

Actividad Motora Espontánea en ratones sobrecargados con Hierro-Dextrano.

Fidel Castro-Caraballo^{*}, Heberto Suárez-Roca^{*},
Jesús Estévez^{**}, Ernesto Borilla^{**}.

^{*}Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED) - FUNDACITE - Zulia, Apartado 376, Maracaibo 4001-A, Venezuela. ^{**}Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo 4001-A, Venezuela.

Palabras claves: actividad motora, hierro, cerebro, ratón.

Resumen. Se estudió la Actividad Motora Espontánea (AME) y los niveles de hierro en el cerebro (corteza frontal y estriado) e hígado de ratones sobrecargados con hierro-dextrano por vía intraperitoneal. Para tal fin se constituyeron dos grupos experimentales sobrecargados con diferentes dosis de hierro y el grupo control. Se encontraron incrementos significativos en la AME sólo para el grupo experimental sobrecargado con la mayor dosis de hierro. Sin embargo, los análisis tisulares de hierro no detectaron aumentos significativos de este metal en corteza frontal y estriado en los grupos experimentales, a pesar de los aumentos de hierro observados en el hígado de estos animales. Nuestros resultados sugieren que el incremento en la AME observada en el grupo de ratones que recibió la mayor dosis de hierro, no se debe directamente a los cambios significativos en las concentraciones de hierro en el cerebro.

Recibido: 14-09-92. Aceptado: 24-11-92.

INTRODUCCION

El hierro es el metal traza más abundante en humanos y animales, y a pesar de estar presente en pequeñas concentraciones en los tejidos, cumple un importante papel en varias funciones metabólicas. El hierro interviene en la síntesis de la hemoglobina y de la mioglobina, y está ligado a múltiples enzimas (22, 57).

En los tejidos estas enzimas participan en el proceso de respiración mitocondrial, en el metabolismo de la porfirina, en la síntesis de colágeno, y en la actividad granulocítica y linfocítica (30, 44). El hierro cumple también un importante papel en el crecimiento del tejido nervioso, y en

la síntesis y catabolismo de varios neurotransmisores (61, 22).

El cerebro contiene relativamente poca cantidad de hierro, cuya distribución sigue un patrón similar al de la dopamina (DA) y al de varios neuropéptidos (61). No obstante, es poco lo que se conoce sobre la exacta función de este metal y de los factores que afectan su concentración en el sistema nervioso central. Las más altas concentraciones de hierro se han encontrado en el globo pálido, núcleo caudado, putamen y sustancia negra. Y las más bajas concentraciones se han descrito en la corteza cerebral y en el cerebelo (61, 27). Aunque estos resultados han sido confirmados por otros autores, utilizando técnicas diferentes, la cantidad de hierro en las distintas regiones cerebrales, reportada por varios grupos, varía considerablemente (27, 28, 15, 56, 62).

El hierro tiene la capacidad de promover el intercambio de electrones e intervenir en reacciones de óxido-reducción. No obstante, esta habilidad es también responsable de mucho de los efectos tóxicos asociados con la acumulación de hierro en el sistema nervioso central (49, 50). Como es bien conocido, el hierro estimula la formación de radicales libres y produce peroxidación lipídica, que conduce finalmente a la ruptura de las membranas y en consecuencia a daño neuronal irreversible (50).

La actividad motora en organismos superiores es regulada por los sistemas piramidal, extrapiramidal y cerebelar (48). De estos circuitos el sistema extrapiramidal es el de mayor tamaño e importancia, y junto con otros circuitos menores regula la

actividad motora. El daño en estas redes neuronales produce movimientos involuntarios y otros desórdenes motores (48).

En diversas enfermedades neurodegenerativas que afectan el sistema extrapiramidal, el hierro se encuentra significativamente aumentado en el cerebro. El hallazgo más consistente ha sido observado en la enfermedad de Hallervorden-Spatz. En esta enfermedad se depositan grandes cantidades de hierro en el globo pálido y en la zona reticular de la sustancia negra (53). También en la enfermedad de Parkinson se han descrito altas concentraciones de hierro en la zona compacta del mismo núcleo cerebral (18, 19). En otras enfermedades neurodegenerativas, como en la enfermedad de Alzheimer (26) y en la enfermedad de Huntington (19), se han reportado igualmente altas concentraciones de hierro en los ganglios basales.

Recientemente se ha señalado que en las anteriores enfermedades neurológicas, las elevadas concentraciones de hierro en el cerebro no parecen ser el factor iniciador de la degeneración neuronal observada en estos casos. En tales enfermedades, el incremento de hierro parece más bien reflejar algún efecto no específico de la degeneración celular. Este hecho se sugiere del aumento de este metal en enfermedades neurodegenerativas con características clínicas y patológicas diferentes (19). No obstante, se ha especulado que este incremento de hierro podría contribuir a los cambios neurodegenerativos una vez iniciados, probablemente a través de los mecanismos de peroxidación (19).

