

ASPECTOS BIOQUIMICOS EN PACIENTES FORMADORES DE CALCULOS RENALES

Carlos A. Henríquez-La Roche, Arturo Wong

Servicio de Nefrología y Laboratorios de la Unidad de Diálisis del Hospital Universitario de Maracaibo. Hospital Universitario de Maracaibo. Unidad de Diálisis. Apartado Postal 1430. Maracaibo 4001-A. Venezuela.

RESUMEN

Este trabajo representa el resumen de la evaluación metabólica de 97 pacientes formadores de cálculos renales durante los años 1982 y 1983 en el Hospital Universitario de Maracaibo, siguiendo un patrón de estudio preestablecido que incluye la determinación de metabolitos y elementos que de una manera u otra influyen en la formación de cálculos. Siguiendo dicho patrón hemos podido diagnosticar algún tipo de trastorno metabólico en 82% de los casos. Además, encontramos que 34% de los pacientes con litiasis cálcica hiperuricosúrica formaron cálculos debido al pH bajo de la orina (posiblemente como resultado de dietas ricas en proteínas animales) más que por la hiperuricosuria misma. Resultados similares se observaron en la litiasis de ácido úrico (27%). En la hipercalciuria idiopática solo la hipercalciuria apareció como factor causal de cálculos, no evidenciándose ni hipofosfatemia en forma regular (solo en 23.5%) ni hiperoxaluria. Los pacientes con litiasis cálcica idiopática tampoco presentaron hiperoxaluria ni evidencias que puedan invocar un mecanismo de nucleación heterogé-

nea entre sales de calcio y ácido úrico. Estos hallazgos recalcan la importancia del estudio del paciente formador de cálculos. Este estudio debe realizarse en una forma organizada, bajo un control estricto de laboratorio y en forma seriada (3 días por lo menos). A tal efecto se propone un esquema mínimo de estudio basado en los resultados obtenidos.

INTRODUCCION

Recientemente hemos descrito las características clínicas de un grupo de pacientes formadores de cálculos renales encontrando similitudes y diferencias con otros reportes sobre la materia (5). El trabajo actual corresponde a la evaluación bioquímica de dichos pacientes mediante el seguimiento de un esquema de estudio organizado, el cual se basa en la determinación de algunos elementos de suero y orina que influyen en la formación de cálculos renales.

El propósito primordial de este trabajo es: 1) Hacer énfasis en el hecho de que la mayoría de los pacientes formadores de cálculos presentan alteraciones metabólicas capaces de ser identificadas fácilmente. 2) Recalcar la necesidad de que los estudios se hagan en una forma organizada y en muestras seriadas para optimizar los resultados. 3) Encontrar las características químicas más resaltantes de estos pacientes para facilitar así el entendimiento de la enfermedad, la ubicación del paciente dentro de cada grupo etiológico y la aplicación de un tratamiento específico y racional.

MATERIAL Y METODO

Se evaluaron ambulatoriamente y por 3 días consecutivos 97 pacientes formadores de cálculos desde el punto de vista bioquímico mediante el siguiente esquema:

SANGRE	Días		
	1	2	3
Sodio	X		
Potasio	X		
Cloro	X		
CO ₂ t	X		
Calcio	X	X	X
Acido úrico	X	X*	X*
Creatinina	X	X*	X*
Magnesio	X		
Fósforo	X		

ORINA:

Sodio	X	X	X
Calcio	X	X	X
Fósforo	X		
Magnesio	X		
Oxalatos	X	X	
Acido úrico	X	X	X
pH (orina/día)	X	X	
pH (orina am)			X
Creatinina	X	X	X
Cistinuria			X

Nota: X* = Practicados solo si el primer día es anormal.

Los métodos utilizados en la determinación de los elementos arriba mencionados fueron: sodio y potasio mediante fotometría de llama (Radiometer, Copenhagen) o mediante electrodos de iones selectivos (Corning 902 Na/K Analyzer). Cloro por coulometría (Clorímetro Corning). pH y gases en sangre con el analizador de pH y Gases Corning 162/2. Calcio y magnesio por espectrofotometría de absorción atómica (Perking-Elmer 107). Creatinina ácido úrico, fosfatasa alcalina y albúmina sérica todos determinados por autoanálisis en un Autoanalizador ACA II, DuPont. La determinación de sulfatos se hizo por espectrofotometría de luz (Beckman 3600) de la siguiente manera: A 1 ml de la orina diluida con agua destilada y desionizada 1:25 se añadió, 1.5 ml de una solución supersaturada de cloruro de bario (2000 ppm) con el fin de provocar la precipitación de sulfato de bario. A esto se añadió 200 μ l de una solución acondicionadora preparada con 3 ml de HCl concentrado, 30 ml de agua destilada, 10 ml de alcohol isopropílico al 95%, 7.5 g de NaCl y 5 ml de glicerol. La lectura se hizo con una longitud de onda de 420 nm de la siguiente manera: Inmediatamente después de añadir la solución de bario se hicieron lecturas consecutivas cada 30 segundos por 4 minutos tomando como resultado la más alta de ellas. En la cuveta de referencia se colocó una muestra correspondiente de orina con solución acondicionadora sin cloruro de bario. La curva estandar se hizo con soluciones de sulfato de sodio conteniendo 25, 50, 75 y 100 ppm de sulfato. La variación intra e interensayo del método fue 4%. La determinación de oxalatos se hizo por el método colorimétrico de Hodgkinson y Williams (8).

Cada paciente recolectó tres muestras de orina de 24 horas en días consecutivos, comenzando un día domingo. Al final de cada recolección se obtuvo una muestra de sangre sin torniquete, la cual fue inmediatamente puesta en baño de maría a 37°C para proceder a la separación del suero,

el cual fue procesado ese mismo día o congelado para su análisis posterior.

Las muestras de orina fueron recogidas en envases especiales conteniendo una pequeña cantidad (15 mg.) de timol como preservativo. Al cuarto día, luego de finalizado el muestreo, se tomó una cuarta muestra de orina (segunda micción del día en ayunas) para la determinación del pH urinario (Medidor de pH, Radiometer, Copenhagen) y la búsqueda de cristales de cistina. Si el pH urinario era mayor de 5.5 (en ayunas de 12 horas) se procedía a practicar una prueba de sobrecarga con cloruro de amonio para descartar acidosis tubular renal distal incompleta (1). Previamente a este estudio los pacientes demostraron tener orinas estériles (urocultivo negativo). Además no se hizo muestreo hasta por lo menos seis semanas después de cualquier acto quirúrgico para asegurar estabilidad nutricional, social y química. Toda medicación que no fuese estrictamente necesaria fue omitida por lo menos con 1 a 2 semanas de anticipación dependiendo del caso. Se evitó todo estudio radiológico que requiriese material de contraste una semana antes o durante el estudio. Todos los pacientes continuaron con su dieta habitual, asegurándonos de que no se sometieran a dietas bajas en calcio, obteniendo una ingesta de calcio de por lo menos 800 mg/día. El grupo control fue sometido al mismo esquema de estudio (ver número de individuos en tablas II y III).

La determinación de paratohormona (iPTH) y AMP-Cíclico fue realizada solo en aquellos pacientes con hipercalcemia o calcio sérico en el límite superior. Esto se llevó a cabo en el laboratorio del Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Caracas, gracias a la colaboración del Dr. Ezequiel Belforín F. En dicho laboratorio se utiliza el antisuero desarrollado por el Dr. E. Slatopolsky (Barnes Hospital, San Luis, Missouri) dirigido específicamente contra la región Carboxi-terminal de la paratohormona.

Clasificación Etiológica:

En base a la información obtenida mediante el esquema de estudio mencionado se establecieron diez diferentes diagnósticos:

1) Hipercalciuria Idiopática (HI):

Cuando el calcio urinario sobrepasó los 250 mg/día en la mujer o 350 mg/día en el hombre, o bien, cuando la excreción de calcio fue mayor de 0.280 mg/mg de creatinina o mayor de 4.5 mg de calcio/kg de peso por día en ambos sexos. No debe existir ninguna causa evidente de hipercalciuria (Ej: hipercalcemia, neoplasias, sarcoidosis, etc.), o de lo contrario, se considera como secundaria.

2) Acidosis Tubular Renal Distal (ATRD):

Cuando el pH urinario fue mayor de 5.3 a pesar de una sobre carga oral de cloruro de amonio.

3) Hiperparatiroidismo Primario (HPT):

Cuando en presencia de hipercalcemia se demostraron niveles altos de hormona paratiroidea.

4) Oxaluria Primaria o Secundaria:

Cuando el oxalato urinario sobrepasó los 100 mgs/días.

5) Litiasis Cálctica Hiperuricosúrica (LCH):

Cuando en pacientes formadores de cálculos de calcio se demuestra la presencia de una hiperuricosuria absoluta (ácido úrico mayor de 750 u 800 mg/día en la mujer o en el hombre, respectivamente) o relativa (ácido úrico no disociado mayor de 140 mgs/l, en ambos sexos) (4). Puede o no haber hipercalciuria asociada.

6) Litiasis de Acido Úrico (LAU):

Cuando se demostró la presencia de cálculos de ácido úrico.

7) Litiasis por infección Urinaria Primaria:

Cuando en ausencia de trastorno metabólico, surgió la infección como única explicación de la litogénesis. No debe confundirse con las infecciones secundarias a cálculos renales ya existentes.

8) Litiasis Cálctica Idiopática (LCI):

Cuando no se demostró trastorno metabólico alguno ni infección urinaria. Los cálculos debían contener calcio.

9) Cistinuria:

Si se demuestra la presencia de cristales de cistina en la orina.

10) Otros:

Incluye los pacientes que no pudieron ser clasificados dentro de alguno de los nueve diagnósticos arriba mencionados.

ANALISIS ESTADISTICO:

Se determinó promedio y desviación estandard ($X \pm DE$) de cada uno de los parametros tomando para cada paciente el valor que resulta al promediar cada una de las determinaciones practicadas (Ej: Calcio sérico; promedio de tres mediciones). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Wilcoxon (prueba de la suma de los rangos) para muestras no pareadas, Jádo que no conocemos el tipo de distribución de la población. Se consideró un valor de $P \leq 0.05$ como significativo.

RESULTADOS.

Los resultados de la evaluación se sumarizan en las Tablas I y II para aquellos grupos etiológicos con suficiente número de individuos. El resto de grupos etiológicos son discutidos por separado. La Tabla III muestra nuestros niveles normales para el calcio y ácido úrico basados en el estudio de controles con rango de edades similares a la de los pacientes.

La Tabla IV muestra la relación existente entre la ingesta de Na (excreción) y la excreción de calcio en la orina. Nótese que aún cuando las diferencias en la excreción de Na en los controles son significativas las de calcio no los son (aún cuando se nota cierta tendencia a la elevación significativa del calcio urinario ($P < 0.02$)). Sin embargo, no existe correlación entre los cambios en la excreción de Na y calcio.

DISCUSION

Litiasis Cálctica Hiperuricosúrica (LCH):

La LCH ocupa el primer lugar entre las causas de litiasis en nuestro medio (5). Estos pacientes se caracterizan por presentar excreción de ácido úrico significativamente superior a la de un grupo control y a la de pacientes con HI, LCI u otras formas de litiasis. A pesar de esto, ellos forman cálculos que esencialmente están formados por oxalato de calcio. Este fenómeno de nucleación heterogénea (crecimiento epitaxial) o de bloqueo de inhibidores de la cristalización del oxalato de calcio, puede llevarse a cabo mediante la supersaturación de la orina con uratos de sodio o ácido úrico en la forma no disociada. La forma de ácido úrico predominante depende primordialmente de la concentración de éste en la orina y del pH urinario (4).

Es evidente, sin embargo, que un gran número de pacientes (34%) no mostraron hiperuricosuria en términos absolutos (Acido úrico mayor de 700 mg/día en la mujer u 800 mg/día en el hombre). La inclusión de estos casos dentro de este grupo se debe a que al calcular la concentración de

TABLA I

ALTERACIONES QUIMICAS EN EL SUERO DE PACIENTES FORMADORES DE CALCULOS

	LCH* (n = 29)	HI* (n = 24)	HPT* (n = 4)	LAU* (n = 9)	LCI* (n = 17)	Cont* (°)
Sodio (mmol/L)	140 ± 4.3	137 ± 4.8	134 ± 6.8	140 ± 4.2	135 ± 4.8	139 ± 5 (16)
Potasio (mm I/L)	4.3 ± 0.6	4.2 ± 0.4	4.4 ± 0.4	4.35 ± 0.3	4.13 ± 0.4	4.2 ± 0.36 (16)
Cloro (mmol/L)	98.6 ± 8	97 ± 7.7	102 ± 4.9	101 ± 6	100 ± 6.6	<108 (&)
CO ₂ t (mmol/L)	26.7 ± 4	26 ± 3.9	27 ± 0.3	26 ± 3	28.0 ± 4.6	24-32 (&)
Calcio (mg /dl)	9.7 ± 0.5	9.64 ± 0.9	12.7 ± 1.7+	9.45 ± 0.88	9.77 ± 0.37	9.68 ± 0.36 (35)
A. Urico (mg /dl)	5.58 ± 1.6	5.58 ± 1.2	5.1 ± 1.6	5.47 ± 2.4	5.02 ± 1.18	4.89 ± 1.4 (25)
Magnesio (mg /dl)	2.0 ± 0.3	2.02 ± 0.5	2.0 ± 0.2	2.02 ± 0.16	2.02 ± 0.18	1.8-2.4 (&)
Fósforo (mg /dl)	3.52 ± 0.8	3.49 ± 1.3	2.4 ± 0.7	3.9 ± 1.1	3.45 ± 0.77	3.07 ± 0.38 (&)

(*) LCH: Litiasis Cálcea Hiperuricosúrica. HI: Hipercalcemia Idiopática. HPT: Hiperparatiroidismo primario. LAU: Litiasis de Acido Urico. LCI: Litiasis Cálcea Idiopática. Cont: Controles (°) Números en paréntesis=número de individuos estudiados. (+) P < 0.01.

TABLA II

HALLAZGOS QUÍMICOS EN LA ORINA DE PACIENTES FORMADORES DE CALCULOS

	LCH* (n = 29)	HI* (n = 17)	HPT* (n = 4)	LAU* (n = 9)	LCI* (n = 17)	Cont. (%)
Volumen (ml/24Hs.)	1287 ± 527	1512 ± 691	2154 ± 897	1815 ± 804	1124 ± 393	1270 ± 600 (20)
Depuración Creat (ml/mto)	98.7 ± 32	94.0 ± 45	79.0 ± 7.3	108 ± 21	94.7 ± 26	100 ± 26.7 (16)
Sodio (mmol/24Hs.)	188 ± 52ψ	193 ± 72ψ	90 ± 82	133 ± 48	140 ± 52	130 ± 62 (33)
Calcio (mg/24Hs.)	216 ± 86	256 ± 101λ	302 ± 121	204 ± 103	145 ± 54	198 ± 92 (50)
Calcio (mg/mg de C _{TU})	0.180±0.073	0.241±0.074ψ	0.323±0.130λ	0.155±0.050	0.137±0.050	0.164±0.068(50)
Calcio (mg/24Hs/KgP)	2.86 ± 1.0	3.90 ± 0.79 ϕ	5.6 ± 2.90λ	2.78 ± 0.90	2.28 ± 0.70	2.97 ± 1.30 (35)
AcÚrico (mg/24Hs.)	706 ± 234ψ	481 ± 146	550 ± 91	618. ± 156	454 ± 125	522 ± 171 (46)
AcÚrico NDE (mg/Ltr)	238 ± 174β	101 ± 62β	-----	188 ± 118β	57.2 ± 45β	< 138 (α)
pH Orina de 24Hs.	5.70 ± 0.47	5.90 ± 0.29	6.72 ± 0.65λ	5.49 ± 0.40 ϕ	6.22 ± 0.49	5.95 ± 0.54 (30)
Fosfatos (G/24Hs.)	0.95 ± 0.52	0.86 ± 0.36	0.47 ± 0.02	1.13 ± 0.45λ	0.57 ± 0.32	0.768±0.31 (16)
Sulfatos (G/24Hs.)	2.0 ± 0.8	1.4 ± 0.75	-----	3.2 ± 0.90ψ	-----	1.50 ± 0.60 (16)
Oxalatos (mg/24Hs.)	34.2 ± 15.6	36.4 ± 20.7	40.8 ± 11	37.0 ± 22.0	38.5 ± 15.0	29.0 ± 15.0 (24)

Todos los valores expresados en X DE. (*Seguir nomenclatura de Tabla I. (ε) Acido Úrico no disociado. (α) Tomado de referencia Nº 4. (ψ) P < 0.01; ϕ P < 0.02; λ) P < 0.05. (β) No se determinó significancia.

TABLA III

VALORES NORMALES DE CALCIO Y ACIDO URICO
EN NUESTRO LABORATORIO (*)

	Unidad	X DE	LS*	LC*	n
Calcio Serico	mg/dl	9.68 ±0.36	10.30	95%	35
Calcio Orina	mg/24Hs.	198 ±92	---	-	50
Hombres	mg/24Hs.	230 ±85	350	90%	22
Mujeres	mg/24Hs.	166 ±78	250	90%	28
	mg/mg Creat _U	0.164±0.068	0.280	95%	50
	mg/24Hs/Kg p.	2.97 ±1.3	4.5	90%	35
Ac. Urico Orina	mg/dl	522 ±171	---	-	46
Hombres	mg/dl	571 ±180	800	90%	21
Mujeres	mg/dl	481 ±156	700	95%	25

(*) En ambos sexos de no ser indicado.

(*) LS: Límite superior. LC: Porcentaje de individuos normales por debajo del límite superior.

TABLA IV

RELACION ENTRE LA EXCRECION DE SODIO Y CALCIO
EN CONTROLES Y PACIENTES CON HIPERCALCIURIA
IDIOPATICA

	Na ₁	Na ₂	Ca ₁	Ca ₂	r*	P ^o
Controles (n=9)	113±35 (P < 0.01)	199±58	250±102 (NS)	278±88	0.022	NS
Hipercalciuria Idiopatica	138±64 (P < 0.001)	216±73	266±111 (P < 0.02)	377±190	0.423	NS

(*) Correlación entre (Na₂-Na₁) vs (Ca₂-Ca₁)

(*) Significancia de r. NS= No significativo

Na₁= Sodio más bajo reportado en el individuo; Na₂= Sodio más alto en el mismo individuo; Ca₁= Calcio correspondiente a Na₁; Ca₂= Calcio correspondiente a Na₂. Na en mEq/24 Hs. Calcio en mg/24 Hs.

Análisis estadístico: t de Student para muestras pareadas.

ácido úrico no disociado en la orina éste se encontró por encima del valor de 138 mg/1, considerado por Coe y Col. como el límite superior normal y por encima del cual existe supersaturación metastable (4). Por otra parte, la hiperuricosuria no es un hallazgo constante (presente en tres determinaciones consecutivas) en 93% de los casos, lo que remarca la importancia de estudios seriados en el diagnóstico de litiasis renal. La presencia

de un sodio urinario elevado ($P < 0.001$ vs controles) favorece también el proceso de nucleación heterogénea entre urato de sodio y oxalato de calcio especialmente si el pH urinario es mayor de 6 (14).

La hipercalciuria estuvo presente en 42% de los pacientes con LCH. Algunos autores podrían considerar estos pacientes como hipercalciúricos con hiperuricosuria asociada. Nosotros, sin embargo, preferimos considerarlos como LCH para resaltar el papel de ácido úrico en la litogénesis y la necesidad de que sean tratados tanto desde el punto de vista hipercalciúrico como hiperuricosúrico.

El pH urinario mostró una tendencia, aunque no significativa, a estar disminuído. Esta aciduria relativa puede ser el resultado de una alta ingesta de proteínas animales lo cual se pone de manifiesto por el ligero aumento (tampoco significativo) de sulfatos y fosfatos en la orina.

El patrón químico del suero no presentó ninguna alteración (incluyendo el ácido úrico) diferente al patrón normal.

Hipercalciuria Idiopática (HI):

La HI se observa en el 22% de la población estudiada por nuestro grupo (5), otros autores la colocan como la causa más común de litiasis (3, 11), no obstante, el rango normal de calciuria continúa siendo punto de controversia. Hodgkinson y Pyrah (7) encontraron que el 90% de individuos sanos excretan menos de 300 mg/día en el hombre y 250 mg/día en la mujer. Pak y col. (13) por su parte, reportan niveles inferiores a 200 mg/día siempre y cuando el paciente se someta a una dieta restringida a 400 mg de calcio al día.

Nosotros hemos evaluado 50 individuos normales siguiendo su dieta habitual, 22 hombres y 28 mujeres. Los hombres excretaron 230 ± 85 mg/día y las mujeres 166 ± 78 mg/día (198 ± 92 mg/día, ambos). Esto situaría nuestro valor máximo (o sea 2 DE por encima del promedio) en 370 mg/día y 295 mg/día, respectivamente. No obstante debido a la distribución no normal de los resultados, llegamos a los valores normales que se presentan en la Tabla III. En este caso todos los individuos continuaron con su dieta habitual.

Los pacientes con HI mostraron, como es de esperarse, una calciuria significativa, sin embargo, ésto no fue un hallazgo constante en todos cuando el calcio se expresa en mg/día. Algunos de ellos solo presentaron hipercalciuria al expresar el calcio en mg/mg de creatinina en orina de 24 horas y/o en mg de calcio/24hs/kg de peso corporal (ver nuestros valores normales en la Tabla III). Este grupo de pacientes han sido catalogados por Coe y Cols. como **Hipercalciuria Idiopática Marginal** (2). La excreción de ácido úrico se mantuvo dentro de los límites normales con un pH uri-

nario de 5.9. Lo mismo puede decirse de la excreción de oxalatos.

La excreción de sulfatos y fosfatos fue igualmente normal. Esto tiene implicaciones interesantes, sin embargo; sabemos que la excreción de sulfatos y fosfatos están estrechamente relacionadas con la ingesta de proteínas animales (18), especialmente los primeros. Por lo tanto es fácil deducir que el consumo de proteína animal en estos pacientes es normal (comparado con los controles) y que el aumento de casos de litiasis en las poblaciones con alto consumo de proteínas animales podría no estar relacionado con un aumento en incidencia de pacientes con HI, pero sí de LCH. Estas consideraciones teóricas deben, no obstante, esperar su confirmación mediante estudios especialmente diseñados.

Es sabido que la excreción de calcio está relacionada con la del Na. Las variaciones del calcio urinario, según Leman y Cols. (9) son de relativa poca importancia cuando las variaciones del Na ingerido (excretado) se encuentran dentro de lo habitual. En el paciente con HI, sin embargo, la excreción de calcio puede variar considerablemente con ingestas de Na variando dentro de lo habitual (80-200 mEq/día) (10), por lo que se recomienda que los formadores de cálculos sean evaluados siguiendo regímenes dietéticos de aproximadamente 200 mEq/día. Nuestro grupo de pacientes presentaron un promedio de sodio en orina de 150 mEq/día, ciertamente por debajo de lo aconsejado por Muldowney y Cols (10). Debemos mencionar, sin embargo, que no hubo correlación significativa entre los cambios en la excreción de sodio y calcio en los pacientes con HI (para el cálculo se tomó el día con más bajo Na y se comparó con el día con más alto Na) ni en un grupo control de 9 individuos (Tabla IV). Esta falta de correlación no debe ser vista como contraria al efecto del Na sobre la excreción de Ca en individuos normales o hipercalcémicos; notese que si hubo una respuesta hipercalcémica significativa en los individuos con HI ($P < 0.02$) al aumentar su excreción de Na. Ella solo indica la falta de correlación entre las variaciones de Na y Ca en orina en muestras tomadas al azar en una población que se estudia sin restricciones dietéticas.

No hubo alteración significativa del patrón sérico. El fósforo sérico, sin embargo, estuvo por debajo de 2.5 mgs/dl en 4 de 17 casos con HI (23.5%) a diferencia de la LCH, donde la incidencia de hipofosfatemia fue de 7%, no encontrándose este hallazgo en los pacientes con LCI.

Litiasis de Acido Úrico (LAU):

13% de los pacientes formadores de cálculos lo hacen de ácido úrico (5). La razón de esta relativa alta incidencia en nuestro medio parece radicar, al igual que en otras partes del mundo, en el tipo de dieta a la cual se somete nuestra población. Para corroborar esto, se realizan en la actualidad estudios dietéticos; sin embargo, por los resultados de laboratorio presentados en la Tabla III, podemos predecir una alta ingesta de proteínas anima-

les y purinas en este grupo selecto de pacientes. Así tenemos que la aciduria, fosfaturia y sulfaturia son significativamente superiores en la LAU que en los controles ($P < 0.02$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, respectivamente). Estos tres parámetros son índices indirectos del consumo de proteína animal (4, 17, 18).

Aproximadamente 73% de los casos presentaron uricosuria por encima de los niveles normales, aun cuando no en todos los pacientes fue constante. El restante 27% presentó niveles elevados de ácido no disociado a pesar de un ácido úrico normal en orina. Esto se debió básicamente a un pH urinario relativamente bajo. De allí la importancia de medir el pH urinario en una forma exacta durante el estudio bioquímico de un paciente formador de cálculos.

Litiasis Cálctica Idiopática (LCI):

Este grupo de pacientes (18%), se caracteriza por no presentar alteración sérica o urinaria que lo diferencie de un grupo de individuos no formadores de cálculos de calcio; aún así, ellos continúan formando cálculos con una frecuencia igual a la de otro tipo de litiasis.

Los factores que desencadenan la litogénesis en la LCI no han sido bien establecidos. La discusión a fondo de este tópico escapa del propósito de este reporte, sin embargo, debemos discutir ciertos hallazgos de importancia: Algunos autores han reportado la presencia de hiperoxaluria moderada en la LCI (6, 15, 16), la cual, podría cumplir un papel importante en la litogénesis ya que el efecto del oxalato sobre la saturación de la orina con respecto al oxalato de calcio es mucho más pronunciado que el que se esperaba con cambios equivalentes de calcio. Nuestros pacientes, sin embargo, aún cuando presentaron una tendencia a excretar más oxalato que los controles, la diferencia no fue significativa. Hallazgos similares son reportados por Pak y Col. (11, 12). La excreción de ácido úrico, Na y el pH urinario se mantuvieron dentro de los límites normales haciendo poco probable un mecanismo de nucleación heterogénea entre ácido úrico y oxalato de calcio como posible causa de calculogénesis.

Otros Diagnósticos:

Todos nuestros pacientes con hiperparatiroidismo primario mostraron las manifestaciones de laboratorio clásicas de la enfermedad; hipercalcemia, hipofosfaturia, hipercalcemia. El pH urinario fue alcalino probablemente como resultado de la bicarbonaturia inducida por los altos niveles de PTH. Solo en un paciente hubo corroboración quirúrgica (un adenoma), los otros fueron perdidos en el seguimiento. Los niveles de PTH variaron entre 30 y 35 $\mu\text{l/mEq/ml}$ ($\text{VN} = 2 - 10 \mu\text{l/mEq/ml}$).

La causa más frecuente de hipercalciuria secundaria fue el riñón en esponja (2 de 4 casos). Un reporte reciente (19) indica que la hipercalciuria se presenta en 71% de los casos de riñón esponjoso. Además, suelen presentar un calcio ultrafiltrable por debajo del rango normal lo que hace pensar en un trastorno en la reabsorción de calcio a nivel tubular.

Nuestros casos de riñón esponjoso presentaron hallazgos interesantes. Uno de ellos con nefrocalcinosis y tubuloectasia unilateral derecha. La calciuria fue de 418 mg/día, calcio sérico 9.3 mg/dl y fósforo sérico en 1.6 mg/dl. No hubo defectos en la acidificación urinaria quizás porque el riñón contralateral contrarrestaba el defecto del otro. El segundo paciente presentó hipercalciuria (369 mg/dl), normocalcemia (9.2 mg/dl) y fósforo sérico en 2.8 mg/dl. Además se demostró la presencia de un defecto en la acidificación distal de la orina.

Dos pacientes mostraron acidosis tubular renal distal, ambas en la forma incompleta. Uno de ellos con hipercalciuria (descrito arriba) y otro sin hipercalciuria con nefrocalcinosis bilateral y el cual ha respondido satisfactoriamente al tratamiento con soluciones alcalinizantes orales, demostrando disolución, casi total, de las calcificaciones.

En conclusión, creemos que los pacientes formadores de cálculos deben ser evaluados sistemáticamente siguiendo un esquema de estudio, el cual, basados en el presente trabajo, hemos logrado dividirlo en una parte básica y otra complementaria (ver Tabla V).

TABLA V

ESQUEMA BASICO Y COMPLEMENTARIO PARA EL ESTUDIO DE LITIASIS EN PACIENTES AMBULATORIOS

ESTUDIO	BASICO	COMPLEMENTARIO
SUERO	ORINA X 3 (°)	Urografía de Eliminación
Calcio x 3 (°)	Sodio	Urocultivo
CO ₂ t (venoso)	Calcio	Ac. Úrico en suero
Creatinina	Ac. Úrico	Oxalato Urinario
	Creatinina	Sodio+Potasio+Cloro (suero)
	pH Urinario*	Fósforo y Magnesio
	Ac Úrico ND**	Fosfatasa Alcalina
	Sedimento Urinario	Albumina Sérica
		Cuantificación de Cistina
		Paratohormona, AMP-Cíclico

(°) En tres muestras diferentes. (*) PH urinario debe ser medido hasta con dos decimales. (**) Acido úrico no disociado: estimado mediante la formula: $A_{Und} = AcU \text{ total en mgs/Ltr} \div (1 + 10^{pH - pK})$. Donde pK es la constante de disociación del ácido urico = 5.345. pH de orina de 24 horas.

Comentario sobre los Valores Normales: /

Nótese que 10% de la población no formadora de cálculos presenta hipercalcúria o hiperuricosuria, aún con un límite superior normal similar o por encima de lo que rutinariamente se acepta (3). Es evidente entonces, que la alteración de alguno de los parámetros no es capaz por sí solo, al menos desde el punto de vista práctico, de llevar a la formación de cálculos. La combinación de "alteraciones" y la exposición del paciente a ciertas condiciones dietéticas y ambientales son las que en definitiva inducirán la formación de éste. Utilizar valores normales más altos, tratando de abarcar 95% a 99% de la población podría llevarnos a ignorar alteraciones metabólicas existentes que influyen en la formación de cálculos, dejando un gran número de pacientes sin diagnóstico y sin posibilidades terapéuticas (ver Tabla III para valores normales).

Agradecimientos

Este Trabajo ha sido subvencionado por el CONICIT (Proyecto S1-1239) y La Asociación Amigos del Riñón.

ABSTRACT

Biochemical Features of Kidney Stone Formers. *Henríquez La Roche C. (Servicio de Nefrología y laboratorios de la Unidad de Dialisis del Hospital Universitario. Hospital Universitario, Apartado Postal 1430. Maracaibo 4001-A. Venezuela), Wong A. Invest Clín 26(4): 215-230, 1985.*— This report summarizes our findings after evaluating 97 renal stone formers at the Hospital Universitario de Maracaibo, during 1982 and 1983, following a pre-established stone profile which includes the measurements of metabolites and elements which have a role in renal stone formation. Following such profile we have been able to diagnose some type of metabolic disorder capable to explain the lithogenesis in 82% of the cases. In addition, we found that 34% of calcium stone formers in whom uric acid played a physiopathologic role, did form stones because of low urine pH, due to a high acid ash diet (without hyperuricosuria). Similar results are seen among the uric acid stone formers (27%). In Idiopathic Hypercalciuria, only hypercalciuria presented as a consistent etiologic factor. Only 23.5% of patients showed mild hypophosphatemia, and hyperoxaluria was not a remarkable finding. Patients with Idiopathic Calcium Urolithiasis did not show significant hyperoxaluria or evidence of heterogeneous nucleation between uric acid and calcium salts. Our findings underline the importance of evaluating renal stone formers following an organized protocole of study which must include at least three urine and blood samples. Therefore, we propouse, based on the present results, a basic (minimun) and complementary evaluation profile for renal stone formers.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- CHAN J.C.M.: Renal Acidosis. In: Renal Function Tests. Duarte CG. Edt. Little, Brown & Company. Boston. 1980.
- 2- COE F.L.: Threatened and unthreatened recurrent calcium nephrolithiasis in patients with idiopathic hypercalciuria, hyperuricosuria or no metabolic disorder. *Ann Int Med* 87:404-410, 1977.
- 3- COE F.L., FAVUS M.J.: Disorders of stone formation. In: The kidney Brenner BM, Rector FC (Edts.). Second Edition. pp 1950-2007, WB Saunders Co. Philadelphia. 1981.
- 4- COE F.L., STRAUSS A.L., TEMBE V., DUN S.L.: Uric acid saturation in calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 17:662-668, 1980.
- 5- HENRIQUEZ-LA ROCHE C.A., HERRERA J.D.: Aspectos clínicos de 116 pacientes formadores de cálculos. *Invest Clínicas Vol* 26(2): 103-115, 1985.
- 6- HODGKINSON A.: Relation between oxalic acid, calcium, magnesium and creatinine excretion in normal man and male patients with calcium oxalate kidney stones. *Clin Sci Molec Med* 46:357-367, 1974.
- 7- HODGKINSON A., PYRAH L.N.: The urinary excretion of calcium and inorganic phosphate in 344 patients with calcium stone of renal origen. *Br J Surg* 46:10-18, 1958.
- 8- HODGKINSON A., WILLIAMS A.: An improved colorimetric procedure for urine oxalate. *Clin Chim Act* 36:127-132, 1972.
- 9- LEMANN'J., ADAMS N.D., GRAY R.W.: Urinary calcium excretion in human beings. *N Engl J Med* 301:535-541, 1979.
- 10- MULDOWNNEY F.P., FREANEY R., MOLONEY M.F.: Importance of dietary sodium in the hypercalciuric syndrome. *Kidney Int* 22: 292-296, 1982.
- 11- PAK C.Y.C., BRITTON F., PETERSON R., WARD D., NORTH-CUTT C., BRESLAU N.A., McGUIRE J., SAKHAE K., BUSH S., NICAR M., NORMAN D.A., PETERS P.: Ambulatory evaluation of nephrolithiasis. *Am J Med* 69:19-30, 1980.
- 12- PAK C.Y.C., FETNER C., TOWNSEND J., BRINKLEY L., NORTH-CUTT C., BARILLA D.E., KADESKY M., PETERS P.: Evaluation of calcium urolithiasis in ambulatory patients. *Am J Med* 64:979-987, 1978.

