

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



**PARTICIPACION DE LA TAURINA EN LA
FOTOEXCITACION: LOCALIZACION DE SU
ACCION FISIOLOGICA**

TESIS PROFESIONAL

OCTAVIO QUESADA GARCIA

MEXICO, D. F.

1962



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

INTRODUCCION.....	1
METODOS.....	14
RESULTADOS.....	18
DISCUSION.....	28
REFERENCIAS.....	38

INTRODUCCION

El aminoácido sulfonado taurina, ácido 2-amino etansulfónico, fué descrito por primera vez por Tiedemann y Gmelin en la bilis del toro (1). Originalmente se pensó que era un producto de excreción, producido en el hígado por la descomposición de un ácido sulfurado y se le comparó fisiológicamente con la urea (2).

Actualmente, la taurina se ha descrito en prácticamente todos los phyla de la escala zoológica, incluyendo a los protozoarios y a los grupos más elementales de metazoarios como Poríferos, Braquiópodos y Sipuncúlidos (3). Se ha reportado su presencia en Anélidos, Artópodos, Equinodermos y Moluscos, siendo este último grupo el que probablemente posea los niveles más altos de este aminoácido (3).

Entre los Cordados, la taurina ha sido identificada en diversos tejidos de Urocordados, y entre los Vertebrados se encuentra presente en gran número de órganos a pesar de no formar parte de la estructura de proteínas (3). Se halla particularmente concentrada en hígado, bazo y riñón así como en tejidos contráctiles y tejido nervioso, en los cuales alcanza valores de 10 a 40 mM, encontrándose variaciones dependiendo de la especie, edad y etapa de desarrollo (3).

A pesar de no conocerse con exactitud los mecanismos de biosíntesis de la taurina, se han descrito varias vías a través de las cuales es posible obtenerla. Algunas especies tales como el gato y el hombre tienen una capacidad muy limitada de síntesis de este aminoácido, por lo que obtienen sus requerimientos a través de la ingesta de alimentos ricos en taurina tales como la carne, mientras que otras presentan varias rutas metabólicas para su biosíntesis.

El precursor de la taurina es la cisteína, la cual por oxidación produce el ácido cisteinsulfónico que es metabolizado a hipotaurina

por la acción de la descarboxilasa del ácido cisteinsulfínico o bien a ácido cisteico por una oxidación. La hipotaurina o el ácido cisteico pueden convertirse en taurina ya sea por una deshidrogenación o por una descarboxilación respectivamente. Estas dos rutas metabólicas generalmente se consideran juntas ya que solo difieren entre sí en que la descarboxilación del precursor ácido ocurre antes o después de su oxidación (4). Las enzimas involucradas en estas vías han sido identificadas en diversos tejidos de Vertebrados. Así, la descarboxilasa del ácido cisteinsulfínico está presente en el hígado, riñón y cerebro de varias especies, mientras que la hipotaurina deshidrogenasa se ha reportado para hígado, riñón y músculo de rata (5,6).

La degradación metabólica de la taurina en los tejidos animales es sumamente lenta y los mecanismos catabólicos prácticamente desconocidos. Sin embargo se conocen varios compuestos metabólicos derivados de este aminoácido. Entre éstos, la formación de ácido taurocólico en conjugación con ácidos biliares es una reacción ampliamente distribuida entre los Vertebrados y es dependiente de los niveles de taurina sintetizada endógenamente o ingerida en la dieta. Se ha descrito también su conversión a ácido isetiónico; sin embargo dicha reacción es demasiado lenta para considerarla como la vía de degradación metabólica de la taurina. Todo esto podría interpretarse como un indicativo de una utilización lenta de la taurina, sin embargo los estudios de Spaeth y Schneider en la rata (7) mostraron que dicho compuesto presenta un recambio rápido en órganos como el hígado, riñón, páncreas y glándula adrenal; moderado, en pulmón, bazo, intestino y médula ósea, y finalmente es lento en corazón, cerebro y músculo.

A pesar de la amplia distribución de la taurina en la escala zoo-

lógica, así como su frecuencia en una gran variedad de tejidos, aún no se le ha determinado una función específica, sin embargo se cuenta con evidencia de su participación en una diversidad de procesos biológicos.

En invertebrados marinos por ejemplo, en particular en especies eurihalinas las cuales poseen una amplia tolerancia a cambios de salinidad, se ha observado que las modificaciones en la osmolaridad del medio consisten en la regulación de las concentraciones intracelulares de los aminoácidos libres, entre los que se incluye la taurina (8).

En el corazón, en donde la taurina constituye el 50% del contenido total de aminoácidos libres (4,9), se ha demostrado que regulariza el ritmo cardíaco en casos de arritmias producidas por adrenalina o digitálicos (10,11) y presenta per se una acción inotrópica positiva (12).

Por otra parte, los niveles de taurina aumentan significativamente en el corazón de sujetos con insuficiencia cardíaca congestiva (13), así como en el músculo distrófico (14). Todo esto, aunado a las altas concentraciones basales determinadas tanto esquelético como cardíaco, han llevado a pensar que la taurina podría estar jugando un papel en los procesos contráctiles; sin embargo los niveles a los cuales se ha sugerido que este aminoácido estaría actuando, al igual que su función en estos tejidos, carecen de suficientes fundamentos y son causa de estudio en la actualidad.

En el tejido nervioso, la taurina esta presente en todas las especies hasta ahora estudiadas, mostrando en los grupos superiores una distribución heterogénea en las diferentes regiones del Sistema Nervioso Central. Alcanza sus valores de concentración más elevados en los cuerpos geniculados laterales, glándula pineal, pituitaria, hipotálamo, cuerpo estriado, cerebelo y retina, en donde se han determinado acumu-

laciones del orden de 3 a 10 μ molas/gr de tejido (15).

La aplicación iontoforética de taurina provoca un efecto depresor de la actividad eléctrica sobre la mayoría de las neuronas de diferentes áreas del Sistema Nervioso (16); dicho efecto se manifiesta como un incremento en la diferencia de potencial de la membrana, el cual es debido probablemente a un aumento en la conductancia a iones cloro y potasio (17).

Estos resultados junto con otras características que presenta la taurina, como su alta concentración en terminales nerviosas, su liberación en respuesta a estímulos depolarizantes así como la existencia de un sistema de transporte de alta afinidad en terminales sinápticas en algunas especies (18,19), condujeron a pensar que podría participar en la fisiología del Sistema Nervioso como un neurotransmisor (20).