A pesar de la anterior apreciación, otros estudios han encontrado que cuando se inducen experimentalmente altas concentraciones de hierro en el cerebro de animales, se produce daño extrapiramidal. Uno de los pocos trabajos realizados en este sentido, fue publicado hace ya algún tiempo por Oberhauser y col. (35). Estos autores encontraron que la intoxicación experimental con hierro, en monos y conejos, mediante repetidas inyecciones intravenosas de hierro dextrano, produce aumento del tono muscular, hipocinesia y temblor en las partes distales de las extremidades. Estos síntomas estuvieron también acompañados de trastornos electromiográficos, de características bastantes similares a los de la enfermedad de Parkinson. El análisis del contenido de hierro en estos animales reveló incrementos altamente significativos de este metal en los ganglios basales y, en una menor cantidad, en la corteza cerebral (35).

Si un aumento significativo de hierro en el cerebro, inducido por una sobrecarga experimental, afectó los circuitos motores del sistema extrapiramidal, cabría esperarse entonces que la actividad motora espontánea también resultaría afectada por una sobrecarga con este metal. El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de una sobrecarga de hierro sobre la actividad motora espontánea en ratones, y correlacionar estos resultados con los niveles de hierro en cerebro.

MATERIALES Y METODOS

Animales de Experimentación

Para este estudio se utilizaron ratones machos albinos (adultos), cuyo peso al inicio del estudio osciló entre 25 y 30 gramos. Los animales fueron alimentados *ad libitum* con Ratarina (Protinal, Maracaibo) y agua destilada, y mantenidos en una habitación a temperatura ambiente con un fotoperíodo de 12 horas de luz y de oscuridad respectivamente.

Diseño Experimental

Los ratones fueron divididos en tres grupos: dos experimentales y el control. Los grupos experimentales fueron tratados por un periodo de cinco semanas con una solución de hierro-dextrano (Inferon-Farma, Venezuela) por vía intraperitoneal, de la siguiente forma: uno de los grupos fue tratado con una dosis alta de hierro (GTDAH) y el otro grupo fue tratado con una dosis baja de hierro (GTDBH). El esquema de tratamiento fue el siguiente:

a) Grupo Tratado con una Dosis

Alta de Hierro

Durante las cinco semanas de tratamiento estos animales recibieron, en siete ocasiones, una dosis de 154 mg de hierro-dextrano/kg de peso. Durante las tres primeras semanas, las seis primeras dosis fueron administradas al inicio y al final de cada una de éstas (lunes y viernes). La séptima dosis fue administrada al inicio de la quinta semana (lunes). Los ratones de este grupo recibieron durante este período de tiempo una dosis acumulativa de 1.076 mg de hierro-dextrano/kg.

b) Grupo Tratado con una Dosis Baja de Hierro

Estos animales recibieron una sola dosis de 154 mg de hierro-dextrano/kg al inicio del estudio. Para las seis restantes ocasiones, tenidas en cuenta para el grupo de alta dosis, este grupo recibió tratamiento con solución salina(0.9%).

El grupo control fue tratado con solución salina en las siete ocasiones descritas para los grupos sobrecargados con hierro.

Estudio de la Actividad Motora

Una semana después de finalizado el período de tratamiento con hierro (sexta semana), se procedió a evaluar la Actividad Motora Espontánea (AME) de los ratones experimentales y controles. Las siguientes variables de la actividad motora fueron estudiadas: **(i) Movimientos Ambulatorios.** Esta variable mide el número de desplazamientos ambulatorios del animal. Esta actividad es detectada por el monitor cuando el ratón, en sus movimientos, interrumpe la luz de una de las lámparas del sistema de luces infrarrojas del equipo, sea esta en el eje de las "X" o en el eje de las "Y". **(ii) Tiempo de Movimientos Ambulatorios (seg).** Esta variable mide el tiempo total invertido por el animal en los desplazamientos ambulatorios. **(iii) Actividad Horizontal Total.** Esta variable mide la actividad motora global del animal, resultante de la suma de los movimientos ambulatorios y movimientos estereotípicos, tales como arañar, acicalarse, bruñir y mover la cabeza en varias direcciones (6,9).

Para este estudio se utilizó un Monitor Optico-Digital de Actividad Animal (Opto-Varimex-Minor, Co-

lumbus Instruments, USA). Cada grupo de ratones fue estudiado en días diferentes de la sexta semana. El protocolo seguido fue el siguiente: de cada grupo se seleccionaron al azar ocho ratones, los cuales se examinaron individualmente en sesiones de 60 minutos. Antes de cada sesión, cada ratón permaneció en el monitor por 5 minutos, con el propósito de familiarizar al animal con el nuevo ambiente. Estas mediciones fueron efectuadas entre las 9:00 AM y 5:00 PM de los días señalados.