- 13- PAK C.Y.C., OHATA M., LAWRENCE E.C., SNYDER W.: The hypercalciurias: Causes, parathyroid function and diagnosis criteria. *J Clin Invest* 54:387-400, 1974.
 - 14- PAK C.Y.C., WATERS O., ARNOLD L., HOLT K., COX C., BARRILLA D.: Mechanism for calcium urolithiasis among patients with hyperuricosuria. *J Clin Invest* 59:426-431, 1977.
 - 15- ROBERTSON W.G., PEACOCK M., MARSHALL R.W., MARSHALL D.H., NORDIN B.E.C.: Saturation inhibition index as a measure of the risk of calcium oxalate stone formation in the urinary tract. *N Engl J Med* 294:249-252, 1976.
 - 16- ROBERTSON W.G., PEACOCK M., NORDIN B.E.C.: Calcium oxalate crystalluria and urine saturation in recurrent stone formers. *Clin Sci* 40:365-374, 1971.
 - 17- STOFF J.S.: Phosphate homeostasis and hypophosphatemia. *Am J Med* 72:489-495, 1982.
 - 18- YAMORI Y., NARA Y., KIHARA M., OOSHIMA A.: Sodium and other dietary factors in experimental and human hypertension. The Japanese experience. In: *Frontiers in Hypertension Research*. pp 46-48. Laragh JH, Buhler FR, Seldin DW (Edtrs). Springer-Verlag. New York. 1981.
 - 19- YENDT E.R., COHANIM M.: Renal calculi. *Proceedings of 8th International Congress in Nephrology*. pp 1175-1178. Athens. 1981.
-

**SALMONELLA OSTEOMYELITIS IN A RENAL TRANSPLANT
RECIPIENT. Brief Report:**

**Arturo Wong, Rafael García, Carlos Henriquez, Bernardo
Rodríguez-Iturbe.**

From the Renal Service and Laboratory, Department of Medicine, Hospital Universitario. Apartado Postal 1430. Maracaibo, Zulia 4001-A, Venezuela.

ABSTRACT

This report concerns a renal transplant recipient who developed osteomyelitis due to *Salmonella enteritidis* serotype Dublin. The patient is a 43-year old man with chronic renal failure due to nephrosclerosis, who developed unexplained fever one month after receiving a kidney from his father. *Salmonella* Dublin, was isolated from 3 blood cultures. He responded well to oral chloramphenicol therapy which was maintained for 4 weeks. He remained asymptomatic for 1 month. At this time he again presented fever and a radiolucent bone lesion was found in the tibia. *Salmonella* Dublin was cultured from the blood, as well as from the bone lesion. The patient responded well to surgical treatment of the osteomyelitis and therapy with ampicillin and trimetoprim-sulphamethoxazole which was maintained for 3 months.

It is suggested that salmonella infections require prolonged treatment in immunosuppressed patients and that it may be advisable to investigate the carrier state in transplant candidates in geographical areas where salmonellosis is endemic.

CASE REPORT

Increased susceptibility to micotic, viral and bacterial infections is a well known characteristic of renal transplant receptors, but certain specific infections are uncommon. Salmonella infections are rare and, when present, are usually located in the urinary tract (1). To our knowledge, salmonella osteomyelitis has been recognized previously in only one transplant recipient in a recent revision (2), and the clinical aspects of the case were not given. This communication describes the features of a patient in our series of 152 renal transplants who had salmonella osteomyelitis.

The patient is a 43 year old male with chronic renal failure secondary to nephrosclerosis, who received the kidney from his father. He does not have sickle cell anemia or its trait. He received standard immunosuppressive therapy (azathioprine 3 mg/kg/day and prednisone 100 mg/day), but he had an acute rejection episode 2 days after transplantation. Rejection responded to additional steroid therapy (250 mg prednisone daily for 3 days) and prednisone was reduced to 0.20 mg/kg/day. He was discharged with normal renal function. One month after transplantation, he suddenly developed a 40°C temperature and pain in both knees. Physical examination did not disclose any relevant findings. Serum creatinine was 1.0 mg/dL, white blood cell count 6,250 per mm³ with 81% segmented neutrophils and 19% lymphocytes. Sedimentation rate (1 hour) was 30 mm, uric acid 4.3 mg/dL and proteinuria was 1.4 g per 24 hours. X-rays of the knees and legs were within normal limits.

The remaining hematologic and biochemical work-up was within normal limits. Widal serologic test demonstrated 1:80 and 1:400 antibody titers against H and O antigens, respectively. Salmonella enteritidis serotype Dublin, was isolated from 3 blood cultures three urine cultures and 3 stool cultures were negative. The gall bladder was within normal limits by oral cholecystography and ultrasound studies. The patient was placed on chloramphenicol 500 mg every 6 hours and the fever disappeared after 72 hours. The therapy was maintained for 4 weeks, the patient remained asymptomatic and 3 blood cultures were negative. The patient was discharged from the hospital.

The course was uneventful until one month later when fever reappeared and he developed a painful, swollen and erythematous area of about 2-2.5 inches in diameter in the upper third of the right leg. New X-ray studies showed a radiolucent area in the tibia (figure 1), not present in the radiologic study done previously, at a level corresponding to the subcutaneous inflammation described above. Salmonella Dublin was isolate again from a blood culture. Surgical treatment of the bone lesion was performed

under local anesthesia and the material obtained also yielded *S. enteritidis*, ser. Dublin. The patient was placed on ampicillin (1 g every 6 hours) and trimethoprim sulfamethoxazole (160 mg trimethoprim and 800 mg sulfamethoxazole, twice a day) with remission of the fever after 4 days. This treatment was maintained for 3 months. The patient has remained asymptomatic in subsequent follow-up, the last one 17 months after renal transplant.

The following comments may be appropriate:

1) Osteomyelitis developed and sepsis with salmonella recurred after what seemed to be adequate treatment. This would suggest that treatment



Fig. 1.— Osteomyelitis in the tibia was suggested by the radiolucent area indicated by the arrow heads. The lesion was treated surgically. *Salmonella enteritidis* serotype Dublin was isolated in the cultures.

should be maintained for an extended period of time in immunosuppressed patients.

2) In areas where salmonellosis is endemic it may be worthwhile to investigate the carrier state in renal transplant candidates.

RESUMEN

Osteomielitis por salmonela en un paciente con trasplante renal. Wong, A., Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Maracaibo. Maracaibo, Venezuela. García, R., Henríquez, C., Rodríguez-Iturbe, B., Apartado Postal 1430. Maracaibo 4001-A. *Invest Clín Vol 26(4): 231-234, 1985.*—

Este reporte se refiere a un caso de osteomielitis debida a *Salmonella enteritidis* serotipo Dublin, en un trasplantado renal. El paciente, de 43 años de edad, con insuficiencia renal crónica secundaria a nefrosclerosis, desarrolló fiebre de causa no conocida un mes después de haber recibido un riñón de su padre. En tres hemocultivos hechos subsecuentemente al trasplante se evidenció la presencia de *Salmonella* Dublin. El paciente respondió satisfactoriamente al tratamiento por vía oral con cloramfenicol, el cual fué mantenido por 4 semanas. Luego de un mes asintomático, el paciente regresó con fiebre y una lesión radiolúcida en la tibia. Tanto de la sangre como de la lesión ósea se aisló *Salmonella* Dublin. El paciente respondió nuevamente al tratamiento, el cual consistió en esta ocasión en curetaje de la osteomielitis y terapia con ampicilina y trimetoprim-sulfametoxazol por 3 meses. Se sugiere que las infecciones por salmonella en pacientes inmunosuprimidos requieren tratamiento prolongado y que es conveniente investigar el estado de portador sano en candidatos a trasplante renal, en especial, en aquellas áreas donde la salmonelosis es endémica.

Acknowledgements

The authors thank Dr. Maritza Pineda from the Centro Regional de Referencia Bacteriológica for the bacteriologic studies and helpful advice. Financial support was received from INBIOMED (Fundacite, Zulia) and from the Asociación de Amigos del Riñón, Maracaibo.

REFERENCES

- 1— DUPUIS F., VEREERSTRAETEN P., VAN GEERTRUYDEN J., KINNAERT P., SCHOUTENS E., TOPUSSINT C.: *Salmonella typhimurium* urinary infection after kidney transplantation. Report of seven cases. *Clin Nephrol.* 2:131-135, 1974.
- 2— O'BRIEN T.F.: Infection in dialysis and transplant patients. In: *Surgical care of the patient with renal failure.* 67-97. Tilney NL, Lazarus JM., Eds. Philadelphia, Pa. W.A. Saunders Co. 1982.

**CROMOMICOSIS POR *CLADOSPORIUM CARRIONI*
EN CRIADORES DE CAPRINOS DEL ESTADO FALCON**

**Francisco Yegres*, Nicole Richard-Yegres*, Elsa Medina-Ruiz*
Rafael González-Vivas****

* Laboratorio de Microbiología, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. (C.I.B.-U.N.E.F.M.). ** Servicio de Dermatología, Hospital General Alfredo Van Grieken (H.G.A.V.G.). Coro, 4101, Estado Falcón, Venezuela.

RESUMEN

Falcón ha sido señalado en Venezuela como zona endémica para la cromomicosis desde 1938. Se estudiaron 64 casos registrados desde 1973 hasta 1984. En 31 casos en los 3 últimos años se confirmó mediante estudios micológicos *Cladosporium carrionii*. De los 18 casos registrados durante 1984, 14 eran criadores de caprinos. El 90% de los pacientes viven en la zona semi-árida de vegetación xerófila en particular cactáceas donde una de las principales actividades económicas es la cría de caprinos; no se presentaron casos de infección en menores de 10 años; en 85% de los casos la infección se manifestó después de los 20 años; el 70% de los pacientes son del sexo masculino, el 97% presenta las lesiones en las extremidades, con predominio de las extremidades superiores en un 70% de los casos; 2/3 de los pacientes acudieron a la consulta en los 5 primeros años de evolución.

Se considera que el establecimiento de una epidemia en la zona semi-árida de Falcón está determinada por 1º) las condiciones climáticas favorables al desarrollo de

uno de los agentes etiológicos de la cromomycosis y 2º) las actividades relacionadas con la cría de caprinos, que implican en los habitantes, en particular los hombres adultos, traumatismos repetidos durante varios años con restos de vegetación xerófila.

Las actividades agrícolas con técnicas primitivas explicarían una alta frecuencia de casos y la existencia de zonas endémicas de cromomycosis en los países tropicales.

INTRODUCCION

La cromomycosis es una enfermedad crónica de distribución mundial frecuente en las áreas tropicales situadas entre 30° de latitud norte y 30° de latitud sur (15). Esta enfermedad es considerada en algunos países como problema de salud pública (8).

Los aspectos clínicos de la misma son hoy en día bien conocidos. El crecimiento lento de las lesiones durante varios años afecta psicológicamente al paciente y determina una invalidez parcial cuando éstas se hacen muy extensas.

De 181 casos reportados en Venezuela en 1979 (1) 150 (83%) corresponden a los Estados Falcón, Lara y Zulia. El Estado Falcón ha sido señalado por varios autores (2, 9, 10, 12, 16, 17) como zona endémica para la cromomycosis desde 1938 cuando O'Daly (13) publicó su trabajo pionero en ese campo.

En este estudio nos proponemos llamar la atención sobre la importancia de las actividades desarrolladas por los pacientes, en su mayoría agricultores de escasos recursos económicos dedicados a la cría de caprinos, como uno de los factores que determinan la endemia en la zona semi-árida de Falcón.

MATERIALES Y METODOS

Los casos estudiados fueron examinados entre 1973 y 1984 en el Servicio de Dermatología del Hospital General Alfredo Van Grieken. Los casos registrados entre 1973 y 1981 fueron recopilados de las historias médicas del Hospital excluyendo los diagnósticos no confirmados por el anatomopatólogo.

A partir de 1981 los estudios micológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. El estudio incluye los 45 casos previamente reportados (17).

El diagnóstico de enfermedad se realizó mediante la observación de la forma parasitaria —células fumagoides o escleróticas— en las escamocostras retiradas del borde activo de las lesiones y aclaradas con KOH al 10% (3). El aislamiento del cromomiceto responsable (6) se logró mediante el cultivo a 30°C por 8 a 15 días de parte de la muestra clínica en medio lactrimel (medio casero de Borelli: 30 grs. de harina de trigo, 10 grs. de miel de abejas, 15 grs. de agar, 200 cc. de leche pasteurizada, 1200 cc de agua destilada). La identificación se realiza mediante la observación de las estructuras reproductoras características del agente etiológico en un microcultivo en lámina (4). Se inocula una pequeña parte de la colonia aislada en 4 a 5 gotas de Mycosel (BBL) fundido sobre un porta-objeto colocado sobre un soporte en una placa de petri cuyo fondo se recubre con papel absorbente humedecido con agua con el fin de mantener la humedad e incubando 5 a 8 días a 30°C.

Las observaciones se realizaron con un Microscopio de luz LABOVAL 2 utilizando objetivo 40X.

RESULTADOS

Se registró un total de 64 pacientes hasta 1984. 33 (51,56%) hasta 1981 y 31 (48,43%) en los 3 años siguientes. En estos últimos casos la identificación del agente etiológico confirmó *Cladosporium carrionii*. De los 18 casos encuestados durante 1984, 14 eran criadores de cultivos, 2 se dedicaban al transporte de piedras para la construcción y 1 era albañil, en un caso no se anotó la ocupación. El 90% de los pacientes viven en la zona semi-árida de vegetación xerófila que comprende las zonas costeras, el piedemonte costero, las depresiones y la Península de Paraguaná (14) (Fig. 1). La reservarea (5) cubre aproximadamente un 50% de la superficie del Estado. En 62 casos la distribución por Distrito fue la siguiente: Distrito Miranda 32 casos (51,61%), Distrito Democracia 13 casos (20,96%), Distrito Bolívar 6 casos (9,67%), Distrito Federación 5 casos (8,06%). Los Distritos Buchivacoa, Colina, Zamora y Falcón presentaron un total de 6 casos (9,67%), mientras que en los Distritos restantes: Carirubana, Acosta, Silva, Mauroa y Petit no se detectaron casos. (Fig. 1). La relación hombre-mujer fue 2,33/1. (Tabla I).

El 96,77% de los pacientes presentaron las lesiones en las extremidades con predominio de las extremidades superiores en un 70% de los casos.

(Tabla II). La edad en la cual se manifestó la infección se calculó restando el tiempo de evolución de la edad del paciente. Se encontró que no hubo ningún caso de infección antes de los años y que en el 85% de los casos ésta se manifestó después de los 20 años de edad. (Fig. 2). 38 (62%) pacientes acudieron a la consulta en los 5 primeros años de evolución. 23 (38%) lo hicieron posteriormente. 2 (4%) presentaron más de 20 años de evolución. (Tabla III).

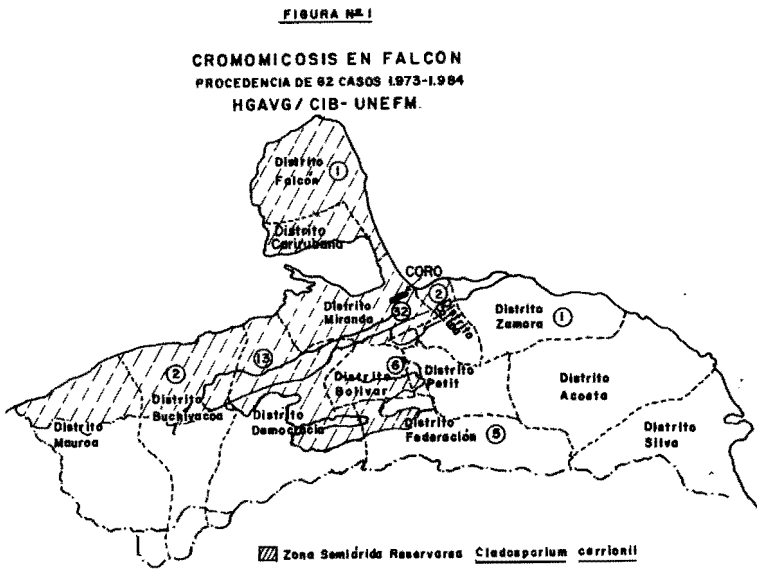


Fig. 1.— Los pacientes viven en la zona semi-árida de vegetación xerófitas que comprende las zonas bajas costeras, el piedemonte costero, las depresiones y la Península de Paraguaná. Los números en los círculos corresponden a los casos presentados en cada comunidad.

DISCUSION

El Estado Falcón cuya población estimada para 1983 era de 551.873 habitantes (datos suministrados por el Servicio de Epidemiología del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social) presenta una zona semi-árida con ve-

TABLA I

DISTRIBUCION DE LAS EDADES A LAS CUALES SE INFECTARON EN 60 CASOS

Edad	Frecuencia	Frecuencia Relativa (%)	Hombre	—	Mujer
0-10	0	—	—	—	—
11-20	9	15%	2	—	7
21-30	5	8,33%	5	—	—
31-40	7	11,60	5	—	2
41-40	15	25,00	10	—	5
51-60	14	23,33	11	—	3
61-70	5	8,33	4	—	1
71-80	3	5,00	3	—	—
81 ó más	2	3,33	2	—	—
			42		18

Relación $\frac{\text{N}^\circ \text{ Hombres}}{\text{N}^\circ \text{ Mujeres}} = 2,33$ Hombres (70%) Mujeres (30%)

TABLA II

LOCALIZACION DE LAS LESIONES EN 62 PACIENTES

<u>Extremidad Superior</u>	<u>Nº de Casos</u>	
Derecha	22	
Derecha y tronco	1	
Izquierda	19	
Total	42	
<u>Extremidad Inferior</u>		
Derecha	11	
Izquierda	7	
Total	18	
Total Extremidades	60	(96,77%)
Tronco	1	
Cara	1	

Relación

$\frac{\text{Extremidad Superior}}{\text{Extremidad Inferior}} = \frac{2,33}{1}$

getación xerófila donde la cría de caprinos es una de las actividades económicas más importante, en particular en los Distritos Bolívar, Democracia, Miranda y Falcón. El Censo Pecuario del ministerio de Agricultura y Cría de Noviembre de 1983 sitúa en 622.208 el número de caprinos en Falcón, siendo este Estado el mayor productor en Venezuela seguido por Lara y Zulia.

FIGURA Nº 2

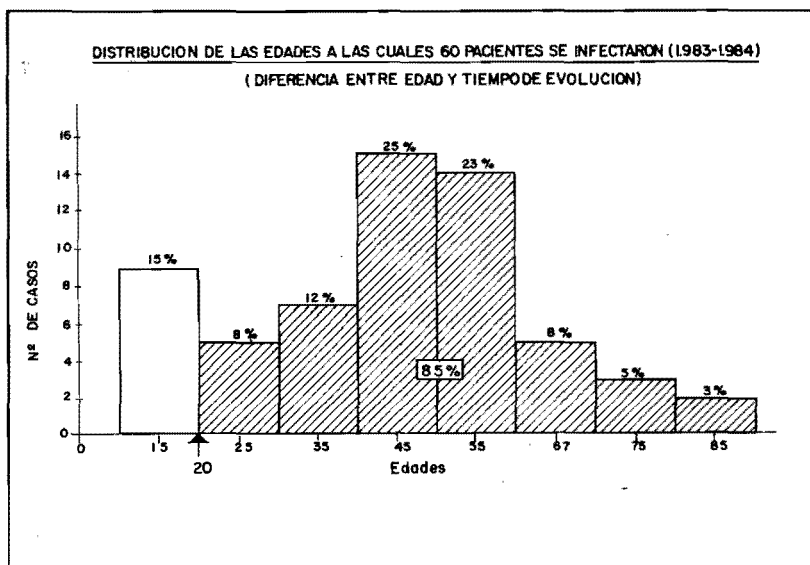


Fig. 2.— No se registró ningún caso de infección antes de los 10 años; la infección se manifiesta en un 85% de los casos después de los 20 años.

Cladosporium carrionii, el agente etiológico de la Cromomicosis en los 31 pacientes estudiados entre 1982 y 1984, ha sido señalado como propio de las zonas de clima seco (7).

La presencia de *C. carrionii* en la zona xerófila ha sido confirmada por a) el estudio epidemiológico realizado por Albornóz & Col. (2) donde se establece que en un total de 180 personas, el índice de positividad fue de 44% en la población para el antígeno de *C. carrionii* y el 4% al de *F. pedrosoi*. b) el aislamiento de varias cepas a partir de restos vegetales en particular *Opuntia caribaea* en las cercanías de un corral de chivos, en Santa Rita cerca de Sabaneta, Distrito Miranda (18).

TABLA III

TIEMPO DE EVOLUCION EN 61 PACIENTES EN EL MOMENTO DE LA CONSULTA (EN AÑOS)

Años	Nº de Casos	(%)
0- 5	38	62
6-10	13	21
11-15	3	5
16-20	5	8
21-25	—	0
26-30	1	2
31-35	—	0
36-40	1	2

Sin embargo, consideramos que la presencia del hongo patógeno en el ambiente no es suficiente para explicar el gran número de casos en el área. Gezuela y col. (11) lograron repetidamente el aislamiento de los cromomicetos (6) del medio ambiente en Uruguay, país que para 1972 sólo reportó 3 casos de cromomicosis.

En nuestro estudio un 83% de los pacientes provienen precisamente de los Distritos Miranda, Democracia y Bolívar, 3 de los 4 Distritos donde la cría de caprinos es más intensiva. (Fig. 1).

La localización de las lesiones en miembros inferiores en 69% de los pacientes en Madagascar señalada por Brygoo y Secretain (7) contrasta con nuestros resultados demostrando que en un 70% de los casos las lesiones afectan manos, brazos y hombros. (Fig. 3) (Tabla II) y apunta sin lugar a duda hacia un factor relacionado con las labores desempeñadas por las personas afectadas.

Los hombres mayores de 20 años conforman el grupo más afectado (Fig. 2), resultado significativo si se considera que solo un 40% de la población es mayor de 20 años. Estos datos corroboran la investigación realizada por Albornóz y col. (2) la cual establece que los grupos de edad entre 25 y 55 años presentan una positividad al antígeno de *C. carrionii* por encima del 80% y una mayor sensibilización del sexo masculino.

Si bien el predominio del sexo masculino ha sido señalado por varios autores (8) no es una regla absoluta ya que en Japón la distribución entre los dos sexos, es equilibrada ocurriendo igualmente la infección en niños

menores de 10 años y señalándose además el cuello y la cara como localización frecuente de las lesiones (15). No se puede, sin embargo descartar una posible diferencia de respuesta inmunológica entre los dos sexos. El agente etiológico más frecuente en Japón es *Fonsecaea pedrosoi*. (15).

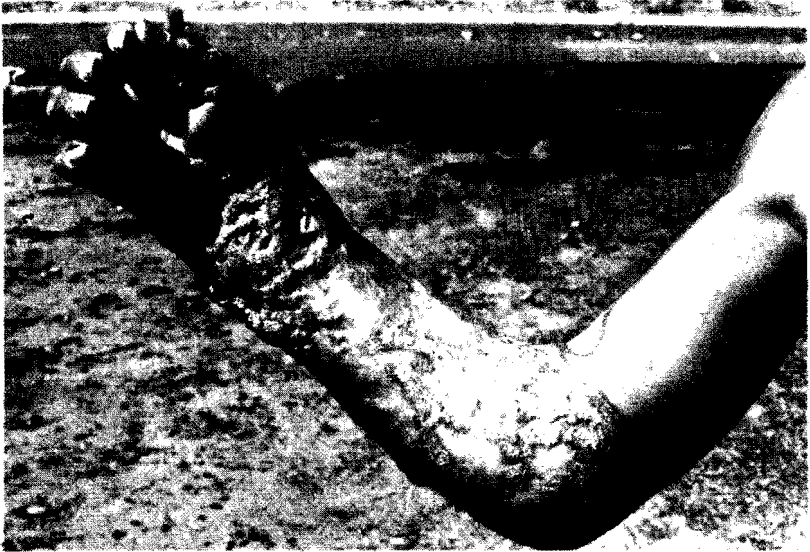
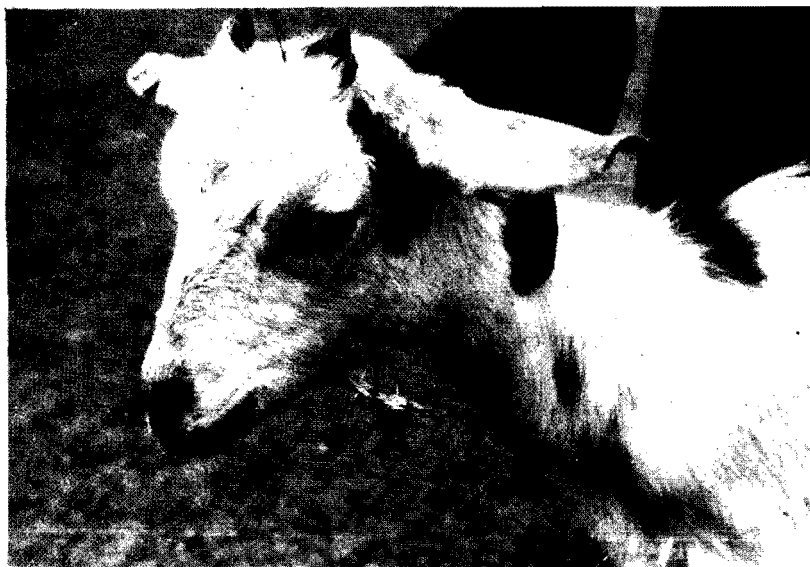


Fig. 3.— Aproximadamente 2/3 de los pacientes presentan lesiones en las extremidades superiores.

El alto porcentaje (38%) de casos con más de 5 años de evolución revela la falta de atención al problema en la zona. (Tabla III).

La presencia de cactáceas cerca del domicilio, la fabricación de cercas con troncos de árboles que crecen en la zona semi-árida, la práctica diaria de retirar las espinas de la piel de los caprinos que regresan al corral, la atención de los mismos cuando se crían en forma libre obligando al campesino a internarse entre los arbustos espinosos, determinan una exposición permanente al riesgo de traumatismos con astillas y espinas de cactus y en particular de *Opuntia caribaea* referida por muchos criadores de caprinos como al origen del problema según lo señala ya O'Daly en 1938 (13). (Figs. 4 y 5).

El estudio de la ocupación en los Estados Lara y Zulia debe confirmar esta hipótesis. Las zonas semi-áridas en el Oriente del país son mucho menos extensas y es menos importante la cría de caprinos en la misma, lo cual explicaría que sólo se reportaron 4 casos de cromomycosis en el Estado Sucre para 1979 (1).



Figs. 4 y 5.— La cría de caprinos en la región semi-árida determina una exposición permanente a los traumatismos con astillas y espinas permitiendo la introducción *C. carrionii* presente en la reservarea.

CONCLUSIONES

El Estado Falcón pasa a ser la entidad territorial con el mayor número de casos de cromomicosis en Venezuela con un total de 134 casos, suman-

do los 64 de nuestro estudio a los 70 recopilados recientemente por Vargas (16).

Se considera que el establecimiento de una endemia de cromomicosis en Falcón está determinada por las condiciones climáticas favorables a uno de los agentes etiológicos, y una ocupación, la cría de caprino, que implica en la población de la zona, en particular los hombres adultos, traumatismos repetidos durante varios años con restos de vegetación xerófila que facilitan la inoculación del hongo.

En el Japón las actividades dentro del hogar relacionadas con objetos punzantes de madera podrían explicar las diferencias en lo que se refiere a la relación equilibrada entre los sexos y el número de niños afectados.

Las actividades relacionadas con la agricultura muchas veces con técnicas primitivas explicarían una alta frecuencia de casos y el establecimiento de zonas endémicas para cromomicosis en los países tropicales.

RECOMENDACIONES

El control de la endemia mediante el diagnóstico precoz y tratamiento adecuado e inmediato es responsabilidad de los centros de salud en la región.

La erradicación de esta endemia rural sólo se logrará cuando el mejoramiento de las condiciones socio-económicas y culturales de los campesinos de la zona permita un manejo menos primitivo de los rebaños de caprinos.

Agradecimiento

Agradecemos al Dr. Dante Borelli su asesoramiento para la realización de este estudio. Este trabajo fue parcialmente financiado por el CONICIT (Proyecto SI-1554).

ABSTRACT

Cromomicosis by *Cladosporium Carrionii* in goat-keepers of the Falcon State (Venezuela). Yegres F. (Laboratorio de Microbiología, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, CIB-UNEFEM, Coro 4101, Edo. Falcón, Venezuela), Richard-Yegres N., Medina Ruiz E., González Vivas R. *Invest Clín Vol. 26(4): 235-246, 1985.*— Since 1938 Falcón state has been considered as an endemic area of chromomycosis in Venezuela. Sixty four cases have been reported from 1973 to 1984. During the last 3 years 31 cases

caused by *Cladosporium carrionii* were confirmed through mycological study. Of 18 patients reported during 1984, 14 were goat-keepers. Ninety percent of the patients came from a semi-arid zone with xerophilous vegetation, mostly cacti. Goat-keeping is one of the most important agricultural activity in that area. No case of infection was reported in patients younger than 10 years, eighty five percent of the patients manifested the infection after the age of 20, seventy percent were male, in ninety seven percent of the cases the lesions were localized in the limbs; the arms were twice more involved than the legs. It is considered that the setting of an endemic in the semi-arid zone is determined first by the favorable climatic conditions for the growing of one of the etiologic agents of chromomycosis and second, the activities performed by the goat-keepers that involve repeated traumatism during many years with fragment of xerophilous vegetation. Primitives agricultural activities would explain the high frequency of cases as well as the presence of the endemic zones of chromomycosis in tropical countries.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ALBORNOZ M.B. DE: "Cromomycosis": en Lecciones de Micología, 67-76, Caracas, 1979.
- 2- ALBORNOZ M.B. DE, MARIN C., IWATSU T.: Estudio epidemiológico de un área endémica para cromomycosis en el Estado Falcón. Invest clín 23 (4): 219-228, 1982.
- 3- BORELLI D.: Cromomycosis: Diagnóstico y tratamiento. XIII° Jornadas Nacionales de Microbiología Memorias, Sociedad Venezolana de Microbiología Capítulo Falcón, Coro, 60-79, 1983.
- 4- BORELLI D., ALEMAN C.: Micocultivos en láminas coloreadas según los métodos Pas y Gomori-Grocott. Rev Dermat Venez 1 (4): 339-345, 1959.
- 5- BORELLI D.: Reservarea de algunos agentes de micosis. Med Cutanea 4: 367-370, 1979.
- 6- BORELLI D.: Causal agents of chromoblastomycosis (Chromomycetes) Proc V Int Conf Mycoses. PAHO Sc Públ 396: 334-343, 1980.
- 7- BRYGOO E.R., SECRETAIN C.: Etude clinique epidemiologique et mycologique de la chromoblastomycose a Madagascar. Bull Soc Path exo 3: 443-475, 1960.
- 8- BRYGOO E.R., DESTOMBES, P.: Epidémiologie de la chromoblastomycose humaine. Bull Inst Pasteur 74: 219-243, 1967.