Sin embargo, el efecto hiperpolarizante que muestra sobre las células del tallo cerebral (21) y la médula espinal (22), es revertido eficazmente por la estriquina, conocido agente antagonico de la acción fisiológica de la glicina, mientras que en preparaciones de corteza cerebral y tálamo, su actividad depresora es antagonizada por la presencia de bicuculina (23), la cual se sabe que bloquea específicamente los efectos del ácido α -amino butírico (GABA). Tanto la glicina como el GABA son aminoácidos generalmente considerados como neurotransmisores en diferentes regiones del Sistema Nervioso Central.

Estos datos sugieren que el efecto depresor de la taurina podría llevarse a cabo a través de una interacción con los receptores a GABA y glicina, debida a la semejanza estructural que guarda con estos aminoácidos. Además, hasta la fecha no se ha identificado un receptor específico para la taurina ni se ha reportado la existencia de un agente

antagónico específico de su actividad,

Por otra parte, aún cuando la liberación de taurina en respuesta a una gran variedad de estímulos depolarizantes ha sido demostrada (24,25, 26), ésta no es claramente dependiente de calcio, en contraposición a lo observado con la mayoría de los neurotransmisores conocidos (27). Además, la ausencia de una correlación entre las zonas de máxima concentración de taurina y los sitios donde la sensibilidad a su acción es mayor, así como su presencia en ocasiones muy elevada, en una multiplicidad de tejidos no nerviosos, han conducido al abandono de la idea de que este aminoácido participe en la fisiología nerviosa como un mediador sináptico.

De manera alternativa, se ha propuesto que la taurina podría tener una función más general, participando en un proceso básico de la fisiología celular. Entre las posibilidades que se han considerado, con base en observaciones experimentales, está la de una acción a nivel de los flujos de calcio, englobando así a otros tejidos excitables donde la taurina se encuentra altamente concentrada como el tejido contráctil y el secretor, en los cuales se requiere de una regulación muy precisa de los niveles intracelulares de calcio libre para su funcionamiento.

Esta proposición se fundamenta en datos que describen incrementos de calcio asociado a mitocondrias de corazón (12) e hígado (28) inducidos por taurina, además de una interacción con los movimientos y acumulación de este ión reportados para terminales nerviosas aisladas de cerebro de rata (29).

La retina

La retina desde el punto de vista ontogenético, morfológico y funcional se considera como una extensión del Sistema Nervioso Central, y

presenta para su estudio algunas vetajas que la hacen un modelo apropiado para el estudio del papel que desempeña la taurina en los tejidos excitables. Estas vetajas son: su fácil disección sin producirle daños considerables, su limitado grosor el cual facilita la difusión de substancias, la organización de sus células en capas discretas así como la accesibilidad al registro de su actividad eléctrica.

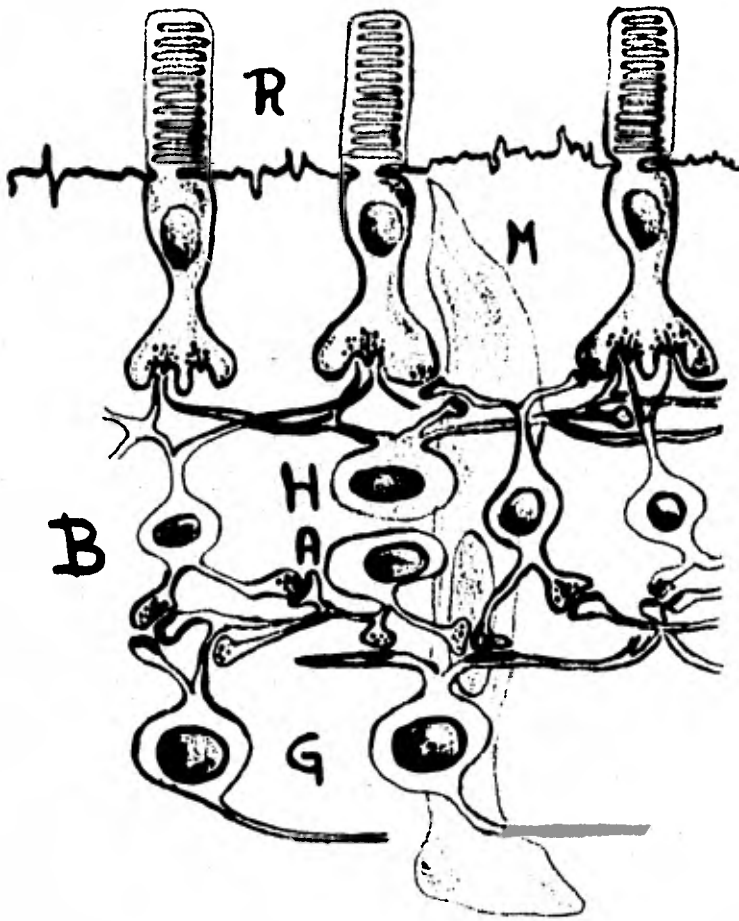
Las células que constituyen la retina son básicamente cinco tipos de neuronas y un tipo de célula glial. Entre las neuronas se encuentran los fotorreceptores, las células bipolares, las horizontales, las amacrinas y las células ganglionares, sus somas constituyen las capas nucleares externa, interna y la capa de células ganglionares, y las zonas de sus contactos sinápticos conforman las capas plexiformes externa e interna (Figura 1).

Los fotorreceptores, subdivididos morfológica y fisiológicamente por sus segmentos externos en conos y bastones, se encuentran en contacto con el epitelio pigmentario; sus somas forman la capa nuclear externa y sus terminales establecen conexión sináptica de tipo químico con los procesos de las células bipolares y horizontales. Estos contactos, junto con los establecidos entre estas últimas neuronas entre sí, definen la capa plexiforme externa.

Los cuerpos neuronales de las células horizontales, bipolares y amacrinas constituyen la capa nuclear interna y sus contactos sinápticos con las células ganglionares y entre sí conforman la capa plexiforme interna.

En la zona más interna de la retina, se distribuye en una banda discreta el pericarion de las células ganglionares, cuyos axones constituyen el nervio óptico o vía aferente de la información visual ha--

Fig. 1.- Esquema de la retina de vertebrado que muestra los diferentes tipos celulares que la componen, así como su arquitectura en estratos definidos. R: fotorreceptores; H: células horizontales; B: células bipolares; A: células amacrinas; G: células ganglionares; M: células de Müller.



