daño neuronal y crisis convulsivas en forma dosis-dependiente en ratas neonatas y se evitaba el daño neuronal administrando dantroleno, un inhibidor de la movilización de calcio intracelular. El análisis microscópico de los tejidos afectados por el 1S,3R-ACPD mostraron hinchamiento y degeneración neuronal.

El mGluR1 interactúa con proteínas G y sus efectores principales son  $IP_3/DG$  que intervienen en la disponibilidad de  $Ca^{2+}$  intracelular. Este receptor se identificó en todas las neuronas del giro dentado de hipocampo (GDH), predominantemente en las poblaciones neuronales del tipo CA2-CA4. Del mGluR1 se han identificado 3 variantes las cuales son mGluR1-alfa, mGluR1 $\beta$  y el mGluR1c (SHOEPP, 1993; WATSON, 1993). Se puede inducir la expresión diferencial de este receptor sólo cuando se estimula eléctricamente y se observan manifestaciones conductuales en la rata. También se ha informado de la regulación hacia abajo del receptor mGluR1 después de aplicar estimulación eléctrica tipo "kindling" 24 hs después, también se observa una regulación hacia abajo de los receptores al kainato y al AMPA. Dicha expresión del mGluR1 se manifiesta en el hipocampo dorsal (CA1-CA4) y en el GDH cuando se estimula a la rata por electrochoque máximo (WONG, 1993).

El mGluR2 se distribuye en el SNC de la rata en las células de Golgi del cerebelo, en células mitrales accesorias del bulbo olfatorio, neuronas externas del bulbo olfatorio, neuronas

piramidales de la corteza y en la región cortical parasubicular. Este receptor se encuentra en menor cantidad en las estructuras del cíngulo, cortezas subicular y retropineal y en el GDH. El patrón de distribución del mGluR2 revela funciones específicas en el sistema glutamatérgico del cerebro (OHISHI, 1993).

El mGluR3 tiene secuencia de aminoácidos semejantes al mGluR2 y también reacciona de manera semejante a diversos agonistas glutamatérgicos como son: l-Glu> trans-1-aminociclopentano-1,3-dicarboxilato> ibotenato> quisqualato. El mGluR3 se expresa en células de la glía y en neuronas de estructuras cerebrales tales como, la corteza cerebral, el putamen-caudado y células granulares del GDH.

El mGluR4 puede ser el equivalente al receptor L-AP4, el cual está involucrado en procesos de inhibición presináptica (WATSON, 1993). Este receptor reacciona con el L-2-amino-4-fosfonobutirato (L-AP4) y moderadamente con la L-serina-O-fosfato. La localización del mGluR4 en el SNC de la rata está especialmente en el cerebelo, bulbo olfatorio y el tálamo (TABANE, 1993). La expresión del mGluR4 es diferencial, se incrementa en varias estructuras cerebrales tales como la corteza parietal y el núcleo talámico posteromedial después de inducir isquemia experimental. Los otros receptores (mGluR1, mGluR2 y mGluR5) disminuyeron por esta maniobra experimental. Estos resultados sugieren que las neuronas reaccionan de diferente manera al aumentar el glutamato extracelular por regulación diferenciada de los mGluR localizados pre- y postsinápticamente en el cerebro de la rata (IVERSEN, 1994).

---

Los efectores principales para el mGluR5 son los  $IP_3/DG$ . Este receptor se localiza principalmente en las células piramidales, en el área celular CA1-CA4 del GDH, bulbo olfatorio, núcleo olfatorio anterior, tubérculo olfatorio, corteza cerebral, séptum lateral, estriado, núcleo acumbens, colículo inferior, núcleo espinal del trigémino, y su localización es principalmente a nivel postsináptico (SHIGEMOTO, 1993).

El mGluR6 es similar en su secuencia a los residuos de aminoácidos al mGluR4. El mGluR6 interactúa selectivamente con el L-AP4. Este receptor se localiza principalmente en la barrera interna de la retina de la rata (NAKAJIMA, 1993).

El mGluR7 es un receptor análogo en su secuencia de aminoácidos a los mGluR4 y mGluR6. Tiene acción reguladora en el SNC al igual que el receptor L-AP4, mGluR4 y mGluR6 e inhibe la síntesis de  $AMP_c$  (OKAMOTO, 1994).

Se ha reportado además otro tipo de receptor mGluR, el cual se identificó en la médula espinal de la rata recién nacida. La estimulación química de dicho receptor causa despolarización postsináptica de las motoneuronas, la cual se reduce conforme aumenta la edad de la rata (SAITOH, 1993).

RECEPTORES IONOTROPICOS AL GLUTAMATO

NOMENCLATURA	NMDA		AMPA	KAINATO
	COMPETITIVO	SITIOS MODULADOR		
NOMBRES PREVIOS			QUISQUALATO	
AGONISTA SELECTIVO	NMDA	GLICINA HA966 (AGONISTA PARCIAL)	AMPA 5-FLUOROMILLARDINA	KAINATO DOMOATO
ANTAGONISTA SELECTIVO	D-AP5 CGS19755 CGP37849	5,7-DICLOROKIRNURENATO MNOX L689560	NBQX GYKI52466	
BLOQUEADORES CANALES	DIZOCIPLINA (MK810) FENCICLIDINA			
EFFECTOS PREDOMINANTES	MOVILIZACION Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> /Ca <sup>++</sup>	Su ocupación requiere activar el receptor	MOVILIZACION Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> CIERTAS ISOFORMAS CA <sup>++</sup>	MOVILIZACION Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>

NO. 10. APLICACION DE LA PSICOLOGIA EN LA EDUCACION

**RECEPTORES METABOTROPICOS PARA EL GLUTAMATO**

NOMENCLATURA	mGluR <sub>1</sub>	mGluR <sub>2</sub>	mGluR <sub>3</sub>	mGluR <sub>4</sub>	mGluR <sub>5</sub>
AGONISTA SELECTIVO					
ANTAGONISTA SELECTIVO					
EFECTOS PREDOMINANTES	IP <sub>3</sub> /DG	AMP <sub>c</sub> ↓	AMP <sub>c</sub> ↓	AMP <sub>c</sub> ↓	IP <sub>3</sub> /DG

WATSON AND GIRDLESTONE (1993)

#### 4. LOS AMINOACIDOS EXCITATORIOS Y LA EPILEPSIA.

Las alteraciones en la neurotransmisión glutamatérgica y el carácter eminentemente excitatorio del Glu, se ha relacionado con el papel que juegan los aminoácidos excitatorios en la inducción de hiperactividad eléctrica y en la génesis de la epilepsia. Otro aspecto que se debe destacar es que el Glu y el ácido aspártico (Asp) se encuentran en altas concentraciones en el cerebro, y ambos aminoácidos son potentes excitatorios en el SNC. La amplia distribución de estos dos aminoácidos dicarboxílicos en el sistema nervioso y su participación en el metabolismo intermedio enmascaran las acciones de estos aminoácidos como neurotransmisores. OLNEY (1974), demostró que cuando administraba KA por vía oral ó subcutánea a ratones jóvenes y adultos, se inducía un incremento en la actividad eléctrica cerebral, temblor y convulsiones generalizadas. En relación con estas observaciones ZACZEK (1981) demostró que algunos anestésicos y fármacos anticonvulsivantes protegían de los efectos neurotóxicos causados por el KA en el sitio de la inyección.

Posteriormente se informó que la administración experimental de Glu, Asp y KA en la amígdala induce el desarrollo progresivo de convulsiones, similares a las observadas por el "kindling" eléctrico (OLNEY, 1980; BEN-ARI, 1980; ZACZEK, 1982; MORI, 1989; CROUNCHER, 1990). SLOVITER (1983) demostró que el daño producido por la estimulación eléctrica en el hipocampo y corteza entorrinal es similar al daño producido por fármacos proconvulsivantes, sugiriendo que las crisis epilépticas producidas por estos dos modelos están asociadas al

---

daño provocado por la liberación de aminoácidos excitatorios. Este aspecto se ve apoyado con estudios *in vitro* del hipocampo de la rata, demostrando que el fenómeno de epileptogénesis está mediado por los receptores NMDA (SHIN, 1992).

HIKIJI en 1993, reportó que al inducir "kindling" amigdalino en ratas, aumentan en un 25% los receptores a kainato en la región hipocampal CA3 pero no en otras áreas hipocampales como en la región CA1, el GDH, el núcleo de la amígdala y la corteza piriforme. También se observó que no hubo modificaciones importantes en la densidad de receptores: NMDA1, GluR-2 o mGluR1. En este mismo sentido estudios hechos en ratas "kindleadas" con pentilenetetrazol (PTZ), 60 mg/kg ip, durante 10 días mostraron más afinidad al L-glutamato tritiado (L-[H]<sup>3</sup> Glu) en áreas corticales y el hipocampo, que las ratas control y que las tratadas con una dosis de PTZ 60 mg/kg, ip. Este hecho sugiere que la estimulación por PTZ por un tiempo determinado incrementa la densidad de receptores a Glu en áreas corticales y en el hipocampo (SCHRÖDER, 1993). Los resultados anteriores se correlacionan con los obtenidos por LAHTINEN (1993) en los cuales observan cambios en la densidad de receptores NMDA de las zonas CA1 hipocampal y en el GDH tras la estimulación de los receptores NMDA. La densidad de receptores NMDA en la zona CA1 se ve disminuida y un aumento moderado en la densidad de receptores NMDA en el GDH, reflejando una actividad eléctrica aumentada. Dichos cambios en la densidad de receptores son comparables a los detectados en la epilepsia del lóbulo temporal en los humanos. Asimismo se ha reportado que la estimulación eléctrica tipo "kindling" produce el fenómeno de LTP y que los responsables de

---

LTP son los receptores a Glu tales como el receptor NMDA y el receptor AMPA, ya que se observó un incremento considerable de dichos receptores cuando se estimulaban zonas específicas como el hipocampo (MAREN, 1993; SMIRNOVA, 1993; WONG, 1993).

## 5. EL HIPOCAMPO

### 5.1 Anatomía Hipocampal

El hipocampo es una de las estructuras cerebrales mejor caracterizadas en cuanto a su organización sináptica y función neuronal. El hipocampo forma parte del sistema límbico.

Estudios neurofisiológicos sugieren que el hipocampo juega un papel clave en ciertos aspectos tales como el aprendizaje y la memoria. También se sabe que existe una correlación entre patologías hipocampales como la epilepsia y cambios estructurales bien definidos.

El hipocampo es una estructura cilíndrica cuyo eje longitudinal forma un semicírculo alrededor del tálamo. La posición del hipocampo en relación con otras estructuras del cerebro, y algunos grados de posición interna, muestra variaciones significativas entre las especies animales. El hipocampo puede ser dividido en cuatro regiones las cuales son tradicionalmente designadas como CA1-CA4 (del Latín *cornus Ammon* o cuerno de ammon porque éste es parecido al cuerno carnero). Otra nomenclatura, introducida por Cajal, divide al hipocampo en región superior e inferior. El GDH, el subículum y la corteza entorrinal son incluidas generalmente dentro de la formación hipocampal. Las regiones CA1 y CA3 constituyen más propiamente

---

el hipocampo. La región CA2 es la más pequeña e indistinta en algunas especies en donde es frecuentemente ignorada. El área del GDH y del estrato granuloso de la región CA3 es llamada región polimórfica o hilar, o simplemente hilus.

El hipocampo y el GDH están formados fundamentalmente por tres capas. Las fundamentales del hipocampo son la polimórfica, la piramidal y la molecular. El GDH consiste de una polimórfica (*hilus*), una granular (*stratum granulosum*), y la molecular (*stratum moleculare*). La barrera molecular del dentado es continuidad con la del hipocampo. Las principales conexiones del hipocampo y del GDH son la corteza entorrinal, la región septal y el hipocampo contralateral. (LOTHMAN, 1991). (ver figura 1)

El área entorrinal se proyecta dentro de la formación hipocampal. El hipocampo se conecta con el fórnix al cuerpo mamilar, en donde las sinapsis de las neuronas llegan por el tracto mamilotalámico hacia el núcleo del tálamo anterior. El núcleo anterior es un relevo específico que el núcleo proyecta hacia el cíngulo. Las neuronas del giro cingulado se conectan con el área entorrinal. Así se cierra el circuito formado. Sin embargo existen muchos puntos a lo largo de la vía en donde los axones se conectan con otras estructuras fuera del circuito. Por ejemplo un hipocampo se conecta con el contralateralmente a través de la comisura hipocampal, la cual está formada por axones que cruzan de un hemisferio a otro. El fórnix no sólo se distribuye en el cuerpo mamilar sino también en el séptum cumisural, al preóptico, al núcleo hipotalámico anterior y directamente a el núcleo anterior del tálamo. El giro cingulado se proyecta a la formación reticular del tallo cerebral así como

---

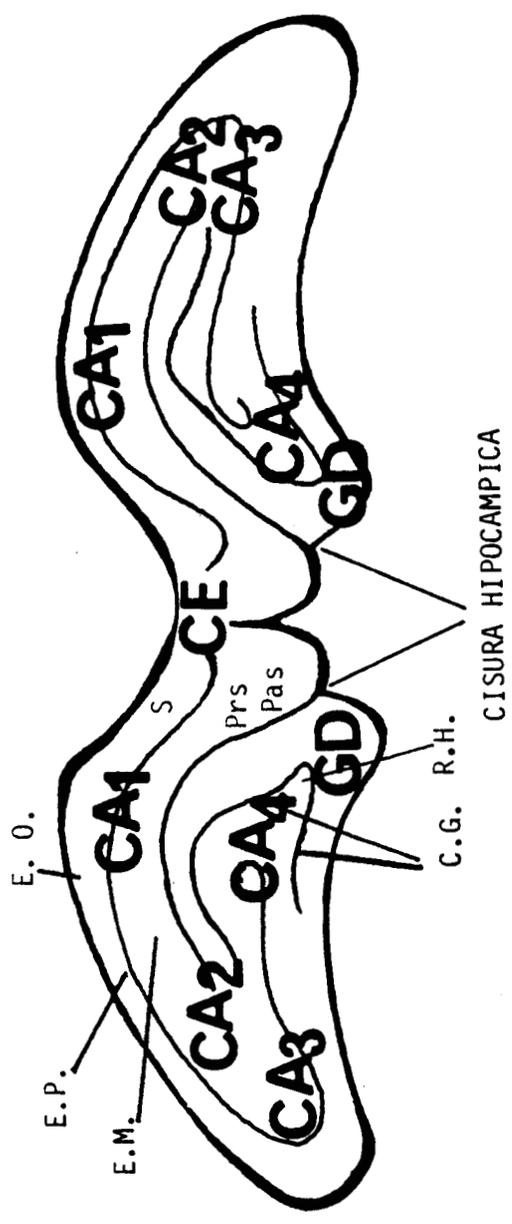


Figura 1.- El hipocampo presenta tres capas principales: El estrato oriens (E.O.), el estrato piramidal (E.P.) y el estrato molecular (E.M.).

En el lado izquierdo se muestra la parte ventral formada por el giro dentado, la región hilar (RH), la capa molecular (C.M.), y la capa granular (C.G.). La parte sagital esta formada por el subículo (S) dividida en parasubículo (Pas) y presubículo (Prs) y la corteza entorrinal (C.E.).

a el área entorrinal. La actividad del hipocampo puede ser medida o rastreada en amplias regiones del cerebro (WILLIS Y GROSSMAN, 1997).

## 5.2 Plasticidad neuronal y el hipocampo

El hipocampo es conocido como una de las regiones del cerebro en la cual se manifiestan diferentes tipos de plasticidad neuronal. Por ejemplo, la LTP es fácilmente establecida en varias vías aferentes, tanto *in vivo* como *in vitro* fenómeno que se ha relacionado con los procesos del aprendizaje y la memoria. La LTP es una forma de plasticidad neuronal caracterizada por un aumento en la respuesta sináptica a un estímulo constante después de una estimulación tetánica (BLISS, 1973). Debido a que la LTP se mantiene por tiempos relativamente largos en el hipocampo (aunque no exclusivamente) y su correlación con el aprendizaje de conductas, la LTP se sugiere como un componente de la consolidación de la memoria asociativa, o procesos "adaptativos" en el sistema nervioso. El aumento inmediato de la respuesta sináptica después del tren de estímulos tetanizantes (dentro del primer minuto) es la denominada potenciación posttetánica (PPT), es decir, un aumento en la excitabilidad a muy corto plazo, la cual se piensa es debido a un aumento en la liberación presináptica de neurotransmisores excitatorios, mientras que la LTP es considerado un evento postsináptico. Una de las características que distingue a la LTP de la PPT es su duración, siendo mucho mayor en la primera.

Como ya se ha mencionado, la plasticidad neuronal asociada al aprendizaje, como la LTP, es considerada como un proceso

fisiológico, mientras que otras manifestaciones de plasticidad en el hipocampo son consideradas como responsables de los procesos patológicos, tales como la epileptogénesis (FISHER, 1989). Por estas razones, los estímulos eléctricos, semejantes a los que inducen la LTP, utilizados y aplicados iterativamente al área CA3 del hipocampo, además de producir potenciación sináptica en la capa de células piramidales de CA3, estos trenes de estimulación en forma iterativa dan como resultado descargas de la actividad de espigas evocadas y espontáneas, las cuales son muy parecidas a las descargas epilépticas o interictales (McNAMARA, 1980). Las neuronas piramidales de la región CA1 son sensibles a la anoxia e isquemia. Las neuronas piramidales pueden presentar cambios degenerativos en casos de isquemia cerebral y en algunos casos de epilepsia del lóbulo temporal. Los pacientes con crisis psicomotoras presentan degeneración neuronal en la región CA1 del hipocampo (WILLIS, Jr., GROSSMAN, 1977).