- 9- CAMPINS H., SCHARY J.M.: Cromoblastomicosis. Comentarios sobre 34 casos, con estudio clínico, histológico y micológico. Gac Med Caracas 67: 127-151, 1953.
 - 10- CONVIT J., BORELLI D., ALBORNOZ R., RODRIGUEZ G., HOMEZ J.: Micetomas, cromomicosis, esporotricosis y enfermedad de Jorge Lobo. Mycopathol y Mycol appl 15: 394-407, 1961.
 - 11- GEZUELE E., MACKINNON J.E., CONTI-DIAZ I.A.: The frequent isolation of *Phialophora verrucosa* and *Phialophora pedrosoi* from natural Source. Sabouraudia 10: 266-273, 1972.
 - 12- HOMEZ CHACIN J., WENGER F., CASA R.G.: Cromomicosis, Estudio de 50 casos observados en Maracaibo. Kasmera 1: 121-167, 1963.
 - 13- O' DALY J.A.: Las cromoblastomicosis en Venezuela. Memoria de la primera Jornada Venezolana de Venereología y Dermatología. Lit y Tip del Comercio, Caracas. 121-145, 1943.
 - 14- MATTEUCCI S., COLMAN A., PLA I.: Análisis regional de la vegetación y el ambiente del Estado Falcón, Instituto Universitario de Tecnología, la vegetación de Falcón, Coro. 118, 1979.
 - 15- NISHIMOTO K.: Chromomycosis in Japan. Ann Soc Belge Med Trop 61: 405-412, 1981.
 - 16- VARGAS H.M.: Cromomicosis en el Estado Zulia. XIII° Jornadas Nacionales de Microbiología, Memorias, Sociedad Venezolana de Microbiología, Capítulo Falcón, Coro, 143-153, 1983.
 - 17- YEGRES J.F., MEDINA DE RUIZ E., RICHARD DE YEGRES N., GONZALES-VIVAS R.: Cromomicosis en Falcón. Análisis epidemiológico de 45 casos del hospital General Dr. Alfredo Van Grieken. XIII° . Jornadas Nacionales de Microbiología, Memorias, Sociedad Venezolana de Microbiología, Capítulo Falcón, Coro, 123-126, 1983.
 - 18- YEGRES J.F., RICHARD DE YEGRES N.: Aislamiento de un hongo con características morfológicas indistinguibles del *Cladosporium carrionii* en la naturaleza de Falcón. XXXIII Convención Anual de AsoVAC, Caracas. 34: 371, 1983.
-

**HIERRO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.
METABOLISMO Y CONSIDERACIONES FISIOPATOLÓGICAS.
REVISIÓN**

Heberto Suárez*, Franco Cimino y Ernesto Bonilla*****

** INBIOMED. FUNDACITE-ZULIA. Apartado Postal 376. Maracaibo 4010. Venezuela. ** Hospital Adolfo Pons (IVSS). Maracaibo. *** Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Apartado 1151. Maracaibo. Venezuela.*

RESUMEN

En esta revisión se analiza el papel que desempeña el hierro en los procesos metabólicos y fisiológicos del sistema nervioso central (SNC), así como su posible participación en algunos trastornos neurológicos y psiquiátricos. Este metal se encuentra en el SNC bajo dos formas: hémica y no hémica. El hierro no hémico sería la forma más importante desde el punto de vista metabólico y fisiológico, ya que es un cofactor y forma parte de enzimas que intervienen en la síntesis y degradación de las catecolaminas y la serotonina. Además, parece intervenir en el almacenamiento de la serotonina, la norepinefrina, y tal vez, de la dopamina.

El hierro no está uniformemente distribuido en el cerebro. Las más altas concentraciones se encuentran en el globo pálido y la sustancia nigra. La distribución del GABA y la dopamina coincide aproximadamente con la de este metal. Además, se ha observado que el bloqueo

de la degradación del GABA produce una disminución de las concentraciones de hierro; por otra parte, una reducción de este metal ocasiona una disminución del número de receptores dopaminérgicos D₂ en el cerebro. Por estas razones, se ha sugerido que debe existir alguna participación del hierro en las funciones dopaminérgicas y gabaérgicas.

El hierro parece tener interacciones con otros metales trazas, como el zinc, el cobre, el manganeso, el cobalto y el selenio.

El recambio cerebral del hierro es muy lento; por lo tanto, las deficiencias producidas en etapas tempranas de la vida son muy difíciles de corregir y tienden a persistir. El hierro penetra a la célula nerviosa a través de una captación mediada por un receptor a la transferrina (Tf). La distribución de estos receptores es heterogénea en el SNC y, paradójicamente, no coincide con la del hierro. Por esto, se ha supuesto que la Tf tendría funciones adicionales al transporte de hierro en el SNC.

El hierro es un constituyente importante de muchas de las enzimas que participan en el metabolismo energético cerebral. Sin embargo, su deficiencia parece no afectar la producción de energía por parte de las células nerviosas.

El hierro parece ser esencial para el crecimiento y desarrollo del SNC. Es necesario para la mitosis celular, y quizás, para la síntesis de ADN. La Tf parece intervenir en la proliferación y diferenciación de las células nerviosas, en los procesos de mielinización, y como un factor neurotrófico que induciría la proliferación y diferenciación muscular.

El hierro pudiera estar involucrado en ciertas funciones hipotalámicas, a saber: la secreción del factor liberador de la hormona luteinizante (LH-RH), la termorregulación y ciertos tipos de conducta.

El SNC parece influir sobre el metabolismo del hierro a través de los ejes simpático adrenomedular e hipofisario adrenocortical, los cuales utilizan adrenalina y cortisol como mediadores, respectivamente.

Los niveles de hierro, ferritina y transferrina son extremadamente bajos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en comparación con el plasma. Cualquier pequeña alteración en la barrera hematoencefálica incrementa grandemente sus niveles en el LCR. Por otro lado, se han reportado modificaciones de las concentraciones normales de hierro en el LCR en la neurosífilis, enfermedad de Parkinson, Corea de Sydenham, tumores cerebrales, epilepsia, esquizofrenia, depresiones endógenas y lipofuscinosis ceroides neuronales (LCN). La ferritina del LCR se incrementa en procesos que cursan con inflamación, hemorragias y/o necrosis, tales como la encefalitis herpética, meningitis tuberculosa, accidentes cerebrovasculares agudos isquémicos y/o hemorrágicos y tumores. En la enfermedad de Alzheimer también la ferritina se eleva en el LCR, en ausencia de los tres procesos fisiopatológicos mencionados. La Tf se ha visto elevada en enfermedades desmielinizantes como la esclerosis múltiple y la enfermedad de Schilder. También aumenta en el Síndrome de Down.

El Fe^{+2} puede estimular la generación de radicales libres en el tejido nervioso, los cuales son capaces de ocasionar la peroxidación de los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos de las membranas neuronales y gliales. Esto provoca la destrucción celular y podría estar involucrado con la patogénesis de algunas enfermedades neurológicas, tales como el Síndrome de Hallervorden-Spatz (SHS), la LCN, los procesos de daño neuronal post-isquémicos y post-anóxicos, el edema cerebral y la epilepsia post-traumática. La peroxidación lipídica pudiera inicialmente provocar aumento de la actividad de la adenilciclasa y de la captación de la dopamina.

La acumulación de hierro, que se produce durante el transcurso de los años, se ha relacionado con un aumento de la peroxidación lipídica cerebral y el consecuente envejecimiento cerebral. Por otro lado, se ha observado un incremento anormal de hierro en varios trastornos neurológicos como el SHS, la LCN, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple, la siderosis superficial cerebral y los meningiomas. No se ha podido determinar, si esta acumulación juega algún papel etiopatogénico.

La deficiencia de hierro es capaz de producir alteraciones en las funciones dopaminérgicas y serotoninérgicas cerebrales, las cuales estarían probablemente involucradas en los trastornos de conducta observados en niños y adolescentes con déficit de este metal.

En conclusión, el hierro, la ferritina y la transferrina parecen ser factores importantes en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso, así como, en muchas de las condiciones patológicas que lo afectan. Sin embargo, lo contradictorio de los estudios hasta ahora realizados, no ha permitido precisar y confirmar dichas funciones.

INTRODUCCION

El hierro es el oligoelemento mas abundante en el organismo. A pesar de estar presente en muy pequeñas cantidades, cumple una función muy importante en muchos procesos metabólicos. El metabolismo del hierro ha sido ampliamente estudiado en los órganos y sistemas relacionados con la producción y destrucción del eritrocito, tales como el hígado, el bazo, la médula ósea, y el sistema reticuloendotelial de éstos y otros órganos. También, se han publicado numerosos reportes acerca de su absorción intestinal y su recambio corporal. Sin embargo, se sabe poco sobre el papel fisiológico que el hierro pudiera desempeñar en un órgano como el cerebro y en otros componentes del sistema nervioso central, los cuales no son tan importantes en el metabolismo de este metal. En esta revisión analizaremos los aspectos metabólicos, fisiológicos y patológicos en los cuales el hierro estaría involucrado en el sistema nervioso. Además, mencionaremos algunos detalles relacionados con la participación de la transferrina y la ferritina en ciertos procesos fundamentales del sistema nervioso, diferentes del transporte y almacenamiento del hierro.

1.— Tipos de hierro cerebral

El hierro se encuentra en el sistema nervioso central (SNC) bajo dos formas: hierro hémico y hierro no hémico. El primer grupo incluye el hierro contenido en la hemoglobina (Hb) y los compuestos de estructura similar a esta proteína, tales como los citocromos, la catalasa (E.C.1.11.6) y la peroxidasa (E.C.1.11.1.7). De éstos, el Fe de la Hb constituye la mayor porción, y no se encuentra fuera de los vasos sanguíneos cerebrales en condiciones normales. Los citocromos a, b, y c están localizados dentro de las mitocondrias y se encargan de la producción de energía en las células

nerviosas. La catalasa estaría ubicada en organelos llamados peroxisomas junto con otras oxidasas.

Cuando la sangre es extraída del cerebro, el hierro no hémico constituye casi la totalidad del hierro cerebral. El hierro no hémico incluye la ferritina, principal forma de almacenamiento del metal. La ferritina es una molécula esférica compuesta de 24 subunidades polipeptídicas de dos diferentes tamaños: H (peso molecular 21.000) y L (peso molecular 19.000). Las distintas combinaciones de estas subunidades producen diferentes isoformas. En el hígado y en el bazo la proporción es de 80% L y 20% H. La composición en el tejido nervioso no es conocida. Sin embargo, pudiera ser parecida a la proporción observada en las células nerviosas tumorales de los neuroblastomas: 53% H y 47% L (30). Otras formas de hierro no hémico son las proteínas ferrosulfúricas y las ferroproteínas que actúan como enzimas en el metabolismo energético y de los neurotransmisores. Entre estas tenemos la NADH deshidrogenasa (E.C. 1.6.99.3), la deshidrogenasa succínica (E.C.1.3.99.1; SDH) y la deshidrogenasa de los aldehídos (E.C.1.2.1.3); siendo esta última, una enzima clave para la degradación de la serotonina. Además, el hierro podría formar parte o, por lo menos, es un factor esencial en la actividad de la hidroxilasa del triptofano (E.C.1.14.16.4) (111), enzima limitante de la síntesis del neurotransmisor serotonina; de la hidroxilasa de la tirosina (E.C.1.13.11.11.), enzima limitante de la síntesis de las catecolaminas (175); de la monoaminooxidasa (E.C.1.4.3.4; MAO), involucrada en la degradación de las monoaminas; y de la deshidrogenasa del alfa glicero fosfato (E.C.1.1.99.5) (156), relacionada con la producción de energía celular por medio de la glicólisis.

2.- Concentraciones y distribución del hierro en el cerebro

La distribución del hierro cerebral tanto regional como subcelular, es heterogénea, al igual que la observada con otros elementos trazas. Esto podría ser interpretado como expresión de las diferencias funcionales de las distintas regiones del SNC. La concentración promedio de hierro no hémico en el cerebro de rata, es de 0,074 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína. Los máximos niveles están en el núcleo caudado con $0,092 \pm 0,036 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína, seguido por el hipotálamo y el cerebelo. Los niveles más bajos están en la corteza cerebral, con $0,050 \pm 0,003 \mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína (206).

La distribución regional del hierro no hémico en el cerebro, parece ser similar en la rata y en el hombre. Hallgren y col. (76) encontraron una alta concentración de hierro no hémico en los ganglios basales de adultos: 18-48 mg/100 gr de peso húmedo en el globo pálido, seguido del núcleo rojo y la sustancia nigra. Estas cantidades están en el mismo orden que las

encontradas en hígado (13-44 mg/100 gr de peso húmedo) que es el órgano que almacena el hierro. Otras partes del cerebro contienen un promedio de solo 5 mg/100 gr de peso húmedo.

En cuanto al hierro hémico, Koeppen y col. (1968), analizando varias áreas del cerebro humano (corteza, ganglios basales, tallo cerebral y médula espinal), observaron que las máximas concentraciones del hierro unido a hemoglobina (Fe-Hb) se encuentran en la médula espinal (0,148 mg de Fe-Hb/100 g de peso seco), seguida del cerebelo y globo pálido.

Generalmente, la sustancia gris es más rica en hemoglobina que la sustancia blanca. Estas diferencias deben ser el reflejo del grado de irrigación sanguínea de cada región.

El hierro hémico unido a la catalasa, citocromos y peroxidasa, ha sido localizado mediante la detección de la actividad peroxidativa en las diferentes regiones cerebrales del mono ardilla, usando técnicas histoquímicas con diaminobenzidina (DAB) (201). Esta actividad peroxidativa, que parece ser debida a la presencia de citocromos, catalasa y peroxidasa, se localiza dentro de las neuronas pertenecientes al sistema motor extrapiramidal: globo pálido, sustancia nigra (parte reticulada o difusa), núcleo rojo, formación reticular del puente y el mesencéfalo. En estas zonas, el neuropilo, que representa las prolongaciones neuronales y gliales, exhibía poca actividad peroxidativa. También se detectó esta actividad, tanto en las neuronas como en el neuropilo de ciertos núcleos de nervios craneales (oculomotor, troclear, abducens, trigeminal mesencefálico y vestibular) y en los núcleos de relevo de la vía auditiva (núcleo olivar superior y núcleo trapezoide). Por otro lado, el neuropilo, pero no los cuerpos neuronales, de otras regiones motoras como el núcleo subtalámico, núcleo olivar inferior y los procesos situados alrededor de las células de Purkinje del cerebelo (posiblemente axones de las células en cesta), parecía contener altos niveles de peroxidasa. También otros núcleos de relevo de la vía auditiva (tubérculos cuadrigéminos inferiores y núcleo del lemnisco lateral) y otras áreas motoras como el putamen, el núcleo caudado y la capa granular del cerebelo, tenían actividad peroxidativa, pero en grado moderado. En el tálamo se detectaron peroxidasa en el neuropilo del complejo ventral anterior y ventral lateral, del complejo ventrobasal, del núcleo lateral posterior y del núcleo geniculado medial. En la corteza, algunas neuronas poseen alta capacidad peroxidativa mientras que otras tienen poca. Aparte de las regiones cerebrales mencionadas, las otras áreas restantes parecen tener poca actividad peroxidativa y, por ende, bajas concentraciones de catalasa, peroxidasa y citocromos.

En ratas, las concentraciones totales de hierro (tanto hémico como no hémico) medidas por espectrofotometría de absorción atómica, son ma-

vores en el hipotálamo ($1,75 \pm 0,20 \mu\text{mol/gr}$ de peso seco), seguido por los tubérculos cuadrigéminos, el bulbo olfatorio y el cuerpo estriado. Los niveles más bajos se encuentran en áreas mielinizadas, como el cuerpo calloso y el tallo cerebral (puente y bulbo)⁽¹⁶⁵⁾. En cerebros humanos, Cumings ⁽³⁶⁾ analizó la corteza, el tálamo, el núcleo caudado y el globo pálido, encontrando las máximas concentraciones totales de hierro en esta última región. Koeppen y col.,⁽¹⁰⁸⁾ estudiaron varias áreas corticales, ganglios basales, tallo cerebral y médula, y encontraron también la máxima concentración total de hierro en globo pálido ($145,30 \text{ mg}/100 \text{ g}$ de peso seco) seguido por los pedúnculos cerebrales ($117,73 \text{ mg}/100 \text{ g}$ de peso seco). Esta última región contiene la sustancia nigra y posiblemente ésta sea en realidad la zona más rica en hierro. De hecho, en estudios más recientes⁽⁷¹⁾, mediante espectrometría de absorción atómica, se demostró que los más altos niveles de hierro se localizan en la sustancia nigra ($19,1 \pm 2,1 \mu\text{mol/g}$ de peso seco), seguida del globo pálido, el núcleo caudado y el putamen. Los niveles más bajos se observaron en la corteza cerebral ($4,4 \pm 0,4 \mu\text{mol/g}$ de peso seco) y en el hipocampo. Dentro de la sustancia nigra, la distribución de hierro no es homogénea, siendo la parte reticulada la más rica, mientras que la parte compacta parece contener bajas concentraciones del metal^(65, 201). Höck y col.⁽⁸⁹⁾ no detectaron en cerebro humano diferencias significativas entre las concentraciones férricas de las áreas corticales relacionadas con el sistema límbico (circunvolución dentada, hipocampo, uncus e ínsula), con la audición (circunvolución temporal transversa anterior), con la visión (corteza situada alrededor de la cisura calcarina, circunvolución occipital lateral), con el movimiento voluntario (circunvolución frontal prerrolándica) y con el afecto (cíngula). Sin embargo, las zonas corticales relacionadas con el sistema límbico y el movimiento voluntario tenían mayor concentración del metal que sus núcleos asociados: tubérculos mamilares, amígdala y núcleo anterior del tálamo, pertenecientes al sistema límbico. Las áreas corticales relacionadas con la audición y con la visión, contenían menos hierro que sus núcleos asociados: tubérculos cuadrigéminos inferiores (audición), cuerpos geniculados laterales y tubérculos cuadrigéminos superiores (visión). También, al comparar la corteza cerebral en conjunto (representada por las circunvoluciones frontal prerrolándica, cuneiforme, triangular y la corteza cerebelosa) con los ganglios basales (núcleo caudado, putamen, globo pálido y núcleo rojo) se observa que el contenido férrico de estos últimos es 1,4 veces mayor que en la primera. Esto parece ser característico sólo del hierro y de algunos pocos oligoelementos como el rubidio y el cobalto; no observándose esta distribución con el selenio, zinc, calcio, plata, cesio, antimonio y escandio.

No se ha encontrado diferencia significativa entre las concentraciones de hierro del hemisferio cerebral izquierdo y las del derecho⁽⁸⁹⁾.

Las áreas cerebrales ricas en sustancia blanca, tales como el cuerpo calloso, el puente y el bulbo, son las que contienen las más bajas concentraciones de hierro (89). Esta característica también puede ser generalizada para otros oligoelementos. Las diferencias de concentraciones podrían atribuirse a variaciones de la densidad celular, y del volumen de las células, de una zona cerebral a otra. Sin embargo, se ha observado que áreas con distinta densidad celular, tales como la circunvolución frontal perrolándica (3×10^8 células/mm³) y la corteza que ordea la cisura calcarina ($10,6 \times 10^8$ células/mm³), contienen aproximadamente las mismas cantidades de varios oligoelementos (10). Existe la posibilidad de que células diferentes desde el punto de vista funcional (tales como las neuronas gabaérgicas, dopaminérgicas, astrocitos, oligodendrocitos, etc.) contengan distintas cantidades de metales.

Mediante estudios inmunohistoquímicos, se ha podido determinar que la distribución de la ferritina en el cerebro coincide en general, con la distribución del hierro (123). Esto concuerda con el hecho de que el hierro, en la célula, desencadena la síntesis de apoferritina. La ferritina se localiza tanto en las neuronas como en la glía y se piensa que actúa previniendo la participación del hierro en reacciones que generen radicales libres citotóxicos, al no permitir que el metal esté libre (123).

Estudios en cerebros de monos y ratas, realizados por medios histoquímicos (65), permitieron determinar que el hierro en el SNC está localizado dentro del cuerpo y las prolongaciones de los astrocitos y los oligodendrocitos. También se ha detectado en las capas internas y externas de las hojas de mielina, que son formadas por los oligodendrocitos en el SNC. Más escasamente, se han podido observar algunos depósitos de hierro en los cuerpos de algunas neuronas. Esta distribución celular se asemeja a la localización de una proteína parecida a la transferrina, detectada por medios histoquímicos (30). La transferrina es la proteína plasmática transportadora de hierro. Esta proteína ha sido detectada en tres tipos de oligodendrocitos: perivasculares, interfasciculares y células satélites perineuronales. Esta distribución se ha observado en todas las regiones cerebrales examinadas. También esta proteína parecida a la transferrina, ha sido localizada en neuronas de la sustancia gris ventral de la médula espinal y en las grandes neuronas piramidales en la corteza somatomotora. En los oligodendrocitos, la proteína se ubica en el cuerpo celular y rara vez en las prolongaciones. En las neuronas, se localiza en el citoplasma del cuerpo neuronal formando un delgado anillo alrededor del núcleo. Ocasionalmente, la proteína se observa en el comienzo de las dendritas y de los axones.

El hierro no hémico se distribuye en todas las fracciones subcelulares de la rata, siendo la fracción mitocondrial cruda la que contiene la mayor

cantidad, con un 55%, seguida de la microsomal y del sobrenadante con un 37% en conjunto; y por último, la fracción nuclear con un 8%. El hierro no hémico constituye la mayor porción de este metal en las mitocondrias (206). El hierro hémico parece localizarse en las mitocondrias y en cuerpos parecidos a los peroxisomas, en el citoplasma neuronal. Mediante tinción con DAB y microscopía electrónica, se ha identificado en dichos organelos una actividad peroxidativa que parece debida a los citocromos en el primer caso; y a la catalasa y oxidasa en el último caso (201). Esta actividad se ha detectado en las diferentes zonas del tejido nervioso: ganglio simpático (4), células satélites de Schwann del ganglio de la raíz dorsal de rata (26) y las células de la corteza cerebelosa y cerebral de ratón recién nacido (95).

Según estudios realizados en células HeLa (159), mientras en el citoplasma el hierro se encuentra unido a las proteínas, en el núcleo celular parece estar preferencialmente ligado a los polisacáridos. Los complejos Fe-polisacáridos se depositan en el nucléolo durante las interfases, y en los cromosomas durante la mitosis. En las células nerviosas maduras, que no se dividen, cabría pensar que el hierro nuclear estaría permanentemente ubicado en el nucléolo.

La concentración total de hierro (hémico y no hémico) en los sinaptosomas estaría en el orden de $10^{-4}M$, diez veces menos que en el cerebro completo (27). En las vesículas sinápticas, las concentraciones podrían oscilar de 0,06 a $0,09 \times 10^{-3}M$, en ratas adultas (104).

Finalmente, las concentraciones de hierro cerebral varían con el sexo, siendo mayores en la rata hembra (88). El contenido de hierro del globo pálido y la sustancia nigra varía en las ratas hembras, durante el ciclo estrogénico y la preñez, alcanzando las máximas concentraciones durante el proestro del ciclo estrogénico y en el primer tercio del embarazo (88).

3.— Hierro cerebral y su relación con otros metales

Parece existir una interrelación entre los diferentes metales del organismo. En efecto, las variaciones de las concentraciones de un elemento pueden modificar los niveles tisulares de otros metales. De esa manera, se afectaría su función biológica. Sin embargo, hasta ahora, los datos existentes sobre esta interrelación en el SNC, son contradictorios en muchos casos.

Scheuhammer y col. (165), encontraron en cerebro de rata una correlación positiva y significativa entre las concentraciones de Mn y Fe. Es decir las regiones con mas altos niveles de Mn también contenían más Fe.

Sin embargo, según sus estudios, durante la intoxicación con manganeso, en la cual aumentan los niveles de este metal en el cerebro, el contenido de Fe no se modifica.

En el cerebro humano, se observó un mismo patrón de distribución entre el cobre y el hierro, pero no entre el Fe y el calcio o manganeso (71). También se ha observado una correlación positiva y significativa ($p < 0.005$) entre la distribución del Fe y del selenio en todas las regiones del cerebro humano (89). Las concentraciones de Fe y cobalto se correlacionan positivamente ($p < 0.001$) en muchas regiones cerebrales, exceptuando los núcleos motores extrapiramidales, donde los niveles de hierro son comparativamente más altos, y ciertas áreas del sistema límbico e hipotálamo donde el contenido de hierro es también más bajo (89). Con excepción de los núcleos motores extrapiramidales, que comparativamente contienen más Fe, y las regiones corticales del sistema límbico, que relativamente contiene más Zn, hay una correlación positiva y altamente significativa ($p < 0.001$) entre las concentraciones de Zn y Fe en el resto de las regiones del cerebro humano (89). También se han publicado trabajos sobre los efectos de los excesos de metionina en la dieta, así como del cobre dietético, y del ejercicio, sobre la concentración de hierro en órganos diferentes del cerebro; pero, no se ha determinado si estos factores modifican los niveles del metal en el SNC (55, 161).

4.— Recambio del hierro cerebral

El recambio del hierro en el sistema retículo-endotelial y los órganos eritropoyéticos, es rápido. Una depresión marcada en los niveles de ferritina en hígado, o en los valores de hemoglobina, producida por una deficiencia nutricional de hierro, es rápidamente corregida por la administración de este metal. Sin embargo, algunos parámetros como los citocromos mitocondriales y la mioglobina en el músculo esquelético, pueden requerir para su corrección, seis veces más tiempo que la corrección de los niveles de hemoglobina (38). En la deficiencia de hierro, la velocidad de corrección de la deficiencia de citocromos se aproxima a la velocidad de reemplazo celular en los tejidos de recambio celular rápido, como la mucosa intestinal. En los tejidos de bajo reemplazo celular, la velocidad de corrección de bajos niveles de citocromos, es igual a la tasa de recambio de los componentes celulares, especialmente las proteínas (39).

En el tejido nervioso, donde no existe reemplazo celular, y el recambio es muy lento, los citocromos no se alteran durante la deficiencia de Fe. Se ha dicho que posiblemente la ferritina protege al cerebro de las vicisitudes del estado del hierro sistémico. En los humanos adultos, estas reservas de hierro cerebral, al parecer, son resistentes a una depleción significa-

tiva, aún en los casos severos de deficiencia de este metal. Sin embargo Hallgren y Sourander (76) señalaron que en tres casos de carcinoma ulcerado de intestino, asociados con grandes hemorragias, se observaron valores algo bajos en el hierro no hémico del sistema extrapiramidal. Mas aún, en un caso de anemia severa, también se encontraron niveles bajos de Fe en áreas corticales. Estos hallazgos indican que el hierro cerebral, bajo su forma no hémica puede sufrir modificaciones.

Las ratas severamente deficientes en hierro, por un tiempo muy corto, a edades tempranas de la vida, presentan un déficit de hierro en el cerebro, que persiste aún después de la corrección en otros tejidos (42, 61). Estudios realizados por Dallman y col. (42) demostraron que las ratas de diez días de edad, en período de rápido crecimiento, sometidas a una dieta deficiente en hierro, presentaron una reducción del 27% del hierro no hémico cerebral, a los 28 y 48 días de edad, respectivamente. Al mismo tiempo, se produjeron reducciones mas acentuadas en hígado: 49% y 88% de los controles, a los 21 y 28 días de edad, respectivamente. El hierro de la ferritina cerebral, que constituye el mayor porcentaje de hierro no hémico del cerebro, también se redujo en un 50% en el cerebro a los 28 días de edad, respectivamente; decreciendo en el hígado, un 88% y 97% los días 21 y 28 respectivamente. Por lo tanto, los cambios de ferritina fueron más acentuados que los de hierro no hémico total. Después de inyecciones con hierro dextrán intramuscular, el hematocrito, los niveles de hierro hémico y la ferritina hepática se corrigieron rápidamente, a pesar del descenso tan pronunciado en sus concentraciones. Sin embargo, en el cerebro, el hierro no hémico permaneció entre un 19 y un 29% por debajo del control, y el hierro de la ferritina también se mantuvo bajo: un 32-42% del control. Según Dallman y col. (43), la persistencia de niveles bajos de Fe cerebral pudiera ser debida a: 1º) cambios en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica al hierro, lo que dificultaría su captación por el cerebro; 2º) un recambio muy lento de los componentes de hierro en el cerebro. La primera posibilidad parece ser poco factible. Estudios con $Fe^{59}Cl_3$ inyectado por vía intraperitoneal en ratas, demostraron que la captación del isótopo por el cerebro es proporcional al incremento del hierro cerebral que ocurre con el desarrollo, indicando que no existe ninguna barrera para la entrada del Fe al cerebro (43). Por otro lado, en ratas de 15 a 35 días, inyectadas con $Fe^{59}Cl_3$ por vía intraperitoneal, se observó que prácticamente no hubo pérdida de Fe^{59} del cerebro entre los 50 y los 150 días de edad. Esto sugiere que habría un bajísimo recambio de los compuestos de hierro no hémico del cerebro sintetizados después de la administración del metal marcado a los 15 y 35 días de edad (43).

De los anteriores resultados podríamos establecer que la dificultad para revertir el déficit de hierro cerebral puede ser debida al lento recam-

bio del metal en el SNC. Las ferropoteínas cerebrales podrían ser sintetizadas, durante el período de deficiencia de hierro, como apoferritinas, las cuales no contienen hierro. Estas proteínas serían incapaces de captar el hierro cuando este metal esté de nuevo disponible. Al normalizarse los niveles de hierro tisular reaparecerían las ferropoteínas; pero, esto se haría, mediante la formación de nueva proteína. Tales fenómenos han sido descritos en la citocromo oxidasa (una enzima que contiene cobre) de levaduras que inicialmente crecieron en un medio libre de cobre (39). Más recientemente se ha reportado, que ratas descendientes de madres deficientes en hierro, tenían niveles bajos de hierro en las vesículas sinápticas y estos niveles se normalizaban después de 6 semanas de la administración oral del metal (104). Por otro lado, los cambios metabólicos y funcionales que sufre el cerebro durante la deficiencia de hierro se corrigen con la administración de hierro, aún antes de que los niveles de este metal se normalicen en el SNC (103). Los dos estudios anteriores sugieren que el hierro inicialmente se concentra en compartimientos celulares claves para la función neuronal, tales como los sinaptosomas, permaneciendo vacíos otros compartimientos menos importantes.

5.— Captación neuronal del hierro

El uso biológico del hierro depende de la incorporación de este metal al interior celular, mediante una captación en la cual interviene el receptor de membrana específico para la transferrina. Todas las células del organismo parecen tener receptores para la transferrina, a excepción del eritrocito maduro (138). La presencia de estos receptores ha sido demostrada en el SNC mediante la autorradiografía con ^{125}I -transferrina (162). Estudios realizados por Swaiman y Machen (178) en cultivos de neuronas corticales de ratón, sugieren que las células nerviosas captarían el hierro por mecanismos similares a los descritos para otras células, tales como eritroblastos y los fibroblastos. De esta manera, habría una captación mediada por un receptor de transferrina. La transferrina unida al hierro, se fijaría a su receptor de alta afinidad ($K_a = 10^{-7}\text{M}$). Luego, este complejo hierro transferrina-receptor sería introducido dentro de la célula por endocitosis, siendo liberado el Fe de la transferrina en una vesícula intracelular ácida, la cual podría ser la misma vesícula endocítica, o un lisosoma. El hierro sería transferido, en su mayor parte, a la ferritina del citosol; mientras que, la transferrina carente de hierro sería devuelta intacta a la membrana plasmática, liberándose en el medio extracelular. Posiblemente, en otras células del organismo como los fibroblastos o los hepatocitos existe un mecanismo algo distinto, donde la transferrina entraría a la célula por fase fluída o endocitosis adsortiva. Esta última, está asociada probablemente a un receptor de membrana de baja afinidad. En este segundo tipo de captación, mientras que el hierro sería liberado en un compartimiento ácido,

la proteína no podría continuar protegida por su asociación con el receptor y sería degradada por los lisosomas; eliminándose los productos de degradación hacia el exterior.

Se ha descrito que los eritroblastos de rata tienen un número de receptores de transferrina que disminuye con el desarrollo, mientras que la velocidad de captación permanece constante, alrededor de 36 átomos de hierro/receptor/1 hora (138). El número de receptores de transferrina determinaría la magnitud de la captación de hierro por una célula y un tejido. Los tejidos con mayor número de receptores deberían tener mayores concentraciones de hierro. Sin embargo, en el cerebro el patrón de distribución de los receptores de la transferrina, es diferente de la distribución regional del hierro. Las áreas con mayores concentraciones de receptores no coinciden con las zonas de mayor contenido de hierro. El más alto número de receptores de la transferrina se ubica en la circunvolución dentada del hipocampo, seguida de las cortezas cerebral y cerebelosa (162). Las mayores concentraciones de hierro se localizan en los ganglios basales, principalmente en el globo pálido y en la sustancia nigra del mesencéfalo (88). Este hecho podría sugerir que la transferrina tiene otras funciones en el SNC, además de la de transporte; o que el hierro captado en las regiones corticales, que son las áreas grises con menor contenido de hierro, es llevado a los núcleos grises centrales ricos en este metal, por transporte axonal. Este transporte sería posible, porque la neocorteza se proyecta sobre la parte dorsal del cuerpo estriado, mientras que la alo corteza (hipocampo y corteza piriforme) parece hacerlo sobre la parte ventral de éste (179).

Se ha reportado la existencia de un sistema de transporte de hierro, dependiente de citrato, en un mutante de *Escherichia Coli* K-12 que no sintetiza su propio quelante de hierro: la enteroquelina. Este sistema requirió 0,1 mM de citrato y 0,1 mM de hierro en el medio de crecimiento. Además, el citrato no indujo el transporte de hierro en presencia de cloranfenicol (50 μ g/ml), lo cual sugería que depende de la síntesis de proteínas (96). Este tipo de transporte no ha sido descrito en las neuronas u otras células de mamíferos.

6.— Metabolismo de los neurotransmisores y el hierro cerebral

Se ha sugerido que el hierro podría participar como cofactor de la hidroxilasa de la tirosina (E.C. 1.13.11.11) (175), y de la hidroxilasa del triptofano (E.C. 1.14.16.2) (206).

La actividad catalítica de la hidroxilasa del triptofano parece ser dependiente del estado de oxidorreducción de los grupos sulfidrilos ($-SH$) y de los átomos de hierro, los cuales están probablemente localizados en

el sitio catalítico de la enzima (111). Esta enzima es muy lábil al oxígeno molecular y puede ser reactivada mediante incubación anaeróbica con ditiotreitól y Fe^{+2} lo cual no modifica su K_m ; pero incrementa su V_{max} , indicando que más moléculas de la enzima tienen que estar reducidas para su óptimo funcionamiento. Al mismo tiempo, el Fe^{+2} es también esencial porque los agentes quelantes de este metal, o los cambios a estados más altos de oxidación, inhiben fuertemente la actividad catalítica de la enzima. Sin embargo, aunque el hierro juega un papel en la capacidad catalítica de la hidroxilasa del triptófano, esta actividad no podría establecerse con certeza si no forma parte de su estructura proteica.