SEGMENTOS
EXTERNOS

CAPA
NUCLEAR
EXTERNA

CAPA
PLEXIFORME
EXTERNA

C. NUCLEAR
INTERNA

C. PLEXIFORME
INTERNA

C. de CELULAS
GANGLIONARES

NERVIO OPTICO

cia los centros superiores de la visión.

Las principales células gliales de la retina son las células de Müller, cuyas dimensiones alcanzan casi el grosor total de la retina, extendiéndose desde la membrana limitante externa, a nivel del segmento externo de los fotorreceptores, hasta el humor vítreo en su zona más interna.

Se ha demostrado que en la obscuridad, los fotorreceptores se encuentran en un estado despolarizado debido a una corriente entrante y continua de sodio, la cual es reducida durante la incidencia de luz. Dicho estado activado del fotorreceptor provoca la liberación sostenida de un transmisor químico, hasta ahora desconocido, que mantiene un flujo de información hacia las capas internas de la retina.

La información visual traducida al lenguaje de potenciales de acción, es transmitida a lo largo de una vía central neural constituida por los fotorreceptores, las células bipolares y las ganglionares, siendo modulada en la intersección con los sistemas laterales de neuronas inhibitoras: Las células horizontales y las amacrinas. A estos niveles de la retina se establecen al menos dos tipos de circuitos locales, cada uno de los cuales puede ser activado por diferentes características del estímulo visual, teniendo consecuentemente un efecto diferente y específico sobre la sensibilidad de la vía central.

A pesar de saberse que la transmisión sináptica de tipo químico participa de manera importante en la fisiología de la retina, hasta el momento ningún compuesto ha sido identificado plenamente como neurotransmisor. Sin embargo, se cuenta con evidencia que apoya a diferentes compuestos para cumplir esta función en ambas capas plexiformes. Así, los ácidos aspártico y glutámico han sido postulados como

neurotransmisores liberados por los fotorreceptores y las células bipolares, mientras que el GABA podría ser utilizado para esta función por una población de células horizontales (30,31).

En la capa plexiforme interna probablemente los aminoácidos GABA y glicina sean manejados por diferentes poblaciones de células amacriⁿas, y de igual manera, la acetilcolina cuenta con evidencia experimental que la hace un candidato probable como mediador químico de estas neuronas (30).

Taurina en la retina

En la retina, la taurina alcanza sus niveles más elevados en comparación con cualquier otro órgano en los que esta presente (32,35). Aunque la función de este aminoácido en la retina aún se desconoce, el hecho de constituir del 40 al 50% del contenido total de aminoácidos libres, así como algunas investigaciones recientes, han puesto de manifiesto su participación en la fisiología retiniana.

Los diferentes estudios sobre la distribución de la taurina en la retina de varias especies, han coincidido en que dicho aminoácido alcanza un máximo de concentración en el estrato de los fotorreceptores. En especies como la rata, el gato y el conejo, muestra en esta zona celular valores particularmente elevados del orden de 50 a 80 mM, superando en todos los casos los datos obtenidos para las capas interⁿas de la retina (34).

Estos resultados son consistentes con un estudio más detallado realizado previamente por Orr y colaboradores (35) donde demuestra la presencia de taurina en ambas capas plexiformes, así como en las tres bandas nucleares de la retina de cinco especies. En dicha investiga--

ción se determinó que para todas las especies estudiadas, los valores más altos de concentración para la taurina correspondían a las capas nuclear externa, plexiforme externa, y a las correspondientes a los segmentos interno y externo de los fotorreceptores. Complementarios a estos datos, cabe mencionar aquí que el daño o pérdida de los fotorreceptores por diferentes tratamientos en la rata (36,37), el ratón (38) y en el gato (39), son acompañados por una disminución de la taurina retinal del 70% aproximadamente. La concentración de estas concentraciones elevadas de taurina en el fotorreceptor se desconoce.

Por otra parte, se ha demostrado en estudios de electroretinograma de pollo, una acción depresora de la taurina sobre la actividad eléctrica de las neuronas de la retina (33), aparentemente en particular sobre aquellas que constituyen las capas internas.

En otros estudios, utilizando un trazador radioactivo en un sistema in vitro, se ha demostrado que la taurina se libera de la retina de pollo en respuesta a una estimulación luminosa (40), no así otros aminoácidos neuroactivos presentes en la retina como el GABA, la glicina o el ácido glutámico. Este mismo efecto fué demostrado posteriormente en una preparación purificada de segmentos externos de fotorreceptores de rana (41).

Todos estos resultados, tomados conjuntamente sugieren la participación de la taurina en algún evento de la fisiología del fotorreceptor, probablemente en el proceso de la fotoexcitación como lo indican los últimos datos citados. Sin embargo, creemos que para fundamentar esta correlación es preciso demostrar que la taurina liberada de la retina completa en respuesta a la luz, se origina en la zona de fotorreceptores. Dicha demostración constituye el objetivo del presente

trabajo.

Una herramienta de valor incalculable en neurociencias ha sido el uso de compuestos tóxicos relacionados específicamente con un tipo neuronal. Estos agentes, al lesionar una población determinada han permitido indagar acerca de las diferentes características bioquímicas, fisiológicas y de distribución que definen a ésta. Así por ejemplo, la 6-hidroxidopamina manifiesta un efecto tóxico selectivo sobre neuronas catecolaminérgicas (42), habiéndose identificado así tanto núcleos como tractos neuronales mediados por catecolaminas, obteniéndose además información acerca de la participación de dichas vías en la función nerviosa.

En 1957 Lucas y Newhouse (43) al estudiar el efecto del glutamato monosódico sobre una distrofia hereditaria de la retina en ratones, notaron que la administración del aminoácido dañaba las capas inter--nas de la retina no involucradas en la lesión genética. Posteriormente, encontraron un patrón de degeneración semejante en animales normales a los que se les había administrado sólo el aminoácido. De entre una variedad de agentes ensayados en ese estudio, sólo el ácido L-aspartico produjo una lesión comparable.