## 6. MODELOS ANIMALES DE EPILEPTOGENESIS

Para el estudio de los mecanismos de inducción de la epilepsia se utilizan modelos animales. Se pueden escoger diversos modelos dependiendo de los factores, los objetivos o la pregunta a responder en una investigación. Se han descrito hasta ahora más de 50 modelos de inducción de epilepsia que se pueden dividir en: 1) Crisis parciales simples.- que se basan en la en la aplicación de agentes convulsivantes tópicos, estimulación eléctrica aguda, metales implantados corticalmente, daño por criogenia. 2) Crisis parciales complejas.- que se inducen con

la administración de ácido kaínico, tóxina del tétanos, inyecciones de convulsivantes dentro del área tempesta, "kindling" eléctrico, en las rebanadas de hipocampo de roedores, en preparaciones de células aisladas y neurocirugía de tejidos humanos. 3) Las crisis generalizadas (tónico-clónicas) se estudian en: diversas cepas de ratones, las ratas, los gerbos y el babuinos genéticamente predispuestos a las crisis, inducción de electrochoque máximo, la administración de convulsivantes por vía sistémica y por la inducción de alteraciones metabólicas. 4) Las crisis generalizadas de ausencia se pueden observar en: la estimulación talámica, en la inducción de focos corticales bilaterales, con la administración de penicilina sistémica, la administración de gamma-hidroxi-butirato, con la administración de opioides intraventriculares, utilización de modelos de ratas genéticamente predispuestas.

El modelo de litio-pilocarpina, homocisteína y el modelo de estimulación repetitiva son los más usados para inducir *estatus epilepticus*.

#### **6.1 El "kindling" como modelo de epileptogénesis.**

El "kindling" o "encendido" es un modelo de epileptogénesis en donde la estimulación eléctrica de tipo tetanizante diaria, (250-1000  $\mu$ A, 60 Hz, 0.1 ms) provoca la aparición de postdescargas en un registro del electroencefalograma (EEG), las cuales progresivamente aumentan en duración, hasta manifestar crisis convulsivas generalizadas. El "kindling" es considerado también como un modelo de plasticidad neuronal en la inducción de LTP y cambios

que se cree participan en los procesos de epileptogénesis, así como en la memoria y el aprendizaje (FISHER, 1989). Las crisis convulsivas son eventos en donde las descargas son sincronizadas en una población bien localizada de neuronas en el cerebro. La epilepsia es un desorden crónico caracterizado por crisis recurrentes. Las descargas eléctricas que se producen en una crisis convulsiva son fácilmente diferenciables de la actividad eléctrica de un cerebro "normal". Las crisis convulsivas son eventos dinámicos asociados a procesos que aparecen se despliegan y desaparecen. Los mecanismos celulares de la inducción de crisis convulsivas parecen deberse a tres factores interactivos: 1) La capacidad de las neuronas para generar descargas intrínsecas de salvas, este aspecto es un factor importante en la iniciación, amplificación y sincronización de la actividad eléctrica. 2) La capacidad inhibitoria GABAérgica, mecanismo que reprime el desarrollo y la generación de salvas, y que controla la propagación excitatoria de los circuitos corticales regulando la activación de los receptores NMDA. 2) La capacidad de los promotores en la transmisión sináptica excitatoria, en particular las sinapsis glutamatérgicas, vía receptores NMDA, los cuales son los responsables de generar y propagar las descargas excesivas en una crisis convulsiva (McNamara, 1992).

Por otra parte los tipos de epilepsia se clasifican en crisis parciales y crisis generalizadas. Las crisis parciales surgen de zonas específicas ("foco epiléptico") es identificable por desórdenes en las sensaciones o por movimientos convulsivos de partes del cuerpo. Las crisis parciales pueden ser llamadas simples si no hay alteración de la conciencia y crisis complejas

---

si la conciencia es alterada o perdida.

Las crisis parciales complejas están ligadas a estructuras límbicas. En el pasado se decía que los pacientes con crisis parciales complejas, tenían epilepsia del lóbulo temporal, ahora se conoce que las crisis parciales complejas pueden también surgir del lóbulo frontal, especialmente de estructuras tales como la corteza orbital frontal y de regiones cinguladas que pueden ser consideradas límbicas; el EEG de pacientes con crisis parciales muestran característicamente espigas interictales espontáneas (SIE) (McNAMARA, 1980).

Las crisis generalizadas involucran grandes áreas del cerebro, las manifestaciones iniciales están asociadas con el deterioro de la conciencia. Ellas se hacen presentes en forma de crisis de ausencias (pérdida de la conciencia) o con sutiles manifestaciones motoras o con convulsiones generalizadas (tonico-clónico o tónicas).

Una de las principales anormalidades en una epilepsia parcial es en el patrón de excitabilidad neuronal, observándose SIE. Las SIE se pueden observar en registros de EEG de humanos con epilepsia y en numerosos modelos de epilepsia en animales. Las SIE no sólo ocurre en el área estimulada por el electrodo sino que también ocurre en otras regiones distales. Un aspecto importante es que entre los períodos de estimulación, la aparición de SIE ocurre durante y después del desarrollo del efecto "kindling". La máxima frecuencia de SIE ocurre durante el estado 3 y 4 del desarrollo del "kindling". Un criterio para obtener un buen modelo de epilepsia animal es que la actividad eléctrica ocurra espontáneamente, de aquí que la definición de

epilepsia implica la presencia de actividad eléctrica espontánea. Estas espigas aparecen primero en las áreas límbicas, particularmente en la amígdala estimulada y después alcanzan a la amígdala contralateral seguida por el hipocampo pero muy poco a la formación reticular y a la corteza. No todas las zonas del cerebro al ser estimuladas producen encendido. La amígdala es una estructura muy sensible a la estimulación eléctrica requiriéndose "relativamente" poca estimulación para inducir "kindling". La jerarquización con respecto a la sensibilidad al estímulo eléctrico (progresando de más a menos sensibilidad) de varios sitios del cerebro fue caracterizada por Goddard (1969) y es como sigue: amígdala, globus pallidus, corteza piriforme, área olfatoria, neocorteza anterior, corteza entorrinal, bulbo olfatorio, área septal, área preóptica, putamen caudado e hipocampo.

El "kindling" puede ser establecido en numerosas especies animales, incluyendo la rana, los reptiles, el ratón, la rata, el conejo, el perro, el gato, el mono rhesus y el gibón, existiendo diferencias en cuanto a sensibilidad al estímulo eléctrico y por tanto a la inducción del "kindling".

El desarrollo y establecimiento del "kindling" se da en cinco estados: Durante el estado 1 aparece la mioclonia facial, caracterizada por movimientos masticatorios, el estado 2 se caracteriza por la aparición de clonus de la cabeza, con el estado 3 se presentan clonus de los miembros anteriores, primero contralaterales al sitio de estimulación y después bilaterales, en el estado 4 se presentan mioclonias de miembros posteriores y en el estado 5 se presenta la convulsión tónico-clónico

generalizada que se caracteriza por la pérdida del equilibrio. Cada estado incluye la presentación del estado precedente. Una vez que el animal ha llegado hasta el estado 5, este queda sensibilizado a lo largo del tiempo y si el animal es estimulado nuevamente responde al estímulo más rápidamente. El "kindling" es un proceso dinámico, que finalmente lleva a un cambio permanente, que se le denomina "kindling establecido", en el cual las crisis generalizadas y la duración de la postdescarga se manifiestan espontáneamente. El "kindling" y el "kindling establecido" son los mejores modelos de crisis convulsivas límbicas (crisis parcial compleja). El fenómeno "kindling" además puede ser de utilidad para el desarrollo de nuevos fármacos anticonvulsivantes o de fármacos que potencialmente puedan tener acción anticonvulsiva y de alguna manera se pueda prevenir o atenuar la progresión de las crisis convulsivas causadas por este modelo de epileptogénesis.

## **6.2 El modelo de epilepsia con pentilinetetrazol**

Numerosos compuestos químicos pueden producir crisis generalizadas cuando son administrados por vía sistémica. Uno de esos compuestos es el pentilinetetrazol (PTZ, metrazol). El PTZ es un derivado del tetrazol con acción convulsivante en el ratón, la rata, el gato y en los primates, administrado por vía parenteral. El PTZ inicialmente produce sacudidas mioclónicas, las cuales pueden ser sostenidas y desarrollar crisis generalizadas tónico-clónicas. En el registro del electroencefalograma aparecen espigas o poliespigas. El tratamiento con PTZ con dosis subconvulsivantes por varios días

---

a ratas jóvenes modifica la sensibilidad al mismo PTZ por lo que tal modificación en la sensibilidad conduciría a la inducción de "kindling químico" o encendido (McCAUGHRAN, 1982). También se ha demostrado que cuando se induce "kindling químico" con PTZ, se inducen cambios neuronales que se traducen a un proceso inflamatorio del tejido nervioso de la rata (RODIN, 1979). El mecanismo de acción del PTZ es parcialmente conocido; algunos estudios sugieren que su efecto es principalmente a nivel de corteza, sin embargo otros estudios han demostrado que actúa en la formación reticular mesencefálica. La administración de gamma-vinil-GABA, un inhibidor de la degradación del GABA, dentro de la formación reticular, el hipotálamo medio anterior y el hipotálamo caudal bloquea la inducción de crisis convulsivas por el PTZ. A nivel sináptico el PTZ parece actuar a nivel del complejo receptor [GABA-benzodiazepinas-ionóforo de cloro] que presumiblemente disminuye los potenciales inhibitorios produciendo crisis convulsivas. En rebanadas de la región CA3 hipocampal del cobayo, hiperpolariza y depolariza neuronas desencadenando salvas epilépticas. Estas salvas son producidas por corrientes de calcio que median la inhibición de GABA. El PTZ ha sido utilizado como modelo para cernimiento y desarrollo de fármacos anticonvulsivantes por su capacidad de producir crisis parciales (FISHER, 1989).

## 7. HIPOTESIS

Los aminoácidos excitatorios están involucrados en la génesis de la epilepsia. Un aumento o disminución de un neurotransmisor por denervación o por desuso conduce a un efecto que se traduce a una hipersensibilidad a ese neurotransmisor (TRENDELENBURG, 1962). Por otro lado los roedores tratados en la etapa neonatal con GMS presentan alteraciones en las vías GABAérgicas por deficiencia de la enzima glutamato descarboxilasa, enzima limitante de la síntesis GABA (JENNES, 1984). Por lo tanto podemos inferir que los roedores tratados en la etapa neonatal con GMS muestran cambios en el umbral de excitabilidad neuronal que se traduce a un incremento en la sensibilidad a la estimulación eléctrica de regiones específicas del SNC y al efecto de fármacos proconvulsivantes.

## 7. OBJETIVOS

### 1) OBJETIVO GENERAL.

Estudiar la sensibilidad de roedores tratados en la etapa neonatal con GMS a la estimulación eléctrica hipocampal y al "kindling" químico inducido con Pentilentetrazol (PTZ).

### 2) OBJETIVOS ESPECIFICOS.

a) Estudiar las diferencias que se presentan en el EEG del GDH y de la corteza somatosensorial (CSS) de las ratas tratadas en la etapa neonatal con GMS con respecto a las ratas control.

b) Estudiar los cambios producidos en el EEG por la estimulación eléctrica hipocampal repetida en las ratas tratadas en la etapa neonatal con GMS con respecto a las ratas control.

c) Estudiar la sensibilidad de los ratones tratados en la etapa neonatal con GMS al efecto convulsivo del PTZ.

d) Estudiar la inducción y el establecimiento de "kindling" químico producido por el PTZ.

## 9. MATERIAL Y METODOS

### 9.1 Tratamiento neonatal con GMS en los roedores.

#### 9.1.1 En las ratas.

Se utilizaron Ratas hembra adultas de 200-300 g de peso corporal de la cepa Wistar se aparearon con ratas macho, (cuatro hembras y un macho). Al cabo de tres semanas de apareamiento, de separar las hembras de los machos, y se formaron dos grupos aleatorios de hembras preñadas que se designaron como grupos: I o experimental, II o control salino.

Las crías del grupo experimental se trataron con GMS bajo el siguiente esquema: el 2° y 4° día después del nacimiento recibieron 2 mg/g de GMS (SIGMA) disuelto en agua destilada y los días 6°, 8° y 10° después del nacimiento las crías recibieron 4 mg/g de GMS (0.01 ml/g de peso corporal sc) (YOUNG 1983).

Las crías del grupo control salino recibieron sólomente solución fisiológica salina (0.01 ml/g de peso corporal sc), siguiendo el mismo calendario de administración del grupo experimental.

Al cabo de un mes de nacidas, las crías se destetaron y se separaron por sexos, se mantuvieron en ciclos luz/obscuridad de 12X12 hs. La alimentación fue *ad libitum*

### **9.1.2 En los ratones.**

Ratones hembra de la cepa Taconic de 25-30g de peso corporal se aparearon con ratones macho de la misma cepa, (4 hembras y un macho). Al cabo de 2 semanas de apareamiento, se separaron las hembras de los machos y se formaron 2 grupos de hembras preñadas. EL grupo I o experimental y el grupo II o control absoluto.

**222473**

A las crías del grupo experimental se les administró 2 mg/g de GMS (SIGMA) el 2° y 4° día después del nacimiento y los días 6°, 8° y 10° después del nacimiento las crías recibieron 4 mg/g GMS (0.01 ml/g de peso corporal, sc) (YOUNG, 1983). El grupo control absoluto no recibió tratamiento alguno. Al cabo de un mes de nacidas las crías de ambos grupos se destetaron y sexaron, se mantuvieron en ciclos luz/obscuridad de 12X12 hs. La alimentación fue *ad libitum*.

### **9.2 Cirugía estereotáxica de implantación crónica de electrodos para las ratas.**

Cuando las ratas macho cumplieron de cinco a siete meses de edad se sometieron a anestesia con pentobarbital sódico (32 mg/kg, ip). Una vez que las ratas llegaron al plano profundo de la anestesia, se realizó la tricotomía de la región y se practicó una incisión en la piel. Se separaron los tejidos blandos, y se hicieron cuatro trépanos según el atlas estereotáxico de PAXINOS Y WATSON (1982). El primero, anteroposterior (AP) -3.3 mm, con respecto a bregma, lateral (L) -2.0 mm con respecto a bregma, vertical (V) 3.5 mm con respecto a bregma (GDH), y los otros 3 electrodos en la zona frontoparietal lateral (corteza

---

somatosensorial, CSS) (ver figura 2). Se colocó un electrodo de acero inoxidable en cada uno de los trépanos, se le colocó un conector y se dejó en recuperación de la cirugía por un período de siete días.

Después de siete días de recuperación postquirúrgica, las ratas se sometieron a estimulación eléctrica hipocampal. Primero se amplificó la señal y se obtuvo un registro de EEG durante dos minutos a través de un polígrafo Grass modelo 78D. La señal del registro se digitalizó y se capturó en una computadora PC a través del programa computarizado RHYMTH. Se dieron estímulos en el GDH (100 HZ, 250  $\mu$ A, 1 mSeg) durante 20 segundos, 10 veces a intervalos de 20 minutos, con un estimulador Grass S88. Antes y después del estímulo se hizo el análisis de frecuencias del EEG (EEG espectral) tanto del GDH y de la CSS (ver figura 3). El análisis automatizado de la frecuencia, amplitud o voltaje y duración, y el uso de métodos computarizados pueden aumentar la resolución de las bandas de frecuencia del EEG. Se pueden dividir la ondas cerebrales en seis grupos principales que se muestran en la tabla siguiente.

---

TABLA DE FRECUENCIAS DE ONDA DEL ELECTROENCEFALOGRAMA.

BANDA	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
DELTA	0.75 HZ	3.75 HZ
THETA	4.00 HZ	7.75 HZ
ALFA	8.00 HZ	12.75 HZ
BETA	13.00 HZ	20.25 HZ
BETA 1	20.50 HZ	25.25 HZ
BETA 2	25. 50 HZ	31.00 HZ

**Ritmo Alfa.**

Se define como el ritmo de 8-13 Hz que ocurre durante el estado de alerta sobre la región posterior de la cabeza, generalmente con voltajes altos sobre las áreas occipitales. La amplitud es variable en su mayor parte, menor de 50 mV en adultos. Se incrementa en sujetos con ojos cerrados y bajo condiciones de relajación física y relativa inactividad mental.

**Ritmo Beta.**

El ritmo beta representa una banda de frecuencia hacia arriba de 13 Hz. La actividad beta se encuentra en adultos sanos. Constituyen junto con el ritmo alfa, el dúo de ritmos del adulto normal en estado de vigilia. Su frecuencia está comprendida entre 14-30 Hz. Su origen está vinculado con las regiones frontocentrales (rolándicas) siendo bilateral pero no

sincrónico. Su voltaje oscila entre 5-10 mV.

#### **Ritmo Theta.**

El término theta fue introducido por WALTER y DOVEY (1944) y denota el rango de frecuencias de 4-7 Hz o 4-7.5 Hz. Su origen parece ser talámico, con topografía parietal y temporal media, con propagación por delante hasta las zonas posteriores del lóbulo frontal y, por detrás, hasta el vértex.