Sacrificio de los Ratones

A la séptima semana de estudio se sacrificaron los ratones por dislocación cervical. El cerebro de cada ratón se extrajo de la cavidad craneal y se disecó la corteza frontal y estriado sobre una superficie fría, de acuerdo a la técnica descrita por Glowinski e Iversen (23). Como tejido de referencia se tomaron muestras de hígado. Estas muestras fueron lavadas profusamente con abundante agua destilada y desionizada, a fin de remover la mayor cantidad posible de sangre. Posteriormente los tejidos se almacenaron a -70 °C hasta el momento en que se procedió a efectuar los análisis de hierro.

Mediciones de Hierro

Las determinaciones de hierro en hígado, corteza frontal, y estriado se efectuaron utilizando la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica con atomización electrotérmica (5,9).

Análisis Estadístico

Los resultados de este estudio están expresados en valores promedios \pm el error estándar del número

de muestras en cada caso. Las diferencias significativas entre grupos en el estudio de actividad motora y en las mediciones de hierro, se establecieron con un Análisis de Varianza de una vía. Las comparaciones entre los grupos experimentales con respecto al control, se realizaron con la prueba de Newman-Keuls. En todas las evaluaciones estadísticas, una $p < 0.05$ fue considerada significativa.

RESULTADOS

El efecto del tratamiento con una dosis baja y alta de hierro-dextrano, sobre la actividad motora espontánea (AME) se muestra en la Tabla I. Como puede observarse, las tres variables de la AME examinadas en este estudio fueron afectadas por el tratamiento con hierro, tal como lo

indican los análisis de varianza (Tabla I). Los valores de Fisher y la probabilidad obtenida en estas pruebas fueron los siguientes: para los Movimientos Ambulatorios: $F(2,21) = 4,42(p < 0,02)$; para el Tiempo de Movimientos Ambulatorios: $F(2,21) = 4,80(p < 0,01)$ y para la Actividad Horizontal Total: $F(2,21) = 5,72(p < 0,01)$.

Las comparaciones entre los pares de promedios de los grupos experimentales y el control, reveló incrementos importantes en la actividad animal sólo para el Grupo de Dosis Alta. Para el grupo de Dosis Baja las comparaciones con el control no detectaron variaciones significativas.

En la Tabla II se muestran los niveles de hierro encontrados en hígado, corteza frontal y estriado de los

TABLA I
VARIABLES DE LA ACTIVIDAD MOTORA ESPONTANEA EVALUADAS EN RATONES SOBRECARGADOS CON UNA DOSIS BAJA Y ALTA DE HIERRO-DEXTRANO

	GRUPOS ¹		
	Control (n = 8)	Dosis baja (n = 8)	Dosis alta (n = 8)
Movimientos ambulatorios	1357,7 ± 185,6	1108,1 ± 254,2	2047,1 ± 248,1*
Tiempo de movimientos ambulatorios	256,2 ± 27,8	207 ± 38	356,2 ± 37,3*
Actividad Horizontal Total	5192,9 ± 398,6	4904,3 ± 729,4	7623,9 ± 698,1*

¹Los resultados representan el promedio ± el error estandar de ocho lecturas. $p < 0.05$ con respecto al control.

TABLA II
NIVELES DE HIERRO EN HIGADO, CORTEZA FRONTAL Y ESTRIADO DE
RATONES SOBRECARGADOS CON UNA DOSIS BAJA Y ALTA DE
HIERRO- DEXTRANO

Grupos	TEJIDOS ¹		
	Hígado	Corteza frontal	Estriado
Control (n = 8)	189,9 ± 22,9	92,0 ± 3,6	91,7 ± 4,9
Dosis baja (n = 8)	1643,3 ± 146,3*	82,2 ± 3,7	99,0 ± 4,3
Dosis alta (n = 8)	4684,5 ± 381,6*	90,6 ± 2,1	89,6 ± 3,1
ANOVA ²	F(2,21)=94,21 p < 0.001	N.S	N.S

¹Los resultados están expresados en ug/gr de peso seco y representan el promedio
 ± el error estandar de ocho muestras.

²Las diferencias entre los grupos para cada tejido fueron evaluadas con un Análisis de Varianza. Las comparaciones entre los grupos experimentales con respecto al control fueron realizadas con la prueba de Newman-Keul.
 Indica diferencias significativas entre los grupos tratados con hierro-dextrano con respecto al control.

grupos de ratones experimentales y controles. Los análisis de varianza revelaron sólo la presencia de diferencias significativas en hígado $F(2,21)= 94.21(p < 0,0001)$. Las comparaciones entre los pares de promedios revelaron aumentos altamente significativos de hierro en los dos grupos experimentales. Para el grupo de Dosis Baja, se observó un incremento en la concentración de este metal en aproximadamente ocho veces la concentración normal ($p < 0,001$). Y para el grupo de Dosis Alta, el aumento fue en aproximadamente veinticinco veces la concentración normal ($p < 0,0001$).