Años más tarde, Olney y colaboradores (44,45) examinaron los efectos de un tratamiento sistémico de una variedad de compuestos relacionados estructuralmente con el ácido glutámico, encontrando que casi todas las substancias neurotóxicas eran aminoácidos acídicos que se conocía excitaban las neuronas, hallándose además una excelente correlación entre las potencias neurotóxicas y excitatorias de dichos compuestos. Olney acuñó el término "aminoácidos excitotóxicos" para agrupar este tipo de agentes, estableciendo una relación causal entre sus

efectos excitatorios y la neurotoxicidad manifestada.

El ácido kaínico es un análogo estructural substituído del glutamato, que fué aislado por primera vez en 1953 del alga roja Digenea simplex. Desde el descubrimiento de su potente efecto excitotóxico, este compuesto ha sido utilizado en una amplia variedad de preparaciones de sistema nervioso donde se ha probado su capacidad de lesión discriminada, tales como el cerebelo (46), el cuerpo estriado (47) y la retina (48) entre otras.

A diferencia de la 6-hidroxidopamina, que destruye neuronas con transmisores de un tipo estructural particular, el ácido kaínico lesiona neuronas cuyos somas y ramificaciones dendríticas son alcanzadas por el compuesto, pero respetando a los axones que crucen la zona, así como terminales eferentes que lleguen a la misma.

El mecanismo de acción de los aminoácidos excitotóxicos aún no está perfectamente claro, sin embargo, el hecho de que cada análogo estructural del ácido glutámico que despolariza membranas dendríticas y somáticas, exhiba actividad neurotóxica, mientras que análogos no excitatorios carezcan de ella, sugieren no solo que un mecanismo despolarizante media estos efectos, sino que el fenómeno involucra también un receptor común. Debe mencionarse aquí que algunos resultados experimentales, principalmente del grupo de Watkins (49,50), no son claramente consistentes con el concepto del receptor común, pero en vista de que tales discrepancias no son fundamentales para el presente estudio, en el cual el ácido kaínico se utilizó únicamente como una herramienta metodológica, no se discutirán aquí.

La inyección intraocular de dosis relativamente pequeñas de ácido kaínico en pollos de dos días de edad, produce severas alteracio--

nes características en la retina (48). En éstos, a los dos días de la inyección la lesión alcanza toda la retina interna, destacando una reducción del 30% en el grosor debido a un gran decremento en el número de células de la capa nuclear interna, principalmente de células amarinas. Al quinto día posterior al tratamiento, todos los tipos celulares de las capas internas han sido afectadas y la pérdida neuronal en esta zona puede alcanzar hasta un 90%.

Con respecto a las capas externas de la retina, se han observado algunas alteraciones en los procesos de los fotorreceptores, sin embargo la mayoría de éstas son insensibles, dentro de un rango de tiempo, al tratamiento con ácido kaínico.

Por lo antes expuesto, pensamos que el modelo de lesión producido por la inyección intraocular de ácido kaínico, es útil en la investigación del sitio de liberación de la taurina en respuesta a un estímulo luminoso, permitiendo determinar si ésta ocurre en las capas de la retina destruídas o en aquellas respetadas por el tratamiento, esto es, el estrato de los fotorreceptores.

MÉTODOS

Se utilizaron pollos de dos días de edad que anestesiados ligeramente con cloroformo, se inyectaron intraocularmente con 10 μ l de solución salina que contenía 60 nmolas de ácido kaínico; el ojo o--- puesto fué tratado con solución salina únicamente a manera de con--- trol. Posteriormente se mantubieron de 2 a 3 semanas en un ciclo nor mal de iluminación. Después de ese tiempo, los animales los animales fueron sacrificados por decapitación, enucleados los ojos y extraí-- das las retinas bajo luz azul tenue.

Estimulación luminosa

Las retinas control y tratadas con ácido kaínico fueron incuba das en un baño con agitación y temperatura constante de 37 °C, duran te 15 min. en 1 ml de medio Krebs-bicarbonato, pH 7.4, conteniendo 20 μ Ci de taurina-³H a una concentración de 0.864 nmolas/ml. La com posición del medio Krebs es la siguiente: NaCl 118 mM, KH_2PO_4 1.2 mM, KCl 4.7 mM, CaCl_2 2.5 mM, MgSO_4 1.17 mM, NaHCO_3 25 mM y glucosa 5.6 mM. Todo el experimento se realizó bajo luz azul tenue.

Después de la incubación. las retinas se lavaron en medio fres co con el fin de eliminar el compuesto radioactivo probablemente a-- dherido al tejido, y se transfirieron a pequeñas cámaras de cristal de 0.25 ml de volúmen, conectadas a un sistema de superfusión conti nua accionado por una bomba peristáltica. El sistema de mangueras que interconecta la bomba con las cámaras de perfusión, se mantubo sumergido en un baño a temperatura tal que cuando el medio de lavado alcanzaba el tejido, se encontraba a 37 °C \pm 1.

El líquido perfundido se colectó cada minuto en viales de cente lleo. Después de 14 minutos, y cuando la taurina marcada no captada por el tejido ha sido lavada del medio extracelular, la liberación

de la marca radioactiva alcanza un valor basal. En ese momento, las retinas se expusieron a destellos intenso e intermitentes de luz blanca provenientes de una fuente electrónica (Toshiba 414), durante dos minutos, 24 destellos en total, continuándose la perfusión por trece minutos más. Al final de ésta, las retinas se recuperaron y solubilizaron con 0.4 ml de NCS (solubilizador de tejidos; Amersham), determinándose la radioactividad de todas las muestras obtenidas después de la adición de 5 ml de tritosol (51), en un contador de centelleo Packard Mod. 2425 para muestras líquidas.

Los valores de radioactividad, en todos los casos fueron transformados a cifras absolutas o desintegraciones por minuto. Los datos de liberación de taurina marcada se expresan como el porcentaje de radioactividad liberada por unidad de tiempo entre la radioactividad total captada por la retina, denominándosele a éstos tasa de liberación.

Determinación de aminoácidos libres

Las retinas tratadas con ácido kaínico al igual que sus controles se obtubieron dos semanas después de la inyección intraocular, congelándose inmediatamente en nitrógeno líquido. Posteriormente fueron pesadas y homogeneizadas en cinco volúmenes de ácido perclórico 1.2 N. Los homogenados se centrifugaron a baja velocidad, 900 X g, desechándose los sedimentos resultantes. Los sobrenadantes obtenidos, neutralizados con NaOH al 30%, se cetrifugaron por segunda ocasión para separar el perclorato de potasio producto de la reacción. Finalmente, los extractos se ajustaron a un pH de 2 a 2.5 y se liofilizaron. La concentración de aminoácidos libres en las muestras así obtenidas, fué determinada en un analizador de aminoácidos Technicon.