Aunque no existe un consenso general acerca de si las enzimas hidroxilantes de los aminoácidos aromáticos contienen hierro, se ha demostrado que la hidroxilasa de la fenilalanina (E.C.1.14.16.1) del hígado de rata, es una enzima que contiene hierro (62). Por otro lado, la hidroxilasa de la tirosina de la glándula adrenal bovina, es estimulada por el Fe^{+2} que probablemente protege a esta enzima de la inactivación por la oxidación inducida por H_2O_2 . Además, su actividad es inhibida por agentes quelantes del hierro. Más recientemente se ha encontrado que la hidroxilasa de la tirosina, parcialmente purificada de adrenales de bovino, aparentemente contiene hierro (111).

El hierro podría ser un factor importante en los mecanismos de degradación de los neurotransmisores. La deshidrogenasa de los aldehídos y la MAO son enzimas claves para la degradación de las monoaminas y la serotonina. Estas enzimas contienen o requieren hierro para una actividad normal. En ratas, se produce un ligero descenso de la actividad de la MAO durante las deficiencias severas de hierro (206); mientras que, en los humanos se ha detectado esta reducción a nivel de las plaquetas. En ambos casos, la anomalía fue corregida con la administración de hierro. Además, se ha reportado un descenso en la actividad de la deshidrogenasa de los aldehídos en cerebros de ratas deficientes de hierro, junto con un aumento de la serotonina (118). Sin embargo, otros autores no han detectado modificaciones en esta enzima (207).

Como consecuencia de las relaciones entre el hierro y las enzimas de síntesis y degradación de los transmisores, los niveles de éstos en el cerebro, podrían verse influenciados por cambios en el contenido cerebral del metal. Sin embargo, durante la deficiencia de hierro los niveles de dopamina (DA) y norepinefrina (NE) no parecen modificarse (207). Se han reportado cambios contradictorios respecto a la serotonina. Mientras unos han reportado un descenso (207), otros han señalado un aumento de la serotonina, debido a la reducción de la actividad de la deshidrogenasa de los aldehídos (118).

7.- Almacenaje y transporte de los neurotransmisores y el hierro cerebral

7.1 Serotonina

El hierro no sólo parece ser un factor fundamental para la síntesis de algunos neurotransmisores, sino que podría intervenir en los mecanismos de almacenaje y transporte. Existen evidencias de la existencia de diversas formas de almacenaje y transporte para las aminas biogénicas. Los estudios autorradiográficos no han podido demostrar la presencia de NE o serotonina en la mayoría de las vesículas de los terminales axónicos del SNC. Esto ha conducido a la sugerencia de que las aminas podían estar unidas a macromoléculas, o preferencialmente almacenadas en las vesículas mas cercanas a la membrana plasmática. Las dos diferentes formas de almacenaje de las aminas responden diferencialmente a la reserpina y a la anfetamina. Las formas solubles de almacenaje de la serotonina y norepinefrina son mas inhibidas por la reserpina que las formas particuladas; mientras que, lo contrario se observó con la anfetamina.

En los sinaptosomas de cerebro de rata se ha demostrado la presencia de una proteína soluble, con alta afinidad por la serotonina⁽¹⁸¹⁾. Esta proteína estaría ubicada en las vesículas sinápticas. La unión de la serotonina a esta proteína, es inhibida en un 50% por bajas concentraciones de reserpina (10^{-6} M), lo cual es consistente con el hecho de que el complejo serotonina-proteína puede ser una forma soluble de almacenaje. Es improbable que esta proteína sea un receptor presináptico para la serotonina puesto que el LSD, droga que es altamente afín por dicho receptor, es incapaz de inhibir la unión de la serotonina a esa proteína. Esta unión es inhibida por vinblastina, que se fija a proteínas contráctiles tales como la neurotubulina y la neurina y a un componente de una proteína parecida a la actomiosina, llamada neurostenina, aislada de preparaciones sinaptosomales. Por esto, se supone que esta proteína de alta afinidad por la serotonina es una proteína contráctil.

El Fe^{+2} mejora la unión entre la serotonina y esta proteína, a una concentración óptima de 10^{-4} M⁽¹⁸¹⁾. Esta concentración de hierro ha sido encontrada en sinaptosomas. En el cerebro completo es alrededor de 10 veces más alta⁽²⁷⁾. El Fe^{+3} estimula sólo debilmente dicha unión. El aumento de la unión, ocasionado por el hierro, fué debido más a un incremento de la afinidad de la proteína (Km) por la serotonina, que al incremento de su capacidad de unión (Vmax)⁽¹⁸¹⁾. Sin embargo, el efecto podría ser más complejo, puesto que una pequeña diferencia en la afinidad no explicaría un aumento de 20 veces en la fijación. La necesidad de la incubación de la proteína con el metal, para lograr el máximo rendimiento, sugiere que el Fe^{+2} produciría algún cambio en la conformación de la proteína y/o en el estado de agregación.

La captación de serotonina por las vesículas sinápticas de cerebro de rata, requiere ATP y Mg^{+2} y es sensible a la reserpina (75). El hierro parece ser necesario también en este proceso, ya que la captación de serotonina por las vesículas sinápticas disminuye en ratas deficientes en hierro. Este efecto es revertido con el tratamiento con este metal (103). La disminución en la captación de 5HT se observa también en los descendientes de ratas deficientes en hierro. Esta alteración se corrige con la administración oral de hierro a estos descendientes (104).

Los gangliósidos, especialmente el GD3 (disialosilactosilceramida), en presencia de otro lípido como la lecitina, y hierro, mejoran la unión de la serotonina a su proteína. Se aumentan los sitios de unión, posiblemente por cambios conformacionales, pero no aumenta la afinidad. El Fe^{+2} formaría un complejo con la serotonina y los lípidos. Este complejo podría estar relacionado con el transporte de la serotonina a través de las membranas, o con la interacción de las vesículas sinápticas en la membrana celular, durante el proceso de exocitosis (182).

El hierro podría también influir sobre el metabolismo de la serotonina, facilitando la captación de triptofano a nivel del terminal sináptico. Se sabe que el incremento del triptofano libre afecta los niveles de serotonina cerebral, ya que las concentraciones de este aminoácido no son probablemente tan altas como para saturar la hidroxilasa del triptofano (129). La concentración plasmática de triptofano es un importante factor para la biosíntesis de serotonina (202). Sin embargo, el transporte de triptofano a través de la membrana neuronal podría también ser importante en la regulación de la síntesis de la serotonina. Se ha demostrado una buena correlación entre el transporte activo de este aminoácido y la biosíntesis de la serotonina por los sinaptosomas, *in vitro* (79), aunque se ha sugerido que un sistema de alta afinidad para el triptofano también existe en neuronas que no son serotoninérgicas (121). En presencia de Na^{+} , se ha observado una inhibición de la captación del triptofano. Durante la despolarización de las fibras nerviosas, *in vivo*, puede producirse una deficiencia de Na^{+} incrementándose así la captación del aminoácido. Sin embargo, parece ser que los cationes divalentes, entre ellos el Fe^{+2} , pueden mejorar más directamente la captación del triptofano, en ausencia de Na^{+} (17).

Se requieren niveles normales de hierro, en el cerebro, para tener concentraciones normales de serotonina en el SNC. En ratas con deficiencia de hierro, se ha observado una reducción de las concentraciones de serotonina en el tejido cerebral, sin alteración de los niveles del triptofano cerebral, ni de la capacidad de sintetizar serotonina (207). Esto podría deberse a una dificultad en el almacenaje, al disminuir la captación por las vesículas sinápticas, o la unión de su proteína fijadora. También podría deberse a

una disminución de la entrada del triptofano al terminal sináptico, dificultando la síntesis por falta del precursor, así estén intactas tanto la capacidad de síntesis de la serotonina como la actividad de hidroxilasa del triptofano. Sin embargo, en contradicción con lo anterior, otros autores han reportado un aumento de la serotonina en el cerebro de ratas deficientes en hierro, con una disminución de la deshidrogenasa de los aldehídos, enzima que oxida los compuestos hidroxí-indólicos finales del catabolismo de la serotonina. Por supuesto, estos productos hidroxí-indólicos se reportaron incrementados (118).

7.2 Norepinefrina

El hierro parece intervenir en el almacenaje de la NE en el terminal sináptico. Se ha reportado (27) que el Fe^{+2} forma un quelato con la NE y el ATP, en donde la presencia del grupo catecol y de los grupos β -hidroxilos de la NE, serían esenciales y participarían en la unión con el Fe^{+2} . Estos complejos estarían dentro de las vesículas sinápticas. A pesar de que el Fe^{+2} pudiera participar en la formación de complejos ATP- Fe^{+2} -NE, en ausencia de proteína, no parece posible la formación de algún complejo similar con la serotonina, en ausencia de la proteína específica de alta afinidad para este neurotransmisor (182). Además de su papel en el almacenamiento de NE, el hierro podría participar en el transporte de este neurotransmisor a través de la membrana, mediante la formación de un quelato Fe-fosfolípidos-NE (181).

7.3 Dopamina

Al igual que con otros neurotransmisores, la captación de dopamina (DA) depende de un transporte dependiente de energía a nivel de la membrana del terminal sináptico. Los cambios en la estructura de esta membrana parecen condicionar las alteraciones en este transporte. El hierro parece incrementar la captación de DA por sinaptosomas estriatales de rata (145). Esto posiblemente ocurriría al modificarse la membrana sinaptosomal debido a una peroxidación lipídica estimulada por el hierro. Habría que determinar si el hierro tendría algún papel en la captación de la DA bajo condiciones fisiológicas.

8.— Metabolismo energético cerebral y hierro

El cerebro, como todos los órganos, depende de las enzimas de la cadena respiratoria mitocondrial, para el uso eficiente de los substratos energéticos provenientes de la sangre. La actividad cerebral está estrechamente correlacionada con su consumo de energía, teniendo la sustancia gris, mayor gasto energético que la blanca (174). Aunque es muy conocido el

papel que pudiera desempeñar el hierro en el metabolismo energético cerebral, existen algunos hechos que señalan que el hierro es necesario para la producción de energía en el cerebro. Sin embargo, esta no sería afectada fácilmente por cambios en el status de este metal en el organismo.

El hierro constituye con el cobre, el metal pesado mas abundante en las enzimas que intervienen en el transporte electrónico dentro de las mitocondrias (40). El hierro bajo la forma hémica, se encuentra en todos los citocromos. Los niveles de estos citocromos, en muchos tejidos, depende de sus concentraciones de hierro. Durante la deficiencia de hierro, en ratas, ocurre una reducción de la concentración de todos los citocromos en la mucosa intestinal y en el músculo esquelético, aunque no se modifica en el cerebro y en el músculo cardíaco (36, 59). Las concentraciones de los citocromos cerebrales parecen ser resistentes e independientes de las modificaciones en el contenido de hierro en el SNC (118). Esto podría ser debido a que el patrón de crecimiento de las concentraciones de citocromos durante el desarrollo, es diferente al hierro no hémico. En la rata, las concentraciones de los citocromos mitocondriales alcanza los valores del adulto, en una etapa temprana de la vida, durante el tiempo de mielinización (21); mientras que el hierro no hémico aumenta lentamente durante el desarrollo.

Muchas enzimas del ciclo de Krebs, y sus cofactores, contienen hierro. Hay grandes cantidades de hierro no hémico en la deshidrogenasa succínica (SDH), la deshidrogenasa del NADH y la deshidrogenasa del alfa glicero fosfato. Esta última, es una enzima unida a membrana que parece ser una flavoferroproteína (32) que participa en la glicólisis, y al igual que la SDH y la deshidrogenasa del NADH, cataliza la transferencia de equivalentes reductores del sustrato a la cadena respiratoria. En ratas deficientes en hierro, la actividad de la deshidrogenasa del alfa glicero fosfato y la fosforilación oxidativa medida por el alfa glicero fosfato están disminuidas en el músculo esquelético, con acumulación de un exceso de lactato debido a alteraciones en la glicólisis. Estos cambios producen una reducción de la capacidad de trabajo del músculo esquelético (59, 60). La velocidad de la fosforilación oxidativa, medida por los índices de control respiratorios y la velocidad de formación de ATP, está disminuida cuando se usan alfa glicero fosfato, piruvato, malato o succinato como sustratos. Sin embargo, solo la fosforilación dependiente del alfa glicero fosfato se recupera significativa y paralelamente con el tratamiento con hierro y con la normalización de la capacidad de trabajo del músculo esquelético, permaneciendo reducida la fosforilación dependiente de otros sustratos. Las proporciones ADP/O y P/O no se modifican. Por lo tanto, no está claro todavía el efecto de la deficiencia de hierro sobre la fosforilación oxidativa mitocondrial (60). Sin embargo, en el cerebro de ratas deficientes en hierro, no

se han encontrado cambios en los citocromos $c+c_1$, b_1+b_k , $a+a_3$, ni en la fosforilación oxidativa, ni en la velocidad de formación del ATP (118).

La deshidrogenasa succínica cerebral parece depender de concentraciones normales de hierro, ya que su actividad se ve disminuida en ratas severamente deficientes en este metal (206). Sin embargo, no se ha determinado si esta deficiencia trastorna la producción de energía por parte de las células nerviosas.

La mitocondria hepática, *in vitro*, parece captar hierro unido a transferrina, por dos mecanismos diferentes: uno dependiente de energía, inhibido por hemin y estimulado por la hidrazida del ácido nicotínico (INH). El otro mecanismo, no dependería de energía y no sería afectado por el hemin y el INH (104). Sin embargo, no se ha determinado si esto ocurre *in vivo*, pero probablemente, las mitocondrias neuronales y gliales utilicen estos mismos mecanismos.

El hierro no solo sería importante para la función mitocondrial de producción de energía, sino que sería necesario para mantener la integridad estructural de este organelo. En efecto, las modificaciones en los citocromos y en las enzimas involucradas en el metabolismo energético durante las deficiencias de hierro en ratas, son acompañadas por alteraciones morfológicas de las mitocondrias. Se ha observado un incremento en el tamaño mitocondrial en el hígado, músculo, bazo y corazón, un aumento de la distancia entre las crestas mitocondriales, electrolusencia en las mitocondrias del hepatocito, y un aparente incremento en su número, especialmente en el corazón y en los eritroblastos. La mitocondria alargada es más electroluscente, lo que parece deberse a su hinchamiento por la alteración en la permeabilidad de la membrana. Cambios similares fueron descritos en eritroblastos de niños deficientes en hierro (40).

Aunque resulta evidente que la mitocondria utiliza y necesita hierro, y muchas enzimas respiratorias contienen este metal como grupo prostético, solo existe una correlación aproximada entre el contenido de hierro cerebral y la actividad respiratoria de este órgano (127).

9.— Hierro y desarrollo cerebral

El hierro y su proteína transportadora, la transferrina, parecen ser factores importantes en los procesos de proliferación y diferenciación neuronal. El hierro parece ejercer un papel esencial en la mitosis, puesto que la adición de agentes quelantes de este metal, a cultivos de células tumorales HeLa, inhibe la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) en cualquier etapa del ciclo mitótico, deteniendo el proceso de división celular. En con-

traste, la síntesis del ácido ribonucleico (ARN) y de las proteínas continúa sólo ligeramente disminuida (159). Estos estudios *in vitro* se correlacionan con estudios *in vivo*, tanto en humanos como en animales, los cuales sugieren que la deficiencia del hierro pudiera tener un efecto inhibitorio sobre la síntesis del ADN (85). La regeneración celular en muchos tejidos, como el hepático, se ha observado alterada en ratas deficientes de hierro (170). Los estudios de Hoffbrand y col. (91) demostraron trastornos en la proliferación de las células precursoras de los eritrocitos, que se correlacionan con una alteración más sutil de la síntesis de ADN en linfocitos y otros tejidos. Una posible explicación de este fenómeno sería que la reductasa de los ribonucleótidos (EC.1.17.4.1), enzima que interviene en la síntesis de los desoxirribonucleótidos, contiene hierro no hémico por lo cual, un déficit de este metal podría alterar su actividad. Además, el metabolismo del ácido fólico pudiera también ser afectado, ya que la formilino transferasa necesita hierro, y su actividad se inhibiría durante la deficiencia del metal. Estos hechos explicarían, en parte, la depresión del crecimiento del cuerpo y de los tejidos que es muy evidente en los animales de experimentación (124). Se ha reportado un incremento de la reabsorción fetal, y disminución del tamaño y peso del feto de ratas deficientes en hierro. Esto no se ha observado en fetos humanos de madres deficientes en hierro, debido a que los requerimientos de hierro en los fetos humanos son menores que los de rata (8). Sin embargo, Judish y col. (102) señalaron que la falta de hierro puede producir disminución del crecimiento del cuerpo y los tejidos en los niños.

Por otra parte, se ha reportado la presencia de hierro en los cromosomas. Los agentes quelantes del metal como EDTA y α, α -dipiridil causan la ruptura de estas estructuras intranucleares. El nucléolo parece ser el sitio de depósito de hierro en el núcleo durante la interfase. En el transcurso de la mitosis, el metal sería transferido a los cromosomas (159). Este hierro estaría unido principalmente a los polisacáridos. El papel de los complejos hierro-polisacárido no está claro. La gastroferrina, una glicoproteína que se encuentra en el jugo gástrico, atrapa el hierro y no permite su absorción intestinal. La ausencia de esta substancia permitiría la absorción indiscriminada de hierro y conduciría a una hemoderosis. De igual manera, los complejos hierro-polisacáridos controlarían la liberación del hierro; y esto, a su vez, estaría relacionado con los mecanismos de condensación de los cromosomas.

Los hechos antes citados han sido observados en tejido no nervioso. Sin embargo, hay motivos para pensar que en las células del SNC el hierro jugaría un papel similar, tomando en cuenta la relación que ha sido reportada entre la proteína fijadora de hierro (transferrina) y el crecimiento normal y neoplásico de las células nerviosas.

El papel de la transferrina en el desarrollo y crecimiento neuronal ha sido estudiado más directamente. Se sabe que la transferrina es un factor esencial para la proliferación y diferenciación de los cultivos neuronales de células ganglionares de la raíz dorsal del embrión de pollo (12). Este mismo requerimiento se ha observado en las líneas clonales de células nerviosas tumorales (neuroblastomas). Estas necesitan 20 veces más transferrina que los cultivos neuronales descritos. Este mayor requerimiento se correlacionaría con la mayor tasa de proliferación de estas células neoplásicas. Por otro lado, se ha observado que la transferrina estimula la captación de glucosa por las neuronas de cultivos de retina de pollo (98). Se ha sugerido que esta proteína regularía la diferenciación neuronal alterando el metabolismo de la glucosa.

Para realizar su función como factor de crecimiento y diferenciación, esta proteína posiblemente penetre dentro de la neurona. Mediante estudios de doble inmunofluorescencia (185), la transferrina ha sido localizada intracelularmente en el cerebro de ratones, a los 18 días del desarrollo fetal en los recién nacidos y hasta 8 días después del nacimiento, no observándose en los cerebros adultos. La transferrina parece ubicarse solamente en los neuroblastos y neuronas inmaduras, en su citoplasma y segmentos iniciales de las dendritas y los axones; no se ha observado en el núcleo. Las neuronas que contienen transferrina se distribuyen ampliamente en diversas regiones cerebrales incluyendo la corteza cerebral, el septum, los ganglios basales, el hipocampo, el tallo cerebral, el hipotálamo, el cerebelo y la médula. El número de neuronas con transferrina en una región dada se incrementa con el estadio del desarrollo. Esto es ejemplificado muy claramente en la corteza cerebral donde el número y la distribución topográfica de las neuronas con transferrina se correlacionaron con la diferenciación de las capas corticales. También se ha detectado la transferrina dentro de las células de la adenohipófisis del ratón neonato. En el hipotálamo, en el área preóptica y la amígdala no se detecta la transferrina intracelular. La presencia de la transferrina intraneuronal pudiera ser debida a una inadecuada barrera hematoencefálica, durante el desarrollo embrionario y fetal, y en los comienzos del período postnatal. Las neuronas captarían, por endocitosis, a la proteína de la sangre o del líquido cefalorraquídeo. Esta suposición se apoyaría en la presencia de la transferrina en las células epiteliales del plexo coroideo, en los vasos sanguíneos, en la porción apical de las células endoteliales y en el espacio extracelular. En este último, la transferrina fluorescente va desapareciendo con el desarrollo y no se observa en la vida adulta.

A pesar de que Torand-Allèrand (185) no detectó la transferrina dentro de las células nerviosas de cerebros adultos, Connor y col.(30), más recientemente, usando también técnicas inmunohistoquímicas, observaron la trans-

ferrina principalmente en los oligodendrocitos y en menor cuantía en las neuronas y células endoteliales de ratas adultas. Ellos sugirieron (30) que la transferrina sería captada por los oligodendrocitos antes de la formación de la barrera hematoencefálica. La formación de esta barrera es la que obligaría a estas células a almacenar esta proteína, la cual posteriormente no estará fácilmente accesible o disponible. Su acumulación coincide con el inicio del proceso de mielinización. Como los oligodendrocitos están encargados de este proceso en el SNC, es atractiva la idea de que la transferrina sería necesaria para la mielinización. En algunas enfermedades desmielinizantes se observaron bajos niveles de transferrina en el LCR y este hecho pudiera estar involucrado en la patogenia de estas enfermedades (Ver: acumulación de hierro y algunos trastornos del SNC); además, sería necesaria para mantener la mielina en estado normal en los cerebros adultos. La transferrina sigue la distribución de la enzima anhidrasa carbónica de los oligodendrocitos. Como el bicarbonato producido por esta enzima es necesario para la unión del hierro a esta proteína, este metal pudiera estar involucrado también con la mielinización.

Sin embargo, no hay que descartar la posibilidad de que la transferrina pudiera ser sintetizada localmente. Estudios recientes realizados por Levin y col. (115) indican que el gen de la transferrina se expresa en las neuronas. La expresión de este gen fué medida en el cerebro de ratas en desarrollo, mediante la determinación de ARNm. El gen de la transferrina es expresado tempranamente en el hígado fetal durante el proceso de diferenciación de este órgano, alcanzando un máximo en el primer día postnatal y se mantiene constante durante la vida del animal. Por otro lado, en el músculo y otros tejidos no hepáticos ni nerviosos, la máxima expresión se alcanza antes del nacimiento (19-20 días de gestación) y decrece luego marcadamente durante el desarrollo postnatal, siendo muy bajos los niveles de ARNm en los tejidos adultos. Por contraste, en el cerebro los niveles de ARNm de la transferrina son muy bajos antes del nacimiento. Luego, gradualmente se incrementan durante el desarrollo postnatal, alcanzando una meseta en la rata adulta (60 días de vida), siendo la concentración del ARNm equivalente a una décima parte de los niveles hepáticos adultos.

La transferrina pudiera ser un factor neurotrófico transportado por el nervio hacia el músculo, actuando a ese nivel como un mediador de la acción del SNC sobre la proliferación y diferenciación muscular (115).

Tanto el hierro como la transferrina están involucrados en el desarrollo y crecimiento del SNC en los mamíferos. Es interesante puntualizar que aspectos importantes del desarrollo cerebral humano, tales como la proliferación glial, la mielinización y la arborización dendrítica, ocurren durante un período cuando descienden las reservas de hierro del infante (41). Según Leibel y col. (114), debido a que las neuronas diferenciadas no se dividen,

se podría esperar que, si la deficiencia de hierro afecta a esos procesos del desarrollo cerebral citados, el crecimiento cerebral durante la infancia sería especialmente vulnerable a las anomalías estructurales o funcionales, que no serían remediables con la subsecuente restauración de una ingesta adecuada de hierro. Se ha demostrado un déficit permanente de hierro no hémico en ratas privadas transitoriamente del metal a comienzos de la vida postnatal (41). Así, la edad del individuo sería vital para predecir el efecto de una deficiencia de hierro sobre el cerebro. De esta manera, en niños escolares y adultos, en los cuales el desarrollo cerebral se ha completado, uno podría observar signos neurológicos y/o psicológicos consistentes con alteraciones en la función neurotransmisora y/o del metabolismo energético; mientras que, en un lactante, o en un individuo más viejo, pero que a temprana edad sufrió una deficiencia de hierro, uno podría esperar encontrar, además de lo anterior, signos relacionados con sutiles alteraciones estructurales en el cerebro.

10.— Hierro y función gabaérgica

Todos los estudios anteriormente citados tanto en humanos (36, 71, 76, 89, 108) como en animales (65, 165, 200, 205, 206), coinciden en que las áreas cerebrales más ricas en hierro son aquellas relacionadas con el movimiento. Dentro de estas regiones, las zonas que intervienen en la inhibición motora (núcleo caudado y putamen) y en la facilitación de los movimientos (globo pálido y sustancia nigra) contienen alrededor de dos veces más hierro que las zonas relacionadas con la coordinación motriz (núcleo rojo, núcleo olivar inferior, núcleo dentado del cerebelo y corteza cerebelosa) y con el movimiento voluntario (circunvolución frontal prerrolándica). La corteza motora piramidal (circunvolución frontal prerrolándica) contiene bajos niveles de hierro en comparación con las regiones motoras extrapiramidales. Esta aparente discrepancia pudiera explicarse en base a las diferencias anatomofuncionales entre los sistemas piramidal y extrapiramidal. Una explicación alternativa sería que ciertas neuronas motoras corticales poseen altas concentraciones de hierro, mientras que en otras tendrían niveles muy bajos, como lo sugiere la presencia de una actividad peroxidativa diferente entre las neuronas corticales (200). Como consecuencia de esta disfunción se encontrarían bajas concentraciones de hierro en la corteza cerebral tomada como un todo. Esta característica localización del hierro no ha sido observada con otros oligoelementos, tales como el Rb, el Zn, el Se, el Co, el Cr, la Ag, el Sc, el Sb y el Cs. Por ejemplo, el Zn alcanza niveles significativamente altos en regiones corticales relacionadas con el sistema límbico (circunvolución dentada, hipocampo, uncus e ínsula), con el afecto (cíngula) y el sistema autonómico (hipotálamo); mientras que, en áreas relacionadas con el movimiento, solo alcanza valores relativamente altos en los núcleos inhibidores (núcleo caudado y putamen).

Ya hemos señalado que la actividad peroxidativa localizada en las neuronas y el neuropilo de varias regiones motoras extrapiramidales ricas en hierro depende de la presencia de citocromos y otras ferroproteínas (catalasas, oxidasas, peroxidadas). Por lo tanto, las neuronas de estas áreas parecen contener mayor cantidad de estos compuestos ricos en hierro hémico que el resto de las neuronas. Quizás estas regiones necesiten gran cantidad de ferroproteínas y ferroenzimas para poder cumplir funciones metabólicas energéticas. Sin embargo, las altas concentraciones de hierro en las zonas motoras no pueden ser explicadas por un mayor metabolismo energético o actividad respiratoria, ya que el área con más intensa actividad metabólica, como lo es la corteza auditiva (174), no muestra niveles tan altos de este metal. Al mismo tiempo, las enzimas respiratorias solo contienen una pequeña parte del hierro total del cerebro.

Las reacciones específicas del metabolismo de algunos neurotransmisores, podrían ser la principal razón del enriquecimiento de hierro en regiones características del SNC. Se ha observado una relación entre las concentraciones del hierro cerebral y el metabolismo del GABA, lo cual ha surgido de estudios histoquímicos y bioquímicos recientes. La localización histoquímica del hierro en cerebro de rata y mono, que ya hemos descrito, coincide con las vías mielínicas estriato-pálido-nigral y cortico-nuclear del cerebelo (65). Ambas vías son gabaérgicas (64, 155). Además, existen dos regiones ricas en hierro en el tálamo: el complejo ventral anterior y ventral lateral (VA-VL) y el núcleo medio dorsal. Se sabe que el complejo VA-VL recibe axones de la parte dorsal del globo pálido, mientras que el núcleo medio dorsal recibe axones del pálido ventral y su componente olfatorio (179). Estas dos vías pálido-talámicas, ricas en hierro, parecen ser gabaérgicas (147). La relación entre el hierro y el GABA también se apoya en estudios bioquímicos realizados por Hill (87), quien demostró que inyectando gamma-vinil-GABA (GVG), un inhibidor de la transaminasa del GABA (GABA-T), se interrumpe la degradación del GABA, y por lo tanto, aumenta su concentración en los sitios de proyección gabaérgica. Esto se acompaña de una reducción de las concentraciones de hierro en dichas áreas. En efecto, cuando se inyecta GVG en el núcleo caudado, putamen y globo pálido, se reducen las concentraciones de hierro en el pálido ventral, globo pálido y sustancia nigra. Por otro lado, cuando la GVG es inyectada en la sustancia nigra, no se observa cambios en los sitios de proyección nigrotectal.

De esta manera, se podría concluir que las neuronas de las vías motoras extrapiramidales descritas, incluyendo las neuronas inhibitoras del cerebelo y las neuronas de los núcleos motores del tallo cerebral, presentan una serie de propiedades comunes: alta concentración de hierro, elevados niveles de GABA, intensa actividad de la descarboxilasa del ácido glutá-

mico (GAD), y una gran actividad peroxidativa. Sería interesante conocer si estas propiedades están metabólicamente interrelacionadas dentro de este tipo de neuronas.

11.— Hierro y función dopaminérgica

La distribución de DA y hierro parece coincidir en el cerebro (204). Al igual que el GABA, hay evidencias de que la función dopaminérgica podría ser influida por el hierro cerebral. La función dopaminérgica en ratas deficientes en hierro ha sido evaluada inyectando al animal tranilcipromina y L-DOPA, lo que conduce normalmente a incrementos en los niveles de DA e hiperactividad del animal. El aumento de la actividad de las ratas deficientes en hierro fué mucho menor que en los controles, no observándose diferencias entre las concentraciones de DA y NE, entre controles y deficientes. Cuando se administró anfetamina, droga que libera dopamina, o apomorfina, agonista dopaminérgico, las ratas deficientes presentaron una actividad motora menor que los controles. Esto podría indicar alteraciones a nivel post-sináptico, específicamente en el receptor dopaminérgico.

Los receptores dopaminérgicos en el SNC han sido clasificados en dos grupos: El receptor D₁ unido a la adenilciclase, y el receptor D₂ no relacionado con los nucleótidos cíclicos y el cual es determinado mediante su unión a ³H-Spiroperidol. El hierro cerebral pudiera ser importante para el adecuado funcionamiento de estos receptores. La anfetamina es capaz de inducir hipotermia en ratas y esto es, al parecer, mediado por liberación de DA a nivel del núcleo accumbens de la vía mesolímbica. Drogas que bloquean el receptor a DA anulan este efecto. La deficiencia de hierro en ratas también bloquea este efecto, y esto quizás lo haga a nivel del receptor a DA (205).

No se han encontrado cambios en la actividad de la adenilciclase sensible a DA en ratas deficientes en hierro, por lo cual, el receptor D₁ debe estar normal. Sin embargo, mediante el estudio de la unión del ³H-Spiroperidol a diferentes regiones del cerebro de ratas deficientes en hierro, se ha demostrado una disminución del número de receptores D₂ a nivel del núcleo caudado (B_{max}. disminuida en un 57%), sin cambios en la afinidad del receptor (K_d). Estos cambios son corregidos lentamente con el tratamiento oral o parenteral con hierro (5).

El mecanismo por el cual el hierro actuaría sobre el receptor D₂ no es conocido. Ashkenazi y col.(5) sugirieron tres posibilidades: 1°. El hierro forma parte del receptor y puede ser requerido para la fijación de la DA o sus antagonistas; 2°, la unión al receptor D₂ de la membrana post-

sináptica es mediada por hierro; 3º, la síntesis del receptor depende de un adecuado suplemento de hierro. Esto podría ser apoyado por el hecho de que algunos autores han reportado una disminución de la síntesis de proteína en el cerebro durante la deficiencia de hierro (194). Además, la recuperación del número normal de receptores D₂, y de las respuestas conductuales inducidas por drogas, es lenta, lo que es compatible con una síntesis de novo del receptor. Estos cambios en el receptor D₂ son dependientes de la deficiencia de hierro per se y no un efecto de la anemia. En ratas a las cuales se le indujo una anemia hemolítica por inyecciones repetidas de fenilhidrazina y las cuales tenían valores de hierro sérico normales, se observó que la respuesta conductual inducida por apomorfina y el número de receptores D₂ en el caudado eran normales.

Estos cambios parecen ser específicos ya que otros receptores parecen no modificarse. La unión específica de el ³H-WB4101, ³H-DHA y ³HQNB al cerebro de ratas deficientes en hierro no está alterada (204); por lo tanto, los receptores alfa 1 y beta adrenérgicos, y los receptores colinérgicos muscarínicos están normales.

12.— Hierro y función hipotalámica

Después del cuerpo estriado y el cerebelo, el hipotálamo es la región cerebral de la rata con mayor contenido de hierro no hémico: $0,076 \pm 0,030 \mu\text{gFe/mg de proteína}$ (206). Además, es la zona que tiene una mayor concentración de hierro total (hémico y no hémico): $1,75 \pm 0,20 \mu\text{mol/g de peso seco}$ (165), lo cual pudiera en parte deberse a que contiene elevadas cantidades de hierro hémico, como la hemoglobina, ya que se trata de una región con rica irrigación sanguínea.