Las ondas theta son simétricas y sincrónicas, pero no siempre rítmicas, por lo que su abundante presencia otorga cierto grado de desorganización al trazado. Estas suelen disponerse en brotes de aspecto fusiforme.

#### **Ritmo Delta.**

Es el más lento de todos los ritmos. Su frecuencia siempre está debajo de los 4 Hz. A veces es tal su lentitud, que se inscribe una onda o la mitad de una onda por segundo.

conociendo de antemano que existe una relación inversa entre frecuencia y voltaje, se comprende que las ondas delta sean por lo general de gran voltaje y, a la inversa, la frecuencia beta es de bajo voltaje. En estados fisiológicos suelen verse asociadas en el sueño y la hiperpnea.

En el presente estudio solo se hizo el análisis de frecuencia y de amplitud (potencia) de las bandas delta, theta, alfa y beta del EEG y los resultados se muestran como el porcentaje de actividad de cada banda después de la sesión de estimulación eléctrica.

---

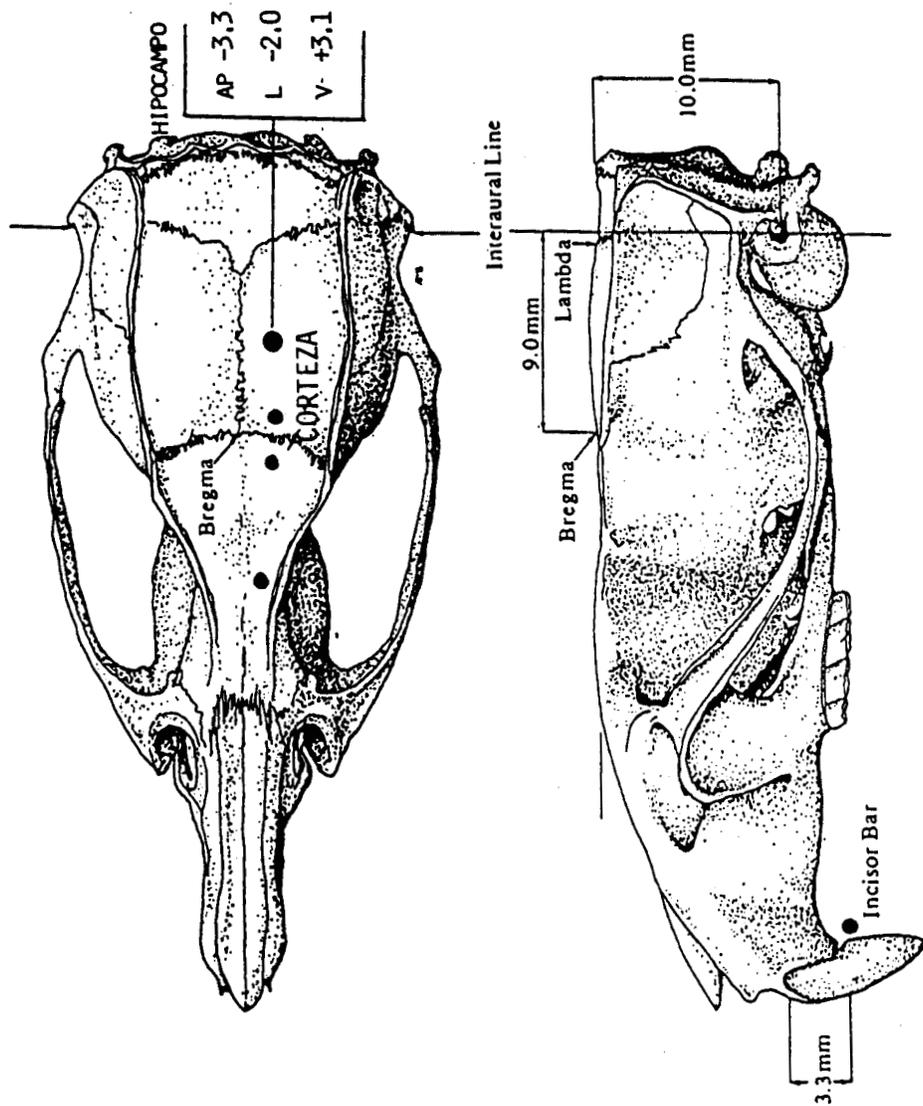


Figura 2.- Muestra las coordenadas de localización del hipocampo y la corteza somatosensorial de la rata.

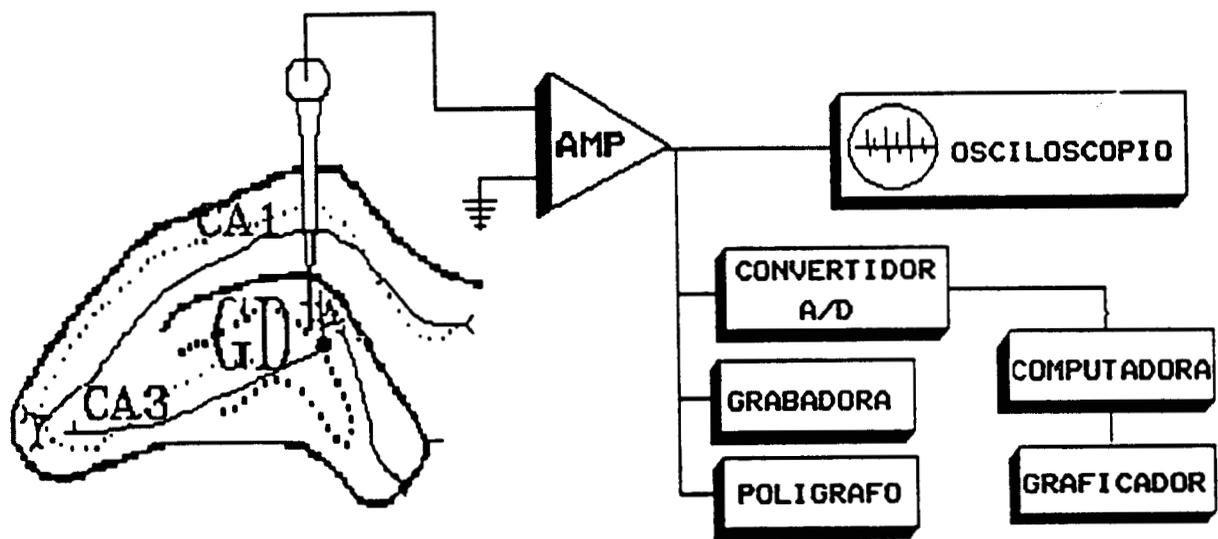


Figura 3.- Diagrama del sistema de registro y análisis de las señales bioeléctricas.

### **9.3 Inducción de "Kindling" químico con pentilenetetrazol.**

Cuando los ratones machos cepa Taconic, cumplieron 12 semanas de edad se les sometió a la inducción de "kindling" químico con PTZ a tres niveles de dosis: 40mg/kg, 50mg/kg y 60 mg/kg, sc, durante 10 días, una inyección cada 24 hs. Después de aplicada la inyección se les hizo la evaluación conductual durante 30 min y se cuantificó el número y latencia de la primera mioclonia, número y latencia a la primera crisis parcial, número y latencia a la primera crisis generalizada y el registro del porcentaje de muerte por convulsión (BECKER, 1991; LÖSCHER, 1993).

### **9.4 Análisis estadístico.**

Se aplicaron las pruebas estadísticas de la prueba paramétrica de "t" de Student para las variables continuas y las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y "U" de Mann-Whitney para las variables no paramétricas. Se consideró que existía diferencia significativa entre el grupo control y el experimental a una  $P < 0.05$ .

## 10. RESULTADOS

### 10.1 Actividad relativa de las bandas del EEG en el GDH y la CSS de la rata.

En la figura 4 y 5 se muestra la actividad relativa delta de la CSS y del GDH de la rata respectivamente después de la estimulación eléctrica. Se puede observar un incremento significativo ( $P < 0.05$ ) de la actividad delta en dichas estructuras cerebrales en las ratas tratadas en la etapa neonatal con GMS con respecto al grupo control.

En la figura 6 y 7 se muestra la actividad relativa theta de la CSS y del GDH de la rata respectivamente después de la estimulación eléctrica de los animales control y experimentales en este caso no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre el grupo de las ratas control y el grupo de las ratas tratadas en la etapa neonatal con el GMS.

En la figura 8 y 9 se muestra la actividad relativa de la banda alfa de la CSS y del GDH respectivamente de la rata después de la estimulación eléctrica de ambos grupos de animales. En el caso de la actividad relativa alfa del GDH (figura 8), no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de animales. Pero en la CSS (figura 9), se observó una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) de la actividad alfa de las ratas tratadas con el GMS en la etapa neonatal.

En la figura 10 y 11 se muestra la actividad relativa beta de la CSS y del GDH respectivamente, después de la estimulación eléctrica en ambos grupos de animales. En ambas

estructuras cerebrales de la rata tratada en la etapa neonatal con el GMS se observa una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) de la actividad beta con respecto al grupo de ratas control.

Estos resultados indican que la actividad de ondas de alto voltaje (0.75-3.75) están aumentadas y que las ondas de "bajo" voltaje (8-20 Hz) están disminuidas en las ratas que se trataron en la etapa neonatal con el GMS. Asimismo, se puede señalar que la estimulación eléctrica a lo largo del experimento no modificó el patrón de actividad eléctrica en el electroencefalograma. Sin embargo se observó que la CSS fue más sensible ya que mostró más alterada su actividad eléctrica con respecto al GDH.

## **10.2 Sensibilidad a la inducción de "kindling" por el PTZ en los ratones.**

Los efectos evaluados durante la primera media hora de aplicado el PTZ fueron la latencia a la primera mioclonia, así como la frecuencia de su presentación, la latencia a la primera crisis parcial, el número de crisis presentadas durante ese lapso de tiempo; la latencia a la primera crisis generalizada y su incidencia durante 30 minutos después de administrado el fármaco y la muerte por convulsión en cada sesión de "kindling".

### **10.2.1 Latencia a presentar la primera mioclonia.**

Los ratones tratados en la etapa neonatal con GMS mostraron una tendencia a una latencia menor a la primera mioclonia para cada una de las dosis (40, 50, y 60 mg/kg, PTZ) figuras.- 12, 13 y 14 respectivamente, sin embargo sólo se encontraron diferencias

estadísticamente significativas en algunas sesiones de tratamiento para la inducción de "kindling" con el PTZ. Con la dosis de 40 mg/kg de PTZ, (figura 12) sólo se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre el grupo control y el grupo experimental en las sesiones de "kindling": uno, seis y nueve. En la figura 13, se muestran los resultados obtenidos con la dosis de 50mg/kg de PTZ se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), en las sesiones de "kindling": uno, tres, cinco, seis, y diez. Asimismo en la figura 14, con 60 mg/kg de PTZ se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre el grupo control y el grupo tratado con el GMS en las sesiones de "kindling": uno, tres y ocho. En general los ratones tratados en la etapa neonatal con GMS mostraron una mayor incidencia a presentar en menor tiempo mioclonias después de haber administrado el PTZ que los ratones control.

#### **10.2.2 Latencia a presentar la primera crisis parcial.**

Los ratones tratados con el neurotóxico en la etapa neonatal mostraron una tendencia a presentar en un tiempo menor la primera crisis parcial después de haber administrado el PTZ a los tres niveles de dosis estudiados (40, 50 y 60 mg/kg), Figuras 15, 16 y 17 respectivamente, sin embargo no se, encontramos diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratado con el neurotóxico.

#### **10.2.3 Incidencia en el número de mioclonias con PTZ.**

El número de mioclonias se cuantificó en cada sesión de administración de PTZ a los tres niveles de dosis. Se encontraron

---

diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el número de mioclonias presentadas durante los 30 minutos de observación entre el grupo control y el grupo de ratones neurointoxicados neonatalmente con el GMS.

En la figura 18 se puede observar que los ratones expuestos al GMS en la etapa neonatal presentaron en promedio para cada sesión de "kindling" con PTZ (40 mg/kg) un mayor número de mioclonias que los ratones control este fenómeno fue consistente a lo largo de las sesiones: uno, tres, cuatro, seis, siete, ocho, nueve y diez, que mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), entre ambos grupos en estudio (figura 18). Asimismo se puede hacer notar que a medida que se incrementa el número de inyecciones con el PTZ se presentan cada vez mayor número de mioclonias fenómeno claramente diferenciable entre el grupo experimental y el control este aspecto se puede apreciar en la figura 19.

En el caso de los ratones que se sometieron a la inducción de "kindling" con el PTZ a la dosis de 50 mg/kg, se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las diez sesiones de "kindling" (figura 20), se manifiestaron mayor número de mioclonias por sesión de los animales neurointoxicados en la etapa neonatal con el GMS. También se puede observar que a medida que se avanza en las sesiones de tratamiento con el PTZ, el número de mioclonias para ambos grupos de ratones se incrementa (figura 21).

En el caso de los ratones que recibieron la dosis de 60 mg/kg de PTZ se observó el mismo fenómeno, solo que el número de ratones del grupo experimental fue disminuyendo por la muerte

provocada por la convulsión, a medida que aumentaban los días de tratamiento con el convulsivante; este hecho modificó el comportamiento de la curva (figura 22); solo se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), para las sesiones de "kindling": uno, cuatro, seis, siete y ocho.

#### **10.2.4 Número de crisis parciales y crisis generalizadas.**

Los ratones tratados en la etapa neonatal con el GMS mostraron ser más sensibles a las crisis parciales como se puede observar en las figuras 23 y 24 con las dosis de PTZ de 40 y 50 mg/kg, respectivamente. Se puede observar que a medida que progresa el número de sesiones aumenta significativamente la incidencia de crisis parciales para ambos grupos de ratones; con preponderancia de los animales neurointoxicados con el GMS.

En el caso del número de crisis generalizadas se observa el mismo fenómeno. Los ratones neurointoxicados en la etapa neonatal con el GMS mostraron mayor sensibilidad a las crisis generalizadas, que los animales control. Este aspecto se ilustra en las figuras 25 y 26 que corresponden a las dosis de PTZ de 50 y 60 mg/kg respectivamente. En el caso de la dosis de 60 mg/kg de PTZ se registró la letalidad producida por la convulsión a lo largo de las sesiones de "kindling" y se observó que los ratones que recibieron el tratamiento neonatal con el GMS fueron claramente más sensibles al efecto letal en relación con los animales control (figura 27).

---

# ACTIVIDAD RELATIVA DELTA EN CORTEZA CEREBRAL

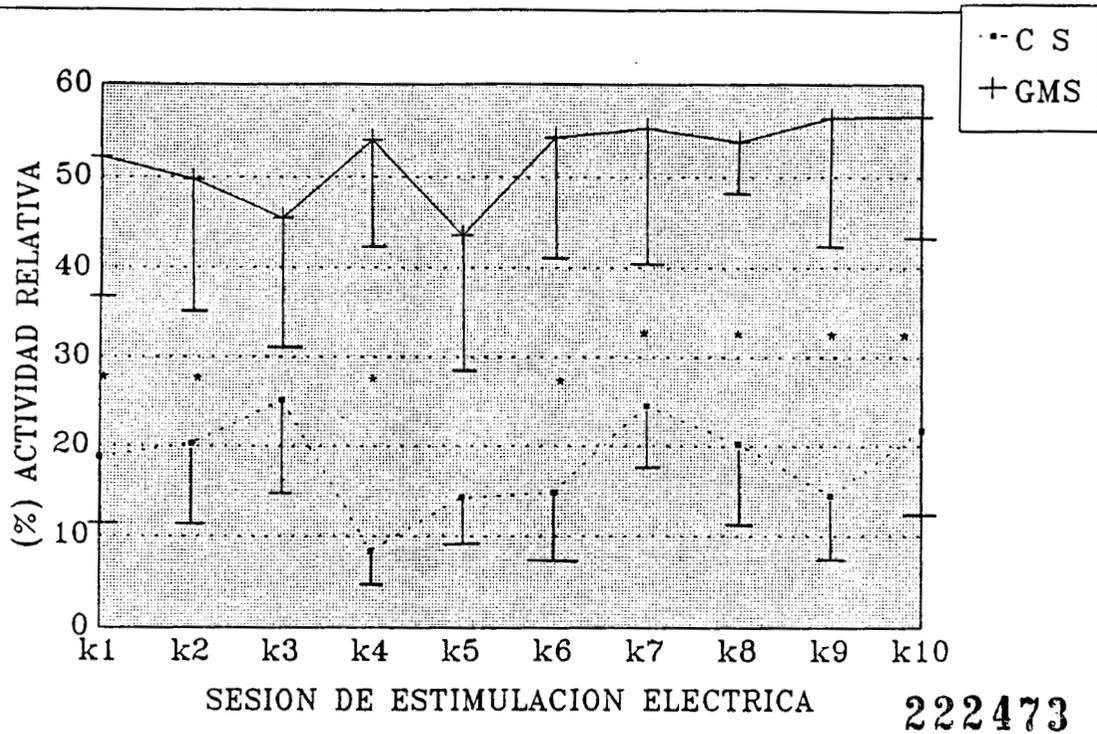


Figura 4.- Muestra el porcentaje de actividad delta de la CSS de la rata después de cada estimulación eléctrica (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