Cuantificación de la actividad de la descarboxilasa glutámica

La actividad de la descarboxilasa del ácido glutámico, responsable de la síntesis del GABA, fué determinada midiendo la liberación de $^{14}\text{CO}_2$ a partir de l-glutamato- ^{14}C , de acuerdo al procedimiento reportado por Roberts y Simonsen (52). Dicha determinación se realizó como un control bioquímico para valorizar la extensión de las lesiones producidas por el ácido kaínico.

Las retinas se homogeneizaron en una solución amortiguadora de fosfatos (20% peso/volumen), pH 6.3. Una alícuota del homogenado de 0.2 ml fué incubada a 37°C con 0.6 uCi de l-glutamato- ^{14}C , ácido glutámico frío 20 mM y fosfato de piridoxal 0.2 mM para un volumen final de 1.1 ml. El CO_2 liberado durante la reacción fué atrapado por adsorción por una muestra de hiamina comunicada al sistema para esos fines. Después de 20 minutos, la reacción se detubo por la adición de ácido sulfúrico 3.4 N, cuantificándose por centelleo líquido el $^{14}\text{CO}_2$ liberado.

Paralelos a cada ensayo, se obtubieron tubos "blancos" a los cuales les fué añadido el ácido sulfúrico antes del período de incubación. Los valores obtenidos en dichos blancos se restaron a los datos experimentales.

Estudios histológicos

Se realizaron una serie de estudios morfológicos con base en cortes histológicos y de microscopía óptica, para evidenciar los efectos del ácido kaínico sobre la estructura general de la retina.

Las retinas extraídas fueron fijadas inmediatamente en una solución de formaldehído al 3% durante dos horas. Posteriormente se lava

ron con una solución amortiguadora de fosfatos y se deshidrataron en soluciones de etanol progresivamente más concentradas hasta alcohol absoluto, para finalmente incluirse en parafina a una temperatura de 45 a 55°C.

Se obtuvieron cortes semifinos de 6 μ M de espesor en un micromo Jung y fueron montados en portaobjetos para su posterior observación. En los cortes se realizó un tinción tricrómica de acuerdo al método de Gomori (53). Las observaciones e impresiones fotográficas fueron obtenidas en un microscópio de luz Leitz-Dialux 20.

RESULTADOS

Análisis morfológico

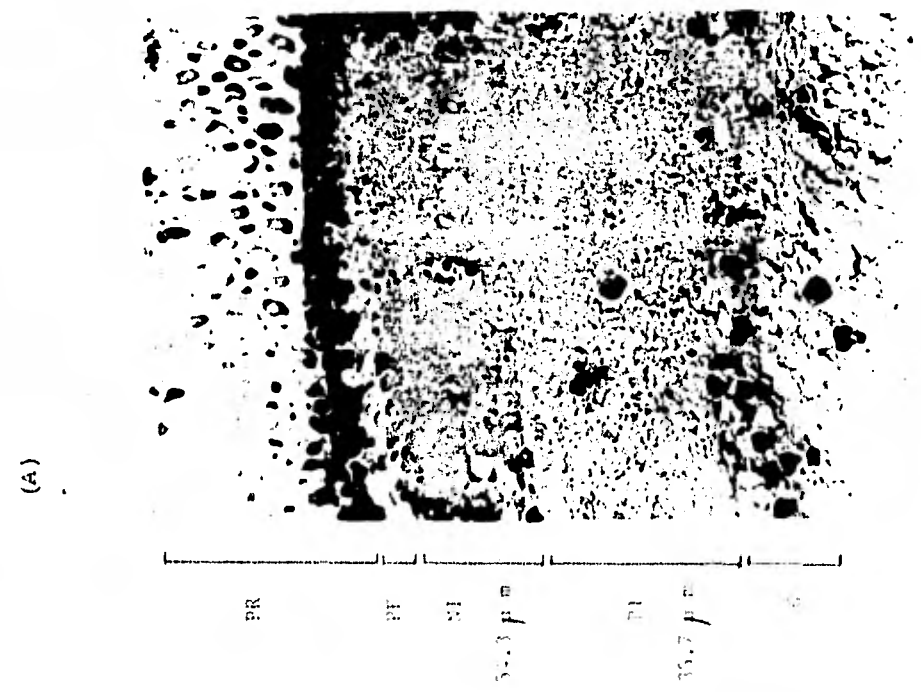
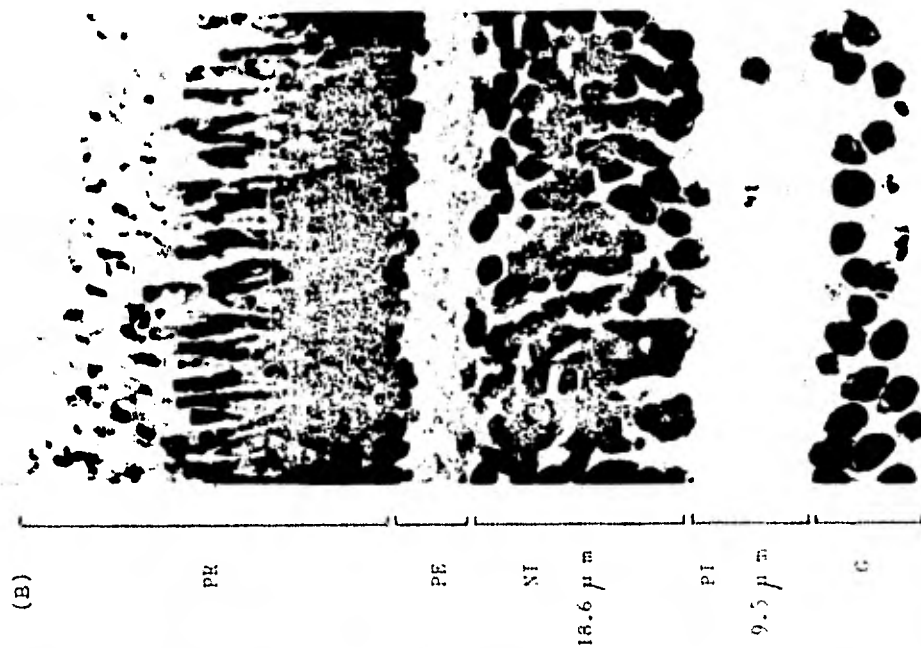
Con el fin de determinar cualitativamente la extensión de las perturbaciones inducidas por el ácido kaínico, se realizó un estudio morfológico de las retinas tratadas, comparandolas cada una con su control respectivo, que según se describe en la sección de métodos, corresponde a la retina del ojo opuesto al inyectado, del mismo animal.