DISCUSION

Los resultados del presente estudio demuestran claramente que la sobrecarga con hierro-dextrano afectó la Actividad Motora Espontánea (AME) en los ratones experimentales. En este estudio encontramos que el tratamiento con hierro produjo un aumento significativo en el Número de Movimientos Ambulatorios, en el Tiempo de Movimientos Ambulatorios y en la Actividad Horizontal Total, en el grupo de ratones que recibió la mayor dosis de hierro (GTDAH). Este efecto, sin embargo,

no fue observado en el grupo que recibió la menor dosis (GTDBH), cuyos valores de la AME fueron similares a los controles.

A pesar de la hiperactividad observada en los ratones del grupo de dosis alta, los análisis tisulares de hierro en el cerebro de los grupos intoxicados no revelaron cambios significativos en los niveles de este metal en el estriado y corteza frontal, pese a los importantes incrementos observados en el hígado de estos animales. Este hallazgo no es consistente con los datos publicados por otros autores. Varios estudios han reportado incrementos significativos de hierro en el cerebro e hígado de animales sobrecargados con este metal. Oberhauser y col. por ejemplo, observaron incrementos substanciales de hierro en hígado, corteza cerebral y ganglios basales de conejos y primates tratados por vía intravenosa con una dosis acumulativa de hierro-dextrano de 3 y 4 g respectivamente (35). Vera y col., también por su parte, encontraron incrementos apreciables de hierro en hígado, corteza cerebral y ganglios basales de conejos sobrecargados por vía similar con hierro-dextrano (58). Por otra parte, Chandra y col., también observaron un aumento de hierro de un 201 % en el cerebro de ratones tratados con una dosis de 1 mg/kg/día (i.p.) de cloruro férrico durante 40 días (11). En los trabajos previamente citados, los autores utilizaron dosis, especies animales, tipo de solución y vías de administración diferentes a las empleadas por nosotros en el presente estudio, lo cual hace difícil una comparación adecuada con nuestros resultados. A

pesar de las diferencias metodológicas del presente estudio con respecto a los trabajos citados arriba, los incrementos de hierro en el hígado de nuestros ratones experimentales, demostraron que efectivamente logramos producir una sobrecarga de hierro en los animales, la cual fue proporcional a las cantidades administradas. Para el Grupo de Dosis Baja el incremento fue de aproximadamente ocho veces la concentración normal y veinticinco veces para el Grupo de Dosis Alta. Tales resultados son compatibles con datos publicados previamente (35, 58).

La ausencia de incrementos de hierro en corteza frontal y estriado en nuestro ratones experimentales resulta para nosotros un hallazgo inexplicable. Probablemente este hecho se haya debido en parte, a la magnitud de la dosis de hierro usada en el protocolo de sobrecarga, ó quizás el tiempo de tratamiento con hierro no fue lo bastante prolongado para producir un aumento significativo de este metal en el cerebro de los animales, comparables a los descritos previamente (11, 35, 58). No obstante, existe también la posibilidad, de que este hecho pudiera ser el resultado de los mecanismos de protección del cerebro a la sobrecarga con hierro. En efecto, varios autores han señalado la dificultad de provocar incrementos significativos de hierro en el cerebro de animales por vía experimental (12, 54, 63).

Los resultados de nuestro estudio están más en concordancia con estos reportes. Youdim y col., han señalado la imposibilidad de producir aumentos substanciales de hierro en el cerebro de roedores a través

de procedimientos de laboratorio (63). En este orden de ideas, también Cheney y col., han reportado bajo niveles de radio actividad en el cerebro de ratones que han sido tratados por vía parenteral con Fe^{59} (12). En este estudio casi toda la radioactividad se encontró principalmente en la sangre y en el hígado (12). En apoyo a estos estudios, recientemente otros autores encontraron aumentos apreciables, pero no significativos, de hierro no-hémico en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta que contenía 170 mg de hierro/Kg (54). Sin embargo, las concentraciones de hierro en hígado sí experimentaron aumentos significativos con respecto a los controles (54). Resultados similares pueden ser también deducidos de los trabajos de Dallman y col., (16) y Ben-Sachar y col., (4), quienes mostraron que la concentración de hierro cerebral se incrementa relativamente poco en ratas deficientes de este elemento durante la rehabilitación con hierro, y el aumento sólo se logra hasta alcanzar los niveles normales.