El alto contenido de hierro del hipotálamo pudiera tener relación directa o indirecta con sus funciones de secreción de los factores de liberación de las hormonas hipofisarias, con la termorregulación, o con el control de ciertos tipos de conducta en los animales. Hay muchas evidencias experimentales que indican que el hierro provoca la liberación de las gonadotropinas, aunque no está claro si ésto tiene significación fisiológica. Los estudios realizados por van der Schoot y col. (185) revelaron que la aplicación iontoforética de hierro sobre el área preóptica del hipotálamo de rata, después de 10 a 15 minutos de latencia, es capaz de inducir la secreción del factor de liberación de la hormona luteinizante (LH-RH). Esto es seguido de una elevación brusca de la hormona luteinizante (LH) plasmática, hasta lograr una concentración seis veces mayor que la existente antes de la estimulación. Consecuentemente, se produce la ovulación. El incremento de la LH plasmática es progresivo y paralelo al aumento de la frecuencia de los potenciales de acción (de 0,5 a 25 por segundo) de las neuronas indi-

viduales situadas a 1 mm de distancia del foco de deposición del hierro. La aplicación iontoforética del hierro produce una zona central de daño tisular. Sin embargo, esto no parece ser la causa del fenómeno, puesto que la lesión electrolítica producida por un electrodo de platino, sin deposición de hierro, colocado en la misma área, no provocó el incremento de la LH plasmática y condujo a la atresia de los folículos pre-ovulatorios. No hubo modificaciones en el EEG cortical, las cuales si se producen si se utiliza hierro aplicado por la vía iontoforética. Los cambios ocasionados por el hierro parecen ser locales, porque la deposición ipsolateral del hierro no produce cambios en la actividad eléctrica contralateral. Además, la estimulación bilateral produce un incremento de los niveles de la LH plasmática, mayor que los alcanzados por la estimulación ipsolateral, llegando a concentraciones parecidas a las logradas fisiológicamente, durante el proestro de la rata. El largo período de lactencia entre la deposición del hierro y el incremento de la actividad neuronal, señala la posibilidad de que el hierro no actuaría provocando directamente la activación neuronal, y la consecuente secreción hormonal, sino que sería un factor en algún mecanismo indirecto a través del cual se dispararía la activación de la célula nerviosa. Se ha reportado que el Fe^{+2} y el Fe^{+3} aplicados directamente o iontoforéticamente sobre el área preóptica y otras regiones del hipotálamo, provocan un incremento local de la captación de la 2-deoxiglucosa (2DG). Esto indicaría que el hierro incrementa la actividad metabólica neuronal, desconociéndose hasta ahora si el mecanismo es directo o indirecto (28). Se sabe que el consumo de oxígeno en fibras nerviosas aisladas, aumenta durante la estimulación de baja frecuencia (158) y que la utilización de glucosa por el ganglio cervical superior de rata aumenta al incrementar la frecuencia de estimulación (203). Pudiera sugerirse que el Fe acrecentaría el metabolismo neuronal aumentando la actividad eléctrica de la neurona.

El hierro, directa o indirectamente, parece ser un factor importante en la liberación de LH-RH a nivel de la eminencia media del hipotálamo. Además de la liberación de LH-RH estimulada por el hierro aplicado por iontoforesis, hay una serie de hechos que apoyan esta hipótesis. Los niveles de hierro en el cerebro de la rata varían con el ciclo estrogénico, siendo su pico máximo durante el proestro, lo que coincide con la máxima secreción de LH-RH (88). Por otro lado, hay cierta coincidencia en la distribución de la LH-RH y el hierro. Los órganos circunventriculares concentran tanto LH-RH como hierro, y las fibras inmunoreactivas para la LH-RH tienen la misma distribución que los tanicitos cargados de hierro del órgano vascular de la lámina lateral y de la eminencia media. Estos tanicitos están asociados con las fibras de LH-RH. Las localizadas en la eminencia han sido implicadas en la regulación neuroendocrina (88).

Sin embargo, muchos autores no están de acuerdo con el papel estimulador del hierro sobre la secreción de LH-RH por las neuronas hipotalámicas. Para Dyer (52) el problema estriba en que los estudios realizados por van der Schoot y col. (186) fueron realizados en el área preóptica, siendo difícil evaluar si el hierro depositado en dicha zona, excita o inhibe directamente las neuronas hipotalámicas liberadoras de LH-RH. Esto es debido a que no existen datos anatómicos precisos acerca de la conexión preóptico-infundibular. Como no se conoce el número y la localización de las interneuronas que contribuyen a esta vía, no es posible comprender completamente la relación sináptica entre las neuronas directamente influenciadas por el hierro y las que segregan la LH-RH, dentro de los capilares de la eminencia media. De esta manera, este investigador estudió el tracto hipotalámico-neurohipofisiario, donde los cuerpos y los axones de las neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas están bien separadas, y es posible estudiar sus características con más facilidad. La estimulación eléctrica tanto a nivel del núcleo paraventricular, donde se encuentran los cuerpos de las neuronas oxitocinérgicas, como del tracto hipotálamo-hipofisiario, por donde van los axones de estas neuronas, causó la liberación de una cantidad de oxitocina suficiente como para producir la contracción de las células mioepiteliales de los acinos mamarios, con la consecuente elevación de la presión intramamaria. Esto no se observó cuando se aplicó hierro por vía iontoforética sobre, o cerca, de los lugares mencionados. Las neuronas oxitocinérgicas del sistema hipotálamo-hipofisiario y las neuronas del sistema preóptico infundibular deben tener un comportamiento similar ya que poseen las mismas características electrofisiológicas. De esta manera, si la estimulación del área preóptica, con iontoforesis de hierro, aumenta la LH plasmática, debería ser por mecanismos distintos a los procesos que intervienen en la estimulación eléctrica. La deposición de hierro inicialmente produce inhibición (186), seguida de un aumento de la frecuencia de disparo, después de un tiempo de latencia de 10 a 15 minutos. Por otro lado, según Dyer (52), el incremento en los niveles de la LH plasmática comienza a observarse antes de que pueda notarse algún aumento de la actividad neuronal. El propone que la lesión producida por el hierro en el área pre-óptica causaría una pérdida de su efecto inhibitorio sobre las neuronas secretoras de LH-RH, lo que conduciría inevitablemente a una estimulación en la secreción de la LH, y la ovulación. Apoyando a esta afirmación, se ha reportado que la captación de $^{45}\text{Ca}^{2+}$ (por parte de los terminales oxitocinérgicos de la neurohipófisis de rata) que se observa durante la secreción de oxitocina producida por altas concentraciones de K^+ , es inhibida por los iones Fe^{+2} (51).

El hierro podría intervenir en la termorregulación hipotalámica. Dillman y col. (48) expusieron ratas deficientes en hierro, anémicas o no, a bajas temperaturas (4°C) por 6 horas. Estos animales fueron incapaces de

mantener su temperatura corporal, independientemente del alimento que les fuera dado. La muerte ocurrió entre las 3 y 6 horas de enfriamiento. Las ratas controles no deficientes en hierro, tuvieron un descenso inicial de la temperatura, pero en menor grado que las deficientes en hierro; luego, su temperatura se estabilizó y permanecieron vivas. Después de ejercitarse a 4°C, la temperatura corporal se incrementó, pero permanecieron las diferencias entre los controles y el grupo deficiente en hierro ya que el aumento térmico en los controles fué mayor. Simultáneamente se observó un incremento de las catecolaminas urinarias, en las ratas deficientes en hierro, que no tenía relación con la presencia de anemia. Después de una semana de tratamiento con hierro, los trastornos térmicos y las alteraciones en las catecolaminas desaparecieron. Estos cambios pudieran ser debidos a un incremento en los niveles de tiroxina (T4) observados en ratas deficientes en hierro sometidas a bajas temperaturas. En ellas ocurre, además, una disminución de un 33% de la triiodotironina (T3). La inyección de T3 a ratas deficientes en hierro y tiroidectomizadas hizo desaparecer la hipotermia a 4°C. Esto no fué logrado con la administración de T4 (48). Se sugirió que el factor responsable de la hipotermia sería un trastorno en la conversión de T4 a T3 en los tejidos periféricos, debido a la deficiencia tisular del hierro. Por otro lado, también pudieran haber trastornos en el SNC. Las neuronas hipotalámicas termorreguladoras en el área preóptica, pudieran verse afectadas durante la deficiencia de hierro. Estas neuronas pueden ser estimuladas con la aplicación iontoforética de hierro lo que conduce a una rápida elevación de la temperatura corporal. La temperatura rectal alcanza de 39-40°C. después de tres horas de aplicación de corriente. Ningún incremento se observó después de la lesión electrolítica de dicha área, usando un electrodo de platino. La temperatura rectal permaneció entre 34 y 36°C en ratas anestesiadas con uretano (186). Sin embargo, no se sabe si esta estimulación producida por el hierro, aplicado iontoforéticamente sobre las neuronas termorreguladoras, tiene significación fisiológica. La deficiencia de hierro impide la hipotermia inducida por la anfetamina, la cual probablemente actúa estimulando la liberación de DA en la vía mesolímbica (núcleo accumbens) (205). Se ha sugerido que el déficit de hierro ocasionaría una reducción del número de receptores dopaminérgicos D₂ (205). Tal vez, el hierro participaría en la termorregulación, influyendo en las vías dopaminérgicas mediante la modulación del receptor D₂.

La conducta sexual de las ratas machos está controlada en parte por el hipotálamo y en esta función el hierro parece intervenir de algún modo. La deposición iontoforética de hierro en el área preóptica, facilita la cópula de las ratas machos (89, 120). Este efecto pudiera ser mediado por la liberación de LH al plasma. Además, con dicha estimulación se incrementa la actividad locomotriz (196). Estos cambios conductuales tardan de 15 a 20 minutos en desarrollarse, y persisten por varias horas. Las modificacio-

nes en la conducta de las ratas pudieran ser interpretadas como debidas a un simple efecto estimulador inespecifico del hierro, que se lograría también por otros medios como la estimulación eléctrica. Sin embargo, en ratas deficientes en hierro en las que no se usó ningún tipo de estimulación sobre el hipotálamo, se notaron trastornos en la actividad espontánea nocturna y diurna. Los animales deficientes en hierro eran menos activos durante la oscuridad y mas activos en el período de luz, al contrario de los controles. Además, presentaban también una reducción de la actividad motora espontánea (70, 206).

13.— Control neuroendocrino del metabolismo del hierro

El sistema nervioso central parece ser un factor importante en la regulación del metabolismo del hierro (164). Hay dos hechos conocidos que apoyan esta suposición: 1º diferentes tipos de stress físicos, y tal vez psíquicos van seguidos de una disminución del hierro sérico; 2º los niveles séricos de este metal sufren variaciones diurnas y nocturnas; es decir, presentan un ritmo circadiano.

El sistema reticulo endotelial (SRE), constituido por macrófagos fijos, tisulares, distribuidos en diferentes órganos, principalmente en el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos, sería el sistema periférico del cual haría uso el SNC para ejercer su control sobre el hierro corporal. El SRE, que es capaz de captar, almacenar y liberar hierro, es uno de los factores mas importantes del control de los niveles del hierro sérico. Esta suposición es apoyada, por un lado, por el hecho de que un estímulo del SRE por sustancias almacenables (ej: plata coloidal) origina una disminución de los niveles de hierro sérico, al estimularse su captación por este sistema. Por otra parte, el bloqueo del SRE por sobre-estimulación con este tipo de sustancia, produce un aumento del metal en el suero. Bajo esta última condición, el stress no produce, o al menos es menor la hiposideremia. El ritmo circadiano del hierro sérico también desaparece bajo este bloqueo del SRE.

Las variaciones diarias de este metal describen una curva sinusoidal y han sido observadas tanto en el hombre como en los animales. Los niveles más altos se alcanzan en la mañana, alrededor de las 8 a.m., y los mas bajos al final de la tarde o principio de la noche, aproximadamente entre las 6 y 8 p.m. En el hombre, la diferencia entre los niveles nocturnos y diurnos es aproximadamente de 20 a 40 $\mu\text{g}/100$ ml de suero. En el conejo estas variaciones son aún mayores. La amplitud de esta diferencia es determinada por los niveles de la mañana (Ley de los Niveles Iniciales de Wilder); así, si estos niveles son altos, la variación diaria es grande, y vice-versa.

La actividad regulatoria del SRE debe estar subordinada al SNC, como lo sugiere una serie de hechos. Por una parte, los estímulos químicos y físicos al cerebro, como la aminofenazona intravenosa, la irradiación de onda corta, la punción lumbar, la neumoencefalografía, el sangramiento intraventricular y el nacimiento, son seguidas a los 15 minutos de una hiposideremia. De igual manera, los estímulos hormonales como el cortisol y sus derivados, el A.C.T.H., la adrenalina (pero no la acetilcolina o la fisostigmina), y quizás algunas hormonas locales como la histamina y la serotonina, conducen a una disminución del hierro sérico. Esto sugiere que el SNC cuando es estimulado, posiblemente a través del hipotálamo, induce al SRE a captar hierro. El mecanismo por medio del cual esto ocurre no es conocido. Tomando en cuenta el efecto hormonal de la adrenalina sobre los niveles de hierro, se ha sugerido (164) que el hipotálamo estimularía el SRE por medio de los nervios del sistema nervioso autónomo simpático, usando adrenalina como mediadora. Esta hipótesis es apoyada por la rapidez con que se produce una hiposideremia por stress. Sin embargo, una vía humoral de mas larga acción pudiera existir dependiente del eje hipofisario-adrenocortical, el cual tendría el cortisol como mediador. La hipótesis humoral se apoya en el hecho de que el SRE de un bazo desnervado es capaz de captar y almacenar hierro durante una situación de stress. Ambos ejes descritos: el simpático-adrenomedular y el hipofisario-adrenocortical, utilizando adrenalina y cortisol, respectivamente, como mediadores, estimularían al SRE para captar hierro y regular así los niveles del metal en el suero.

Sin embargo, el SNC no parece ser el único factor regulador del hierro en el SRE. La eliminación de los dos ejes neuroendocrinos mencionados, mediante la adrenalectomía, la supresión de la función hipofisaria, la sección de la médula espinal, o la decapitación del animal, no suprime totalmente la hiposideremia inducida por el stress, ni el ritmo circadiano del hierro sérico. Este último, al igual que otras funciones biológicas rítmicas, no parece estar sólo bajo control central sino que pudiera también ser dependiente de mecanismos intrínsecos de la médula misma. Esto se ha observado también en humanos. Schäfer (164) reporta el caso de dos niños en quienes las funciones hipofisarias estaban ausentes; pero presentaban tanto la hiposideremia inducida por stress como el ritmo circadiano.

El ritmo circadiano del hierro parece ser influenciado por los hábitos de vida del individuo. Estudios realizados en trabajadores nocturnos, como enfermeras, demostraron una inversión de este ritmo, con un pico máximo en la tarde y un mínimo en la noche (164). Esta inversión ocurre después de un período variable de transición, caracterizado por fluctuaciones irregulares del metal en el suero. Se desconocen los mecanismos involucrados en este fenómeno. En el recién nacido, este ritmo diurno y nocturno se es-

tablece en los primeros días después del nacimiento; pero en el prematuro toma mas tiempo, siendo mas largo mientras mayor sea el grado de prematuridad (164).

14.— Hierro, ferritina y transferrina en el líquido cefalorraquídeo

El líquido cefalorraquídeo (LCR) se forma a nivel de los plexos coroides, distribuyéndose por los ventrículos y el espacio subaracnoideo del SNC. Las concentraciones de los diferentes metales en el LCR difieren de las plasmáticas. Los niveles de Na, Cl y Mg son mayores en LCR que en el plasma, mientras que los de K, Ca, Zn y Fe son menores (110). Los reportes sobre las concentraciones de hierro en LCR indican variaciones considerables de un laboratorio a otro (105). La mayoría de los investigadores han reportado niveles que se encuentran alrededor de los 30 $\mu\text{g/ml}$. Sin embargo, las concentraciones de hierro en el LCR parece ser muchísimo más bajas. Kjellin (105), mediante métodos espectrofotométricos y de activación neutrónica, determinó que la concentración de este metal en LCR de humanos normales eran igual o menor a 0,01-0,02 $\mu\text{g/ml}$. Esta es de 25.000 a 50.000 veces menor que las concentraciones de hierro en la sangre completa (488 $\mu\text{g/ml}$) de estos mismos individuos. De allí que las lesiones mínimas a nivel de la barrera sangre-LCR, causadas por infartos, tumores o traumatismos, conduzcan a incrementos marcados en los niveles de Fe en el LCR, lo cual pudiera tener utilidad diagnóstica. Por otro lado, estos niveles de hierro son de 100 a 300 veces inferiores a los encontrados en el plasma de los mismos sujetos (2-3 $\mu\text{g/ml}$), lo cual indica que la barrera sangre-LCR es poco permeable al hierro. Posiblemente, esto es debido a que el hierro plasmático está unido casi totalmente a la transferrina y ésta tiene un tamaño molecular que le dificulta su paso a través de esa barrera. El hierro en el LCR parece estar unido a proteínas, en casi su totalidad; ya que, primero, los incrementos en las concentraciones de proteínas totales son paralelos a los aumentos en los niveles de este metal; y segundo, este hierro no es ultrafiltrable (105, 171). Al igual que en el plasma, la transferrina es la proteína que fija casi todo el hierro contenido en el LCR. Al parecer existen dos subtipos de transferrinas en el LCR (144): una contiene cuatro residuos de ácido siálico, accesibles a la acción de la neuraminidasa; y la otra carece de estos residuos. Estas diferencias condicionan una movilidad electroforética diferente, pero sus propiedades antigénicas y la secuencia de sus aminoácidos son iguales. La primera, con residuos de ácido siálico, parece provenir del plasma; la segunda, podría ser sintetizada dentro del SNC, ya que a diferencia de la primera, esta no se ha detectado en el plasma.

Mediante inmunoaglutinación con latex se han detectado niveles bajísimos de ferritina, proteína de depósito tisular de hierro, en el LCR hu-

mano ($0,0023 \pm 0,0016 \mu\text{g/ml}$) (171). Las concentraciones de ferritina en el LCR son varias decenas de veces menores que las observadas en el plasma. Esto indica la existencia de una barrera en el SNC para el paso de esta proteína. Tanto la ferritina como la transferrina penetran al LCR a través de los plexos coroideos aunque en bajas cantidades. Particularmente con la ferritina, se han hecho estudios muy detallados acerca de su penetración en los plexos coroideos, LCR y parénquima cerebral (14, 97). La ferritina sale del espacio intravascular a nivel de las peculiares fenestraciones que presentan los capilares coroideos, pasando así al tejido conectivo de los plexos. Una porción de estas moléculas escapa hacia el LCR, atravesando las uniones entre las células epiteliales del plexo. Otras son posiblemente captadas, mediante pinocitosis, por las células del tejido conectivo del estroma coroideo y las células epiteliales coroideas. Dentro de estas células, la ferritina sería degradada por las enzimas lisosomales. Esto también sucedería con otras proteínas, incluyendo la transferrina, y sería un mecanismo de control del contenido proteico del espacio extravascular coroideo, y en parte, de las proteínas del LCR. Dicho movimiento puede también darse en sentido retrógrado: la ferritina en el LCR de los ventrículos y espacio subaracnoideo, pasaría a través de las células endociliales hacia el parénquima cerebral, siendo captado a ese nivel por pinocitosis, principalmente por los procesos gliales, y en menor grado por el cuerpo y los procesos neuronales (14).

El contenido de hierro en el LCR no se modifica con la edad, el sexo y los niveles de hierro sérico (105). Tampoco el contenido de ferritina en el LCR se correlaciona con su concentración sérica, pero sí con la de las proteínas totales en el LCR (171).

Las concentraciones de hierro, ferritina y transferrina han sido medidas en el LCR de pacientes con diversos trastornos neurológicos y psiquiátricos, con el fin de encontrar algún dato útil que permita elucidar algo sobre la etiopatogenia y fisiopatología de estas enfermedades. Con respecto al hierro, Kjellin (105) refiere que los resultados hasta ahora encontrados son contradictorios. Así, los niveles de hierro en el LCR en casos de neurosífilis, han sido reportados reducidos por algunos autores y aumentados, por otros. Se han reportado niveles de hierro aumentados en la enfermedad de Parkinson y en la Corea de Sydenham y bajas concentraciones, en tumores cerebrales y epilepsia. Niveles elevados, normales y reducidos se han señalado tanto en la esquizofrenia como en las depresiones endógenas. Estos reportes citados por Kjellin (105), provienen de estudios realizados antes de 1960; por lo cual, las variaciones observadas pudieran depender de aspectos metodológicos tales como la contaminación de las muestras y el uso de técnicas de análisis no suficientemente específicas y sensibles. Mas recientemente, se han reportado incrementos del con-

tenido de hierro no unido a proteínas en el LCR de pacientes con lipofuscinosis ceroide neuronal, una enfermedad hereditaria autosómica recesiva del SNC (73).

Respecto a la ferritina, los estudios son más recientes. Esta proteína se encuentra elevada en pacientes con encefalitis herpética, meningitis tuberculosa, accidentes cerebrovasculares agudos isquémicos y/o hemorrágicos, tumores y enfermedad de Alzheimer (171). Todas estas enfermedades, a excepción de la enfermedad de Alzheimer, tienen como características comunes: Inflamación, hemorragia y necrosis tisular. Por lo tanto, el aumento de la ferritina en el LCR puede deberse a estos procesos. La reabsorción de la hemoglobina induce la síntesis de ferritina por las células nerviosas (23). Esta ferritina puede excretarse posteriormente. La muerte celular por infección o isquemia, puede también resultar en liberación de ferritina. Los macrófagos, que contienen 50 ng de ferritina por millón de células, podrían ser una fuente de ferritina durante los procesos inflamatorios. En la encefalitis herpética, los niveles de ferritina se correlacionan con la clínica del paciente y el contenido proteínico del LCR. Por los datos anteriores, se ha pensado que la ferritina en el LCR pudiera ser un buen índice de la intensidad de la reacción inflamatoria y de la extensión del daño tisular o hemorragia en el SNC (78).

En los casos de la enfermedad de Alzheimer, los incrementos de ferritina en el LCR no tienen una clara explicación. Se ha detectado, por medios histoquímicos, una gran cantidad de hierro en las neuronas de la corteza cerebral que sufren degeneración neurofibrilar y en la oligodendroglía, dentro de las placas argentófilas (77). Sindic y col. (171) no encontraron modificaciones en los niveles de ferritina en pacientes con epilepsia y enfermedades degenerativas del SNC, tales como la esclerosis lateral amiotrófica, la paraparesia espástica familiar y la degeneración olivo-ponto-cerebelar. En pacientes con esclerosis múltiple y enfermedad de los nervios periféricos tampoco se produjeron cambios, salvo en casos excepcionales.

En cuanto a la transferrina, también se han reportado algunas modificaciones en sus niveles en LCR. En la esclerosis múltiple, si bien las concentraciones de ferritina en el LCR están normales, se ha reportado una disminución significativa de los niveles de transferrina en 31 pacientes, junto con una disminución de la α 1-antitripsina, que es un inhibidor de las proteínas (149).

Price y col. (149) citaron el caso de un paciente con la enfermedad de Schilder, que es otra enfermedad desmielinizante, con niveles aún más bajos que los casos con esclerosis múltiple. Tales hallazgos sugieren, que estas reducciones en la transferrina deben estar asociadas a procesos de

desmielinización. Los estudios electroforéticos de las proteínas del LCR ventricular, de pacientes con enfermedad de Alzheimer recién fallecidos, revelaron un incremento de la incidencia de las bandas dobles de transferrina en estos sujetos (20). Estos descensos en los niveles de transferrina pudieran estar asociados con los procesos de desmielinización (Ver: Acumulación de hierro y ciertas afecciones neurológicas). Recientemente, se ha reportado una disminución en las concentraciones de transferrina en el LCR y suero de pacientes con el síndrome de Down que tenían demencia progresiva. También se observó un aumento de algunas inmunoglobulinas (IgG e IgA) y de la albúmina (56). Estos cambios no parecen estar asociados con el desarrollo de demencia en el síndrome de Down.

No sabemos hasta que punto las concentraciones de hierro, ferritina y transferrina, o los cambios estructurales en la ferritina y la transferrina, reflejan lo que está sucediendo en un determinado momento en el parénquima nervioso. Además, también desconocemos si los datos reportados (la mayoría de las veces contradictorios), sobre las concentraciones de este metal y sus proteínas fijadoras en varias enfermedades neurológicas y psiquiátricas, son causas o efectos, o si tendrían alguna importancia fisiopatológica, diagnóstica, pronóstica o terapéutica. Es necesario realizar estudios mejor controlados, y con métodos de análisis apropiados, para aclarar el problema.

15.— Peroxidación lipídica cerebral y algunos trastornos neurológicos

La actividad peroxidativa endógena del cerebro no está uniformemente distribuida. Los estudios histoquímicos con diaminobenzidina (DAB), en cerebros de monos ardillas, han demostrado que las áreas pertenecientes al sistema motor extrapiramidal, ciertos núcleos nerviosos craneales, el cerebelo y el tálamo, exhibían una alta actividad peroxidativa; mientras que, en otras zonas como la corteza cerebral esta actividad parece ser baja (Ver: Concentración y distribución de hierro cerebral) (200). Esta distribución coincide con las regiones ricas en hierro y pareciera deberse a que esta actividad peroxidativa endógena depende de las ferroenzimas; catalasa, algunas oxidasas, peroxidasas y enzimas mitocondriales, principalmente los citocromos. La actividad peroxidativa se ha detectado en los cuerpos neuronales en ciertas regiones y en las prolongaciones de las células nerviosas (neurópilos) en otras (200). Los estudios ultraestructurales han demostrado que esta actividad se localiza en las mitocondrias, especialmente en la membrana interna donde se encuentran las enzimas del ciclo de Krebs, del transporte de electrones y de la fosforilación oxidativa.

Como resultado de las actividades peroxidativas y oxidativas endógenas se forman radicales libres de oxígeno, que son moléculas altamente

reactivas, con un electrón no apareado en su órbita mas externa. Entre estos radicales tenemos el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH.) (66). Se considera que estos radicales libres tienen la capacidad de producir la peroxidación de los lípidos cerebrales, cuando el O_2^- y la superóxido dismutasa reaccionan para producir H_2O_2 , el cual a su vez interactúa con el ión ferroso (Fe^{+2}) para formar el radical hidroxilo (OH.). El OH. ataca a los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana, produciéndose epóxidos de ácidos grasos y otras olefinas, tales como el colesterol (183). Esta reacción provoca la fragmentación de los lípidos de las membranas celulares, produciéndose la ruptura de las mismas y el daño celular irreversible. La peroxidación lipídica producida por el hierro parece ser selectiva; no todos los ácidos grasos y fosfolípidos son afectados. Estudios in vitro, en homogeneizados de corteza cerebral de rata, han demostrado que la presencia de Fe^{+2} y ácido ascórbico disminuye las concentraciones del ácido araquidónico, del ácido docosahexanoico y del fosfoglicérido de etanolamina; siendo este último, el fosfolípido con más alto contenido de ácidos grasos insaturados en el cerebro. El fosfoglicérido de colina, no se modifica (153).

Estos radicales libres también son capaces de oxidar los grupos sulfidrilos ($-SH$) del glutatión y de algunos glucolípidos, glucoproteínas y aminoácidos (140), así como también los del ADN y del ARN (13). Los grupos sulfidrilos del glutatión, son particularmente importantes para proteger las membranas celulares de los factores peroxidativos. Esta producción fisiológica de radicales libres, es controlada exitosamente por una serie de mecanismos complejos: 1º separación espacial entre el sitio de producción de estos radicales y las biomoléculas vulnerables, 2º control enzimático dependiente de la superóxido-dismutasa, la catalasa y la peroxidasa del glutatión; 3º sustancias antioxidantes como la vitamina E, la vitamina C y el glutatión (153). A nivel extracelular, el oxidante mas poderoso es la ceruloplasmina (1).

La actividad peroxidativa endógena y la producción basal de radicales libres, que normalmente ocurren en el tejido nervioso, pueden ser aumentadas por diversos factores, entre ellos el hierro; llegando los mecanismos de control que hemos mencionado a ser insuficientes para eliminar estos radicales libres con el consecuente daño tisular. Se ha sugerido que la diferente capacidad peroxidativa observable en distintas regiones, podría depender, en parte, del contenido de hierro endógeno (209). Sin embargo, a este respecto es bueno notar que la mayor parte del hierro cerebral está unido a hemoproteínas, enzimas, transferrina y ferritina, no estando libre para estimular reacciones peroxidativas.

El papel del hierro como oxidante es bien conocido. La adición de sales de hierro o hemoproteínas a suspensiones de tejidos o soluciones de ácidos grasos insaturados, causa la generación de radicales libres de oxígeno. La autooxidación de la oxihemoglobina a metahemoglobina también genera radicales libres de oxígeno (195). Las sales inorgánicas de hierro y las hemoproteínas estimulan la peroxidación de los lípidos microsomales y mitocondriales con el consecuente daño de estos componentes celulares (137, 172).

La peroxidación inducida por el hierro, ha sido involucrada en los mecanismos patogénicos y fisiopatológicos de algunos trastornos neurológicos. El tejido cerebral es muy susceptible a este tipo de proceso, debido a sus altas concentraciones de fosfolípidos con ácidos grasos insaturados(53).

El síndrome de Hallervorden-Spatz (SHS), es un trastorno neurológico donde grandes cantidades de hierro se acumulan en el globo pálido y la sustancia nigra. En estas regiones cerebrales ocurre una pérdida de fibras mielinizadas y neuronas; también se observa gliosis. Además, aparecen cuerpos esferoidales y acúmulos de lipofuscina ceroide y neuromelanina (177). La neuromelanina se encuentra en los astrocitos y normalmente no está presente en el globo pálido. Se piensa que las concentraciones anormalmente altas de hierro ferroso (Fe^{+2}) en estas zonas cerebrales, generarían radicales libres que mejorarían la peroxidación lipídica de las membranas de las células nerviosas, formándose así lipofuscina ceroide. A su vez, las grandes cantidades de hierro conducirían a una peroxidación no enzimática de esta sustancia, produciéndose neuromelanina (177).

La lipofuscinosis ceroide neuronal (LCN) es otra enfermedad neurológica hereditaria de tipo autosómico recesivo. Se conocen varios tipos diferentes de esta enfermedad en el hombre, clasificándose de acuerdo con la edad de aparición de los síntomas, de la manera siguiente: el tipo infantil temprano, entre 8 y 18 meses; el infantil tardío, de 2 a 9 años; y el juvenil, de 4 a 7 años. Estos tres tipos se caracterizan por depósitos de lipofuscina ceroide en el cerebro. Al igual que en el SHS esta sustancia se formaría por una excesiva peroxidación de los lípidos cerebrales. Esta hipótesis es apoyada por los estudios de Gutteridge y col. (73), quienes encontraron un aumento significativo de los niveles de hierro, no unido a proteínas, en el LCR en los pacientes con LCN juvenil, permaneciendo normales los niveles de este metal en los pacientes con LCN infantil. Por otro lado, la capacidad antioxidante del LCR, medida por el grado de inhibición de la producción de radicales hidroxilos a partir de superóxido, fué significativamente menor en los niños con LCN infantil que en sus controles; mientras que, en los casos con LCN juvenil la diferencia no fué significativa. Si el aumento de los niveles de hierro en el LCR y la disminución de su capacidad an-

tioxidante son reflejo de lo que está ocurriendo en el cerebro, estos dos factores favorecerían ampliamente la peroxidación lipídica a ese nivel. Se ha sugerido el uso de antioxidantes y quelantes del hierro para tratar este tipo de enfermedades (73).

El hierro pudiera participar en los mecanismos tardíos de daño neuronal que se han observado durante los procesos isquémicos y anóxicos, en el SNC, provocados por paros cardíacos (197). Aunque, *in vitro*, las neuronas son capaces de tolerar de 20 a 30 minutos en completa isquemia (93), un daño neurológico irreversible generalmente ocurre dentro de los primeros cinco minutos de una total anoxia, en animales intactos (86). Se han sugerido dos mecanismos que condicionarían esta menor supervivencia de las neuronas en anoxia: 1º) al producirse la anoxia, habría una entrada de calcio al interior de la neurona, se perdería el gradiente iónico a través de la membrana y ocurriría una sobrecarga intracelular de calcio; cambios similares ocurrirían en las células de las paredes arteriales, produciéndose espasmo vascular, agravándose la isquemia e iniciándose una serie de eventos que conducirían a la muerte celular. 2º) Por otro lado, en muchos casos de paro cardíaco, donde se aplican técnicas de resucitación óptimas para lograr una buena perfusión cerebral, donde se utilizan antagonistas del calcio para evitar una sobrecarga de éste en las neuronas y paredes vasculares, y donde hay una buena recuperación inicial, ocurre tardíamente (16-48 horas post-resucitación) un fenómeno de recaída y desmejoramiento del estado neurológico (197). Se piensa que esto pudiera ser debido a procesos de peroxidación lipídica estimulados por iones ferrosos (Fe^{+2}). La entrada de calcio a la célula podría provocar: a) un daño en la mitocondria, que conduciría a la liberación de su contenido de hierro lábil (63); b) la liberación de Fe^{+2} de la ferritina, provocada por la xantino oxidasa durante la fase de reperfusión del tejido; c) la liberación de Fe^{+2} de la ferritina por equivalentes reductores acumulados durante la isquemia (101). Este Fe^{+2} podría ser quelado por el ADP que se acumula durante la isquemia, e iniciaría la formación de radicales libres, con la consecuente peroxidación lipídica durante la fase de reperfusión y reoxigenación. Otra posibilidad es que la xantina, acumulada durante la depleción de ATP provocada por la anoxia, sea oxidada por la xantino oxidasa, produciéndose radicales superóxido (O_2^-) durante la fase de reperfusión, los cuales estimularían la peroxidación lipídica. Los radicales libres O_2^- y H_2O_2 son incapaces por sí solos de iniciar los procesos peroxidativos en la membrana, en ausencia de metales.