En la figura 2 se muestran cortes histológicos de las retinas de un pollo inyectado con ácido kaínico en el ojo derecho y de su control tratado con solución salina, extraídas dos semanas después de la administración del compuesto. La retina expuesta al ácido kaínico muestra las severas alteraciones características del tratamiento, fundamentalmente en las regiones internas del epitelio. En esta preparación se observa una notable reducción de las capas plexiforme y nuclear internas, lo que se traduce en un decremento de más del 50% en el espesor total de la retina. Estas capas se muestran al microscopio como bandas disminuídas en grosor en un 80 y 65% respectivamente comparadas con las retinas control. La reducción en las zonas correspondientes a los somas de las células horizontales, bipolares y amacrinas indica un alto porcentaje de muerte celular.

La capa de células ganglionares, por otra parte, también se ve afectada por el tratamiento, y al igual que el resto de estructuras internas, registra un alto grado de pérdida neuronal.

La observación de los cortes a nivel de las capas externas de la retina, conformadas principalmente por las estructuras de los fotorreceptores, no dió indicios acerca de algún tipo de lesión celular al tiempo estudiado. A las dos semanas, los receptores guardan

Fig. 2.- Fotomicrografías de retinas control (A) y tratada con ácido kaínico (B). Los pollos de dos días de edad fueron inyectados intraocularmente con solución salina (ojo izquierdo) y con 60 nmolas/10 μ l de ácido kaínico (ojo derecho). Dos semanas después de la inyección, las retinas fueron extraídas y fijadas en formaldehído para ser posteriormente deshidratadas y embebidas en parafina. Los cortes de 6 μ m de espesor se tiñeron con hematoxilina-eosina. PR: fotorreceptores y capa nuclear externa; PE: Capa plexiforme externa; NI: Capa nuclear interna; PI: Capa plexiforme interna; G: Células ganglionares.



su ordenamiento normal "en empalizada" compacta, comprobándose por un análisis cuidadoso al microscopio la integridad de estructuras tan sensibles como sus segmentos externos. Asimismo no se detectaron huecos o algún otro tipo de índice de decremento en la población, indicando que durante este período los fotorreceptores se mantiene intactos a pesar de la presencia del ácido kaínico.

A las tres semanas de la administración del fármaco, fueron detectadas algunas modificaciones estructurales en las capas externas, consistentes en un hinchamiento moderado de los segmentos externos del fotorreceptor, sin llegar a observarse rompimientos ni dispersión de organelos.

Análisis bioquímico

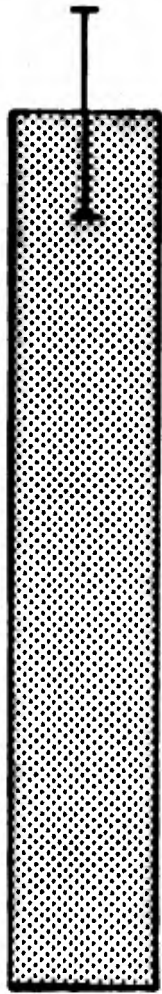
Los controles bioquímicos de las lesiones producidas por el tratamiento con ácido kaínico, se llevaron a cabo con anterioridad por Coyle y colaboradores (54). En un estudio en la retina del pollo, ellos mostraron importantes reducciones en los niveles de neurotransmisores relacionados con células amacrinas, así como en las enzimas involucradas en su biosíntesis después del tratamiento con el agente neurotóxico. Estos autores reportan descensos rápidos en las actividades de la descarboxilasa glutámica (DAG) y de la colin acetiltransferasa, 4 horas después de la administración del ácido kaínico; los niveles de las actividades enzimáticas mencionadas decayeron a menos del 10% de su valor control después de 4 días del tratamiento. En contraste, la actividad específica de la tirosina hidroxilasa decae más lentamente y se mantiene en un valor correspondiente al 50% del control en el mismo período de tiempo.

Fig. 3.- Actividad específica de la descarboxilasa del ácido glutámico (DAG), medida en retinas control y tratadas con ácido kaínico, dos semanas después de la administración del fármaco. La actividad enzimática se determinó de acuerdo al método descrito por Roberts y Simonsen (52). Los resultados son promedios \pm E.E. de cuatro ensayos separados. $P < 0.001$.

μ MOLAS / H / G DE TEJIDO



 CONTROL
 KAINICO



En este trabajo se midió la actividad específica de la DAG como un control bioquímico de la extensión de la lesión producida por el tratamiento experimental. Nuestros resultados, acordes con los obtenidos por Coyle, muestran un decremento del 83% en la actividad de la DAG en las retinas tratadas, en comparación con sus controles respectivos (Figura 3), confirmando así la reducción de las células GABAérgicas a consecuencia del tratamiento. El GABA ha sido postulado como neurotransmisor liberable por algunas poblaciones de células horizontales y amacrinas, con base entre otros argumentos a la presencia en ellas de la enzima responsable de su síntesis, por lo que la gran disminución de su actividad es coherente con las reducciones en las poblaciones observadas en el estudio morfológico.

La determinación de los niveles de aminoácidos libres en la retina, constituye también un control bioquímico del daño producido por el ácido kaínico, que por otra parte, no había sido cuantificado anteriormente. Los datos siguientes en este sentido, constituyen por tanto el primer reporte en una investigación de esta índole.

Como se observa en la tabla 1, la concentración de los aminoácidos libres determinados decaen en concentración, siendo los más afectados el GABA, la glicina y la alanina, cuyos valores se redujeron entre un 54 y 68% con respecto a los datos control. A diferencia de éstos, la concentración de taurina disminuye sólo un 14%. Estos resultados son consistentes con el hecho de que la taurina se encuentra concentrada principalmente en los procesos de los fotorreceptores, los cuales no son afectados por las condiciones experimentales establecidas en esta investigación.