Se deduce de nuestros resultados que el cerebro de los ratones está protegido, en alto grado, contra las sobrecargas de hierro, probablemente debido a la capacidad limitada de los procesos de transporte de hierro de la sangre al cerebro a través de la barrera hematoencefálica. Esta última constituye un selector activo de proteínas y de otros nutrientes presentes en la circulación. Esta selectividad es lograda a través de la unión entre las células endoteliales de los capilares del cerebro (7, 8, 46), y a varios sistemas de transporte presentes en

las membranas plasmáticas de estas células (37, 38). Recientemente Banks y col. encontraron evidencias de que el transporte de hierro de la sangre al cerebro tiene una tasa baja de transferencia, la cual es bidireccional, probablemente saturable y en algún grado independiente del sistema de transporte mediado por receptores (1). Por otra parte, varios autores han reportado que el transporte de hierro al cerebro varía dependiendo de la edad (20,54). Dwork y col. observaron en ratones inyectados intraperitonealmente con Fe^{59} , que la captación del hierro radioactivo por el cerebro disminuyó con el incremento de la edad de los ratones (15). En este estudio los autores encontraron una máxima captación de Fe^{59} a los 15 días de desarrollo, la cual disminuyó progresivamente a los 28 y 42 días respectivamente. El Fe^{59} asimilado por el cerebro a los 15 días queda retenido en este órgano y no vuelve a la sangre (1, 20). La asimilación de Fe^{59} en los animales inyectados a los 28 y a los 42 días representan el 15 y 19 % respectivamente, de los valores obtenidos para los animales inyectados a los 15 días (20). Similares resultados fueron reportados también por Dallman y Spirito (17), quienes encontraron que la captación de hierro por el cerebro a los 35 días de desarrollo, representa el 18 % de la captación de los animales a los 18 días. Esta disminución en la tasa de captación de hierro después de las primeras semanas de vida podría explicar el prolongado tiempo requerido para restablecer la concentración de hierro estriatal en animales alimentados con una dieta deficiente de hierro (4). Otros auto-

res también han reportado una máxima captación de hierro por el cerebro durante los primeros días de desarrollo. Taylor y Morgan han descrito, en ratas inyectadas en la vena de la cola con transferrina marcada con Fe^{59} y I^{125} , una notable disminución con la edad en la transferencia de hierro del plasma al cerebro. La máxima captación fue observada a los 15 días de desarrollo de los animales, disminuyendo posteriormente en grado significativo. De este estudio se sugiere que este efecto es específico para el cerebro y no un efecto general del proceso de envejecimiento, ya que en la médula ósea del fémur, la captación de hierro mostró pocos cambios con el envejecimiento del animal (54).

Otras evidencias sugieren que el transporte de hierro al cerebro está regulado por el número de receptores de transferrina presentes en las células endoteliales de los capilares del cerebro (54, 55). La transferrina es la proteína transportadora del hierro plasmático en la circulación (53). Se ha postulado que el transporte de hierro de la sangre al cerebro es efectuado por endocitosis del complejo transferrina-hierro, a través de sus receptores presentes en las células endoteliales de los capilares cerebrales, la cual es seguida por transcitosis al intersticio cerebral (21, 39, 40, 41). Esta hipótesis está basada en la existencia de receptores de transferrina en las células endoteliales de los capilares cerebrales (29, 40, 47), y en la demostración de endocitosis de transferrina por estas células (21, 40). Taylor y col. describieron, en ratas deficien-

tes y sobrecargadas con hierro, que la captación de este elemento unido a la transferrina (marcada con Fe^{59} y I^{125}), fue significativamente mayor en ratas deficientes que en ratas sobrecargadas con hierro, cuando se compararon con sus respectivos controles (54). Igualmente observaron que la captación de hierro en las ratas deficientes y sobrecargadas con hierro, fue disminuyendo a medida que las ratas fueron envejeciendo desde los 15 hasta los 63 días. De estos resultados los autores sugieren que la captación de hierro, es probablemente una función del número de receptores presentes en las células endoteliales de los capilares del cerebro, en la cual la expresión de estos receptores depende de los depósitos de hierro cerebral del animal. Para estos investigadores, el número de receptores para transferrina es mucho mayor en ratas jóvenes que en adultas; para cada edad el número de receptores está influenciado por los niveles tisulares de hierro en el cerebro. Esta hipótesis está basada en la observación de una baja captación de hierro por el cerebro en ratas sobrecargadas con hierro, en contraste con una alta captación en las ratas deficientes de este elemento (54). En concordancia con esta hipótesis, Lu y col. encontraron que la expresión del receptor de transferrina en varios tejidos de rata, está regulada negativamente por la concentración tisular de hierro, posiblemente como un mecanismo para aumentar ó disminuir la captación de hierro, dependiendo de los requerimientos fisiológicos (32). En el referido estudio, los autores observaron que en ratas de-

ficientes de hierro, se produjo una mayor expresión del receptor de transferrina en duodeno, hígado, bazo, páncreas y riñón, que en las ratas sobrecargadas y controles. Inversamente, en los animales sobrecargados con hierro la expresión del receptor de transferrina estuvo disminuida significativamente con respecto al grupo deficiente y control.

Experimentos en cultivos de células, que contienen sustancias quelantes de hierro o cantidades adicionales de este metal en el medio de cultivo, han demostrado también la capacidad de este elemento en la regulación de la expresión de los receptores de transferrina, posiblemente a través de alguna clase de mecanismo de retroalimentación negativa, en la cual las células aumentan o disminuyen la expresión del receptor de transferrina en respuesta a deficiencia o sobrecarga de hierro (31, 42, 59, 60).