Finalmente, estos radicales libres, ya sea formados por el Fe^{+2} o la xantino oxidasa, son capaces de provocar un incremento de la permeabilidad vascular y edema cerebral, con aumento del sodio y del agua en el tejido nervioso sin cambios en los niveles de potasio. Los radicales pueden

lesionar las células endoteliales de los capilares cerebrales mediante peroxidación de sus membranas, lo cual produce una alteración de la barrera hematoencefálica (19).

Aunque los síntomas y signos de estos trastornos neurológicos podrían depender de la destrucción neuronal causada por la peroxidación lipídica, inicialmente éstos podrían deberse a alteraciones bioquímicas, en las células nerviosas, originadas también por dicho proceso peroxidativo. Pastuszko y col. (145) observaron un aumento en la captación de dopamina por sinaptosomas estriatales de ratas sometidos a peroxidación lipídica inducida por Fe^{+2} . Ellos sugirieron que este incremento podría reflejar cambios conformacionales en el transportador de la membrana sinaptosomal o en las zonas de dicha membrana que lo rodean. Baba y col. (6) demostraron que la peroxidación lipídica inducida por el Fe^{+2} , estimulaba la actividad de la adenilciclase de las membranas sinápticas estriatales. Este fenómeno parece específico de la enzima cerebral, ya que la adenilciclase de las células hepáticas y cardíacas y de los eritrocitos, no es estimulada por este metal. Al mismo tiempo, esta propiedad del hierro no ha sido observada con otros cationes divalentes como el cobalto (Co^{+2}), calcio (Ca^{+2}), níquel (Ni^{+2}), manganeso (Mn^{+2}), cromo (Cr^{+2}), molibdeno (Mo^{+2}) y zinc (Zn^{+2}). Esto coincide con el hecho de que algunos de estos metales inhiben la peroxidación lipídica. Los estudios, tanto in vivo como in vitro, demostraron que el Mn^{+2} , a bajas concentraciones, es capaz de inhibir la peroxidación lipídica de los homogeneizados cerebrales, sin modificar los niveles de hierro y ácido ascórbico endógenos (169). Se ha sugerido que el Mn^{+2} se uniría a los fosfolípidos de la membrana y así los protegería de la oxidación. Igualmente, el plomo, el cobalto, y el zinc son todos inhibidores de la peroxidación lipídica (25, 68, 184). Por otro lado, el cobre (Cu^{+2}) estimula la actividad de la adenilciclase, pero en menor grado que el hierro (Baba y col. 1981). La peroxidación lipídica inducida por el Fe^{+2} , no estimula a otras enzimas cerebrales unidas a membranas como la Mg^{+2} -ATPasa, la Na^{+} - K^{+} -ATPasa, la 5'-nucleotidasa, la acetilcolinesterasa y la fosfodiesterasa. Mas aún, en las tres primeras se produce cierta inhibición (6). Se ha reportado que el FeCl_2 (50 μM) inhibe la Na^{+} - K^{+} -ATPasa en cultivos de médula espinal murina (2). Este efecto es mediado, posiblemente, por la peroxidación lipídica de las membranas, ya que los antioxidantes como el alfatocoferol (vitamina E) y el succinato de sodio de metilprednisolona (SSMP) bloquean parcialmente este efecto. Los radicales hidroxilos (OH.) estarían involucrados, porque el manitol bloquea dicho efecto. El SSMP también actuaría estimulando la síntesis de ATPasa, ya que los inhibidores de las proteínas y del ARN anulan su efecto.

Hasta ahora, aparte de la adenilciclase cerebral, solamente se ha observado que la peroxidación lipídica activa la difosfatasa de la tiamina, en la

fracción microsomal del cerebro de rata. Se han sugerido tres posibles mecanismos por los cuales la peroxidación lipídica induciría un aumento de la actividad de la adenilciclase (6): 1º) la peroxidación de los lípidos de la membrana disminuiría su fluidez, aumentaría los niveles de colesterol y estimularía la actividad de esta enzima; 2º) un cambio estructural en la membrana debido a su peroxidación, activaría la enzima; 3º) un inhibidor de la adenilciclase podría ser liberado durante la peroxidación de ésta. Respecto a esto último, es conocido el hecho de que los ácidos grasos insaturados inhiben la actividad de la adenilciclase en los fibroblastos. También, algunos ácidos grasos insaturados como los ácidos oleico, linoleico y araquidónico inhiben la adenilciclase del cerebro de rata. Como la peroxidación lipídica disminuye el contenido de ácidos grasos insaturados y fosfolípidos, esto representaría una reducción de los factores inhibidores de esta enzima y, por ende, un incremento de su actividad. Finalmente, la razón por la cual este fenómeno sólo afecta a la adenilciclase de las membranas de las células nerviosas y no a otros tipos celulares, pudiera ser la diferencia en la composición de sus fosfolípidos o en la organización de sus adenilciclasas.

16.— Envejecimiento cerebral y acumulación de hierro

Durante el desarrollo y crecimiento del cerebro humano, la concentración de hierro no hémico aumenta lenta y gradualmente, de aproximadamente un 10% de los valores adultos al momento de nacer, a cerca de un 50% a la edad de 10 años. Este patrón es diferente a los cambios de las reservas de hierro hepático que ocurren durante el desarrollo, cuando una alta concentración al momento de nacer va seguida de una depleción al final de la infancia y la adolescencia(76). Los altos niveles de hierro hepático observados al nacer, pudieran ser debido a la función eritropoyética del hígado fetal. El incremento del contenido de hierro se observa en todas las regiones cerebrales pero cada una lo hace de diferente manera. El globo pálido y la sustancia nigra alcanzan su máximo en las 2 ó 3 primeras décadas de la vida. El núcleo caudado, el putamen y el núcleo rojo llegan a sus máximos niveles entre los 50 y 60 años. Otras regiones acumulan hierro durante toda la vida (76). Höck y col. (89), mediante activación neutrónica, confirmaron estos aumentos dependientes de la edad, en la corteza cerebral y los ganglios basales de cerebros humanos. Las concentraciones del metal aumentaban durante la primera década de la vida, manteniéndose constantes hasta, por lo menos, los 74 años de edad. Este comportamiento parece muy particular del hierro ya que no es observado en otros metales trazas como el cobalto, el escandio, el zinc, el cromo, la plata, el cesio y el antimonio. El rubidio, al contrario del hierro, decrece en la corteza y los ganglios basales, llegando en la octava década de la vida a la mitad de las concentraciones existentes al momento del nacimiento. Durante el envejeci-

miento, tiende a acumularse hierro y otros minerales en las arterias medianas del globo pálido pero no en otras áreas del SNC. Este fenómeno es llamado siderosis vascular y no está asociado con el aumento de la incidencia de enfermedades vasculares o de otro tipo en el SNC, desconociéndose su significado (50).

Las variaciones en los niveles de hierro cerebral se han observado en otras especies animales, además del hombre. Se ha reportado que en ratones C57BL/6J la concentración de hierro se incrementa un 33% entre los 45 y 355 días de edad, para luego no modificarse (122). En monos macacus del viejo mundo, en cautiverio y sin historia de anormalidades neurológicas, se ha descrito una acumulación de pigmentos de hierro en la sustancia nigra (parte reticulada o difusa) y en el globo pálido (parte rostral), junto con la aparición de estructuras esferoidales de origen y función hasta ahora desconocidos (15).

Al microscopio electrónico, este pigmento férrico parece acumularse en el citoplasma de las células gliales como agregaciones de gránulos unidos a membrana. Estos hallazgos no han sido observados en los llamados monos del nuevo mundo, como los monos ardilla. Sin embargo, los monos del viejo mundo están más relacionados con el hombre que los del nuevo mundo. Como el hierro ha sido involucrado en muchos procesos bioquímicos y fisiológicos del SNC, su acumulación gradual con la edad podría representar el almacenaje de productos metabólicos (88).

Se ha dicho que el envejecimiento pudiera estar relacionado con la peroxidación de los ácidos grasos insaturados de las estructuras celulares, desencadenada por radicales libres. Como el hierro es un estimulante conocido de la peroxidación lipídica (66, 137, 172), cabría suponer que los aumentos de las concentraciones de este metal en el cerebro, que ocurren con el tiempo, podrían incrementar la peroxidación de los lípidos del tejido nervioso y producir su envejecimiento. Sin embargo, los datos reportados son contradictorios. La peroxidación lipídica en cerebro de rata, medida por la formación de malonildialdehído, se ha reportado que aumenta o disminuye, durante el envejecimiento (122). Massie y col. (122) observaron que la formación de ácido tiobarbitúrico (ATB), que también mide la peroxidación lipídica, no parece modificarse con la edad en el cerebro o en otros órganos, a pesar de los incrementos de los niveles férricos observados en ellos. Estos autores sugieren que el hierro tisular se encuentra bajo el estado de oxidación férrico (+3), y por lo tanto, es menos probable que catalice la peroxidación lipídica.

Si el hierro y la peroxidación no son causa del envejecimiento tisular, las concentraciones de este metal sí podrían ser importantes en la determi-

nación de los niveles de peróxido en los tejidos, ya que los agentes quelantes agregados a los homogeneizados disminuyen significativamente la formación de ATB, y por ende, la peroxidación (122).

17.— Acumulación de hierro y ciertas afecciones neurológicas

Una acumulación anormal de hierro en diferentes regiones del SNC, ha sido observada en algunos trastornos neurológicos, muchos de los cuales se acompañan de alteraciones psiquiátricas.

El síndrome de Hallervorden-Spatz (SHS) es hereditario, autosómico recesivo, aparece en las dos primeras décadas de la vida y se manifiesta clínicamente por una progresiva espasticidad, distonía y demencia (177). En este síndrome se observa un incremento de los depósitos de hierro en el globo pálido y en la zona reticular de la sustancia nigra. Se piensa que las altas concentraciones de hierro estimulan la peroxidación lipídica de las membranas de las células nerviosas, produciendo inicialmente trastornos bioquímicos, y posteriormente la muerte (Ver: Peroxidación lipídica cerebral y algunos trastornos neurológicos). En estudios con Fe^{59} se ha demostrado que estos pacientes tienden a retener y acumular hierro en el globo pálido y la sustancia nigra, en forma continua (177, 180). Esta tendencia a acumular este metal es debida a trastornos del metabolismo local del hierro en el SNC, especialmente en las dos regiones mencionadas. Al parecer, no existe una alteración del metabolismo general del hierro, ya que algunos parámetros como la vida media y el recambio del hierro plasmático, el recambio y la vida media de los glóbulos rojos, y los depósitos de hierro hepático, son normales en estos pacientes (180). Sin embargo, recientemente se han reportado algunas alteraciones hematológicas en la médula ósea, e inclusiones citoplasmáticas anormales en los linfocitos circulantes, así como sutiles alteraciones ultraestructurales en la piel. A pesar de estas manifestaciones extracerebrales, la acumulación de hierro en el cerebro es probablemente el factor dominante en la patogénesis del SHS.

Rojas y col. (160) demostraron, usando microscopía electrónica, una acumulación intracelular de pigmentos de hierro en material de biopsia del núcleo ventrolateral del tálamo de pacientes con Enfermedad de Parkinson (EP). Mediante espectroscopía fluorescente de rayos X se han encontrado duplicadas las concentraciones de hierro en el cerebro de pacientes con EP (53). Sin embargo, estudios recientes no han descrito cambios en el contenido de hierro en varias regiones cerebrales analizadas (204). También se ha observado que en los pacientes parkinsonianos hay un incremento de las reservas de hierro movilizables, ya que las inyecciones intramusculares con deferoxamina, un quelante del hierro, aumentan la excreción urinaria del metal en una mayor proporción que los controles.

Se han realizado investigaciones en animales que apoyan la posibilidad de que el hierro esté involucrado en las anormalidades motoras de la EP. En la práctica clínica se observa que los neurolépticos son capaces de producir discinesias tardías; éstas consisten en manifestaciones extrapiramidales semejantes a la EP: distonía, temblor, movimientos coreo-atetósicos y discinesias buco-linguo-faciales. La clorpromazina inyectada por vía subcutánea a cobayos, produce incrementos significativos en los niveles de hierro en el núcleo caudado, sin cambios en la corteza frontal y en los hemisferios cerebrales. Esto se acompaña de un aumento del manganeso en el núcleo caudado y el cerebelo, sin modificación en la corteza. Además, hay una reducción del cobre en las tres regiones examinadas (193). Las acumulaciones de hierro y manganeso son capaces, cada una por sí misma, de producir trastornos neurológicos tanto en el hombre como en los animales, por lo cual ambos metales podrían participar en la etiopatogenia de este trastorno. La intoxicación experimental con hierro, en monos y conejos, mediante inyecciones intravenosas repetidas de hierro dextrano, producen aumento del tono muscular, hipocinesia y temblor en las partes distales de las extremidades (3). Estos síntomas se acompañan de trastornos electromiográficos, de características bastante similares a los del Parkinson. Hay fuertes incrementos del contenido de hierro en los ganglios basales de estos animales y sólo muy ligeros aumentos en la corteza frontal (136). Contradictoriamente, Hadzovic y col. (74) reportaron que la tremorina y el ácido dietilaminolisérgico (LSD) inyectado por vía intraperitoneal a ratas, producían, después de 30 minutos, una reducción de los niveles de hierro en el cerebro completo y un temblor de reposo bastante similar al parkinsoniano. Este temblor no era antagonizado por drogas anticolinérgicas, que generalmente permiten reducir el temblor parkinsoniano. Por otro lado, el temblor producido por infusiones de acetilcolina, puede ser prevenido con infusiones intravenosas de hierro. El hierro tiene una estrecha relación con el sistema dopaminérgico, el cual está alterado en la EP. Como hemos descrito, este metal puede aumentar la captación de DA por sinaptosomas estriales (145). Además, durante la deficiencia de hierro, en ratas, hay una disminución del número de receptores dopaminérgicos D₂ (5). Podría especularse que un aumento de las concentraciones de este metal, producido por la clorpromazina, originaría incrementos en el número de receptores D₂ y aumento de la captación de DA, lo cual causaría los trastornos extrapiramidales descritos. El manganeso puede también estar involucrado, ya que es capaz de producir alteraciones de varios neurotransmisores, entre ellos la DA (11). Otros metales pesados pudieran tener relación con la etiopatogenia de la EP. Se ha reportado una acumulación anormal de varios metales, especialmente aluminio y plomo, en las paredes de las arterias de mediano tamaño del globo pálido de pacientes parkinsonianos (50). Ambos metales son capaces de causar o han sido relacionados con varias enfermedades neuropsiquiátricas (50). Denny-Brown (46) sugirió una hipótesis que

podría explicar la posible participación de todos estos metales en la patogenia de la EP. En esta enfermedad habría, en los ganglios basales, un defecto en la permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica para ciertos iones metálicos. De igual forma el parénquima nervioso acumularía cobre en la enfermedad de Wilson (46).

La enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno hereditario, autosómico dominante del SNC, donde las lesiones más llamativas ocurren en los ganglios basales. Se manifiesta con movimientos coreicos y trastornos psiquiátricos. Se ha reportado un aumento de la concentración de hierro en el globo pálido y el núcleo caudado de estos pacientes (33, 107), coincidiendo con los sitios de mayor daño estructural y alteraciones bioquímicas. Sin embargo, no sabemos lo que esto pudiera significar en la fisiopatología de la EH.

A diferencia de las enfermedades anteriormente mencionadas, en la enfermedad de Alzheimer (EA) o Demencia Presenil, las principales lesiones anatómicas, como son la degeneración neurofibrilar de las células nerviosas y la formación de placas argentófilas, se localizan en la corteza y no en los ganglios basales. Esta enfermedad se acompaña de atrofia de la corteza cerebral, comenzando entre la quinta y sexta décadas de la vida, con trastornos en la esfera intelectual que progresan hasta la demencia completa. Goodman (72), utilizando la reacción de azul de Prusia observó, en cerebros de pacientes con EA, grandes cantidades de sustancia teñible como hierro, dentro de las placas argentófilas, en las células nerviosas que estaban sufriendo degeneración neurofibrilar, en la oligodendroglía, la microglía y en las paredes de algunos vasos sanguíneos. Este hallazgo permitió sugerir que en esta enfermedad podría haber alguna alteración en el metabolismo del hierro. Año más tarde, Hallgren y col. (77) reportaron un aumento del hierro de la corteza frontal motora y occipital, detectable histológicamente mediante el método de azul de Turnbull. La mayor parte de este hierro se localizaba en los astrocitos y la microglía que rodeaban a las placas argentófilas y ocasionalmente dentro de algunas neuronas. Sin embargo, este incremento es más aparente que real ya que la determinación química cuantitativa demostró concentraciones normales de hierro no hémico en dichas áreas corticales. Ellos sugirieron que esta discrepancia entre un aumento en la concentración del hierro, teñible histológicamente, y las concentraciones normales de hierro no hémico, determinadas químicamente, pudiera deberse a cambios en las propiedades tintoriales del hierro no hémico en la EA. Estos cambios pudieran originarse de una redistribución del hierro al modificarse su unión al tejido cerebral. Sindic y col. (171) reportaron un incremento de los niveles de ferritina en LCR de pacientes con EA, que no podía ser explicado por la presencia de procesos inflamatorios, hemorrágicos o isquémicos. También se ha observado un au-

mento de los niveles de transferrina en el LCR (20). (Ver: Hierro, ferritina y transferrina en el LCR).

Los anteriores desórdenes neurológicos afectan principalmente la sustancia gris del SNC. La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad que básicamente afecta a la sustancia blanca del encéfalo y la médula espinal. Los nervios ópticos son particularmente afectados y pueden llegar a la atrofia. En esta enfermedad se produce una degeneración de las vainas de mielina, con respeto relativo de los axones, la glía y otras estructuras. Se producen reacciones inflamatorias perivasculares, proliferación glial y fibrosis que conducen a lesiones crónicas llamadas placas escleróticas. Esto se expresa clínicamente en un pleomorfismo sintomático: trastornos visuales, mentales y motores (debilidad, movimientos y reflejos anormales). El hierro pudiera estar involucrado en la producción de las lesiones estructurales en la EM. Se ha observado un aumento anormal de la concentración de hierro en la sustancia blanca, macroscópicamente no afectada en la EM. Este efecto se acompaña de aumentos en las concentraciones del manganeso, zinc y calcio (135). Recientemente, Crealius y col. (35) reportaron depósitos de hierro no hémico, detectado por la técnica de Perl, alrededor de las placas desmielinizadas. Se observaron cuerpos ovoides azul de Prusia positivos, que contenían hierro en la sustancia blanca mielinizada alrededor de la placa. Además, los axones y las grandes células cercanas a éstos, posiblemente microglía, estaban cargados de hierro. También se vieron depósitos de este metal en las paredes de los vasos sanguíneos de la sustancia gris vecina a las placas. Ellos señalaron la posibilidad de que la sobrecarga tisular de hierro, o su metabolismo anormal, estarían relacionados con la EM. Como el hierro estaba generalmente fuera de las placas escleróticas, su relación con el proceso de desmielinización ocurriría en los bordes no inflamados de la lesión, donde se observa captación de mielina por la microglía, mediante un proceso de picnocitosis (150). Por otro lado, los cuerpos ovoides se originarían de la degeneración de axones y glías. Las lesiones observadas en la EM son bastante similares a las de la hemosiderosis superficial del SNC donde se cree que hay un sangramiento microscópico crónico, subclínico, con acúmulo de hierro (108). En la EM hay un aumento de la permeabilidad vascular (16) lo que condicionaría un sangramiento crónico en las zonas donde posteriormente se formarían las placas. Allí, el hierro se acumularía e induciría alteraciones bioquímicas, como la peroxidación lipídica, que conducirían al daño celular (Ver: Peroxidación lipídica cerebral y hierro). Es interesante señalar que Koeppen y col. (108) observaron un caso de Siderosis Superficial Cerebral, en donde las zonas sobrecargadas con pigmentos de hierro sufrían procesos de desmielinización, aunque la mayoría de las células permanecían intactas. Algunas células, como las del locus coeruleus, presentaban degeneración neurofibrilar. Además, se han reportado bajos niveles de transferrina en el LCR de pacientes con EM y

enfermedad de Shilder, que es otra enfermedad desmielinizante (149). Es llamativo el hecho de que la transferrina parece ser necesaria para los procesos de mielinización dependiente de los oligodendrocitos (31). Finalmente, la hemocromatosis es un desorden del metabolismo del hierro donde hay una absorción intestinal incontrolada del metal y depósitos de hierro y cuerpos ovoides en el cerebro parecidos a los de la EM. Esta enfermedad está asociada a los antígenos de histocompatibilidad HLA-A3 y HLA-B7 (100) que también están ligados a la EM (167).

En la Siderosis Superficial Cerebral se depositan grandes cantidades de pigmento de hierro en los tejidos subpiales y subependimales del cerebro, tallo cerebral y médula, especialmente en las regiones bañadas por el LCR. Esta enfermedad parece ser producida por una hemorragia crónica subaracnoidea que determina que los niveles de hierro en el cerebelo se eleven cerca de diez veces y los del putamen y las cortezas temporal y parietal, tres veces; siendo los incrementos en otras áreas mucho menores, a pesar de estar expuestas al LCR (108). Esta acumulación altera las funciones nerviosas, produciendo ataxia cerebelosa y sordera. El hierro se deposita bajo la forma de hemosiderina principalmente en el citoplasma de los macrófagos y astrocitos; mientras que, las neuronas y la oligodendroglía no acumulan el metal. En las células de Schwann de los nervios craneales y las raíces espinales, y en las paredes de los vasos sanguíneos, se deposita el hierro en forma difusa (108).

Finalmente, algunos autores han observado un incremento en las concentraciones de hierro en ciertos procesos proliferativos del SNC. Schicha y col. (166), analizando 25 meningiomas mediante activación neutrónica, encontraron un incremento en el contenido de hierro y de otros metales como Rb, Se, Zn, y descenso del Co. Mas tarde Müller y col. (132) reportaron también niveles de hierro elevados, en 30 de esos tumores, pero su rango de valores fué tan amplio que ellos atribuyeron estos incrementos a microhemorragias intratumorales, y a diferentes cantidades de sangre en dichas neoplasias. A pesar de que el hierro es necesario para la división celular (Ver: Hierro y desarrollo cerebral) no existen datos suficientes como para involucrar a este metal en los procesos neoplásicos del SNC.

Con la información disponible hasta ahora, no podemos concluir si los cambios observados en el hierro cerebral en todos estos trastornos neurológicos son responsables de su aparición, o son una simple consecuencia o tal vez producto de una coincidencia.

18.— Hierro y epilepsia

La epilepsia es un síndrome clínico crónico caracterizado por crisis repentinas transitorias y estereotipadas de fenómenos anormales de origen

motor (convulsiones), psíquicos, autonómicos o sensitivos, que se acompañan de alteraciones en el electroencefalograma. Las causas son múltiples. Una de las más frecuentes en humanos adultos, son los traumas severos en la cabeza que conducen a hematomas intracraneales, laceración cortical o hemorragia subaracnoidea, o a los infartos hemorrágicos corticales (99). En todos los casos se produce la extravasación de sangre y deposición de hemoglobina en el neuropilo, que consecuentemente se transforma en hierro depositado bajo la forma de hemosiderina (23). Muchas zonas donde se deposita este metal bajo la forma de hemosiderina, se convertirán más tarde en focos epilépticos.

El hierro, tanto en su forma férrica como ferrosa, podría ser el factor responsable de la formación de este foco de descarga en la epilepsia post-traumática. Esta hipótesis estaría apoyada en varios trabajos realizados en ratas, gatos y monos, inyectando sales de hierro en la corteza cerebral (112, 154, 198, 199). Willmore y col. (198) demostraron que tanto las inyecciones como la aplicación ionoforética de FeCl_3 ó FeCl_2 en la corteza sensoriomotora de ratas y gatos, producen un foco epiléptico, después de un corto período de latencia que varía según la especie animal usada: $7,8 \pm 4,0$ minutos después de una aplicación ionoforética de FeCl_3 en el 94% de las ratas. Se requieren repetidas aplicaciones y un mayor tiempo de latencia para el gato (122). Los focos, en el 94% de las ratas, descargan más allá de las 12 semanas. Parece que el estado de oxidación del metal es importante en el mecanismo de acción, ya que los iones Fe^{+3} producen su efecto epileptogénico penetrando y difundiéndose menos en la corteza y tienen un menor tiempo de latencia que los Fe^{+2} y otros cationes divalentes como el Co^{+2} (198). El tiempo de latencia, que es aproximadamente 5 veces mayor para los cationes divalentes de los metales pesados, podría sugerir que éstos necesitan penetrar la membrana neuronal para iniciar la descarga.

Desde el punto de vista anatomopatológico, se ha observado en los focos epilépticos de los animales de experimentación, numerosos macrófagos llenos de hemosiderina, y proliferación glial, hallazgos morfológicos similares a los encontrados en los pacientes con epilepsia post-traumática (199).

El foco epiléptico producido por los iones férricos depositados por vía ionoforética, ha sido estudiado por Reid y col. (154), correlacionando electrocorticogramas (ECoG) y registros de la actividad de neuronas individuales. El foco se caracteriza, desde el punto de vista electrofisiológico, por contener neuronas epilépticas que descargan con alta frecuencia. Estas están rodeadas por una zona mayor de 3 mm alrededor del foco, que contiene neuronas las cuales responden a las descargas paroxísticas del foco

central con una frecuencia de disparo decrecida. A este fenómeno se le ha llamado inhibición del entorno (surround inhibition). Además, dentro del foco se localizan neuronas con alta frecuencia de disparo, que descargan independientemente de las descargas paroxísticas epilépticas registradas por los electrodos de superficie del ECoG. Estas características son similares a las encontradas en los focos epilépticos humanos. Otras sustancias epileptogénicas experimentales tales como el cobalto, la penicilina, la estricnina, el gel de alúmina y lesiones por congelación, son incapaces de lograr focos de descarga de características electrofisiológicas iguales a las de los focos humanos. La actividad del foco epiléptico inducido en ratas, aparece durante el sueño de onda lenta y el sueño paroxístico. Esta actividad tiene una frecuencia de 8-12 Hz y una amplitud de 200 μ V en la corteza no inyectada; siendo menor la amplitud en la corteza inyectada (188).

Se desconocen los mecanismos por los cuales el hierro y sus compuestos hémicos podrían generar un foco epiléptico. Sin embargo, numerosos estudios bioquímicos y farmacológicos han proporcionado datos útiles para dilucidar el problema. El hierro aplicado sobre las neuronas, produce cambios metabólicos en ellas. Se ha reportado que los iones Fe^{+2} y Fe^{+3} incrementan la captación neuronal de la 2-deoxiglucosa (2-DG) cuando son aplicados directamente o por vía iontoforética sobre el área preóptica y varias regiones hipotalámicas. La captación de 2-DG está correlacionada positivamente con el grado de actividad neuronal local. Después de un largo período de aplicación de hierro se produce la muerte celular y proliferación glial, junto con una reducción de la captación de 2-DG (28). Se desconoce el mecanismo mediante el cual los iones de hierro incrementan la actividad metabólica. Sin embargo, el hierro podría modificar el potencial de reposo y la configuración de la membrana celular, lo que incrementaría la actividad de la bomba de cationes y la frecuencia de disparo. En ambos casos, aumenta la demanda de oxígeno y glucosa.

El sistema gabaérgico inhibitor 'no parece estar afectado en los focos epilépticos inducidos por hierro, ya que la transaminasa del GABA y la deshidrogenasa del semialdehído succínico no se alteran (146). Varios trabajos indican que el sistema de generación del AMP cíclico se encuentra alterado en el foco epiléptico inducido por hierro. Los niveles de los nucleótidos, AMP cíclico y GMP cíclico, se han encontrado incrementados en los focos epilépticos agudos, producidos por lesiones de congelación y por la penicilina, respectivamente (151, 190). También, se han reportado altos niveles de AMP cíclico y GMP cíclico en el cerebro de animales con convulsiones producidas por la administración de pentilenetrazol (58) o por electrochoque (117). El glutamato y la norepinefrina (neurotransmisores excitadores), son capaces de incrementar las concentraciones de AMP cíclico en cortes de cerebro de rata (168). La adenosina y otros neurotrans-

misores putativos también estimulan la producción de AMP cíclico. En ratas con focos epilépticos crónicos, de 1 a 2 meses de duración, e inducidos por la aplicación iontoforética de FeCl_3 sobre la corteza cerebral, se ha encontrado una respuesta diferente al glutamato, la norepinefrina y la adenosina en cada región cortical. Estas sustancias producen un incremento mayor del AMP cíclico en las áreas corticales que rodean al foco epiléptico, que en el resto de la corteza (81, 82, 83). En el caso del glutamato, se observó una reducción del AMP cíclico en las áreas corticales más alejadas del foco epiléptico (82). Este efecto dual del glutamato podría explicarse de varias maneras. Primero, una respuesta diferencial regional que pudiera deberse a diferentes niveles de glutamato, o a la presencia de 2 tipos de receptores para el glutamato: uno inhibitorio y otro excitador. Otra posibilidad es que ocurran cambios en la membrana neuronal de las diferentes regiones corticales, los cuales progresarían en el tiempo y de acuerdo a su relación espacial con el foco epiléptico. Es de destacar el hecho de que el hierro, bajo su forma Fe^{+2} , también podría modular el receptor al glutamato, ya que se ha reportado que otros cationes divalentes como el Ca^{+2} y el Mn^{+2} incrementan la unión del glutamato a su receptor, en ausencia de sodio. Los cationes monovalentes Na^+ , K^+ , Cs^+ y Rb^+ , y el EDTA inhiben esta unión (7). De esta manera, en el foco epiléptico donde se deposita el Fe^{+2} , la respuesta glutamatérgica estaría exacerbada. En la corteza epiléptica, la acumulación incrementada de AMP cíclico, producida por la adenosina y la norepinefrina, pudiera deberse a modificaciones en la membrana neuronal que incluyen cambios en los receptores a la adenosina y norepinefrina acoplados con la adenilciclasa.

El hecho de que estos cambios se den únicamente en focos epilépticos crónicos sugiere que las modificaciones descritas podrían explicar el mantenimiento de la actividad epiléptica en el tiempo, mas que el origen e iniciación de ésta. El hierro y sus compuestos hemoproteicos podrían iniciar un foco epiléptico, promoviendo la peroxidación de las proteínas y lípidos de la membrana neuronal. Willmore y col. (200) administraron alfa-tocoferol (100 mg/día S.C.) y selenio (2 ppm en el agua de beber) a ratas, durante 5 días. Luego inyectaron FeCl_2 en la corteza cerebral de animales pretratados y no pretratados. En el 94% de los animales no tratados se desarrolló una actividad epiléptica, registrada por electroencefalograma (EEG), dentro de las 2 primeras semanas después de la inyección del metal. Esto se acompañó de una lesión cavitaria que se extendió a través de todas las capas de la isocorteza, observándose muchos macrófagos llenos de hierro y fibroblastos cerca de la superficie pial. Además, hubo una prominente proliferación astrogliar en el sitio de inyección, no observándose células de inflamación aguda. Las partículas de hierro estaban esparcidas por todo el neuropilo vecino. Por otro lado, el 72% de los animales pretratados no desarrollaron alteraciones en el EEG. Además, sólo hubo cambios

morfológicos ligeros. No se observó cavitación, pero sí una mínima respuesta astrogliar y escasa pérdida neuronal. Las partículas de hierro estaban dispersas en el neuropilo al igual que en los animales controles no tratados. El pretratamiento con sólo alfa-tocoferol y/o con 1 ppm de selenio, no protegió al animal. El alfa-tocoferol previene la peroxidación de los grupos sulfhidrilos de las glucoproteínas y glucolípidos de las membranas celulares, aumentando aparentemente los efectos antioxidantes de los sistemas enzimáticos tales como la peroxidasa del glutatión (24). El selenio, un cofactor metálico de dicha peroxidasa, parece actuar sinérgicamente con el alfa-tocoferol en la prevención de la peroxidación de los componentes estructurales de las membranas (90, 172). De esta manera, la protección dada por estos 2 poderosos factores antioxidantes contra la aparición de la actividad antiepiléptica, y los severos cambios morfológicos corticales inducidos por el hierro, señalan que este metal podría iniciar su acción epileptogénica peroxidando las membranas neuronales.

19. Efecto de la deficiencia de hierro sobre el cerebro.

19.1 Concentración del Fe cerebral

Durante las deficiencias moderadas o severas de hierro en ratas, se produce una reducción de hasta un 60% del hierro no hémico cerebral, no observándose modificaciones porcentuales en su distribución subcelular (38, 103, 206). Esta reducción parece depender fundamentalmente del descenso de los niveles de ferritina porque este compuesto no hémico se reduce muy marcadamente; mientras que, los otros compuestos que contienen hierro no hémico como las enzimas ferroproteicas y los que contienen hierro hémico como los citocromos, no se reducen o lo hacen ligeramente (36). Es de resaltar el hecho de que numerosas enzimas ferroproteicas y los citocromos, si sufren descensos acentuados en otros tejidos periféricos (36, 207). La catalasa, que contiene hierro hémico, no se modifica (118).