Los valores obtenidos en esta parte del estudio, concuerdan de

TABLA 1. Contenido de aminoácidos en retinas de pollos control y tratadas con ácido kaínico.

	Control	Acido Kaínico	%
	$\mu\text{molas/gr}$ de tejido húmedo		
Acido Aspártico	0.47 \pm 0.039	0.256 \pm 0.016*	-46.3
Acido Glutámico	2.17 \pm 0.233	1.410 \pm 0.127*	-35.1
Glutamina	2.98 \pm 0.276	1.930 \pm 0.110*	-35.3
GABA	2.49 \pm 0.211	0.790 \pm 0.082*	-68.1
Alanina	0.41 \pm 0.036	0.190 \pm 0.071*	-54.3
Glicina	2.14 \pm 0.172	0.898 \pm 0.016*	-57.9
Taurina	8.12 \pm 0.352	6.980 \pm 0.376**	-14.1

Los pollos de dos días de edad recibieron una inyección de ácido kaínico de 60 nmolas en 10 μl de solución salina. Los animales fueron sacrificados dos semanas después para la determinación de aminoácidos. Los resultados son promedios \pm E.E. de cuatro determinaciones separadas. Difieren del control con * $P < 0.001$, ** $P < 0.02$.

manera muy precisa con los obtenidos por Karlsen y Fonnum (55) en ratas sometidas a un tratamiento sistémico con glutamato monosódico, el cual produce una importante reducción de los estratos internos de la retina. Estos autores encontraron que las disminuciones más importantes en la concentración de aminoácidos libres, correspondían a las del GABA (68%), la alanina (57%) y la glicina (53%), mientras que los niveles de taurina, el aminoácido menos afectado, se redujeron sólo en un 13%.

Liberación de taurina de la retina

El uso de trazadores radioactivos en la investigación ha constituido una herramienta de gran utilidad en múltiples áreas de la ciencia y en particular en la Biología. En el presente trabajo, se utilizó taurina-³H como índice de los movimientos del aminoácido en la retina, partiendo de la base de que el compuesto radioactivo se comporta fisiológicamente igual que el natural, y que se mezcla homogéneamente con la poza endógena.

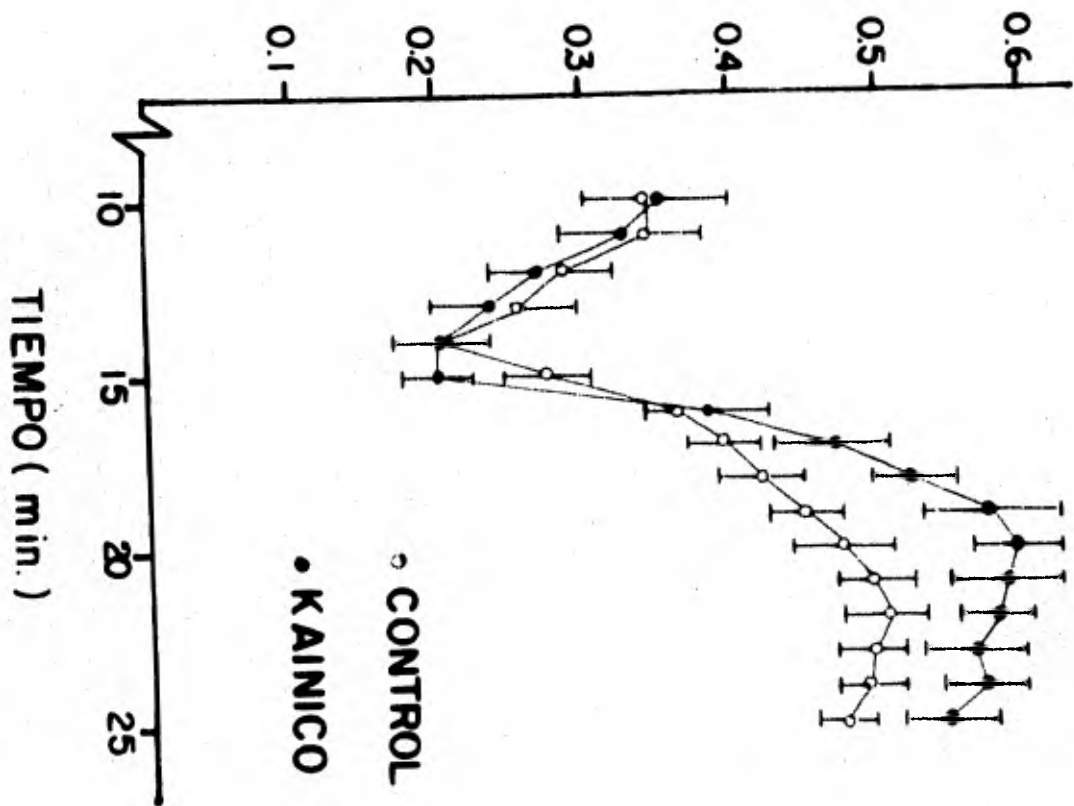
En estudios previos, se ha demostrado que la taurina se libera de la retina en respuesta a una estimulación luminosa (40), de manera dependiente de la intensidad del estímulo aplicado.

En este estudio, se comparó la liberación de taurina-³H de las retinas control y de aquellas expuestas al ácido kaínico por dos semanas, y los resultados se muestran en la figura 4. Como puede observarse, la tasa de liberación basal o espontánea se comporta prácticamente igual en ambas condiciones experimentales, lo cual indica que el tratamiento con kainato no afecta dicho comportamiento.

La salida de la marca radioactiva inducida por la estimulación

Fig. 4.- Liberación de taurina-³H estimulada por luz de retinas de pollo control y tratadas con ácido kaínico. Los animales se adaptaron a la obscuridad durante 2 horas previas al ensayo. Las retinas se extrajeron y perfundieron continuamente bajo luz azul tenue, exponiéndolas a los 14 minutos de lavado a 24 destellos luminosos por 2 minutos, indicados con una barra en la figura. La radioactividad en las alícuotas colectadas cada minuto se determinó después de la adición de tritosol. Los resultados son promedios ± E.E. de cinco ensayos por separado.