Finalmente, de los resultados del presente estudio, se deduce que el incremento en la AME en los ratones del GTDAH, no se debió a aumentos significativos de este metal en el cerebro de los animales. No obstante, el incremento en la AME, sugiere que hubo alteraciones bioquímicas cerebrales causadas por efecto de la sobrecarga con hierro, posiblemente de los sistemas de neurotransmisión que regulan la AME. Está demostrado que los neurotransmisores Dopamina (DA) y Norepinefrina (NE) están relacionados con el control de la actividad motora (2, 3, 10, 24, 43, 52). Esta hipótesis esta basada en la observación de que una disminución o aumento de estos metabolitos en el cerebro, induce en

animales una acentuada hipoactividad e hiperactividad respectivamente (3, 10, 13, 25, 36, 45, 51). En la síntesis de DA y NE el hierro desempeña un papel importante como cofactor en la actividad catalítica de la enzima hidroxilasa de la tirosina, la cual regula la tasa de síntesis de la DA y NE en el sistema nervioso central y en tejidos periféricos (14, 33, 34). Nosotros presumimos que el aumento en la AME en el GTDAH pudo ser causado por incremento en las niveles de DA y NE cerebral, como resultado de una mayor actividad de la hidroxilasa de la tirosina, probablemente activada por trazas de hierro proveniente de la sobrecarga con este metal. En efecto, se ha demostrado que el hierro estimula la actividad catalítica de esta enzima (34). Tampoco podemos descartar la posibilidad de que los posibles aumentos de DA y NE, sugeridos previamente, podrían provenir de una mayor síntesis de estos neurotransmisores, como consecuencia de una elevada disponibilidad de tirosina, que como bien se sabe, es el aminoácido precursor de estas catecolaminas. En soporte a esta hipótesis, Chandra y col. observaron aumentos significativos de tirosina, triptófano, DA y NE en el cerebro de ratones tratados con una solución de cloruro férrico por vía intraperitoneal (11).

ABSTRACT

Spontaneous motor activity in mice overloaded with iron-dextran. Castro-Caraballo F. (Instituto de Investigaciones Biomédicas, (IN-BIOMED) - FUNDACITE Zulia), Suá-

rez-Roca H., Estévez J., Bonilla E. *Invest Clín* 33(3): 121-134, 1992.

We studied the spontaneous motor activity and the levels of iron in brain (frontal cortex and striatum) and liver of mice overloaded with iron dextran. Two groups of mice injected intraperitoneally with two different doses of iron and the control group were used. We found a significant increase in the spontaneous motor activity only for the experimental group treated with the highest dose of iron. In frontal cortex and striatum the concentration of iron did not augment in the experimental groups. However, in liver we detected a highly significant rise in the iron content of both experimental groups. Our results suggest that the increase in the spontaneous motor activity observed in mice injected with the highest dose is not directly caused by changes in the iron concentration in the brain.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BANKS W., KASTIN A., FASOLD M., BARRERA C., AUGEREAU.: Studies of the slow bidirectional transport of iron and transferrin across the blood-brain barrier. *Brain Res Bull* 21(6): 881-885, 1988.
- 2- BENINGER R.: The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res Rev* 6:173-196, 1983.
- 3- BENKERT H., GLUBA H., MATUSSEK N.: Dopamine, noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in relation to motor activity, fighting and mounting behavior. *Neuropharmacology* 12:177-186, 1973.
- 4- BEN-SACHAR D., ASHKENAZI R., YODIM M.: Long-term consequence of early iron deficiency on dopaminergic neurotransmission in rats. *Int Dev Neurosci* 4:81-88, 1986.
- 5- BONILLA E.: Flameless atomic absorption spectrophotometric determination of manganese in rat brain and other tissues. *Clin Chem* 24:471-474, 1978.
- 6- BONILLA E.: Chronic Manganese Intake Induces Changes in the Motor Activity of Rats. *Exp Neurol* 84:696-700, 1984.
- 7- BRIGHTMAN M., REESE T.: Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol* 40:648-677, 1969.
- 8- BRIGHTMAN M.: Morphology of blood brain interfaces. *Exp Eye Res* 25(Suppl):1-25, 1977.
- 9- CASTRO F.: Actividad Motora y Concentraciones de Hierro, Cobre, Manganeseo y Zinc en el Hígado y en el Cerebro de Ratones Intoxicados con Hierro. (Tesis de Grado) Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia, Venezuela, 1988.
- 10- CHANDRA S., SHUKLA G., SAXENA D.: Manganese induced behavioral dysfunction and its neurochemical mechanism in growing mice.: *J Neurochem* 33:1217-1221, 1979.
- 11- CHANDRA S., SHUKLA G., SRIVASTAVA R., GUPTA S.: Combined effect of metal on biogenic amines and their distribution in the brain of mice. *Arch Environm Contam Toxicol* 9:79-85, 1980.
- 12- CHENEY B., LOTHE K., MORGAN E., SOOD S., FINCH C.: Internal iron exchange in the rat. *Am J Physiol* 212:376-380, 1967.
- 13- CORRODI H., HANSON L.: Central effects of an inhibitor of tyrosine hydroxylation.