# ACTIVIDAD RELATIVA DELTA DE HIPOCAMPO

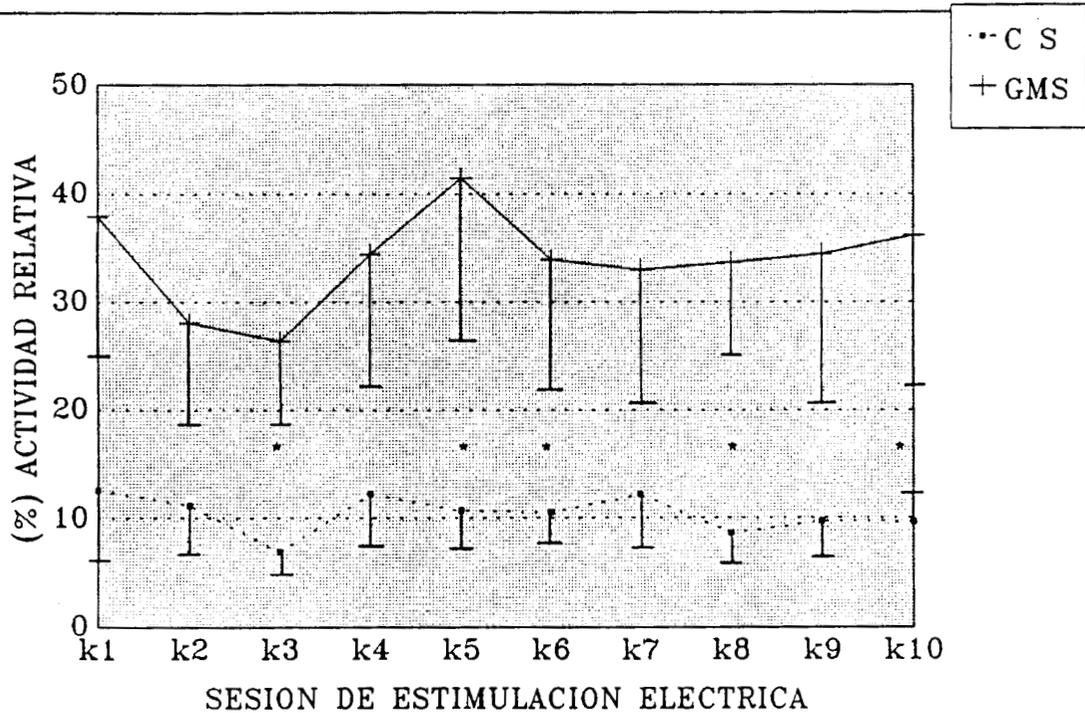


Figura 5.- Muestra el porcentaje de actividad delta del hipocampo de la rata después de cada estimulación eléctrica (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

# ACTIVIDAD RELATIVA THETA DE CORTEZA CEREBRAL

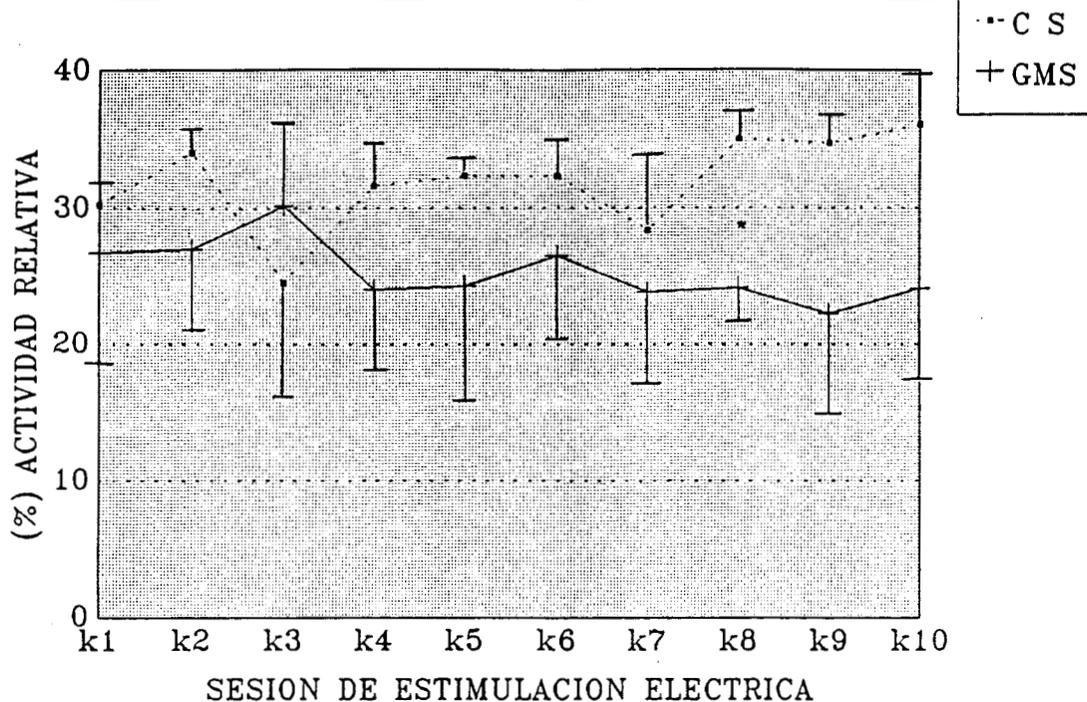


Figura 6.- Se muestra el porcentaje de la actividad theta de la CSS de la rata después de estimular eléctricamente (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

# ACTIVIDAD RELATIVA THETA DE HIPOCAMPO

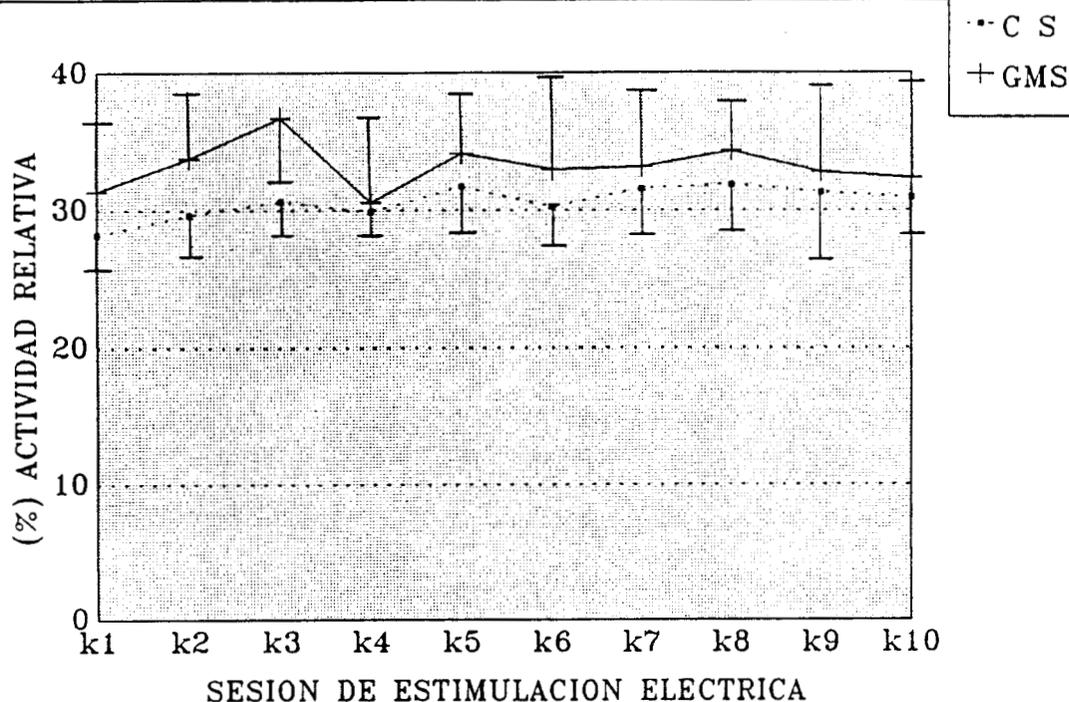


Figura 7.- muestra el porcentaje de la actividad theta del hipocampo de la rata después de estimular eléctricamente (eje de las "X"). los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## ACTIVIDAD RELATIVA ALFA DE CORTEZA CEREBRAL

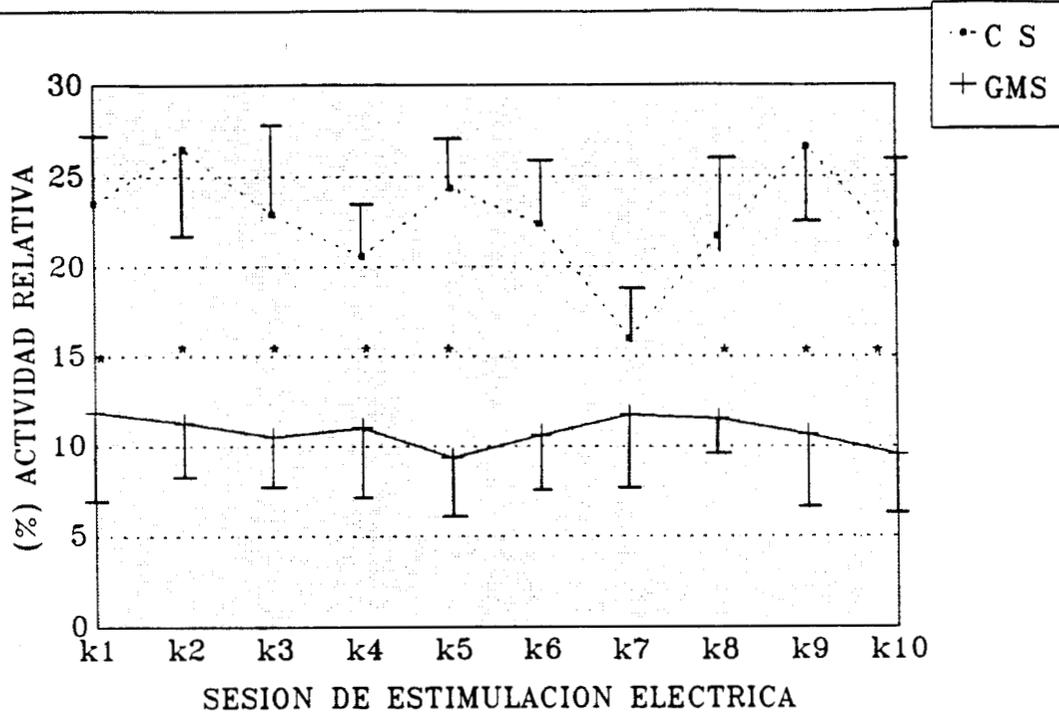


Figura 8.- Muestra el porcentaje de actividad alfa de la CSS de la rata después de estimular eléctricamente (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad para el grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## ACTIVIDAD RELATIVA ALFA DE HIPOCAMPO

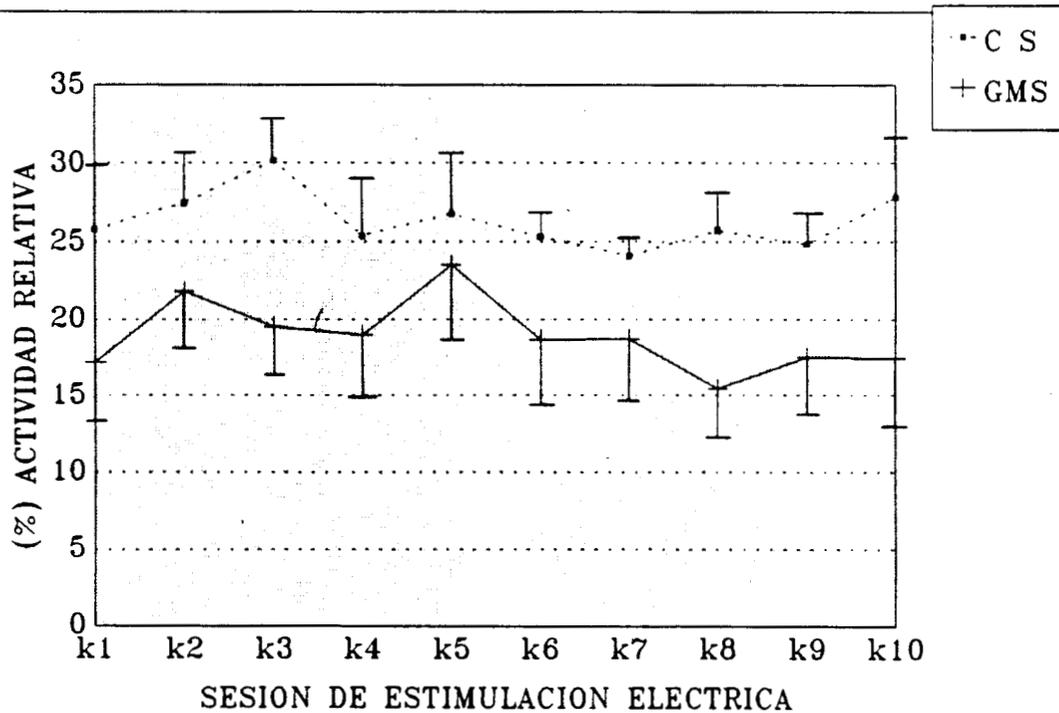


Figura 9.- Muestra el porcentaje de la actividad alfa en el hipocampo de la rata después de estimular eléctricamente (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

# ACTIVIDAD RELATIVA BETA DE CORTEZA CEREBRAL

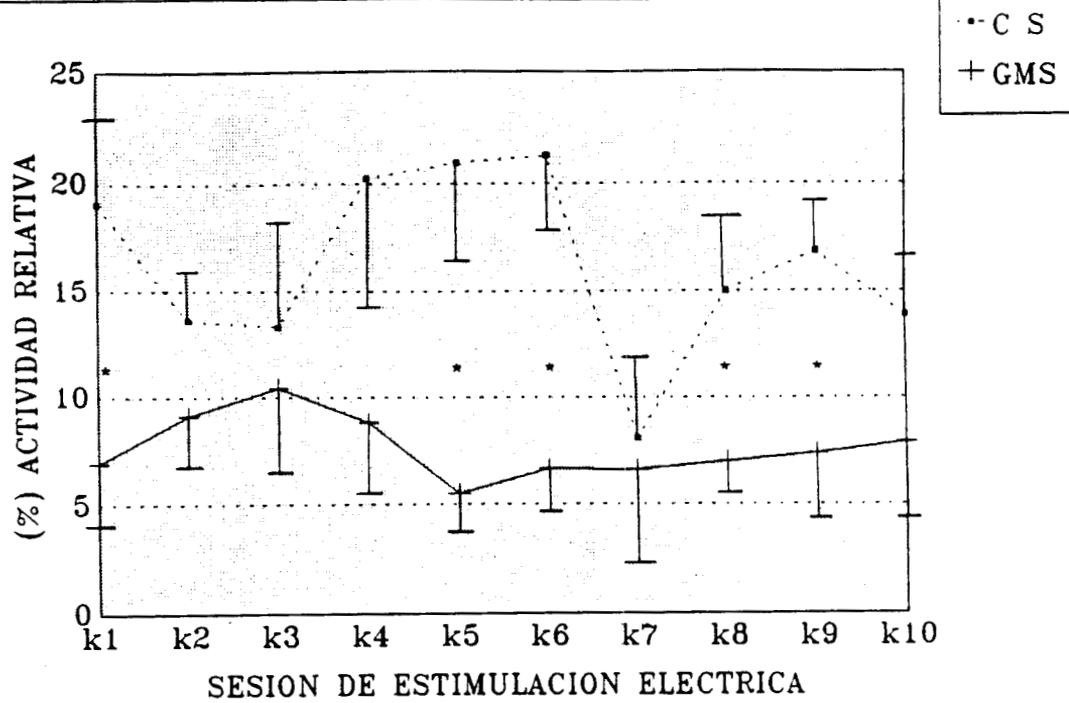


Figura 10.- Muestra el porcentaje de actividad beta de la CSS de la rata al estimular eléctricamente (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \* P<0.05, I es.