Después de la administración de hierro por vía oral, o intramuscular, los niveles de hierro no hémico en el cerebro de rata continúan siendo un 20% menores que en los controles (36, 103, 207), a pesar de haberse corregido ciertas alteraciones metabólicas y funcionales en el cerebro, las cuales describiremos mas adelante. En otros órganos como el hígado, tanto los niveles de hierro como las alteraciones enzimáticas, se normalizan con la terapia con el metal. Los hechos anteriores sugerirían un recambio muy lento del hierro cerebral (42).

Estos mismos fenómenos parecen ocurrir en el cerebro humano. Hallgren y Sourander (76) señalaron varios casos clínicos, con anemia severa debida a grandes hemorragias, donde se detectaron valores algo disminu-

dos en el hierro no hémico del sistema extrapiramidal y de las áreas corticales.

19.2 Enzimas y Neurotransmisores

Youdim y col. (206, 207) no observaron modificaciones en los contenidos de DA y NE en el cerebro de ratas deficientes en hierro. Se detectó una reducción en el contenido de serotonina; mientras que, los niveles del aminoácido precursor, triptofano, la actividad de la hidroxilasa del triptofano, y la síntesis de la serotonina no se modificaron; tampoco se alteró la actividad de la deshidrogenasa de los aldehídos del cerebro, hígado y corazón (206, 207). Sin embargo, otros autores (118) han reportado una elevación de la concentración de la serotonina en el tejido cerebral deficiente de Fe, conjuntamente con un decrecimiento de la actividad de la deshidrogenasa de los aldehídos, enzima clave para la degradación de la serotonina (cataliza la oxidación final del 5 hidroxindolacetaldehído a ácido 5 hidroxindolacético), y un aumento de los productos hidroxindólicos. Estos cambios se normalizan una semana después de inyectar 5 mg de hierro dextrano por vía intraperitoneal.

Mackler y col. (119), han reportado niveles elevados de fenilalanina en el plasma de ratas deficientes de hierro, sin modificaciones en la actividad de la hidroxilasa de la fenilalanina del hígado, enzima necesaria para la conversión de la fenilalanina en tirosina. Estos altos niveles de fenilalanina sugieren una alteración en el metabolismo de los aminoácidos en los tejidos periféricos. Al pasar este aminoácido la barrera hematoencefálica incrementaría las vías metabólicas de la fenilalanina cerebral y causaría trastornos funcionales en el SNC.

La actividad de la monoamino oxidasa (MAO) cerebral no disminuyó en ratas moderadamente deficientes en hierro (Hb: $6,9 \pm 0,69$ g/dl), y sólo decreció un poco (un 15%), pero significativamente, en deficiencias severas (Hb: $4,5 \pm 0,6$ g/dl). Al mismo tiempo, la actividad de la MAO se redujo drásticamente, y proporcionalmente a la deficiencia de hierro, en los tejidos periféricos de ratas, tales como el corazón, el hígado y las glándulas adrenales. No se observó ninguna disminución en el bazo (206, 207). Esta alteración en la MAO periférica ha sido también reportada en las plaquetas humanas. Concomitantemente, se ha detectado un incremento de los niveles de NE en orina de 24 horas en 11 niños deficientes de hierro. Estos cambios son rápidamente corregidos después de 1 semana de tratamiento con hierro (189). En este estudio, no se detectaron modificaciones en los niveles urinarios de DA, epinefrina (E) y metanefrina-normetanefrina, antes y después de la terapia con el metal. La recuperación de la actividad normal de la MAO estuvo más cercanamente relacionada con los niveles de

hierro en suero, que con los niveles de hemoglobina (208). La MAO plaquetaria ha sido usada como indicador periférico de la actividad de la enzima en el cerebro. En pacientes esquizofrénicos y en cierto tipo de depresiones su actividad está disminuida en las plaquetas (130, 133). No se ha determinado si la MAD disminuye en el SNC humano durante la deficiencia de hierro.

La deshidrogenasa succínica (SDH), que es una flavoferroproteína, disminuye ligera, pero significativamente, en el cerebro de ratas severamente deficientes en hierro (Hb: $4,5 \pm 0,6$ g/dl), siendo esta reducción mucho más acentuada en los tejidos periféricos como el hígado y el corazón (207). Esto parece tener poco efecto en la producción de la energía cerebral ya que no se han encontrado modificaciones en la fosforilación oxidativa, ni en la producción de ATP (118).

La actividad de las enzimas cerebrales parece ser poco influida por la deficiencia del hierro cerebral, a pesar de que este metal forma parte de la estructura de muchas de estas enzimas o actúa como cofactor. Ocurre lo contrario a los tejidos periféricos, cuando disminuye su contenido de hierro. Algunas posibles explicaciones podrían ser: 1) que el metal está unido en una forma tal que una simple deficiencia nutricional no la alteraría; 2) que el hierro, a concentraciones subnormales, es todavía suficiente para actuar como cofactor; 3) que los compartimientos donde se localizan estas enzimas o sitios claves para el funcionamiento neuronal no pierden Fe, depletándose otros compartimientos no esenciales. De esta manera, se produciría una reducción global del hierro cerebral; pero ciertos compartimientos permanecerían inalterados.

Se ha reportado una disminución de la captación de la serotonina por las vesículas sinápticas de rata (103), la cual fué proporcional a la severidad de la deficiencia de hierro, y se acompañó de una reducción en los niveles del hierro no hémico en el hígado y el cerebro. La captación se normalizó con la administración de hierro por 4 semanas, corrigiéndose los niveles del metal en el hígado, pero permaneciendo aún bajo en el cerebro. Por lo tanto, quizás sólo se necesitan concentraciones subnormales de hierro para esta función de transporte. Este trastorno en la captación de serotonina también se observa en ratas descendientes de madres deficientes en hierro, encontrándose una concentración disminuida de este metal en las vesículas sinápticas de esas ratas. La captación de serotonina por estas vesículas se normaliza con la administración oral de hierro a las ratas, con lo cual se corrigen los niveles del metal en las vesículas (103).

19.3 Respuestas conductuales mediadas por DA y 5HT

Youdim y col. (206) midieron la actividad funcional de la serotonina y

la DA en el cerebro de ratas deficientes en hierro. La actividad del sistema serotoninérgico fué medida administrando tranilcipromina, un inhibidor de la MAO, la cual produce una hiperactividad del animal, al incrementarse los niveles de 5HT. En ratas deficientes en hierro se observó una respuesta menos enérgica que en las ratas controles. No hubo diferencias significativas en la actividad de la hidroxilasa del triptofano y en la capacidad de sintetizar serotonina, entre las ratas controles y deficientes. Al mismo tiempo, la concentración de la serotonina endógena permaneció disminuída en las ratas deficientes, respecto a los controles. Posiblemente, esto fue debido tanto a una disminución de la unión de la 5HT a su proteína fijadora sinaptosomal, como a un descenso de su captación por las vesículas sinápticas. La respuesta disminuída de las ratas deficientes, a la administración de 5 metoxi-N, N-dimetil triptamina (5-MeODMT), agonista putativo de la 5HT, podría sugerir modificaciones a nivel postsináptico. Este mismo autor, también encontró alteraciones en la función dopaminérgica. Las respuestas conductuales dopaminérgicas, estimuladas por drogas de acción central, fueron menos intensas en las ratas deficientes en hierro que en las controles (Ver: hierro y función dopaminérgica). Estos cambios conductuales y motores producidos por la DA y 5HT retornaron a lo normal después de una dieta de 8 días con hierro (206). El descenso de la respuesta dopaminérgica inducida por drogas al parecer es causado por la disminución de los receptores D₂ de la DA.

Estas alteraciones motoras de las ratas deficientes podrían deberse a la falta de oxigenación cerebral por la anemia, o a una disminución de la actividad muscular. Lo primero sería improbable porque la actividad hubiera decrecido con el progreso del experimento, lo cual no ocurrió. Dallman (40), reportó que la deficiencia de hierro no altera la respuesta del músculo aislado de rata a la estimulación eléctrica. Además, Edgerton y col. (54), no observaron correlación entre la actividad muscular y el contenido de mioglobina y de los citocromos, que se reducen durante la deficiencia de hierro. Sin embargo, en trabajos muy bien controlados, conducidos por Finch y col. (60), se encontró una disminución de la actividad muscular en ratas deficientes en Fe sin anemia, posiblemente debido a trastornos en la fosforilación oxidativa mediada por el alfa-glicerofosfato.

20. Hierro y conducta

Un gran número de síntomas han sido asociados con la anemia por deficiencia de hierro. Sin embargo, el número y severidad de éstos, no guarda relación con el grado de la anemia (126). Por otro lado, el déficit de hierro no se asocia obligatoriamente con anemia ferropénica, mientras que lo contrario siempre ocurre. En el hombre, muchos de los trastornos psicológicos de la anemia parecen estar más relacionados con la deficiencia de hierro

que con el déficit de oxigenación causado por la reducción de los niveles de hemoglobina circulante (114, 148). Estos trastornos psicológicos incluyen irritabilidad, apatía, falta de interés, fatiga, dificultad de concentración, pagofagia, pica, hiperactividad y bajo coeficiente intelectual. Aunque se han realizado varios estudios para precisar el papel de la deficiencia de hierro en la patogenia de estos síntomas, hasta ahora los resultados han sido contradictorios, y la mayoría de estos trabajos adolecen de fallas metodológicas que han impedido llegar a conclusiones definitivas (114, 143, 148).

Chodorcoff y col. (22) realizaron un estudio en niños con anemia falciforme, no pudiendo demostrar alguna correlación entre el coeficiente intelectual (CI) y el grado de anemia; por lo cual, ellos dedujeron que la anemia per se no sería directamente responsable de un bajo rendimiento escolar. Posteriormente Elwood y col. (57) estudiaron mujeres anémicas (Hb menor de 10,5 g/dl), mayores de 20 años. Un grupo de ellas recibió hierro diariamente y el otro un placebo durante 8 semanas. Se aplicó una serie de pruebas psicológicas para evaluar la función psicomotriz antes y después del tratamiento; al mismo tiempo, se practicó un análisis hematológico. No se observó ninguna diferencia entre los grupos antes y después del tratamiento, a pesar del incremento de los niveles de Hb.

A diferencia de los dos primeros trabajos descritos, estudios posteriores han mostrado alteraciones psicológicas en niños y adolescentes anémicos con deficiencia de hierro. Howell (94) estudió 83 niños anémicos negros (Hb menor de 10,5 g/dl), de 3 a 5 años de edad, provenientes de familias de bajos ingresos económicos. Ellos fueron divididos en dos grupos; un grupo recibió hierro parenteral y el otro un placebo (solución NaCl al 0,9%). Aunque no se observó diferencia en el CI, en las hembras anémicas se notó un menor período de atención y más manipulaciones sin objetivo que en los controles; mientras que, los varones anémicos eran más pasivos, y tenían una menor respuesta a las características no dominantes del ambiente, que los niños normales. Sin embargo, se ha objetado que este estudio no dió información acerca del análisis estadístico, las pruebas y los diseños utilizados (114, 148). Además, los niños negros parecen tener 1 gr/dl menos de Hb que los niños blancos, por lo cual muchos de estos niños no eran anémicos. Posteriormente, un trabajo realizado en 250 niños negros, entre 4 y 5 años de edad, normales y anémicos (Hb menor de 10,5 g/dl), evaluó la capacidad cognoscitiva, resistencia, memoria, atención, tiempo de reacción, aprendizaje y transferencia de entrenamiento (176). Se encontró una diferencia, estadísticamente significativa, entre los niños normales y los anémicos en el CI, la prueba de vocabulario y en el tiempo de reacción de la prueba de aprendizaje asociativo. La diferencia en la última pudiera deberse a falta de atención, pobre motivación y fatiga en los niños,

anémicos mas que a una menor capacidad de aprendizaje. Sin embargo, con excepción del aspecto hematológico, en este estudio no se tomaron en cuenta los factores nutricionales y socioeconómicos que pudieron haber modificado los resultados (114, 148). Los adolescentes negros anémicos (Hb: 10,1 - 11,4 g/dl), entre 12 y 14 años de edad obtuvieron menor puntuación en la prueba Iowa de habilidades básicas que los controles (Hb: 14,0 - 14,9 g/dl). Este ensayo evaluó la ejecución escolar de estos adolescentes mediante la exploración de su vocabulario, conocimiento adquirido de la lectura, uso de material de referencia, conceptos aritméticos y resolución de problemas. Además, las evaluaciones de los maestros indicaron que los varones anémicos tenían más problemas de conducta que sus controles, pero no se observó ninguna diferencia respecto a trastornos de la personalidad y grado de inmadurez. Se concluyó que la baja ejecución escolar de los adolescentes anémicos era debida a trastornos en la atención y en la percepción (192). Oski y col. (141) dividieron en 2 grupos, a 24 niños entre 9 y 26 meses de edad con una Hb menor de 10,5 g/dl. Un grupo recibió hierro dextrano por vía intramuscular y el otro, un placebo. La prueba de Bayley de desarrollo mental fue aplicada antes y ocho días después del tratamiento, observándose un incremento mayor, en la puntuación de los niños tratados (+ 13 puntos) que en los no tratados (+ 6 puntos). El mejoramiento en la ejecución de la prueba, debe estar más relacionado con un incremento en el hierro corporal que con la corrección de la anemia, ya que sólo transcurrieron 8 días entre el tratamiento y la segunda aplicación de la prueba; por lo cual, no hubo tiempo para una corrección de la anemia. Sin embargo, a este estudio se le ha objetado que el rango de edades era muy amplio, razón por la cual se probaron diferentes funciones en diferentes sujetos (114).

Además de los trastornos psicológicos, también se han visto trastornos neurológicos atribuibles a la anemia por deficiencia de hierro. Cantwell (18) tomó 2 grupos de niños entre 6 y 7 meses de edad, de situación socioeconómica similar. Entre los 6 y 18 meses de edad, el primer grupo había sido anémico (Hb: 6,1 - 9,5 g/dl) y nunca había recibido hierro; el segundo grupo había sido normal y había recibido inyecciones de hierro parenteral. Estos niños fueron examinados por neurólogos que desconocían su condición hematológica previa. El grupo de niños que fueron anémicos durante el período de lactancia tuvo una mayor incidencia de alteraciones neurológicas que los niños anormales. Estas alteraciones eran sutiles e incluían dificultad para balancearse en un solo pie y movimientos repetitivos de las manos y los pies. Además, los que fueron anémicos eran más hiperactivos y tenían menor atención que los controles. Se sugirió que la anemia en los dos primeros años de vida pudiera causar hipoxemia y daño cerebral leve, lo que conduciría posiblemente a una disfunción nerviosa mínima, pero permanente.

En todos los reportes que hasta ahora hemos mencionado, los individuos estudiados tenían deficiencia de hierro con anemia. Recientemente, se han realizado investigaciones con el fin de determinar si la deficiencia de hierro, sin anemia, era capaz de causar trastornos psicológicos similares en el hombre. Los resultados obtenidos han sido contradictorios. Deinard y col. (45) estudiaron un grupo de niños no anémicos (Hb mayor de 11 g/dl), entre 11 y 13 meses de edad, provenientes de familias de bajos ingresos. Los infantes fueron clasificados de acuerdo a la concentración de ferritina sérica, en normales (≥ 20 ng/ml), ligeramente deficientes (10-19 ng/ml) y severamente deficientes (≤ 9 ng/ml). A ellos se les aplicó una batería de pruebas psicológicas con el fin de determinar la atención y el desarrollo cognoscitivo. Se usaron tres parámetros; la medida de habituación de Lewis, la escala ordinal de desarrollo psicológico de Hunt y Uzgaris (I, II y V) y la escala de Bayley de desarrollo mental. No se encontró ninguna relación entre la depleción de hierro y el desarrollo cognoscitivo y la atención. Oski y col. (142), más recientemente, aplicaron el índice de Bayley de desarrollo mental a niños de 9 a 12 meses de edad, no anémico (Hb mayor de 11 g/dl), y clasificados en 3 grupos: normales (ferritina mayor de 12 ng/ml), depletados de hierro (ferritina menor de 12 ng/ml) y deficientes en hierro (ferritina menor de 12 ng/dl y porfirina eritrocitaria mayor de 30 ng/dl). Al igual que en el anterior estudio, no encontraron diferencias significativas entre los niños normales, depletados y deficientes en hierro. Sin embargo, cuando estos niños fueron tratados con 50 mg de hierro dextrano intramuscular y se les aplicó el ensayo siete días después, se observó un incremento en la puntuación en los niños deficientes en hierro (+ 21,6 puntos), significativamente mayor que el logrado por los niños normales (+ 6,2 puntos) y depletados de hierro (+ 5,6 puntos). En un trabajo previo, Lozoff y col. (116) aplicaron el mismo estudio psicológico a niños de 6 a 24 meses de edad, con una ligera anemia ferropénica. Los niños anémicos alcanzaron puntuaciones más bajas que los controles. Sin embargo, a diferencia de lo reportado por Oski y col. (141, 142) ellos no encontraron un mejoramiento de la puntuación, después de una semana de tratamiento con hierro por vía oral. Esta discrepancia pudiera ser atribuida al hecho de que el hierro por vía parenteral, actuaría más rápidamente en la restauración de los depósitos tisulares del metal y en la corrección de las alteraciones bioquímicas involucradas con los trastornos psicológicos, que el hierro por vía oral.

La deficiencia de hierro pudiera también ser responsable de la pica y la pagofagia. Ambas son perversiones del apetito caracterizadas por la ingestión compulsiva de sustancias no alimenticias y hielo, respectivamente (29, 125). Se han reportado bajos niveles de hierro plasmático, ferritina, hemoglobina, hematocrito y porcentaje de saturación de transferrina en pacientes retardados mentales con pica y con una ingesta normal de hierro y

otros minerales. En estos pacientes también se encontraron bajos niveles de Zn y altas concentraciones de Cu en el plasma. Como las sustancias no alimenticias ingeridas por estos individuos son capaces de provocar malabsorción intestinal del Zn y el Fe, no se pudo establecer la relación causal entre las bajas concentraciones plasmáticas de estos metales y la pica (37). Sin embargo, varios autores han observado la remisión de la pica y la pagofagia con el tratamiento parenteral con hierro y la corrección de los niveles de Hb (29, 125).

Todos estos trastornos psicológicos atribuidos a la disminución del hierro, pudieran ser producto de alteraciones en el metabolismo de las catecolaminas e hidroxindoles y de la transmisión sináptica (148, 204). Estas alteraciones se resumen en: aumento de la excreción urinaria de NE (189) y disminución de la actividad de la MAO plaquetaria (206) en humanos con deficiencia de hierro. En el cerebro de ratas anémicas, se han reportado: cambios en los niveles de serotonina (118, 206), disminución de la deshidrogenasa de los aldehidos y aumentos de los hidroxindoles (118), respuesta psicomotriz disminuída a la estimulación farmacológica de los sistemas dopaminérgicos y serotoninérgicos (206) y disminución del número de receptores dopaminérgicos D₂ (51). En ratas, se ha reportado un aumento de la fenilalanina plasmática (119), lo cual, al parecer, también ocurre en los humanos (Suárez y col, datos no publicados). (Ver: efecto de la deficiencia de hierro sobre el cerebro). Langer y col. (113) han observado un aumento de los niveles de protoporfirina en los glóbulos rojos de pacientes con deficiencia de hierro, y no necesariamente en los anémicos. Esto también ha sido observado en niños intoxicados con plomo y con desórdenes congénitos del metabolismo de las protoporfirinas, quienes tienen muchas alteraciones psicológicas, similares a las atribuidas a la deficiencia de hierro. Por ésto, algunos han pensado que un exceso de los precursores del hem pudiera ser responsable de los trastornos conductuales observados en la deficiencia de este elemento (113, 148).

Finalmente, la edad del individuo parece ser un factor crítico que condiciona la vulnerabilidad del SNC a la deficiencia de hierro. En la primera década de la vida, el cerebro está en pleno crecimiento y desarrollo, y con una creciente demanda de hierro; de hecho, la concentración de este metal se va incrementando durante este período (Ver: hierro y envejecimiento cerebral). De esta manera, el cerebro del niño sería más sensible a la deficiencia de este metal y más susceptible a las alteraciones conductuales descritas. Debido a las contradicciones entre los trabajos que hasta ahora han sido realizados, sería conveniente llevar a cabo investigaciones mejor controladas, donde se tomaran en cuenta los factores hematológicos, bioquímicos, nutricionales, psicológicos y socioeconómicos de los individuos estudiados.

Agradecimientos

Deseamos agradecer al Dr. Humberto Martínez por su colaboración en la obtención de muchas de las referencias bibliográficas en las bibliotecas de las Universidades de Cornell y Rockefeller; también, a Elizabeth Prieto, Obdulia Antoranz y Judith Castellano por su trabajo secretarial.

Este trabajo fué financiado por FUNDACITE-ZULIA.

ABSTRACT

Iron in the central nervous system. Metabolis and physiopathological considerations. Review. Suárez H. (*Inbiomed. Fundacite-Zulia. Apartado Postal 376 Maracaibo 4010. Venezuela*). Cimino F., Bonilla E. *Invest Clín* 26(4): 247-322, 1985.— In this review we analyzed the role of iron in the metabolic and physiological processes of the Central Nervous System (CNS), and its involvement, if any, in some neurologic and psychiatric disorders. Iron is found in the CNS under two forms: Haem and non-haem. Non-haem iron appears to play a dominant role from the metabolic and physiological point of view, as it is a co-factor or a constituent of some synthetic and degradative enzymes for catecholamines and serotonin. Iron seems to be involved in the storage of serotonin, noradrenaline, and perhaps, dopamine (DA). This metal is not evenly distributed in brain. The highest concentrations are localized in the globus pallidus and substantia nigra. GABA and DA distribution approxymately parallels that of the metal. Moreover, it has been observed that the inhibition of GABA degradation results in a lowering iron concentration. On the other hand, a decrease in the concentration of this metal causes a reduction in dopaminergic D₂ receptors in brain. Because of these findings, it has been suggested that iron must participate in the regulation of gabaergic and dopaminergic activities. Iron seems to interact with other trace metals such as zinc, copper, manganese, cobalt and selenium. The turnover of iron is very slow; therefore, a deficiency in early life is very hard to restore and tends to persist. Iron enters neuronal cell through a transferrin receptor mediated uptake. The distribution of the transferrin receptor is heterogeneous. Paradoxically, it does not coincide with that of iron. For that reason it is thought that transferrin (Tf) would have additional functions apart from being essential for iron transport in CNS. Iron is an important constituent of many of the enzymes involved in brain metabolism, though its deficiency does not seem to affect energy production by neuronal cells. Iron is essential for CNS growth and development. It is necessary for cells mitosis, and perhaps, for DNA synthesis. It would be involved in nervous cell proliferation and differentiation, myelinization process, and as a neurotrophic factor which would induce muscle proliferation and differentiation. Iron could be involved in certain hypothalamic functions, such as the secretion of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH), thermo-

regulation and in some behavioral changes. CNS activity could influence iron metabolism through sympathetic adrenomedullar and hypophysial-adrenocortical axes which use adrenaline and cortisol as mediators, respectively. Iron, ferritin, and transferrin levels are extremely low in cerebrospinal fluid (CSF) as compared to those in plasma. Any small alteration in blood brain barrier greatly increases their CSF levels. On the other hand, changes in CSF iron concentration have been reported in neurosyphilis, Parkinson's disease, Sydenham's chorea, cerebral tumours, post-traumatic epilepsy, schizophrenia, endogenous depression, neuronal ceroid lipofuscinoses (NCL). CSF ferritin increases in diseases characterized by inflammation, haemorrhage and/or necrosis such as herpetic encephalitis, tuberculous meningitis, strokes, subarachnoidal haemorrhage and tumours. In Alzheimer's disease, CSF ferritin is also elevated in the absence of the three forementioned physiopathological processes. It has been reported to increase in demyelinating diseases, such as multiple sclerosis and Schilder's disease. Also, it is elevated in Down's Syndrome. Fe^{2+} can stimulate the generation of free radicals in nervous tissue which are able to cause peroxidation of unsaturated fatty acids in membrane phospholipids of neurons and glia. This effect produces cellular death and could be involved in the pathogenesis of some neurological diseases, such as Hallervorden-Spatz Syndrome (HSS), NCL, post-ischemic and post-anoxic neuronal damage, brain edema and post-traumatic epilepsy. Lipid peroxidation could initially elicit increases in adenylate cyclase activity and DA uptake. Iron is accumulated in brain during life time and this increase is thought to produce an augmentation of cerebral lipid peroxidation, and consequently, brain aging. On the other hand, it has been observed that there is a pathological elevation of brain iron in several neurologic disorders, such as HSS, NCL, Parkinson's disease, Huntington's disease, Alzheimer's disease, multiple sclerosis, superficial siderosis of CNS, and meningiomas. It has not been possible to determine if this iron accumulation plays any etiopathogenic role. Iron deficiency is able to cause an alteration on brain dopaminergic and serotonergic functions which would be likely involved in the behavioral changes observed in children and teenagers with a deficiency of this metal. In conclusion, iron, ferritin and transferrin seem to be important factors in the development and function of CNS, as well as in many pathologic conditions. However, due to the contradictory results reported in several of those studies, the precise nature of the effects of iron can not be delineated.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AL-TIMIMI D., DORMANDY T.L.: The inhibition of lipid autoxidation by human ceruloplasmin. *Biochem J* 168: 283-288, 1977.

- 2- ANDERSON D.K., MEANS E.D.: Iron-initiated lipid peroxidation in murine spinal cord cultures. *Neurosci Abst* 15: 523, 1985.
- 3- ARANDA L.C., ASENJO A.: Tremor induced by iron overloading. *J Neurochem* 30: 35-37, 1969.
- 4- ARNOLD G., HOLTZMAN E.: Peroxisomes in rat sympathetic ganglia and adrenal medulla. *Brain Res* 83: 509-515, 1975.
- 5- ASHKENAZI R., BEN-SHACHAR D., YODIM M.B.H.: Nutritional iron and dopamine binding sites in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 17(1): 43-47, 1982.
- 6- BABA A., LEE E., OHTA A., TATSUNO T., IWATA H.: Activation of adenylate cyclase of rat brain by lipid peroxidation. *J Biol Chem* 256(8): 3679-3684, 1981.
- 7- BAUDRY M., LYNCH G.: Regulation of glutamate receptor by cations. *Nature* 282: 748-749, 1979.
- 8- BEARD J., FINCH C.A., MACKLER B.: Deleterious effects of iron deficiency. *Prog Clin Biol Res* 77: 307-10, 1981.
- 9- BEUTLER F., BRAISDELL R.K.: Iron enzymes in iron deficiency V. Succinic dehydrogenase in rat liver, kidney and heart. *Blood* 15: 30-35, 1960.
- 10- BLINKOV S.M., GLEZER J.J.: The human brain in figures and tables. New York. Plenum Press, 1968.
- 11- BONILLA E., DIEZ-EWALD M.: Effect of L-DOPA on brain concentration of dopamine and homovanillic acid in rats after chronic manganese chloride administration. *J Neurochem* 22: 297-299, 1974.
- 12- BOTTENSTEIN J.E., SKAPER S.D., VARON S.S., SATO G.: Selective survival of neurons from chick embryo sensory ganglionic dissociates utilizing serum-free supplemented medium. *Exp Cell Res* 125: 183-190, 1980.
- 13- BRANN K., FRIDOVICH I.: Superoxide radical and superoxido dismutase. Threat and defence. *Acta Physiol Scand* 492 (Suppl): 9-18, 1980.
- 14- BRIGHTMAN M.V.: The distribution within the brain of ferritin injected into cerebrospinal fluid compartments. II. Parenchymal distribution. *Am J Anat* 117: 193-220, 1965.

- 15- BRONSON R.T., SCHOENE W.C.: Spontaneous pallido-nigral accumulation of iron pigment and spheroid-like structures in Macaque monkeys. *J Neuropathol Exp Neurol* 39(2): 181-196, 1980.
- 16- BROWN W.J.: The capillaries in acute and subacute multiple sclerosis plaques: A morphometric analysis. *Neurology* 28: 84-92, 1978.
- 17- BRUINVELS J., MOLEMAN P.: Enhancement of tryptophan uptake by divalente cations in the absence of sodium ions. *J Neurochem* 34(5): 1065-1070, 1980.
- 18- CANTWELL R.J.: The long-term neurological sequelae of anemia in infancy (Abstract). *Pediatr Res* 8: 342, 1974.
- 19- CHAN P.H., SCHMIDLEY J.W., FISHMAN R.A., LONGAR S.M.: Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxigen-derived free radicals. *Neurology (Cleveland)* 34: 315-320, 1984.
- 20- CHAPEL H.M., ESIRI M.M., WILCOCK G.K.: Immunoglobulin and other proteins in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *J Clin Pathol* 37: 697-699, 1984.
- 21- CHEPELINSKY A.B., DE LORES ARNAIZ G.R.: Levels of cytochromes in rat brain during post-natal development. *Biochim Biophys Acta* 197: 321-326, 1970.
- 22- CHODORKOFF J., WHITTEN C.F.: Intellectual status of children with sickle cell anemia. *J Pediat* 63: 29-34, 1963.
- 23- CHOUDHURY S.R., JEW J., WILLIAMS T.H.: Effect of surgical trauma on the endogenous heme iron in the brain. *Acta Anat* 94: 545-557, 1976.
- 24- CHOW C.K., REDDY K., TAPPEL A.L.: Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *J Nutr* 103: 618-624, 1973.
- 25- CHVAPIL M., PENG Y.M., ARONSON A.L., ZUROSKI G.: Effect of zinc on lipid peroxidation and metal content in some tissues of rats. *J Nutr* 104: 434-443, 1974.
- 26- CITKOWITZ E., HOLTZMAN E.: Peroxisomes in dorsal root ganglia. *J Histochem Cytochem* 21: 34-41, 1973.
- 27- COLBURN R.W., MASS J.W.: Adenosine-triphosphate-metanorepinephrine ternary complexes and catecholamine binding. *Nature (Lond)* 208, 37-41, 1965.

- 28- COLOMBO J.A., SAPORTA S.: Increased local uptake of 2-deoxy-glucose after electrochemical or direct deposition of iron into the rat brain. *Exp Neurol* 70: 427-437, 1980.
- 29- COLTMAN C.A.: Pagophagia and iron lack. *J Am Med Assoc* 207: 513-516, 1969.
- 30- CONNOR J.R., FINE R.E.: Localization of a transferrin-like protein in the adul rat CNS. *Neurosci Abst* 14: 154, 1984.
- 31- CONNOR J.R., FINE R.E.: The development of transferrin-positive cells in the rat CNS. *Neurosci Abst* 15: 987, 1985.
- 32- COTTINGHAM I.R., RAGAN I.: Purification and properties of L-3-glycerophosphate dehydrogenase from pig brain mitochondria. *Biochem J* 192: 9-18, 1980.
- 33- COURVILLE C.B., NUSBAUN R.E., BUTT E.M.: Changes in trace metals in brain in Huntington's Chorea. *Archs Neurol* 8: 481-489, 1963.
- 34- CRAELIUS W., JACOBS R.M., JONES A.O.L.: Mineral composition of brains of normal and multiple sclerosis victims. *Proc Soc Exp Biol Med* 165: 327-329, 1980.
- 35- CRAELIUS W., MIGDAL M.W., LUESSEHOP C.P., SUGAR A., MIHALAKIS I.: Iron deposits surrounding multiple sclerosis plaques. *Arch Pathol Lab Med* 106: 397-399, 1982.
- 36- CUMINGS J.N.: Trace metals in the brain and Wilson's disease. *J Clin Path* 21: 1-7, 1968.
- 37- DANFORD D.E., SMITH J.C. Jr., HUBER A.M.: Pica and mineral status in the mentally retarded. *Am J Clin Nut* 35: 958-967, 1982.
- 38- DALLMAN P.R., SCHWARTZ H.C.: Distribution of cytochrome C and myoglobin in rats with dietary iron deficiency. *Pediatrics* 35: 677-685, 1965.
- 39- DALLMAN P.R., LOSKUTOFF D.: Cytochrome oxidase repair during treatment of copper deficiency: Relation of mitochondrial turnover. *J Clin Invest* 46: 1819-1827, 1967.
- 40- DALLMAN P.R., GOODMAN J.R.: Enlargement of mitochondrial compartment in iron and copper deficiency. *Blood* 35(4): 496-505, 1970.
- 41- DALLMAN P.R.: Tissue effects of iron deficiency. In: *Iron in Bio-*

chemistry and Medicine. Ed. by A. Jacobs and M. Worwood, Academic Press, New York. 437-475, 1974.