- Psychopharmac 10:116-125, 1966.
- 14- COYLE J.: Tyrosine hydroxylase in rat brain-cofactor requirements, regional and subcellular distribution. *Biochem Pharmacol* 21:1935-1944, 1972.
 - 15- CUMINGS N.: The copper and iron content of brain and liver in normal and in hepatolenticular degeneration. *Brain* 71:410-415, 1948.
 - 16- DALLMAN P., SHIMES M., MANIES E.: Brain iron: persistent deficiency following short-term iron deprivation in the young rat. *Br J Haematol* 31:209-215, 1975.
 - 17- DALLMAN P., SPIRITO R.: Brain iron in the rat: extremely slow turnover in normal rats may explain long-lasting effects of early iron deficiency. *J Nutr* 107:1075-1081, 1977.
 - 18- DEXTER D., WELLS F., LESS A., AGID Y., JENNER P.: Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J Neurochem* 52: 1830-1836, 1989.
 - 19- DEXTER D., CARAYON F., JAVOY-AGID F., AGID Y., WELLS F., DANIEL S., LEES A., MARSDEN C.: Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain* 114:1953-1975, 1991.
 - 20- DWORK A., LAWLER G., ZYBERT P., DURKIN M., OSMAN M., WILLSON N., BARKAI A.: An autoradiographic study of the uptake and distribution of iron by the brain of the young rat. *Brain Res* 518:31-39, 1990.
 - 21- FISHMAN J., RUBIN J., HANDRAHAN J., CONNOR J., FINE R.: Receptor-mediated transcytosis of transferrin across the blood-brain barrier. *J Neurosci Res* 18:299-304, 1987.
 - 22- GALAN P., HERCBERG S., TOUHOUY.: The activity of tissue enzymes in iron-deficient rat and man: An overview. *Comp Biochem Physiol* 77B(4):647-653, 1984.
 - 23- GLOWINSKI J., IVERSEN L.: Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of 3H-dopa in various regions of the brain. *J Neurochem* 13:665-669, 1966.
 - 24- GOLTER M., MICHAELSON A.: Growth, behavior, and brain catecholamines in lead-exposed neonatal rats: A reappraisal. *Science* 187:359-361, 1975.
 - 25- GORDON J., SHELLENBERGER M.: Regional catecholamine content in the rat brain: Sex differences and correlation with motor activity. *Neuropharmac* 13:129-137, 1974.
 - 26- GRUDKE-IGBAL I., FLEMING J., TUNG Y., LASSMANN H., IQBAL K., JOSHI J.: Ferritin is a component of the neuritic (senile) plaque in Alzheimer dementia. *Acta Neuropathol* 81(2):105-110, 1990.
 - 27- HALLGREN B., SOURANDER P.: The effect of age on the nonhaem iron in the human brain. *J Neurochem* 3:41-51, 1958.
 - 28- HALLGREN B., SOURANDER P.: The non-haem iron in the cerebral cortex in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 5:307-310, 1960.
 - 29- JEFFERIES W., BRANDON M., HUNT S., WILLIAMS A., GATTER K., MASON D.: Transferrin receptor on endothelium of brain capillaries. *Nature* 312:161-163, 1984.
 - 30- LEIBEL R., GREENFIELD D., POLLIT E.: Iron deficiency: behavior and brain biochemistry. In: *Nutrition: Pre- and Post-Natal*