# ACTIVIDAD RELATIVA BETA DE HIPOCAMPO

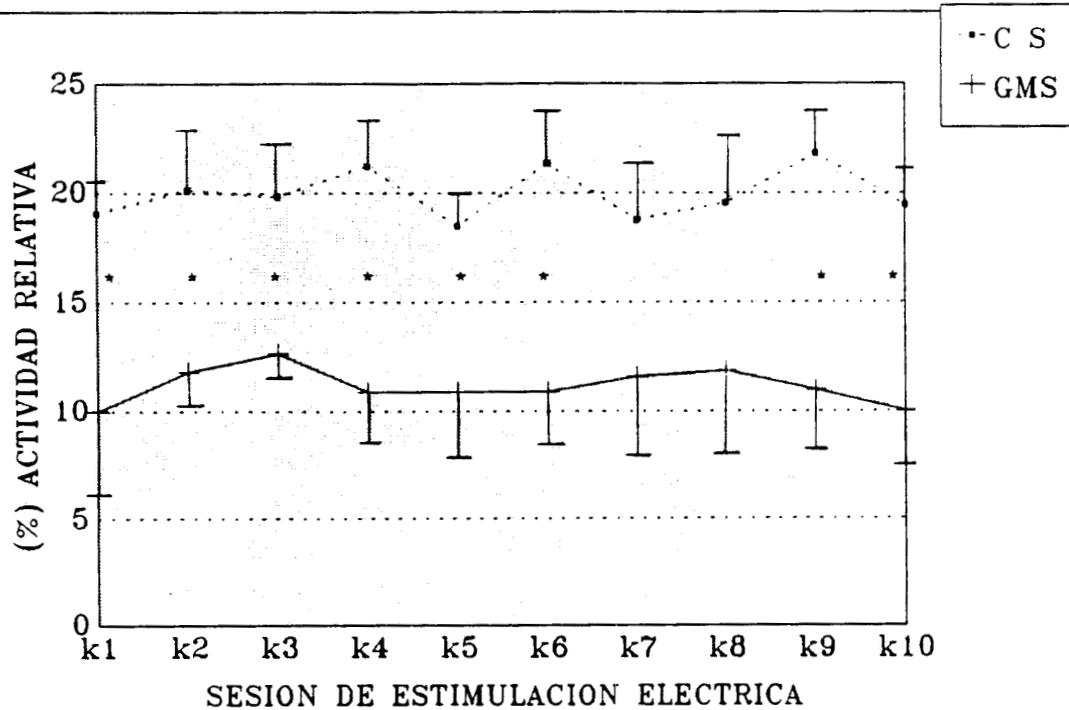


Figura 11.- Muestra el porcentaje de actividad beta del hipocampo de la rata después de estimular eléctricamente (eje de las "X"). Los puntos corresponden a la actividad del grupo control salino (CS) y las cruces corresponden a la actividad del grupo tratado con el GMS. \* P<0.05, I es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA MIOCLONIA

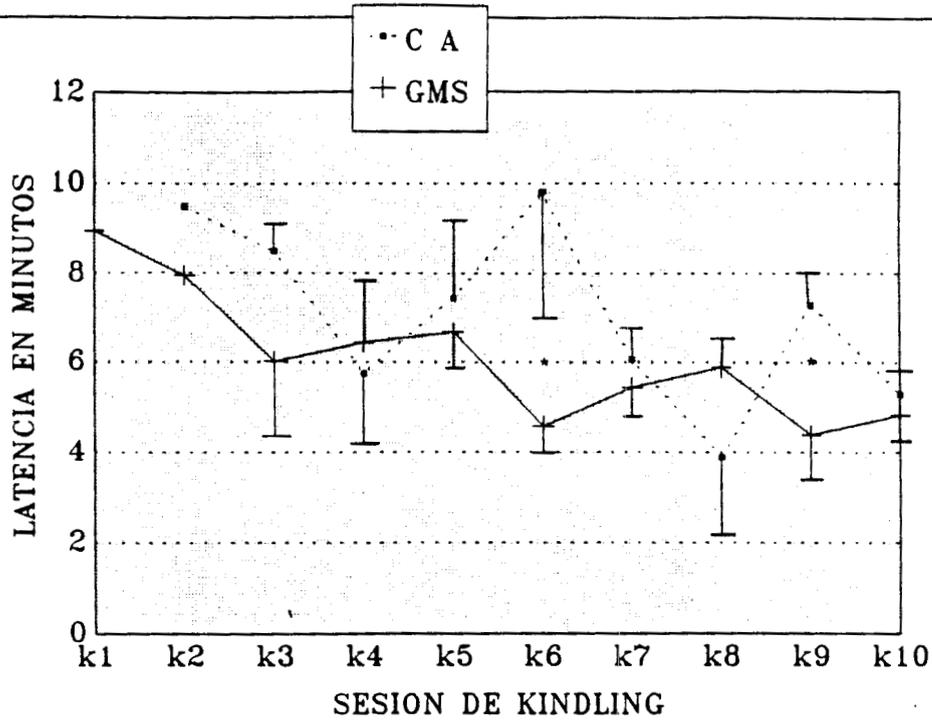


Figura 12.-Muestra la latencia en que los ratones presentan la primera mioclonia después de administrar el PTZ (40 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos representan al grupo control absoluto (CA) y las cruces representan al grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA MIOCLONIA

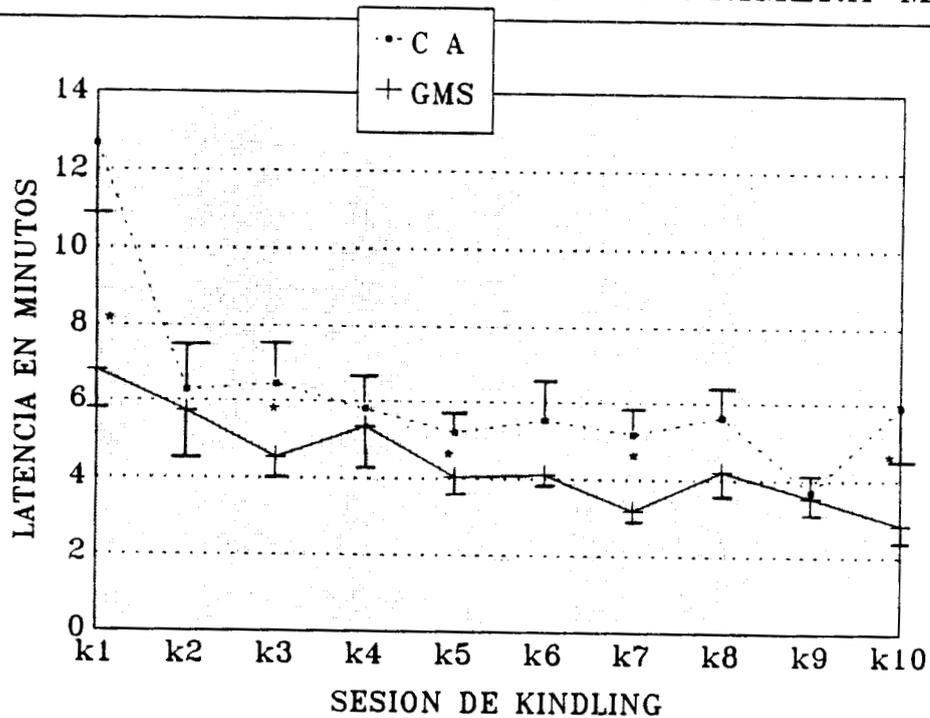


Figura 13.-Muestra la media a la latencia en que se presenta la primera mioclonia en los ratones después de administrar el PTZ (50mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \*  $P < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA MIOCLONIA

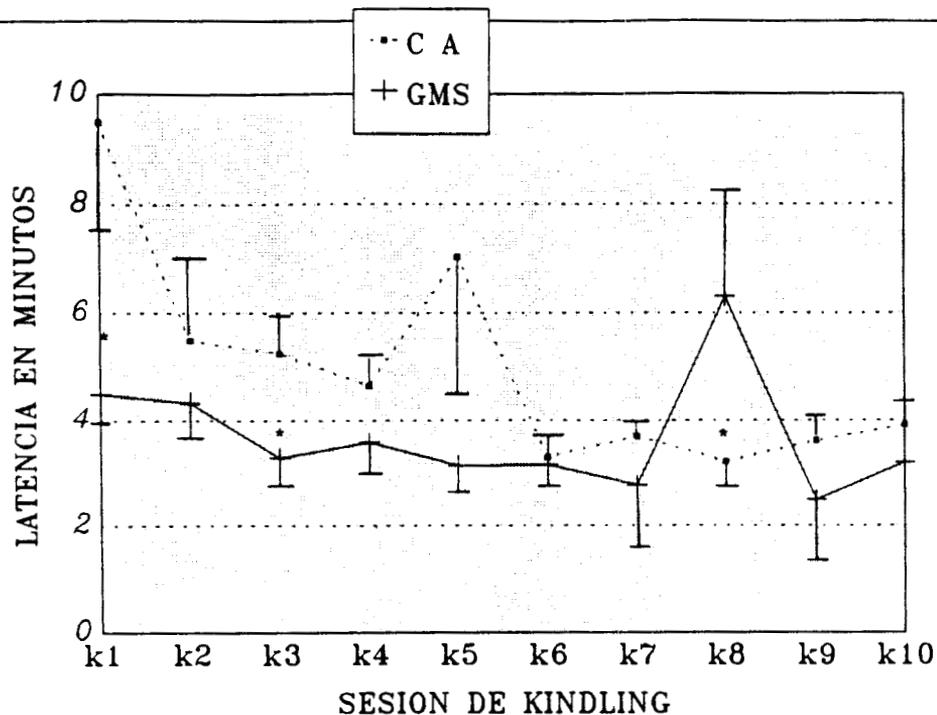


Figura 14.-Muestra la latencia a la primera mioclonia que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (60 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \* $P < 0.05$ , es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA CRISIS PARCIAL

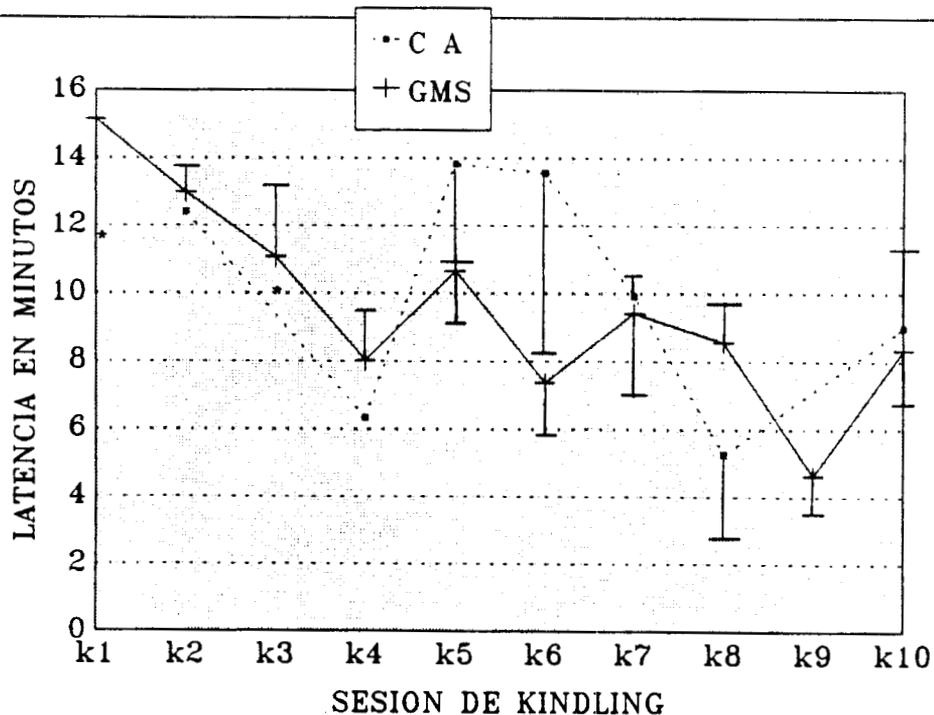


Figura 15.- Muestra la latencia a la primera crisis parcial de los ratones después de administrado el PTZ (40 mg/kg, 10 días, c/24, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \* $p < 0.05$ , es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA CRISIS PARCIAL

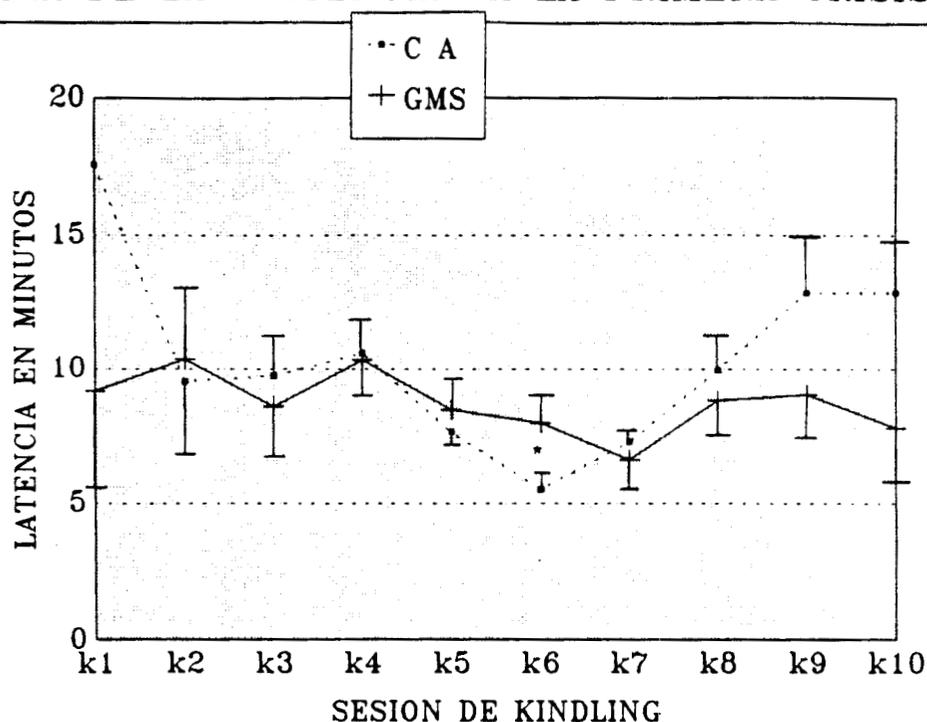


Figura 16.- Muestra el promedio de latencias a la primera crisis parcial que presentaron los ratones después de administrar PTZ (50 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \*  $p < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## MEDIA DE LAS LATENCIAS A LA PRIMERA CRISIS PARCIAL

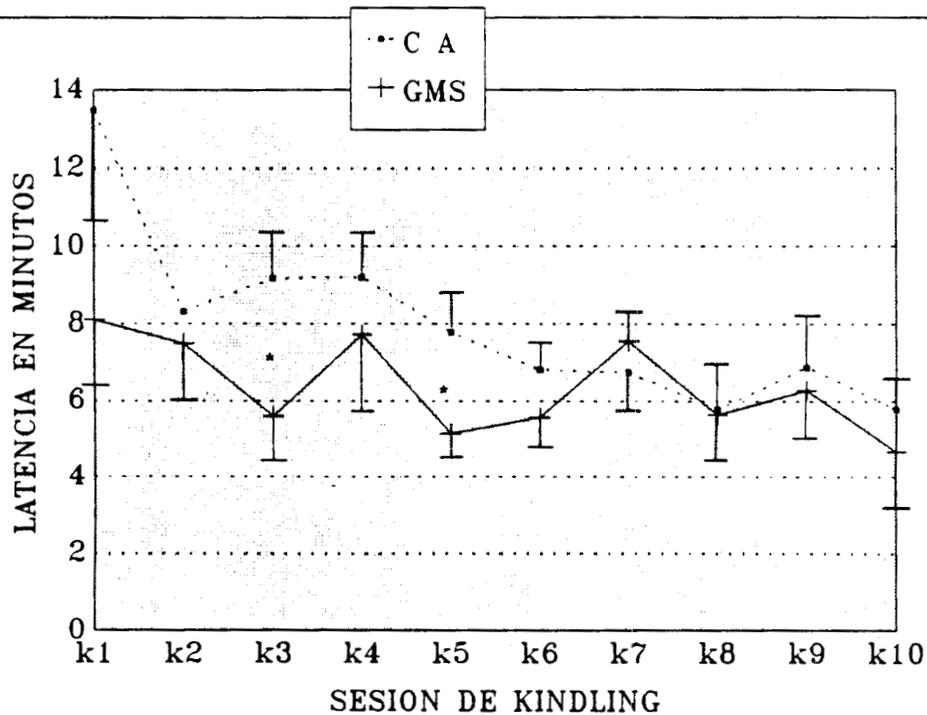


Figura 17.- Muestra las latencias a la primera crisis parcial que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (60 mg/Kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \*  $p < 0.05$ ,  $\bar{I}$  es.

## PROMEDIO DEL NUMERO DE MIOCLONIAS

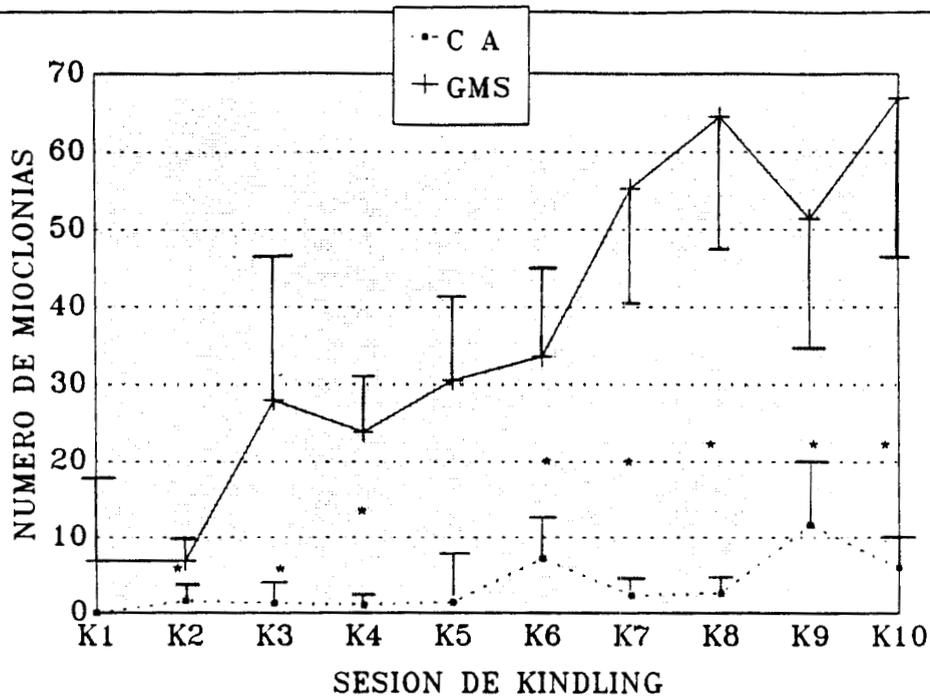


Figura 18.- Muestra la media del número de mioclonias que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (40 mg/kg, 10 días, cada 24 hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \* $p < 0.05$ , I es.