- 42- DALLMAN P.R., SIIMES M.A., MANIES E.C.: Brain iron: persistent deficiency following short-term iron deprivation in the young rat. *British J Haematol* 31: 209-215, 1975.
- 43- DALLMAN P.R., SPIRITO R.A.: Brain iron in the rat: extremely slow turnover in normal rat may explain long-lasting effects of early iron deficiency. *J Nutr* 107: 1075-1081, 1977.
- 44- DALLMAN P.R., BEUTLER E., FINCH C.A.: Effects of iron deficiency exclusive of anaemia. *British J Haematol* 40: 179-184, 1978.
- 45- DEINARD A., GILBERT A., DODDS M., EGELAND B.: Iron deficiency and behavioral deficits. *Pediatrics* 68(6): 828-833, 1981.
- 46- DENNY-BROWN D.: The basal ganglia. p 50. Oxford University Press, Oxford, England, 1962.
- 47- DILLMANN E., JOHNSON D.G., MARTIN J., MACKLER B., FINCH C.: Catecholamine elevation in iron deficiency. *Am J Physiol* 237: 297-300, 1979.
- 48- DILLMAN E., GALE C., GREEN W., JOHNSON D.G., MACKLER B., FINCH C.: Hypothermia in iron deficiency due to altered triiodothyronine metabolism. *Am J Physiol* 239: 377-381, 1980.
- 49- DODD P.R., BRADFORD H.F., ABDUL-GHANI A.S., COX D.W.G., CONTINHO-NETTO J.: Release of amino acids from chronic epileptic and sub-epileptic foci in vivo. *Brain Res* 193: 505-517, 1980.
- 50- DUCKETTS S., GALLE P., KRADIN R.: The relationship between Parkinson syndrome and vascular siderosis: An electron microprobe study. *Ann Neurol* 2: 225-229, 1977.
- 51- DYBALL R.E., WRIGHT R.J.: Inhibition of neurohypophysial hormone release from the isolated rat neural lobe by ferrous chloride in the incubation medium. *J Endocr* 75: 327-328, 1977.
- 52- DYER R.G.: Electrochemical deposition of iron onto rat oxytocinergic neurones does not result in milk-ejection. *J Endocr* 81: 65-73, 1979.
- 53- EARLE K.M.: Studies of Parkinson's disease including x-ray fluorescent spectroscopy of formalin-fixed brain tissue. *J Neuropath Exp Neurol* 27: 1-14, 1968.

- 54- EDGERTON V.R., BRYANT S.L., GILLESPIE C.A.: Iron deficiency anaemia and physical performance and activity of rats. *J Nutr* 102: 381-395, 1972.
- 55- EKPERIGIN H.E., VOHRA P.: Influence of dietary excess methionine on the relationship between dietary copper and the concentration of copper and iron in organs of broiler chicks. *J Nutr* 111: 1630-1640, 1981.
- 56- ELOVAARA I. Proteins in serum and cerebrospinal fluid in demented patients with Down's syndrome. *Acta Neurol Scand* 69: 302-305, 1984.
- 57- ELWOOD P.C., HUGHES P.: Clinical trial of iron therapy on psychomotor function in anaemic women. *Br Med J* III: 254-255, 1970.
- 58- FERRENDELLI J.A., KINSCHERF D.A.: Cyclic nucleotides in epileptic brain: effects of pentylenetetrazol on regional cyclic AMP and cyclic GMP levels in vivo. *Epilepsia* 18: 525-531, 1977.
- 59- FINCH C.A., MILLER L.R., INAMDAR A.R., PERSON R., SEILER K., MACKLER B.: Iron deficiency in the rat. Physiological and biochemical studies of muscle dysfunction. *J Clin Invest* 58: 447-453, 1976.
- 60- FINCH C.A., GOLLNICK P.D., HLASTACA M.P., MILLER L.R., DILLMANN E., MACKLER B.: Lactic acidosis as a result of iron deficiency. *J Clin Invest* 64: 129-137, 1979.
- 61- FINDLAY E., NG T.K., REID R.L., ARMSTRONG S.M.: Developmental changes in body iron status following prolonged iron depletion in the rat. *Physiol Behav* 27: 1097-1102, 1981.
- 62- FISHER D.B., KIRKWOOD R., KAUFMAN S.: Rat liver phenylalanine hydroxylase and iron enzyme. *J Biol Chem* 247: 5161-5167, 1972.
- 63- FISKUM G.: Involvement of mitochondria in ischemic cell injury and regulation of intracellular calcium. *Am J Emerg Med* 1: 147-153, 1983.
- 64- FONNUM F., GROFOVA I., RINVIK E., STORM-MATHISEN J., WALBERG F.: Origin and distribution of glutamate decarboxylase in substantia nigra of cat. *Brain Res* 71: 77-92, 1974.
- 65- FRANCOIS C., NGUYEN-LEGROS I., PERCHERON G.: Topographical and cytological localization of iron in rat and monkey brains. *Brain Res* 215: 317-322, 1981.

- 66- FRIDOVICH I: Superoxide Dismutases. *Adv Enzymol* 41: 35-97, 1974.
- 67- GALAN P., HERCBERG S., TOVITON YUAN: The activity of tissue enzymes in iron-deficient rat and man: An overview. *Comp Biochem Physiol* 77B (4) 647-653, 1984.
- 68- GELMAN B.B., MICHAELSON I.A.: Neonatal lead toxicity and in vitro lipid peroxidation of rat brain. *J Toxicol Env Health* 5: 671-682, 1979.
- 69- GIANTONIO G.W., LUND N.L., GERRALL A.A.: Effect of diencephalic and rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior. *J Comp Physiol Psychol* 73: 38-46, 1970.
- 70- GLOVER J., JACOBS A.: Activity pattern of iron deficient rats. *Br Med J* 2: 627-628, 1974.
- 71- GOLDBERG W.J., ALLEN N.: Determination of Cu, Mn, Fe and Ca in six regions of normal human brain, by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chem* 27(4): 562-564, 1981.
- 72- GOODMAN L.: Alzheimer's disease. A clinico-pathologic of twenty three cases with a theory on pathogenesis. *J Nerv Ment Dis* 117: 97-103, 1953.
- 73- GUTTERIDGE J.M.C., ROWLEY D.A., HALLIWELL B., WESTER-MARCK T.: Increased non-protein bound iron and decreased protection against superoxide-radical damage in cerebrospinal fluid from patients with neuronal ceroid lipofuscinoses. *The Lancet* 2: 459-460, 1982.
- 74- HADZOVIC S., NIKOLIN B., STERN P.: The effect of tremorine and lysergic acid diethylamine on the iron content of the rat brain. *J Neurochem* 12: 908-909, 1965.
- 75- HALARIS A.E., DEMET E.M.: Active uptake of [³H]5-HT by synaptic vesicles from rat brain. *J Neurochem* 31: 591-597, 1978.
- 76- HALLGREN B., SOURANDER P.: The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem* 3: 41-51, 1958.
- 77- HALLGREN B., SOURANDER P.: The non-haemin iron in the cerebral cortex in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 5: 307-310, 1960.
- 78- HALLGREN R., TERENT A., WIDE L., BERGSTROM K., BIRGERARD G.: Cerebrospinal fluid ferritin in patients with cerebral infarction or bleeding. *Acta Neurol Scand* 61: 384-892, 1980.

- 79- HAMON M., BOURGOIN S., MOROT GANDRY Y., HERY F., GLOWINSKI J.: Role of active transport by tryptophan in control of 5-hydroxytryptamine biosynthesis, in: *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, Vol 11. Costa E., Gessa GL and Sandler M. eds. Reven Press, New York, 1974.
- 80- HANN H.W.L., LEVY H.M., EVANS A.E.: Serum ferritin as a guide to therapy in neuroblastoma. *Cancer Res* 40: 1411-1413, 1980.
- 81- HATTORI Y., INABA K., MORIWAKI A., HORI Y.: Regional difference in cyclic AMP response to adenosine of rat cerebral cortex with an iron-induced epileptic focus. *Acta Med Okayama* 36(4): 313-316, 1982.
- 82- HATTORI Y., INABA K., MORIWAKI A., NISHIDA N., YASUHARA H., HORI Y.: Dual effects of glutamate on cyclic AMP levels in slices of rat cerebral cortex with an iron-induced epileptic focus. *Acta Med Okayama* 37(4): 291-299, 1983.
- 83- HATTORI Y., MORIWAKI A., YASUHARA H., NISHIDA N., HORI Y.: Elicitation of cyclus AMP accumulation by norepinephrine in the iron-induced epileptogenic cerebral cortex of rats. *Acta Med Okayama* 37(4): 377-380, 1983.
- 84- HENSEL H.: Neural processes in thermoregulation. *Physiol Reviews* 53: 948-1017, 1973.
- 85- HERSHKO C.H., KARSAI A., EYLON L., IZAK G.: The effect of chronic iron deficiency on some biochemical functions of the human hemopoietic tissue. *Blood* 36: 321-329, 1970.
- 86- HEYMANS C.: Survival and revival of nervous tissue after arrest of the circulation. *Physiol Rev* 30: 325-381, 1950.
- 87- HILL J.M.: Pallidal and Nigral Iron Concentration reduced by gamma-vinyl GABA. *Neurosci. Abstr* 14: 974, 1984.
- 88- HILL J.M., SWITZER R.C. III: The regional distribution and cellular localization of iron in the rat brain. *Neurosci* 11(3): 593-603, 1984.
- 89- HOCK A., DEMMEL V., SCHICHA H., KASPERER R., FEINENDEGEN L.E.: Trace element concentration in human brain: activation analysis of cobalt, iron, ribidium, selenium, zinc, chromium, silver, cesium, antimony and scandium. *Brain* 98: 49-64, 1975.
- 90- HOEKSTRA W.G.: Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed Proc* 34: 2083-2089, 1975.

- 91—HOFFBRAND A.V., GANESHAGURU K., HOOTON J.W.L., TATTERSALL M.H.N.: Effect of iron deficiency and desferrioxamine on DNA synthesis in human cells. *Br J Haemat.* 33: 517-526, 1976.
- 92—HOLTZMAN E., TEICHBERG E., ABRAHAMS S.J., CITKOWITZ E., CRAIN S.M., KAWAI N., PETERSON E.R.: Notes on synaptic vesicles and related structures endoplasmic reticulum, lysosomes and peroxisomes in nervous tissue and adrenal medulla. *J Histochem Cytochem* 21: 349-385, 1973.
- 93—HOSSMAN K.A.: Neuronal survival and revival during and after cerebral ischemia. *Am J Emerg Med* 1: 191-198, 1983.
- 94—HOWELL D.: Significance of iron deficiencies consequences of mild deficiency in children. In: *Extent and Meaning of Iron Deficiency in the U.S.A.* p 65, Summary Proceedings of Workshop of the Food and Nutrition Board. Washington D.C. National Academic of Sciences, 1971.
- 95—HRUBAN Z., VIGIL E.L., SLESER A., HOPKINS E.: Microbodies, constituent organelles of animal cells. *Lab Invest* 27: 184-191, 1972.
- 96—HUSSEIN S., HANTKE K., BRAUN V.: Citrate-Dependent iron transport system in *Escherichia Coli* K-12. *Eur J Biochem* 117: 431-437, 1981.
- 97—HURLEY J.V., ANDERSON R. McD, SEXTON P.T.: The folate of plasma protein which escapes from blood vessel of the choroid plexus of the rat-an electron microscope study. *J. Pathol* 134: 57-70, 1981.
- 98—HYNDMAN A.G., ZEEVALK G.D.: Transferrin binds to embryonic retinal neurons and alters glucose metabolism. *Neurosci Abst* 15: 1213, 1985.
- 99—JENNETT B.: Epilepsy and acute traumatic intracranial haematoma. *J Neurol Neurosurg Psych* 38: 378-381, 1975.
- 100—JERSILD C., SVEDGAARD A., FOG T.: HLA antigens and multiple sclerosis. *Lancet* 1: 1240-1241, 1976.
- 101—JONES T., SPENCER R., WALSH C.: Mechanism and kinetics of iron release from ferritin by dihydroflavins and analogues. *Biochem* 17: 4011-4017, 1978.
- 102—JUDISH J.M., NAIMAN J.L., OSKI F.A.: The fallacy of the fat iron-deficient child. *Paediatrics* 37: 987-990, 1966.

- 103—KALADHAR M., RAONARASINGA B.S.: Effects of iron deficiency on serotonin uptake in vitro by rat brain synaptic vesicles. *J Neurochem* 38(6): 1576-1581, 1982.
- 104—KALADHAR M., NARASINGA R.A.O. B.S.: Effect of maternal iron deficiency in rat on serotonin uptake in vitro by brain synaptic vesicles in the offspring. *J Neurochem* 40(6): 1768-1770, 1983.
- 105—KJELLIN K.G.: Determination of the iron content in the cerebrospinal fluid. *J Neurochem* 13: 413-421, 1966.
- 106—KLEIHVES P., KOBAYASHI K., HOSSMANN K.A.: Purine nucleotide metabolism in the cat brain after one hour complete ischemia. *J Neurochem* 23: 417-425, 1974.
- 107—KLINTWORTH L.K.: Huntington's chorea: morphologic contribution of a century. In: *Advances in Neurology*. p 353-368. Vol. 1 Raven Press, New York, 1973.
- 108—KOEPPEN A.H.W., BARRON K.D.: Superficial siderosis of the central nervous system. A histological, histochemical and chemical study. *J Neuropathol Exp Neurol* 30: 448-469, 1971.
- 109—KOLLER M.E., PRANTE P.A., ULVIK R., ROMSLO I.: Effect of hemin and isonicotinic acid hydrazide on the uptake of iron from transferrin by isolated rat liver mitochondria. *Biochem Biophys Res Com* 71(1): 339-346, 1976.
- 110—KRIEG A.F.: Líquido cefalorraquídeo y otros líquidos del organismo. En: *Diagnóstico clínico por el laboratorio*. p 1297-1320, I. Davidson, I.B. Henry. 6ta. ed. Salvat Editores SA, 1978.
- 111—KUHN D.M., RUSKIN B., LOVENBERG W.: Tryptophan hydroxylase. The role of oxygen, iron, and sulfhydryl groups as determinants of stability and catalytic activity. *J Biol Chem* 255(9): 4137-4143, 1980.
- 112—LANGE S.C., NEAFSEY E.J., WYLER A.K.: Neuronal activity in chronic ferric chloride epileptic foci in cats and monkey. *Epilepsia* 21: 251-254, 1980.
- 113—LANGER E.E., HAINING R.G., LABBE R.F.: Erythrocyte protoporphyrin. *Blood* 40: 112-116, 1972.
- 114—LEIBEL R., GREENFIELD D., POLLITT E.: Biochemical and behavioural aspects of sideropenia. *Br J Haem* 41: 145-150, 1979.
- 115—LEVIN J.M., TUILL D., UZAN G., DREYFUS J.C., KAHNA: Ex-

pression de the transferrin gene during development of non-hepatic tissues: High level of transferrin mRNA in fetal muscle and adult brain. *Biochem Biophys Res Com* 122(1): 212-217, 1984.

- 116- LOZOFF B., BRITTENHAM G., VITERI F.E.: The effects of short-term oral iron therapy on developmental deficits in iron-deficient anemic infants. *J Pediatr* 100: 351-356, 1982.
- 117- LUST W.D., GOLDBERG N.D., PASSONNEAU J.V.: Cyclic nucleotides in murine brain: the temporal relationship of changes induced in adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate following maximal electroshock on decapitation. *J Neurochem* 26: 5-10, 1976.
- 118- MACKLER B., PERSON R., MILLER L.R., INAMDAR A.R., FINCH C.A.: Iron deficiency in the rat: Biochemical studies of brain metabolism. *Pediatr Res* 12: 217-220, 1978.
- 119- MACKLER B., PERSON R., MILLER L.R., FINCH C.A. Iron deficiency in the rat: effects on phenylalanine metabolism. *Pediatr Res* 13: 1010-1011, 1979.
- 120- MALSURY C.W.: Facilitation of male copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area. *Physiol Behav* 7: 797-805, 1971.
- 121- MANDELL A. KNAPP S.: Regulation of serotonin biosynthesis in brain: Role of the high affinity uptake of tryptophan into serotonergic neurons. *Fed Proc* 36(8): 2142-2148, 1977.
- 122- MASSIE H.R., AIELLO V.R., BANZIGER V.: Iron accumulation and lipid peroxidation in aging C57BL/6J Mice. *Exp Gerontol* 18: 277-285, 1983.
- 123- MARTIN T.L., SWITZER R.C., JOSHI J., ZIMMERMAN A.: Ferritin localization in rat brain by immunocytochemistry. *Neurosci Abst* 15: 502, 1985.
- 124- McCALL M.G., NEWMAN G.E., O'BRIEN J.R.P., WITTS L.J.: Studies in iron metalism 2. The effects of experimental iron deficiency in the growing rat. *Br J Nutr* 16: 305-323, 1962.
- 125- McDONALD R., MARSHALL S.: The value of iron therapy in pica. *Pediatrics* 34: 558-562, 1964.
- 126- McFARLANE D.B., PINKERTON P.H., DAGG J.H., GOLDBERG A.: Incidence of iron deficiency with and without anaemia in women in general practice. *Br J Haem* 13: 790-796, 1967.

- 127- McILWAIN H., BACHELARD H.S.: Pyruvate metabolism and oxidative phosphorylation, In: Biochemistry and the central nervous system. p. 125-133. Vol. 6. Endinburg E. and S. Livingston Ltd. 1971.
- 128- McLAUGHLIN B.J., WOOD J.G., SAITO K., BARBER R., VAUGHN J.E., ROBERTS E., WU J.Y.: The fine structural localization of glutamate decarboxylase in synaptic terminals of rodent cerebellum. Brain Res 76: 377-391, 1974.
- 129- MEEK J., LOFSTRANDT S.: Tryptophan hydroxylase in discrete brain nuclei: comparison of activity in vitro and in vivo. Eur J Pharmacol 37: 377-380, 1976.
- 130- MELTZER H.Y., STAHL S.M.: Platelet monoamine oxidase activity and substrate preferences in schizophrenic patients. Res Commun Chem Path Pharmac 7: 419-431, 1974.
- 131- MOORE C.L., GRUBERG E.: The distribution of succinic semialdehyde dehydrogenase in the brain and retina of the tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*). Brain Res 67: 467-478, 1974.
- 132- MULLER W., IFFLAND R.: Studies on metals in meningiomas by atomic absorption spectrometry. Acta Neuropathol (Berl) 55: 53-58, 1981.
- 133- MURPHY D.L., WYATT R.J.: Reduced MAO activity in blood platelets from schizophrenic patients. Nature (Lond) 238: 225-226, 1972.
- 134- NEIMS A.H., ZIEVERINK W.D., SMILACK J.D.: Distribution of D-amino acid oxidase in bovine and human nervous tissues. J Neurochem 13: 163-168, 1966.
- 135- NOVIKOFF A.B., BIEMPICA L., BEARD M., DOMINITZ R.: Visualization by diaminobenzidine of norepinephrine cells, premelanosomes and melanosomes. J Micr 12: 297-300, 1971.
- 136- 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.
- 137- O'BRIEN P.J.: Intracellular mechanisms for the decomposition of a lipid peroxide. 1. Decomposition of a lipid peroxide by metal ions, heme compounds and nucleophiles. Can J Biochem 47: 485-492, 1969.

- 138—OCTAVE J.N., SCHNEIDER Y.J., TROVET A., CRICHTON R.R.: Iron uptake and utilization by mammalian cells. I: Cellular uptake of transferrin and iron. *TIBS*: 217-220, 1983.
- 139—OKADA Y., NITSCH-HASSLER C., KIM J.S., BAK I.J., HASSLER R.: Role of γ -aminobutyric acid (GABA) in the extrapyramidal motor system. 1. Regional distribution of GABA in rabbit, rat, guinea pig and baboon CNS. *Exp Brain Res* 13: 514-518, 1971.
- 140—ORLOWSKI M., KARKOWSKI A.: Glutathione metabolism and some possible functions of glutathione in the nervous system. *Int Rev Neurobiol* 19: 75-121, 1976.
- 141—OSKI F.A., HONIG A.M.: The effects of therapy on the developmental scores of iron deficient infants (Abst.) *Ped Res* II; 380, 1977.
- 142—OSKI F.A., HONIG A.S., HELU B., HOWANITZ P.: Effect of iron therapy on behavior performance in nonanemic, iron-deficient infants. *Pediatrics* 71(6): 877-880, 1983.
- 143—OSKI F.A.: Iron deficiency. Facts and fallacies. *Ped Clin North Am* 32(2): 493-497, 1985.
- 144—PARKER W.C., BEARN A.G.: Studies on the transferrins of adult serum, cord serum and the effect of neuraminidase. *J Exp Med* 115: 83-105, 1962.
- 145—PASTUSZKO A., GORDON-MAJSZAK W., DABROWIECKI Z.: Dopamine uptake in striatal synaptosomes exposed to peroxidation "in vitro". *Biochem Pharmacol* 32(1): 141-146, 1983.
- 146—PATHAK D.N., ROY D., SINGH R.: Changes in the activity of Gamma-amino butyric acid transaminase and succinic semialdehyde dehydrogenase in the cobalt and iron experimental epileptogenic foci in the rat brain. *Biochem Int* 9(1): 59-68, 1984.
- 147—PENNEY J.B., YOUNG A.B.: GABA as pallidothalamic neurotransmitter: implications for basal ganglia function. *Brain Res* 207: 195-199, 1981.
- 148—POLLITT E., LEIBEL R.L.: Iron deficiency and behavior. *J Pediatrics* 88(3): 372-381, 1976.
- 149—PRICE P., CUZNER M.L.: Proteinase inhibitors in cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 42: 251-259, 1979.
- 150—PRINEAS J.F., CONNELL F.: The fine structure of chronically active multiple sclerosis plaque. *Neurology* 28: 68-75, 1978.

- 151- RAABE W., NICOL S., GUMNIT R.J., GOLDBERG N.D.: Focal penicillin epilepsy increases cyclic GMP in cerebral cortex. *Brain Res* 144: 185-188, 1978.
- 152- RAJAN K.S., DAVIS J.M., COLBURN R.W.: Metal chelates in the storage and transport of neurotransmitters: interactions of metal ions with biogenic amines. *J Neurochem* 18: 345-364, 1971.
- 153- REHNCRONA S., SMITH D., AKESSON B., WESTERBERG, SIESJO B.K.. Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as characterized during Fe^{2+} and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation in vitro. *J Neurochem* 34(6): 1630-1638, 1980.
- 154- REID S.A., SYPERT G.W.: Acute $FeCl_3$ - Induced epileptogenic foci in cats: electrophysiological analyses. *Brain Res* 188: 531-541, 1980.
- 155- RIBAK C.E., VAUGHN J.E.: Immunocytochemical localization of GAD in somata and dendrites of GABAergic neurons following colchicine treatment. *Neurosci Abstr* 6: 1144, 1976.
- 156- RIGLER R.L.: Studies on the mitochondrial α -glycerophosphate dehydrogenase II. Excretion and partial purification of dehydrogenase from pig brain. *J Biol Chem* 236: 1192-1198, 1961.
- 157- RIOS E., LIPSCHITZ D.A., COOK J.D., SMITH N.J.: Relationship of maternal and infant iron store as assessed by determination of plasma ferritin. *Pediatrics* 55: 694-697, 1975.
- 158- RITCHIE J.M.: The oxygen consumption of mammalian non-myelinated nerve fibers at rest and during activity. *J Physiol (London)* 188: 309-329, 1967.
- 159- ROBBINS E., PEDERSON T.: Iron: Its intracellular localization and possible role in cell division. *Proc Nat Acad Sci* 66(4): 1244-1251, 1970.
- 160- ROJAS G., ASENJO A., CHIORINO R., ARANDA L., ROCAMORA R., DONOSE P.: Cellular and subcellular structure of the ventrolateral nucleus of the thalamus in Parkinson's disease. Deposit of iron. *Confinin Neurol* 26: 362-376, 1965.
- 161- RUCKMAN J.S., SHERMAN A.R.: Effects of exercise on iron and copper metabolism, in rats. *J Nutr* 111: 1593-1601, 1981.
- 162- RUFF M.R., HILL J.M., DANKS J.A., PERT C.B.: Autoradiographic visualization of transferrin receptors in rat brain. *Neurosci Abstr* 14: 556, 1984.

- 163- SCARPELLI E.M.: Maternal nutritional deficiency and intelligence of the offspring (Thiamine and iron). *J Comp Physiol Psychol* 52: 536-540, 1959.
- 164- SCHAFER K.H.: Neuro-endocrine control of iron metabolism. In: *Iron metabolism*. p. 280-288. Ed. by F. Gross. Springer-Verlag, Berlin, 1964.
- 165- SCHEUHAMMER A.M., CHERIAN M.G.: The influence of manganese on the distribution of essential trace elements. I. Regional distribution of Mn, Na, K, Mg, Zn, Fe and Cu in rat brain after chronic Mn exposure. *Toxicol Applied Pharmacol* 61: 227-233, 1981.
- 166- SCHICHA H., MULLER W., KASPEREK K., SCHRODER R.: Neutronenaktivierungsanalytische bestimmung der spurenelemente kobalt, eisen, rubidium, selen, zink, chrom, silber, caesium, antimon und scandium in operativ entnommenen hirntumoren des menschen. *Beitr Pathol* 151: 281-296, 1974.
- 167- SHEWAN W.G., MONAT S.A., ALLAN T.M.: HLA antigens in haemachromatosis. *Br Med J* 1: 281-282, 1972.
- 168- SHIMIZU H., ICHISHITA H., ODAGIRI H.: Stimulated formation of cyclic adenosine 3': 5'-monophosphate by aspartate and glutamate in cerebral cortical slices of guinea pig. *J Biol Chem* 249: 5955-5962, 1974.
- 169- SHUKLA G.S., CHANDRA S.V.: Manganese toxicity: Lipid Peroxidation in rat brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 48: 95-100, 1981.
- 170- SIIMES M.A., DALLMAN P.R.: Iron deficiency: impaired liver growth and DNA synthesis in the rat. *Br J Haemat* 28: 453-462, 1974.
- 171- SINDIC C.J.M., COLLET CASSART D., CAMBIASO C.L., MASSON P.L., LATERRE E.C.: The clinical relevance of ferritin concentration in the cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psych* 44: 329-333, 1981.
- 172- SMITH G.J., DUNKLEY W.L.: Initiation of lipid peroxidation by a reduced metal ion. *Arch Biochem Biophys* 98: 46-48, 1962.
- 173- SMITH P.J., TAPPEL A.L., CHOW C.K.: Glutathione peroxidase activity as a function of dietary selenomethionine. *Nature* 247: 392-393, 1974.
- 174- SOKOLOFF L.: Relation between physiological function and energy metabolism in the central nervous system. *J Neurochem* 29: 13-26, 1977.

- 175- SOURKES T.L.: Psychopharmacology In: Basic Neurochemistry. p. 581-606. Albers R.W., Siegel G.J., Katzman R., and Agranoff, B.N., Eds. 1972.
- 176- SULZER J.L., WESLEY H.H., LEONIG F.: Nutrition and behavior in head start children. Results from the Tulane study. In: Nutrition, Development and Social Behavior. p. 73-242, US. Dept. of Health, Education, and Welfare Publication. N° (NIH) Kallen D.J (ed.), 1973.
- 177- SWAIMAN K.F., SMITH S.A., TROCK G.L., SIDDIQUI A.R.: Sea-blue histiocytes, lymphocytic cytosomes, movement disorder and ⁵⁹Fe-uptake in basal ganglia: Hallervorden-Spatz disease or ceroid storage disease with abnormal isotope scan?. Neurology 33: 301-305, 1983.
- 178- SWAIMAN K.F., MACHEN V.L.: Iron uptake by Mammalian cortical neurons. Ann Neurol 16: 66-70, 1984.
- 179- SWITZER R.C., HILL J., HEIMER L.: The globus pallidus and its rostroventral extension into the olfactory tubercle of the rat: A cyto-and chemoarchitectural study. Neurosci 7(8): 1891-1904, 1982.
- 180- SZANTO J., GALLYAS F.: A study of iron metabolism in neuropsychiatric patients. Arch Neurol 14: 438-442, 1966.
- 181- TAMIR H., KLEIN A., RAPPORT M.M.: Serotonin binding protein: enhancement of binding by Fe²⁺ and inhibition of binding by drugs. J Neurochem 26: 871-878, 1976.
- 182- TAMIR H., BRUNVER W., CASPER D., RAPPORT M.M.: Enhancement by gangliosides of the binding of serotonin to serotonin binding protein. J Neurochem 34(6): 1719-1724, 1980.
- 183- TAPPEL A.L.: Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc 32: 1870-1874, 1973.
- 184- THIELE E.H., HUFF J.W.: Quantitative measurements of lipid peroxide formation by normal liver mitochondria under various conditions. Arch Biochem Biophys 88: 203-207, 1963.
- 185- TORAN-ALLERAND C.D.: Coexistence of α -fetoprotein, albumin and transferrin immunoreactivity in neurones of the developing mouse brain. Nature 286: 733-735, 1980.
- 186- VAN DER SCHOOT P., LINCOLN D.W., CLARK J.S.: Activation of hypothalamic neural activity by the electrolytic deposition of iron into the preoptic area. J Endocr 79: 107-120, 1978.

- 187- VAN NEUTEN J.M., VANHOUTTE P.M.: Improvement of tissue perfusion with inhibitors of Ca^{2+} influx. *Biochem Pharmacol* 29: 479-481, 1980.
- 188- VEZU E., HORI Y.: Spindle-like activity appearing during paradoxical sleep in rats with iron-induced cortical focus. *Acta Med Okayama* 36(3): 237-240, 1982.
- 189- VOORHESS M.L., STUART M.J., STOCKMAN J.A., OSKI F.A.: Iron deficiency anemia and increased urinary norepinephrine excretion. *J Pediat* 86: 542-547, 1975.
- 190- WALKER J.E., LEWIN E., SHEPPARD J.R., CROMWELL R.: Enzymatic regulation of adenosine 3',5'-monophosphate (cyclic AMP) in the freezing epileptogenic lesion of rat brain and in homologous contralateral cortex. *J Neurochem* 21: 79-85, 1973.
- 191- WALLWORK J.C., MILNE D.B., SIMS R.L., SANDSTEAD H.H.: Severe zinc deficiency: Effects on the distribution of nine elements (potassium, phosphorus, sodium, magnesium, calcium, iron, zinc, copper and manganese) in regions of the rat brain. *J Nutr* 113: 1895-1905, 1983.
- 192- WEBB T.E., OSKI F.A.: Behavioral studies of young adolescent with iron deficiency anemia. *J Spec Educat* 8: 153-156, 1974.
- 193- WEINER W.J., NAUSIEDA P.A., KLAWANS H.L.: Effect of chlorpromazine on central nervous system concentrations of manganese, iron and copper. *Life Sci* 20: 1181-1186, 1977.
- 194- WEISENBERG E., HALBREICH A., MAGER J.: Biochemical lesions in copper-deficient rats caused by secondary iron-deficiency. *Biochem J* 188: 633-641, 1980.
- 195- WEVER R., OUDEGA B., VAN GELDER B.F.: Generation of superoxide radicals during the autoxidation of mammalian oxyhemoglobin. *Biochim Biophys Acta* 302: 475-478, 1973.
- 196- WHISHAW I.Q., ROBINSON T.E.: Comparison of anodal and cathodal lesions and metal deposition in eliciting postoperative locomotion in the rat. *Physiol Behav* 13: 539-551, 1974.
- 197- WHITE B.C., AUST D., ARFORS K.E., ARONSON L.D.: Brain injury by ischemic anoxia: Hypothesis extension- A tale of two ions? *Ann Emerg Med* 13(2): 862-867, 1984.
- 198- WILLMORE L.J., HURD R.W., SYPERT G.W.: Epileptiform activity initiated by pial iontophoresis of ferrous and ferric chloride on rat cerebral cortex. *Brain Res* 152: 406-410, 1978.

- 199- WILLMORE L.J., SYPERT G.W., MUNSON J.B., HURD R.W.: Chronic focal epileptiform discharges induced by injection of iron into rat and cat cortex. *Science* 200: 1501-1503, 1978.
- 200- WILLMORE L.J., RUBIN J.J.: Antiperoxidant pretreatment and iron-induced epileptiform discharges in the rat: EEG and histopathologic studies. *Neurology (NY)* 31: 63-69, 1981.
- 201- WONG-RILEY M.T.T.: Endogenous peroxidatic activity in brain stem neurons as demonstrated by their staining with diaminobenzidine in normal squirrel monkeys. *Brain Res* 108: 257-277, 1976.
- 202- WURTMAN R.J., FERNSTROM J.D.: Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. *Am J Clin Nutr* 28: 638-647, 1975.
- 203- YAROWSKY P., JEHLER J., INGVAR D.H., SOKOLOFF L.: Relationship between functional activity and glucose utilization in the rat superior cervical ganglion in vivo. *Neurosci Abstr* 5: 421, 1979.
- 204- YOUDIM M.B.H., ASHKENAZI R., BEN-SHACHAR D., YEHUDA S.: Modulation of dopamine receptor in the striatum by iron: Behavioral and biochemical correlates. In: *Advances in Neurology*, p. 159-170, vol. 40, Ed. by R.G. Hassler and J.F. Christ. Raven Press, 1984.
- 205- YOUDIM M.B.H., BEN-SHACHAR D., ASHKENAZI R., YEHUDA S.: Brain iron and dopamine receptor function. *Adv Biochem Psychopharmacol* 37: 309-321, 1983.
- 206- YOUDIM M.B.H., GREEN A.R.: Iron deficiency and neurotransmitter synthesis and function. *Proc Nutr Soc* 37: 173-179, 1978.
- 207- YOUDIM M.B.H., GREEN A.R., BLOOMFIELD M.R., MITCHELL B.D., HEAL D.J., GRAHAME-SMITH D.G.: The effects of iron deficiency on brain biogenic monoamine biochemistry and function in rats. *Neuropharmacol* 19: 259-267, 1980.
- 208- YOUDIM M.B.H., WOODS H.F., MITCHELL B., GRAHAME-SMITH D.G., CALLENDER S.: Human platelet monoamine oxidase activity in iron deficiency anaemia. *Clin Sci Mol Med* 48: 289-295, 1975.
- 209- ZALESKA M.M., FLOYD R.A.: Regional lipid peroxidation in rat brain in vitro: Possible role of endogenous iron. *Neurochem Res* 10(3): 397-410, 1985.
-