- Development. M. Winick., eds. Plenum Press, New York, 1978.
- 31- LOUACHE F., TESTA V., PELICCI P., THOMOPOULOS P., TITEUX M., ROCHANT H.: Regulation of transferrin receptors in human hematopoietic cell lines. *J Biol Chem* 259:11576-11582, 1984.
- 32- LU J., HAYASHI K., AWAI M.: Transferrin receptor expression in normal, iron-deficient and iron-overloaded rats. *Acta Pathol Jpn* 39:759-764, 1989.
- 33- McGEER E., GIBSON S., McGEER P.: Some characteristics of brain tyrosine hydroxylase. *Can J Biochem* 45:1557-1563, 1967.
- 34- NAGATSU T., LEVITT M., UDENFRIEND S.: Tyrosine hydroxylase. *J Biol Chem* 239(9):2910-2917, 1964.
- 35- OBERHAUSER E., WEINSTEIN V., ASENJO A.: Iron concentration in basal ganglia and cerebral cortex obtained by overloading rabbits and monkeys with iron dextran. *J Neurosurg* 32:677-679, 1970.
- 36- OISHI T., SZABO S.: Tyrosine increases tissue dopamine concentration in the rat. *J Neurochem* 42:894-896, 1984.
- 37- PARDRIDGE W., OLDENDORF W.: Transport of metabolic substrates through the blood brain barrier. *J Neurochem* 28:5-12, 1977.
- 38- PARDRIDGE W.: Transport of nutrients and hormones through the blood brain barrier. *Diabetologia* 20:246-254, 1981.
- 39- PARDRIDGE W.: Receptor-mediated peptide transport through the blood-brain barrier. *Endocr Res* 7:314-330, 1986
- 40- PARDRIDGE W., EISENBERG J., YANG J.: Human blood-brain barrier transferrin receptor. *Metabolism* 26:892-895, 1987.
- 41- PARDRIDGE W.: Recent advances in blood brain barrier transport. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 28:25-39, 1988.
- 42- PELOSI E., TESTA V., LOUACHE F., THOMOPOULOS P., SALVO G., SAMOGGIA P., PESCHLE C.: Expression of transferrin receptors in phytohemagglutinin-stimulated human T-lymphocytes. Evidence for a three step model. *J Biol Chem* 261:3036-3042, 1986.
- 43- POIRIER L., BEDARD P.: Behavior correlates of neurotransmitter activity. *Canad J Neurol Sci* 11:100-104, 1984.
- 44- POLLITT E., LEIBEL R.: Iron deficiency and behavior. *J Pediatr* 23:372-381, 1976.
- 45- RECH R., BORYS H., MOORE K.: Alterations in behaviour and brain catecholamine levels in rats treated with alpha-methyl-tyrosine. *J Pharmac Exp Ther* 153:412-419, 1966.
- 46- REESE T., KARNOVSKY M.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 34: 207-217, 1967.
- 47- RISAU W., HALLMAN R., ALBRECHT V.: Differentiation-dependent expression of proteins in brain endothelium during development of the blood-brain barrier. *Dev Biol* 117:537- 545, 1986.
- 48- RUTLEDGE J., HILAL S., SILVER A., DEFENDINI R., FAHN S.: Study of movement disorders and brain iron by MR. *Am J Roentgen* 149:365-379, 1987.
- 49- SIESJO B., AGARDH C., BENGTTSSON F.: Free radicals and brain damage. *Cerebrovasc*

- Brain Metab Rev 1(3):165-211, 1989.
- 50- SUBBARAO K., RICHARDSON J.: Iron-dependent peroxidation of rat brain: a regional study. *J Neurosci Res* 26(2):224-234, 1990.
- 51- SVENSSON T., WALDECK B.: On the significance of central noradrenaline for motor activity: Experiments with a new dopamine-beta-hydroxylase inhibitor. *Eur J Pharmacol* 7:278-282, 1969.
- 52- SVENSSON T., WALDECK B.: On the role of brain catecholamines in motor activity: experiments with inhibitor of synthesis and of monoamine oxidase. *Psychopharmacol* 18:357-365, 1970.
- 53- SWAIMAN K.: Hallervorden-Spatz syndrome and brain iron metabolism. *Arch Neurol* 48: 1285-1293, 1991.
- 54- TAYLOR E., CROWE A., MORGAN E.: Transferrin and iron uptake by the brain: Effects of Altered iron status. *J Neurochem* 57: 1584-1592, 1991.
- 55- TAYLOR E., MORGAN E.: Role of transferrin in iron uptake by the brain: a comparative study. *J Comp Physiol B* 161: 521- 524, 1991.
- 56- TUNGEY A.: The iron, copper and manganese content of the human brain. *J Ment Sci* 83:451-460, 1977.
- 57- UNDERWOOD E.: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4th Edition. Editorial Academic Press, London. pp 545, 1977.
- 58- WEINSTEIN V., OBERHAUSER E., ASENJO A.: Effect of dimethyl sulfoxide on experimental cytosiderosis. *Acta Neurol Latinoam* 15(1/4): 191-195, 1969.
- 59- WARD J., KUSHNER J., KAPLAN J.: Regulation of Hela cell transferrin receptor. *J Biol Chem* 257:10317-10323, 1982.
- 60- WARD J., JORDAN I., KUSHNER J., KAPLAN J. Heme regulation of Hela cell transferrin receptor number. *J Biol Chem* 259: 13235-13240, 1984.
- 61- YODIM M., GREEN A.: Biogenic monoamine metabolism and functional activity in iron-deficient rats: behavioral correlates. In: *Iron Metabolism*. pp. 201-226. Porter and D.W. Fitzsimons., eds. Elsevier, Amsterdam, 1977.
- 62- YODIM M., GREEN A., BLOOMFIELD M., MITCHELL B., HEAL D., GRAHAME-SMITH D.: The effect of iron-deficiency on brain biogenic monoamine biochemistry and function in rats. *Neuropharmacol* 19:259-267, 1980.
- 63- YODIM M., ASHKENAZI R., BEN-SHACHAR D., YEHUDA S.: Modulation of dopamine receptor in the striatum by iron: Behavioral and Biochemical Correlates. *Advan Neurol* 40: 159-170, 1984.