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS MIOCLONIAS

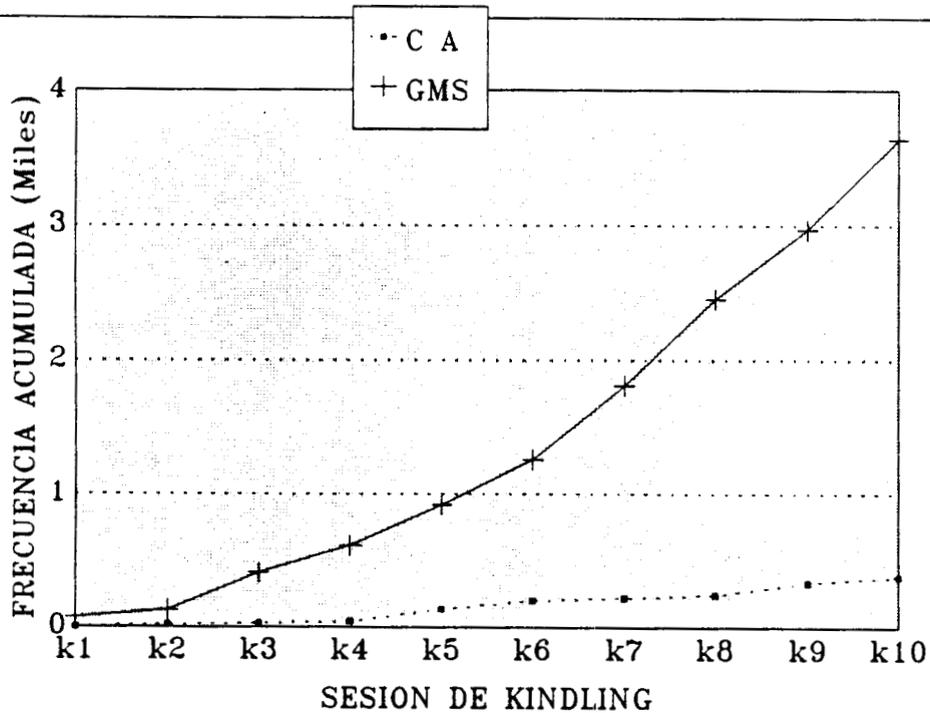


Figura 19.- Muestra la frecuencia acumulada del número de mioclonias que presentaron los ratones durante las sesiones de administración (k#) del PTZ (40 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

## PROMEDIO DEL NUMERO DE MIOCLONIAS

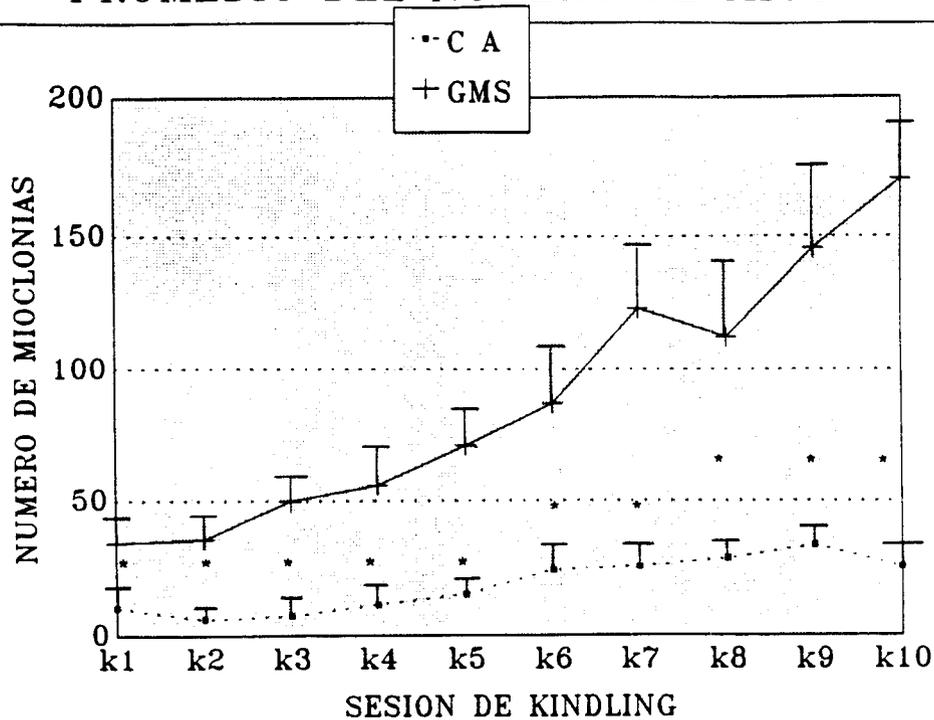


Figura 20.- Muestra el número de mioclonias que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (50mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo de animales control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \*  $p < 0.05$ ,  $\bar{I}$ es.

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS MIOCLONIAS

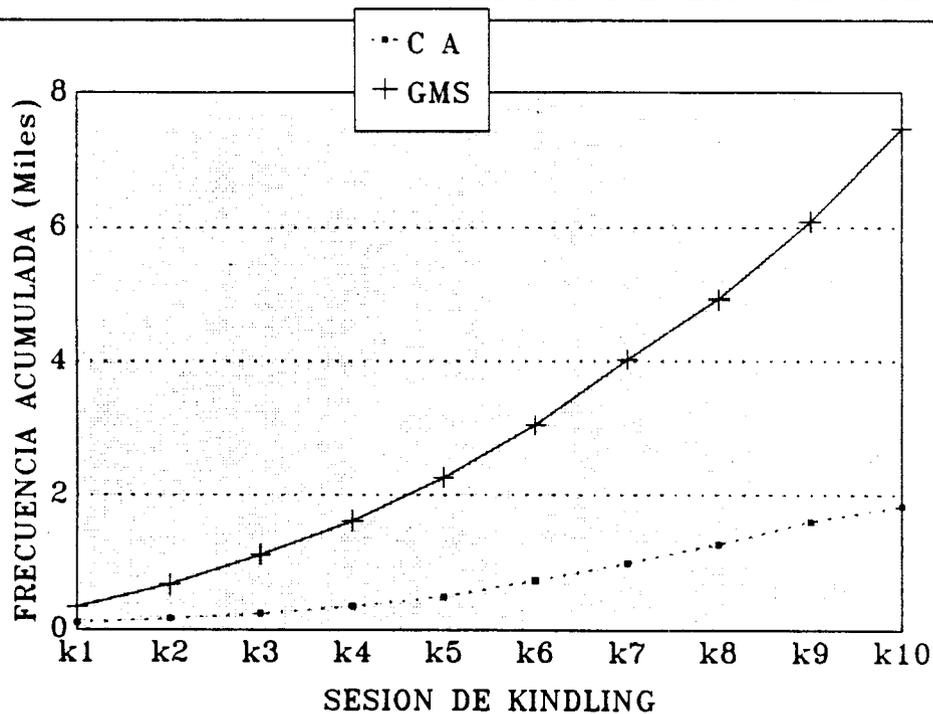


Figura 21.- Muestra la frecuencia acumulada de las mioclonias que presentaron los ratones después de administrar el PTZ (50mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

# PROMEDIO DEL NUMERO DE MIOCLONIAS

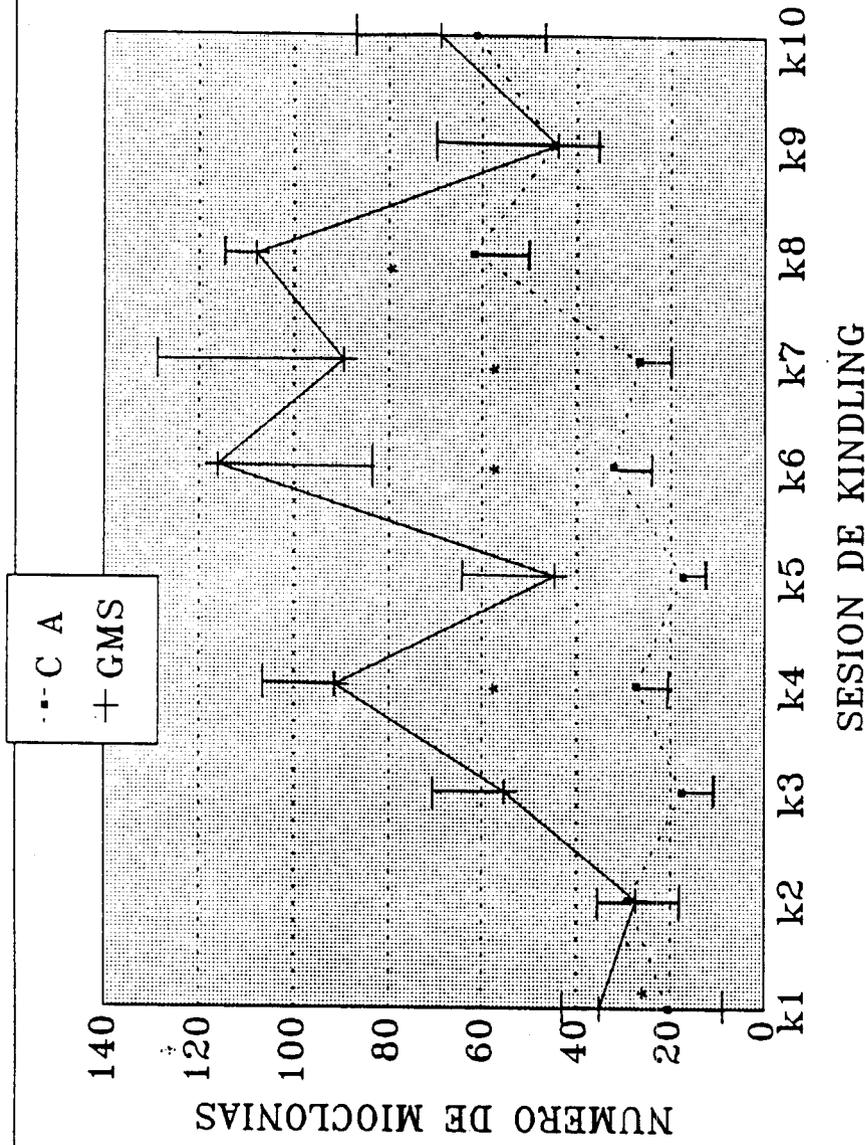


Figura 22.- Muestra el promedio del número de mioclonias que presentaron los ratones después de administrar el PTZ (60 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS. \* p<0.05, es.

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS CRISIS PARCIALES

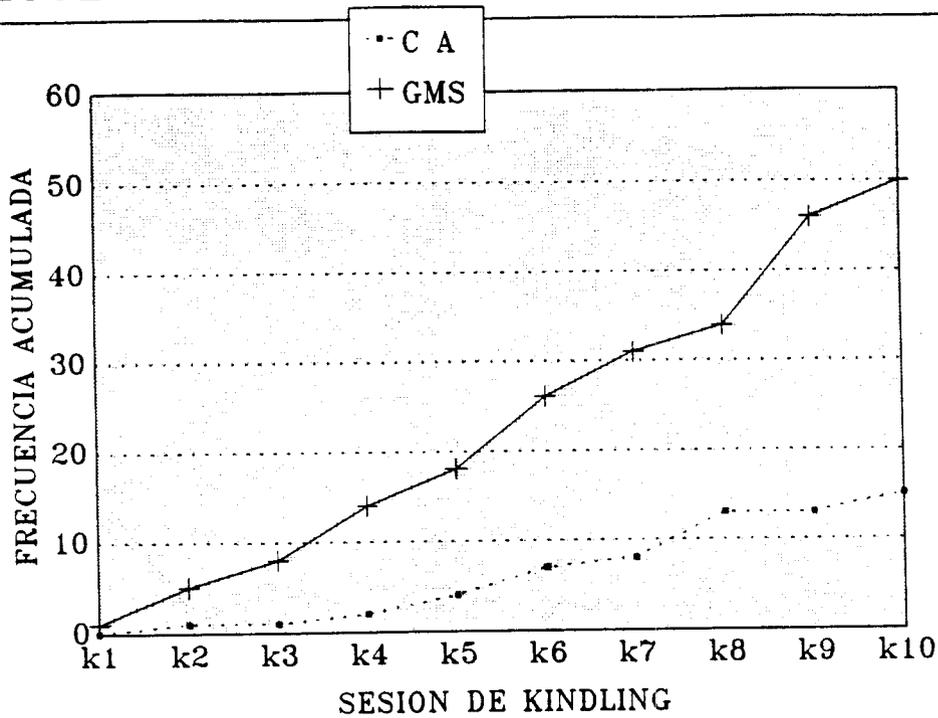


Figura 23.- Muestra la frecuencia acumulada de las crisis parciales que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (40 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden a los animales control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS CRISIS PARCIALES

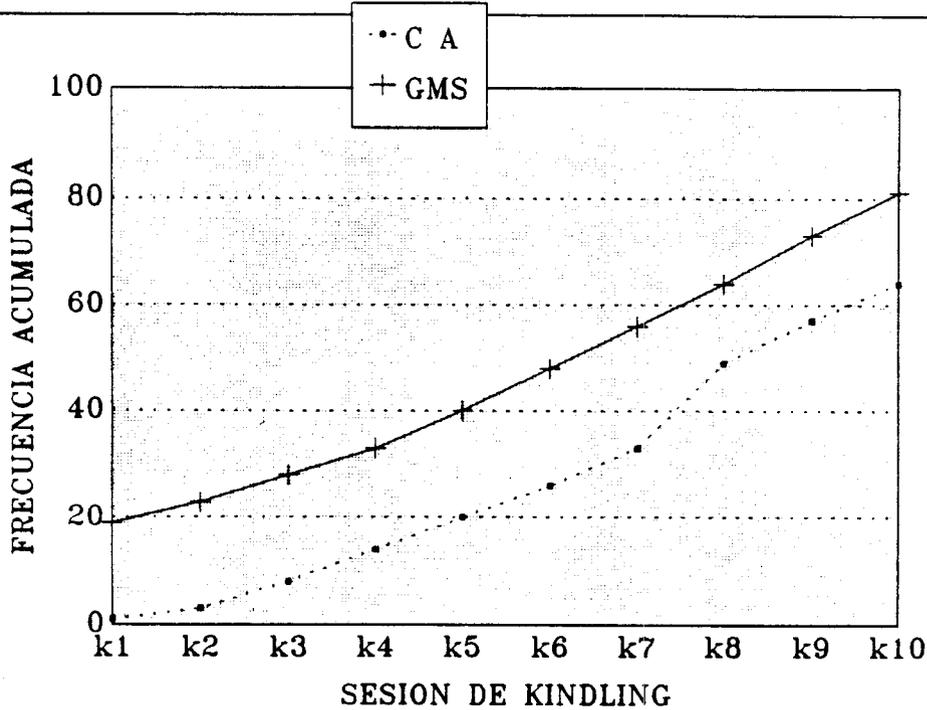


Figura 24.- Muestra la frecuencia acumulada de las crisis parciales que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (50 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES  
 CIENTÍFICAS Y DOCUMENTALES "RUBÉN GARCÍA"

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS CRISIS GENERALIZADAS

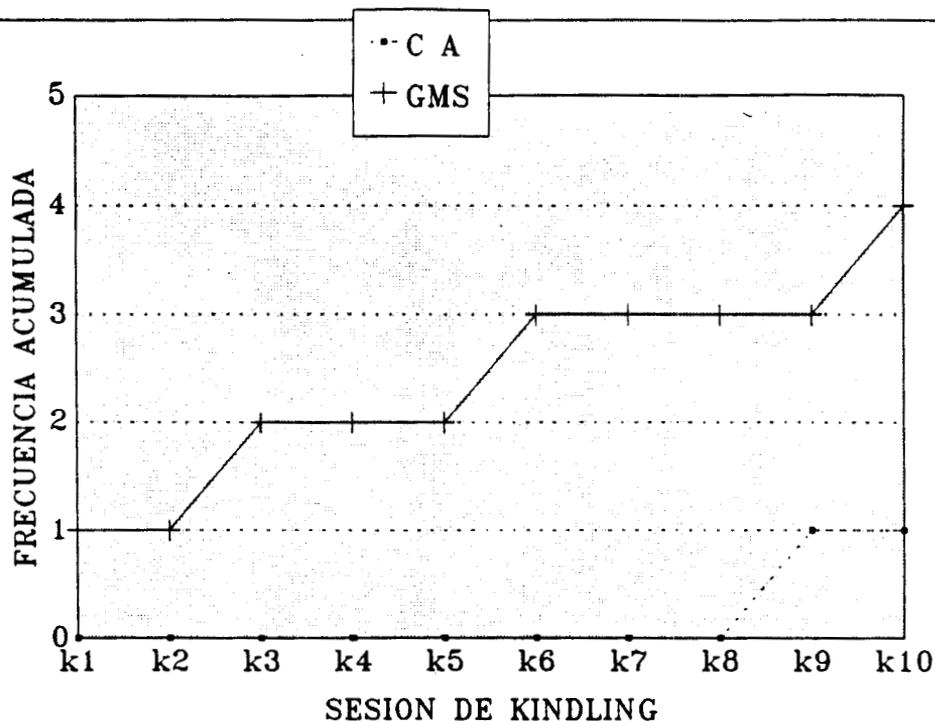


Figura 25.- Muestra la frecuencia acumulada de las crisis generalizadas que presentaron los ratones después de administrado el PTZ (50 mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

## FRECUENCIA ACUMULADA DE LAS CRISIS GENERALIZADAS

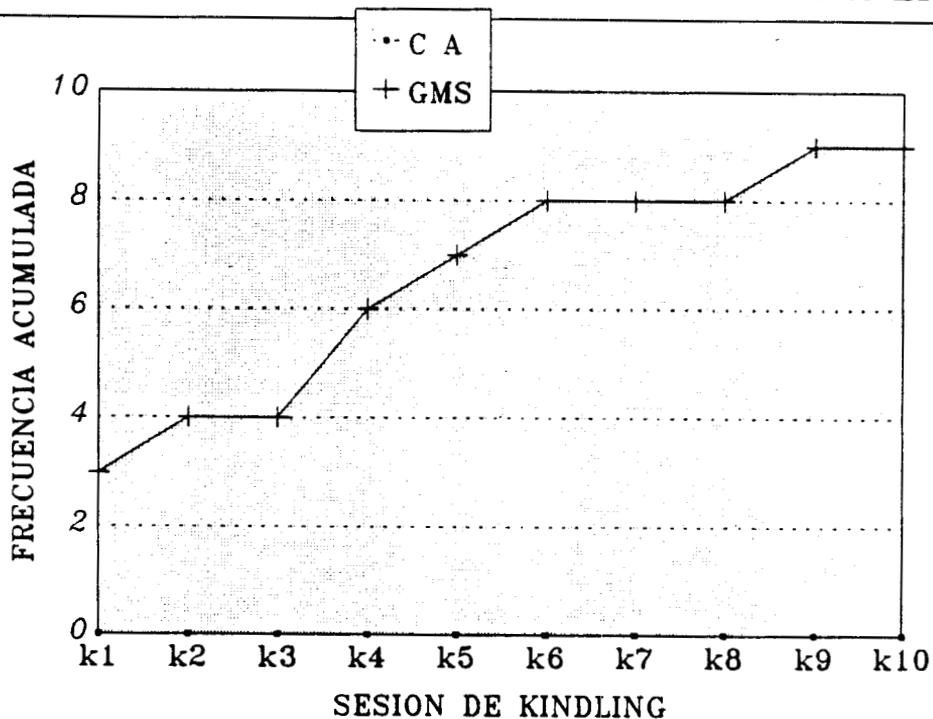


Figura 26.- Muestra la frecuencia acumulada de las crisis generalizadas que presentaron los ratones después de administrar PTZ (80mg/kg, 10 días, c/24hs, eje de las "X"). Los puntos corresponden al grupo control absoluto (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

# PORCENTAJE DE MORTALIDAD

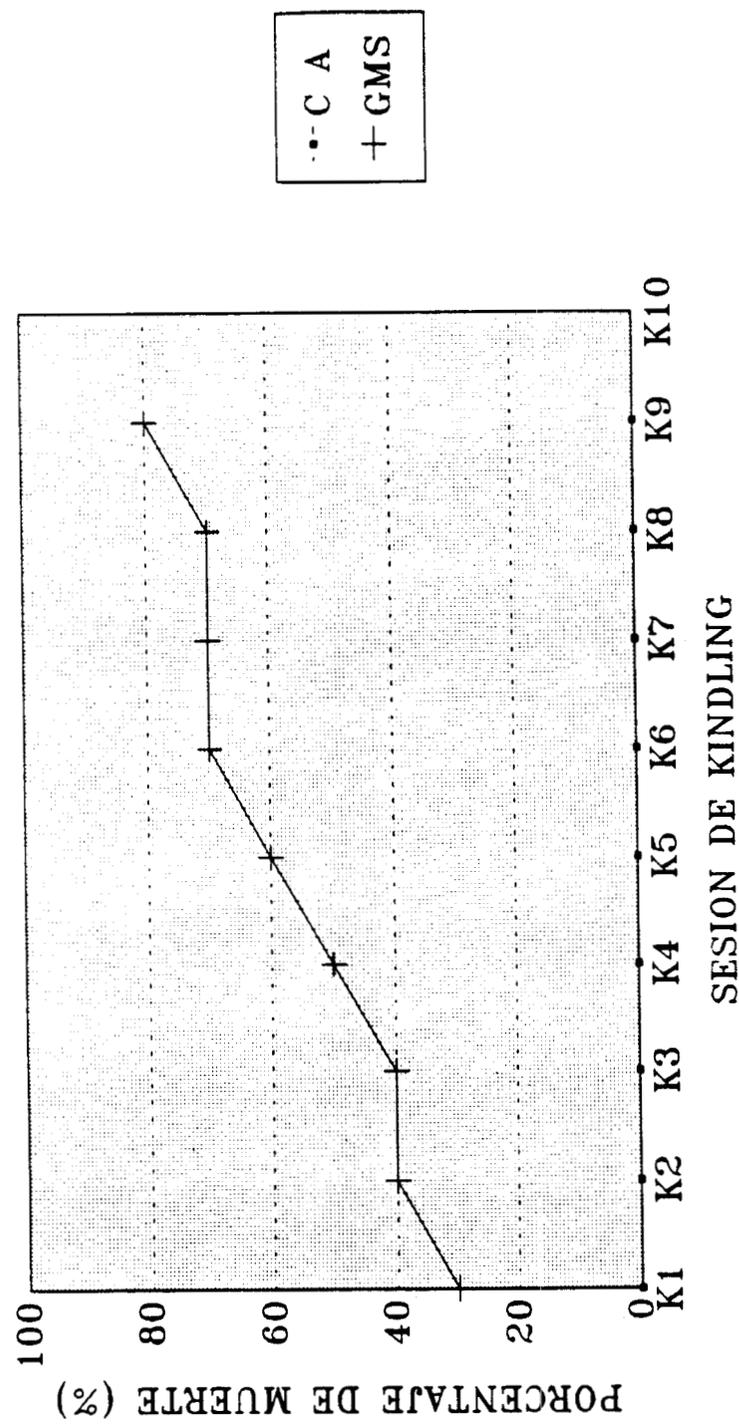


Figura 27.- Muestra el porcentaje de la mortalidad que presentaron los ratones a lo largo de las sesiones, después de administrar el PTZ (60 mg/kg, 10 días, c/24 hs, eje de las "X"). los puntos corresponden al grupo control (CA) y las cruces corresponden al grupo tratado con el GMS.

## 11. DISCUSION DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede señalar que las ratas expuestas a la excitotoxina en la etapa neonatal presentaron alteraciones en la actividad electroencefalográfica, que se manifestó como una mayor actividad eléctrica de alto voltaje en la zona hipocampal y en la CSS. Este incremento es un indicador de la existencia de alteraciones a nivel de la excitabilidad neuronal. Este aumento de voltaje en la actividad eléctrica neuronal podría manifestarse como facilitación del fenómeno de LTP que se da cuando un grupo neuronal tiene actividad eléctrica sincronizada y lo cual genera actividad eléctrica de alto voltaje.

**222473**

Por otro lado KUBO en 1993 reportó que en ratas tratadas con GMS en la etapa neonatal, a tres niveles de dosis, se producía daño hipocampal de la región CA1. Esta alteración fue dependiente de la dosis de GMS administrado. Este hallazgo señala que los roedores tratados en la etapa neonatal con el GMS no sólo tienen alteraciones a nivel de la región paraventricular hipotalámica, sino que también presentan alteraciones en otras regiones como la hipocampal y corteza cerebral que podría manifestar, como en el presente estudio en alteraciones de la actividad eléctrica del electroencefalograma de dichas estructuras. También SLOVITER en 1983 reportó que las ratas sometidas a "kindling" eléctrico y químico mostraban alteraciones neuronales muy parecidas entre sí. Dichas alteraciones no se debían a las descargas eléctricas ni al fármaco proconvulsivante sino que los métodos de inducción de "kindling" eran los

---

responsables de la liberación de aminoácidos excitatorios siendo estos los principales promotores de las alteraciones neuronales. Las alteraciones en la CSS de las ratas tratadas en la etapa neonatal con el GMS se podrían explicar porque la mayoría de las neuronas de la corteza están conectadas a neuronas que poseen receptores al glutamato y al aplicar la neurotoxina las neuronas glutamatérgicas son afectadas, repercutiendo en las neuronas corticales (DAWSON, 1993).

Los ratones tratados en la etapa neonatal con el GMS mostraron en general una mayor sensibilidad a los efectos excitatorios del PTZ, fenómeno que fue consistente para las diferentes conductas evaluadas, y para cada una de las dosis. GOMEZ en 1991 reportó que los ratones tratados en la etapa neonatal con el GMS eran menos susceptibles al efecto sedante e hipnótico del pentobarbital sódico. Este hecho hace suponer que el umbral de excitabilidad estaba disminuido. Pero también existía la posibilidad de que esta menor susceptibilidad al fármaco depresor fuera sólo consecuencia de alteraciones farmacocinéticas debido a la obesidad que presentaban dichos animales. La inducción del "kindling" con PTZ en los ratones neurointoxicados en la etapa neonatal descartó tal posibilidad ya que a lo largo de la inducción del "kindling", los ratones tratados en la etapa neonatal con el GMS fueron significativamente ( $P < 0.05$ ) más sensibles al efecto convulsivo del PTZ. Asimismo se comprobó que ambos grupos de animales, controles y experimentales son progresivamente más sensibles a medida que se avanza en el número de sesión de "kindling" químico inducido por el PTZ lo que indica que el fenómeno kindling se

instaló para ambos grupos de animales sin embargo los ratones glutamatizados fueron ostensiblemente más sensibles.

Otro antecedente que apoya que los roedores neurointoxicados con el GMS en la etapa neonatal tienen alteraciones en el umbral de excitabilidad neuronal es el daño en las neuronas GABAérgicas (JENNES, 1984) y en la propuesta de McNAMARA en 1992, quien señaló que los fenómenos de epileptogénesis pueden ser debidos a un desbalance de los neurotransmisores excitatorios/inhbitorios. También FRIEDMAN en 1994 reportó que la estimulación del receptor a kainato producía la inhibición de la síntesis del péptido alfa del receptor a GABA con lo cual se podría explicar el aumento y establecimiento de las crisis causadas por la activación del receptor, a kainato y la disminución en el número el número de receptores al GABA y por consiguiente la producción del daño neuronal causados por el establecimiento de las crisis convulsivas. Esta disminución de los receptores al GABA por el mecanismo anteriormente descrito podría explicar la mayor susceptibilidad al efecto convulsivante del PTZ de los ratones tratados con el GMS y también la actividad eléctrica de alto voltaje de las ratas tratadas con el GMS en la etapa neonatal, en relación a los animales control.

Por otra parte los trabajos de TRENDELENBURG, en 1962, mencionan que la denervación de una zona específica del sistema nervioso, por desuso, química o simplemente por disección de un nervio trae como resultado un fenómeno de hipersensibilidad a los neurotransmisores que normalmente se producían y/o liberaban en esa zona denervada en particular. En el caso de la neurointoxicación con el GMS en la etapa neonatal podría ocurrir

---

un fenómeno equivalente. Primero al aplicar el GMS, se denervan químicamente las áreas más susceptibles a la neurotoxina ya sea por la disposición anatómica para estar en contacto con la neurotoxina y por la cantidad de receptores para la misma. Cuando se produce el daño neuronal, se trata de reparar por las neuronas que no fueron afectadas por la excitotoxina compensando las funciones de las otras áreas afectadas por medio de cambios plásticos neuronales, observándose el fenómeno de hipersensibilidad al neurotransmisor suprimido. El fenómeno de plasticidad neuronal glutamatérgica ya ha sido demostrado por diversos autores (MAREN, 1993; SCHRÖDER, 1993; SMIRNOVA, 1993; LAHTINEN, 1993; HIKIJI, 1993 Y WONG, 1993), estimulando diversos receptores al glutamato y midiendo los cambios producidos en el número de receptores. La estimulación, informaron, conduce a alteraciones neuronales que se traducen en un aumento en la densidad del número de receptores en las zonas cerebrales estimuladas y se manifiestan como una disminución del umbral en la excitabilidad neuronal.

## 12. CONCLUSIONES

Los hallazgos del presente trabajo que indican alteración de la excitabilidad neuronal de los roedores tratados en la etapa neonatal con el GMS permiten concluir que pueden ser la consecuencia de varios factores:

1.- Cambios en el número de receptores al GABA por el daño neuronal producido en las neuronas GABAérgicas y/o alteración en la síntesis de GABA, lo que daría lugar a un desequilibrio en la neurotransmisión excitatoria/inhibitoria.

2.- Las alteraciones producidas por la neurotoxicidad del GMS, inducirían un el fenómeno de plasticidad neuronal, que se manifestaría como un incremento en el número de receptores glutamatérgicos, conduciendo a la disminución del umbral de excitabilidad neuronal.

3.- Se concluye también que los modelos experimentales utilizados en este trabajo, son confiables para el estudio de la neurotoxicidad inducido por el GMS, y que son de utilidad para el estudio de otros agentes neurotóxicos.

4.- Finalmente, la perspectiva del estudio señala la necesidad de cuantificar el número de receptores GABAérgicos y glutamatérgicos así como las concentraciones cerebrales del GABA y del Glu.

### 13. BIBLIOGRAFIA

ABE, M., SAITO M., AND SHIMAZU T. (1990). Neuropeptide Y in specific hypothalamic nuclei of rat treated neonatally with monosodium glutamate. BRAIN RES, 24: 289-291.

ANTONI, F. A., KANYICKSKA, B., MEZEY, E., AND MAKARA, G.B. (1982). Neonatal treatment with monosodium-L-glutamate: differential effects on growth hormone and prolactin release induced by morphine. NEUROENDOCRINOLOGY, 35:231-235.

BECKER, A., GRECKSCH, G., AND MATTHIES, H. (1991). The effect of acutely administered Beta-casomorphin derivatives on pentylenetetrazol-kindled mice. PEPTIDES, 12: 483-485.

BEN-ARI, Y., TREMBRAY, E., AND OTTERSEN, O. P. (1980). Injection of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. NEUROSCI, 5:515-528.

BLISS, T. V. P., AND LOMO, T. (1973). Long lasting potentiation of the synaptic transmission in the dentata area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J PHYSIOL, 232:331-356.

BONDAR, R. J., PORTZLINE, T., AND NILAVER, G. (1985). Differential alterations in opiods analgesia following neonatal MSG treatment. BRAIN RES BULL, 15: 299-305.

---

BONDAR, R. T., MANN, E. P., ROMERO, M-T., AND TRUESDELL (1986). Loss of morphine hyperphagia following neonatal monosodium glutamate treatment in rat. LIFE SCI, 38: 947-950.

BONDY, S. C., AND LEBEL, C. P. (1993). The relationship between excitotoxicity and oxidative stress in central nervous system. FREE RADIC BIOL MED, 14:633-642.

BORTOLOTTO, Z. A., AND COLLINGRIDGE, G. L. (1993). Characterization of LTP induced by the activation of glutamate metabotropic receptor in area CA1 of the hippocampus. NEUROPHARMACOLOGY, 32: 1-9.

BURDE, R. M., SCHAINER, B., AND KAIYES, J. (1974). Monosodium glutamate: arcuate effect of oral and subcutaneous administration of the arcuate nucleus. NATURE, 233:58-60.

COLLINGRIDGE, G. L., AND SINGER, W. (1990). Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. TIPS, 11:290-296.

COYLE, J. T., AND SCHAWARCZ, R. (1976). Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for Huntington's corea. NATURE, 263:244-246.

COYLE, J.T. (1983). Neurotoxic action of kainic acid. J NEUROCHEM, 41:1-11.

---

CROUNCHER, M. J., AND BRADFORD, H. F. (1990). NMDA receptor blockade inhibits glutamate-induced kindling of the rat amygdala. BRAIN RES, 506: 349-352.

CURTIS, D. R., WATKINS, J. C. (1960). The excitation and depression of spinal neurons by structurally related aminoacids. J NEUROCHEM, 6:117-141.

DAWSON, V. L., DAWSON, T. M., LONDON, E. D., BRED, D.S., AND SNYDER, S. H. (1991). Nitric oxide mediate glutamate neurotoxicity in primary cortical culture. PROC ACAD SCI USA, 88: 6368-6371.

DAWSON, V. L., DAWSON, T. M., BARTLEY, D. A., ULI, G. R., AND SNYDER, S. H. (1993). Mechanisms of nitric oxide-mediated neurotoxicity in primary brain cultures. J NEUROSCI, 13: 2651-2666.

FISHER, S. R. (1989). Animal models of the epilepsies. BRAIN RES REV, 14:245-278.

FRIEDMAN, L.K., PELLEGRINI-GIAMPIETRO D.E., SPERBER, E.F., BENNETT, M.V., AND MOSSHE, S.L. (1994). Kainate-induced status epilepticus alters glutamate GABA receptors gene expression in adult rat hippocampus.: an *in situ* hybridization study. J NEUROSCI, 14:2697-2707.

GODDARD, G. V., McINTYRE, D. C., AND LEECH, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *EXPTL NEUROL*, 25:295-330.

GOMEZ, C., LUJAN, M., RODRIGUEZ, R., SERVIN, D., AND CAMPOS-SEPULVEDA, A., E. (1991). Neonatal monosodium glutamate reduced pentobarbital hypnotic susceptibility in adult mice. *PROC WEST PHARMACOL SOC*, 34:469-471.

GREENAMYRE, J.T. (1986). The role of glutamate in neurotransmission and in neurologic disease. *ARCH NEUROL*, 43:1058-1063.

HIKIJI, M. TOMITA, H., ONO, M., FUJIWARA, Y., AND AKIYAMA, K. (1993). Increase of kainate receptor mRNA in the hippocampal CA3 of amygdala-kindled rats detected by *in situ* hybridation. *LIFE SCI*, 53: 857-864.

IVERSEN, L, MULVIHILL. E., HALDELMAN, B., DIEMER, N.H., KAISER, F., SHEARDOWN, M., KRISTENSEN, P. (1994). Changes in metabotropic glutamate receptor mRNA levels following global ischemia: increase of a putative presynaptic subtype (mGluR4) in highly vulnerable brain rat areas. *J NEUROCHEM*, 63: 625-633.

JACQUIN, T. G., PASQUIER, C., GILLET, B., BÉLOEIL, J.C., AND CHAMPAGNAT, J. (1988). Metabolic acidosis induced by N-methyl-D-aspartate in brain slices of the neonatal rat: P- and H-magnetic resonance spectroscopy. J NEUROSCI LETT, 92:258-290.

JENNES, L., STUMPF, W., BISSETTE, G., AND, NEMEROFF, C. B. (1984). Monosodium glutamate lesions in rat hypothalamus studied by immunohistochemistry for gonadotrophin releasing hormone, Neurotensin, tyrosine hydroxylase, and glutamic acid decarboxylase and by autoradiography for [<sup>3</sup>H]estradiol. BRAIN RES, 308:245-253.

KIENDROWSKI, L., COSTA, E., AND WROBLEWSKI, J. T. (1992). Glutamate receptor agonists stimulate nitric oxide syntasa in primary cultures of cerebelar granule cells. J NEUROCHEM, 58:335-341.

KINOSHITA et al U.S. pats 3,002,889 y 3,003,925.

KIZER, J. S., NEMEROFF, C. B. AND YOUNGBLOOD, W.W. (1978). Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. PHARMACOL REV, 29:301-317.

KRIEGER, D., AND KIZER, J. S. (1979). Brain ACTH and endorphin reduced in rat with monosodium glutamate-induced arcuate nuclear lesions. NATURE, 278:562-563.

KUBO, T., KOHIRA, R., OKANO, T., AND ISHIKAWA, K. (1993). Neonatal glutamate can destroy the hippocampal CA1 structure and impair discrimination learning in rats. BRAIN RES, 616: 311-314.

LAFON-CAZAL, M., PIETRI, S., CULCASI, M., AND BOCKAERT, J. (1993). NMDA-depent superoxide production and neurotoxicity. NATURE, 364:535-537.

**222473**

LAHTINEN, H. CASTREN, E., MIETTINEN, R., YLINEN, A., PALJÄRVI L., AND, RIEKKINEN Sr, P. J. (1993). NMDA-sensitive (<sup>3</sup>H) glutamate binding in the epileptic rat hippocampus: an autoradiographic study. NEUROREPORT, 4: 45-48.

LODGE, D. AND JONES, M.G. Evidence for glutamate receptor subtypes from *in vivo* electrophysiology studies with HA-966, quinoxalinediones and philantotoxin. IN BEN-ARI, Y. (EDS)., EXCITATORY AMINO ACIDS AND NEURONAL PLASTICITY., PLENUM PRESS NEW YORK, 1990. pp. 101 - 108.

LÖSCHER, W., AND HÖNACK, D. (1993). Profile of UCB L059, a novel anticonvulsant drug, in models of parcial and generalized epilepsy in mice and rat. EUR J PHRMACOL, 232:147-158.

LOTHMAN, E. W., BERTRAM, III, E. H., STRINGER, J. L. (1991). Functional anatomy of hippocampal seizures. IN "PROGRESS IN NEUROBIOLOGY". 37: 1-82. Pergamon press, Oxford.

LUCAS, D.R., AND NEWHOUSE, J. P. (1957). The toxic effect of sodium-l-glutamate on the inner layer of retina. ARCH OPHTHALMOL, 58:193-201.

MAREN, S., TOCCO, G., STANDLEY, S., BRAUDRY, M., AND THOMSON, R. F. (1993). Postsynaptic factors in the expression of the long-term potentiation (LTP): increased glutamate receptor binding following LTP induction *in vivo*. PROC NATL ACAD SCI USA, 90:9654-9658.

MATHIS, C. AND UNGERER, A. (1992). Comparative analysis of seizures induced by intracerebroventricular administration of NMDA, kainate and quisqualate in mice. EXP BRAIN RES, 88: 277 - 282.

MCDONALD, J.W., FIX, A.S., TIZZANO, J.P., AND SCHOEPP D.D. (1993). Seizures and brain injury in neonatal rats induced by 1s,3r-acpd, a metabotropic glutamate receptor agonist. J NEUROSCI, 13:4445-4455.

McNAMARA, J. O., BYRNE, M. C., DASSHIEIF, R. M., AND FITZ, J. G. (1980). The kindling model of epilepsy: a review. IN "PROGRES IN NEUROBIOLOGY".15 (J. W. Phillips and G. Kerkurt, ed.):139-159. Pergamon press, Oxford.

McNAMARA, J. O. (1992). The neurobiological basis of epilepsy. TINS, 15: 357-359.

---

McCAUGHRAN, Jr J. A., AND MANETTO, C. (1982). Changes in the convulsive threshold in the developing rat following chronic administration of pentylenetetrazol. *EPILEPSIA*, 23:619-627.

MORI, N., WADA, J. A. AND KUMASHIRO, H. (1989). Transfer between kindling induced either by l-glutamate or l-aspartate and electrical stimulation in rats. *BRAIN RES*, 498:163-166.

NAKAJIMA, Y., IWAKABE, H., AKAZAWA, C., NAWA, H., SHIGEMOTO, R., MIZUNO, N., AND NAKANISHI, S. (1993). Molecular characterization of a novel retinal metabotropic glutamate receptor mGluR6 with a high agonist selectivity for L-2-amino-4-phosphonobutyrate. *J BIOL CHEM*, 263:11868-11873.

OKAMOTO, N., HORIS, S., AKAZAWA, C., HAYASHI, Y., SHIGEMOTO, R., MIZUNO, N., AND NAKANISHI, S. (1994). Molecular characterization of a new metabotropic glutamate receptor mGluR7 coupled to inhibitory cyclic AMP signal transduction. *J BIOL CHEM*, 269: 1231-1236.

OLNEY, J. W. (1969). Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *SCIENCE*, 164: 719.

OLNEY, J. W. (1972). Glutamate-induced necrosis in the infant mouse hypothalamus. *J NEUROPATHL EXP NEUROL*, 31: 75-90

---

OLNEY, J. W., RHEE, V. AND HO, L.O. (1974). Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. BRAIN RES, 77: 507 - 512.

OLNEY, J. W., RHEE, V., AND GUBAREFF, T. (1977). Neurotoxic effects of glutamate on mouse in area postrema. BRAIN RES, 120: 151-157.

OLNEY, J. W., FULLER, T. AND DE GUBAREFF, T. (1979). Acute dendrotoxic changes in the hippocampus of kainate treated rats. BRAIN RES, 176:91-100.

OLNEY, J.W., FULLER, T.A., COLLINS, R.C., AND DE GUBAREFF, T. (1980). Systemic dipiperidinoethane mimics the convulsivant and neurotoxic actions of kainic acid. BRAIN RES. 200:231-235.

OHISHI, H., SHIGEMOTO, R., NAKAMISHI, S., AND MIZUNO, N. (1993). Distribution of the messenger RNA a metabotropic glutamate receptor, mGluR2 in the central nervous system of the rat. NEUROSCI, 53:1009-1018.

OZAWA, S., LINO, M., AND TSUZUKI, K. (1991). Two types of kainate response in culture rat hippocampal neurons. J NEUROPHYSIOL, 66:2-11.

OZAWA, S., AND LINO, M. (1993). Two distinct types of AMPA responses in cultured rat hippocampal neurons. NEUROSCI LETT, 155: 187-190.

PAUWELS, P. J., AND, LEYSEN, J. E. (1992). Blockade of nitric oxide formation does not prevent glutamate-induced neurotoxicity in neuronal cultures from rat hippocampus. NEUROSCI LETT, 143:27-30.

PAXINOS, G., AND WATSON, C. (1982). The rat brain in stereotaxic coordinates. ACADEMIC PRESS AUSTRALIA, SYDNEY.

PITTALUGA, A., AND RAITERI, M. (1992). N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) and non-NMDA receptor regulating hippocampal norepinephrine release. Location on axon terminals and pharmacological characterization. J PHARMACOL EXP THER, 260:232-237.

PREZEAU, L., CARRETTE, J., HELPAP, B., CURRY K., PIN, J.P., AND BOCKATERT, J. (1994). Pharmacological characterization of metabotropic glutamate receptors in several types of brain cells in primary cultures. MOL PHARMACOL, 45: 570-577.

RETZ, K.C., AND COYLE, J.T. (1982). Effects of kainic acid on high-energy metabolites in the mouse striatum. J NEUROCHEM, 38: 196 -203.

RIEDEL, G., AND REYMANN, K. (1993). An antagonist of the metabotropic glutamate receptor prevents LTP in dentate gyrus of freely moving rat. NEUROPHARMACOLOGY, 32: 929-931.

RODIN, E., RODIN, M., AND LAVINE, L. (1979). Electroclinical and ultrastructural changes associated with subconvulsant doses of pentylentetrazol. EXP NEUROL, 64:386-400.

ROMABAGNANO M. A., CHAFEL, T. L., PILCHER, W. H., AND JOSEPH, S. A. (1982). The distribution of enkephalin in the medio-basal hypothalamus of the mouse brain. BRAIN RES, 236: 479-504.

ROTHMAN, S. M. (1992). Excitotoxins: possible mechanisms of action. ANN NY ACAD SCI, 132-139.

SAITOH, M.I.T., AND SHINOZAKI, H. (1993). A new metabotropic glutamate receptor agonist: developmental change of the sensibility to receptors in the newborn rat spinal cord. NEUROSCI LETT, 160: 156-158.

SCALLET, A. C., AND OLNEY, J. W. (1986). Component of hypothalamic obesity: bipiridyl-mustard lesions add hyperphagia to monosodium glutamate induced hyperinsulinemia. BRAIN RES, 374: 380-384.

---

SCHAWARCZ, R., SCHOLZ, D., AND COYLE, J. T. (1978). Structure activity relation for the neurotoxicity of kainic acid derivatives and glutamate analogues. NEUROPHARMACOLOGY, 17: 145-151.

SCHRÖDER, H., BECKER, A., AND LÖSSNER, B. (1993). Glutamate binding to brain membranes increased in pentylenetetrazole-kindled rat. J NEUROCHEM, 60:1007-1011.

SHIGEMOTO, R., NOMURA, S., OHISHI, H., SUGIHARA, H., NAKANISHI, S., MIZUNO, N. (1993). Immunohistochemical localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, in the rat brain. NEUROSCI LETT, 163:53-57.

SHIN, C. TAMAKI, Y., WILSON, J. T., BUTLER, L., AND, SAKAGUCHI, T. (1992). NMDA-receptor mediated electrical epileptogenesis in the organotypic culture of rat hippocampus. BRAIN RES, 589:129-134.

SHOEPP, D. D., AND CONN, P. J. (1993). Metabotropic glutamate receptor in brain function and pathology. TRENDS PHARMACOL SCI, 14: 13-20.

SLOVITER, R. S. (1983). "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.

SMIRNOVA, T., LAROCHE, S., ERRINGTON, M. L., HICKS, A. A., BLISS, T. V. P., MALLET, J. (1993). Transsynaptic expression of a presynaptic glutamate receptor during hippocampal long-term potentiation. *SCIENCE*, 262: 433-436.

STERMAN M., et al. (1988). Neonatal treatment with monosodium glutamate increases plasma corticosterone in the rat. *NEUROENDOCRINOLOGY*, 48:465-649.

STONE, T.W., PERKINS, M.N., COLLINS, J.F., AND CURRY, K. (1981). Activity of the enantiomers of l-amino-5-phosphono-valeric acid stereospecific antagonists of excitatory amino acids. *NEUROSCI*, 6:2249-2252.

TABANE, Y., NOMURA, A., MASU, M., SHIGEMOTO, R., MIZUNO, N., AND NAKANISHI, S., (1993). Signal transduction, pharmacological properties, and expression patterns of two rat metabotropic glutamate receptor, mGluR3 and mGluR4. *J NEUROSCI*, 13:1372-1378.

TOKUYAMA, K., AND HIMMS-HAGEN, J. (1986). Brown adipose tissue thermogenesis, and obesity of glutamate-treated mice. *AM J PHYSIOL*, 251 (ENDOCRINOL. METAB14): E407-415.

TRENDELENBURG, U., MUSKUS, A., FLEMING, W. W., AND GOMEZ, ALONSO de la SIERRA, B. (1962). Modification by reserpine of the action of sympathomimetic in spinal cats; a classification of sympathetic amines. *J PHARMACOL*, 138: 170-180.

---

WATKINS, J. C., KROGSGAAR-LASEN, P., AND HONORE, T. (1990). Structure-activity relationships in the development of excitatory amino acid receptor agonists and competitive antagonists. *TIPS*, 11:25-33.

WATSON, S., AND GIRDLESTONE D. (1993). *TIPS* receptor nomenclature supplement 1993. *TRENDS PHARMACOL SCI*,: 17-18. fourth edition.

WALTER, W. G., DOVEY, V. J. (1944). Electroencephalography in cases subcortical tumor. *J NEUROL. NEUROSSURG PSYCHIAT*, 7:57-65.

WENTHOLD, R.J., YOKOTANI, N. DOI, K. AND WADA, K. (1992). Immunochemical characterization of the non-NMDA glutamate receptor using subunit specific antibodies. *J BIOL, CHEM*, 267: 501-507.

WILLIS, Jr., W. D., AND GROSSMAN, R. G. Limbic Structures. in "Medical Neurobiology: Neuroanatomical and neurophysiological principles basic to clinical neuroscience". 2<sup>o</sup> edition, Saint Louis, The C. V. Mosby Company press. 1977: 365-384.

WINN, P., STONE, T. W., LATINIER, M., HASTINGS, M. H., AND CLARK, A.J. M. (1991). A comparison of excitotoxic lesions of the basal forebrain by kainate, ibotenate, quinolinate, N-methyl-D-aspartate or quisqualate, and the effects on toxicity

of 2-amino-5-phosphovaleric acid and kynurenic acid in the rat. *Br J Pharmacol*, 102:904-908.

WINDER, D. G., SMITH, T., AND CONN, P. J. (1993). Pharmacological differentiation of metabotropic receptor coupled to potentiation of cyclic adenosine monophosphate responses and phosphoinositide hydrolysis. *J PHARMACOL EXP THER*, 266:796-803.

WONG, M.-L., SMITH, M. A., LICINIO, J., DOI, S. Q., WEISS, S. R. B, POST, R. M. AND, GOLD, P. W. (1993). Differential effects of kindled and electrically induced seizures on a glutamate receptor (GLUR1) gene expression. *EPILEPSY RES*, 14:221-227.

YOUNG, E., OLNEY, J., AKIL, H. (1983). Selective alterations of opiate receptor subtypes in monosodium glutamate-treated rats. *J NEUROCHEM*, 40:1558-1564.

YOUNG, R. S. K., PETROFF, O.A.C., AQUILA, W.J., AND YATES, J. (1991). Effects of glutamate, quisqualate, and N-methyl-D-aspartate in neonatal brain. *EXP NEUROL*, 111: 362 - 368.

ZACZEK, R., NELSON, M., AND COYLE, J.T. (1981) Kainic acid neurotoxicity and seizures. *NEUROPHARMACOLOGY*, 20: 183 - 189.

ZACZEK, R., AND COYLE, J.T. (1982). Excitatory amino acid analogues: neurotoxicity and seizures. *NEUROPHARMACOLOGY*, 21: 15

- 26.

**222473**

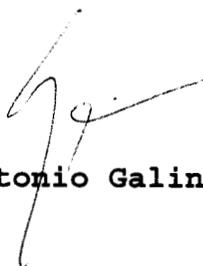
ZEEVALK, G.D., AND NICKLAS, W.J. (1990) Chemically induced hypoglycemia and anoxia: relationships to glutamate receptor-mediated toxicity in retina. J PHARMACOL EXP THER, 253: 1285 - 1292.

ZHANG, J., VALATX, J.-L, JOUVENT, M. (1988). Effects of hypophysectomy on the sleep of neonatally monosodium glutamate-treated rats. BRAIN RES, 21: 897-903.

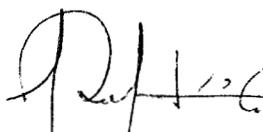
El jurado aprobó la presente tesis el día 15 de febrero de 1995.



**Prof Inv Alfonso Efraín Campos Sepúlveda**



**M en C José Antonio Galindo Morales**



**M en C Gabriel Roldán Roldán**



**Dr Rubén Román Ramos**

---