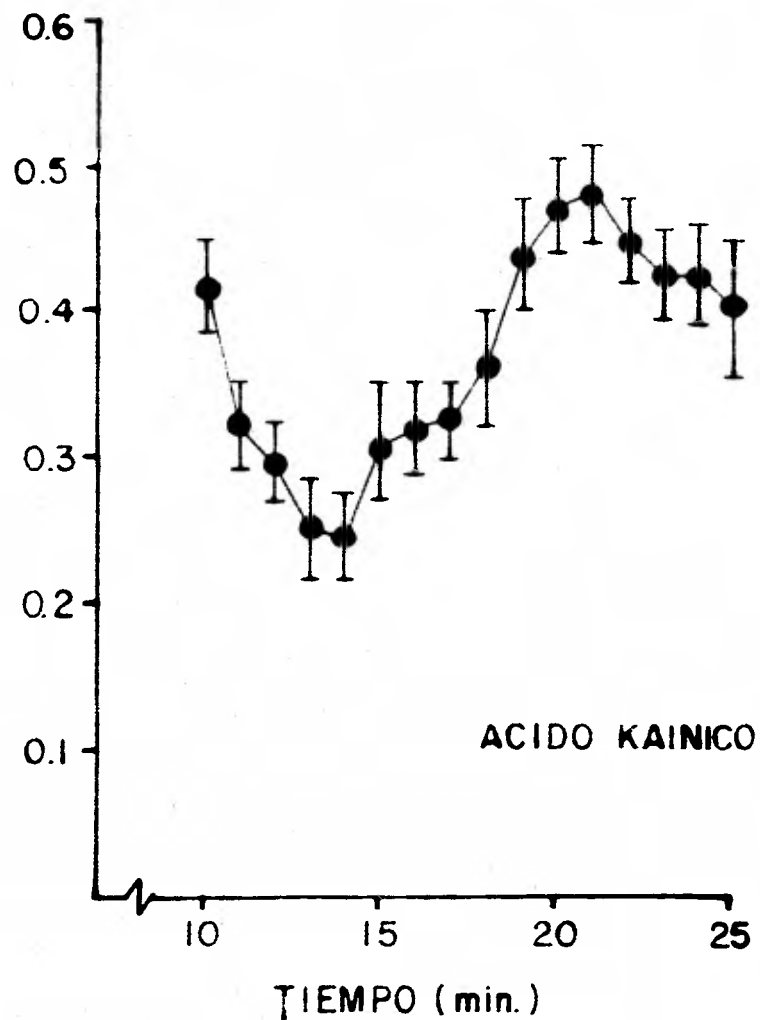
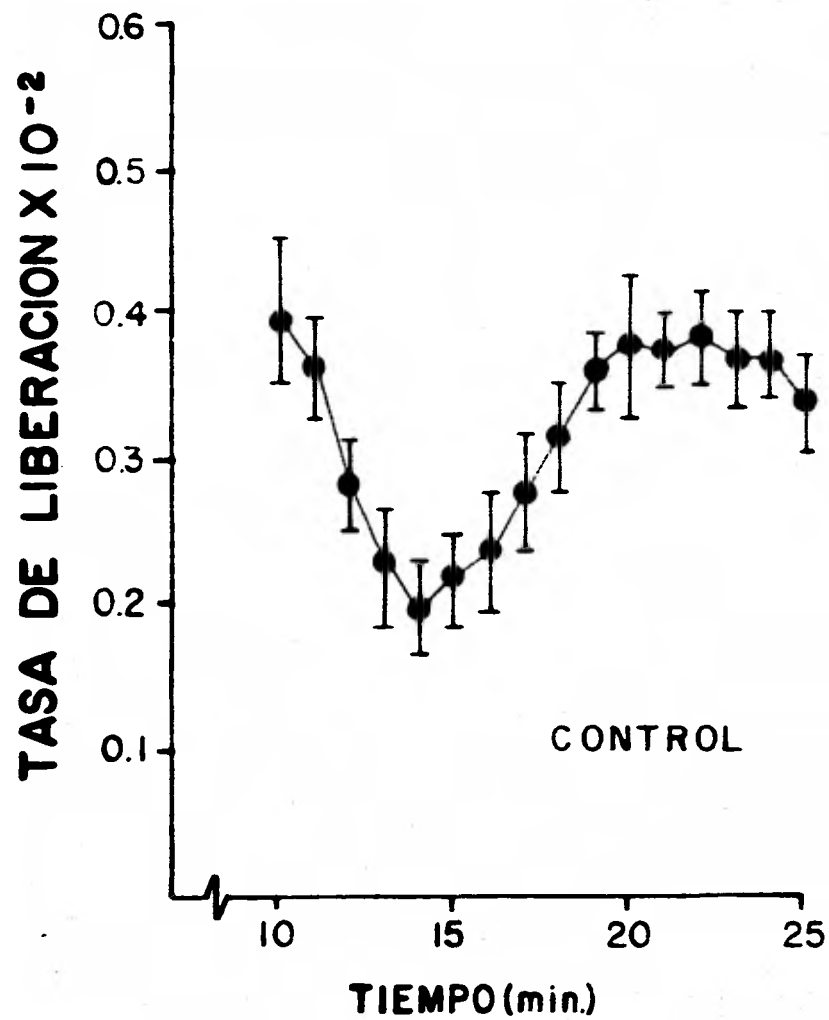
TASA DE LIBERACION X 10⁻²



luminosa, muestra el mismo patrón de liberación en las dos condiciones establecidas, detectándose solamente dos valores significativamente mayores para el caso de las retinas tratadas durante el pico de máxima estimulación.

A las tres semanas posteriores a la inyección del ácido kaínico, la semejanza en las tasas de liberación de taurina de las retinas control y tratadas se conserva consistentemente, (Figura 5) en el sentido de que no se detectan cambios profundos en las curvas de liberación ni decrementos que indiquen pérdida de su capacidad de respuesta.

Fig. 5.- Liberación de taurina-³H estimulada por luz de retinas de pollo control y tratadas con ácido kaínico, tres semanas después de la administración del fármaco. El procedimiento es idéntico al descrito en la figura 4. Los resultados son promedios \pm E.E. de cuatro ensayos por separado.



DISCUSION

La compartimentalización y alta concentración de la taurina en los fotorreceptores, aunadas a la exclusividad de su respuesta ante un estímulo luminoso, son datos que sugieren la participación de este aminoácido en la fisiología del fotorreceptor, probablemente en eventos directamente relacionados o desencadenados por la excitación luminosa. Sin embargo, la correlación entre dichos fenómenos y la taurina liberada de la retina requería, como se señalaba en la sección introductoria, de la definición del origen celular de la respuesta a la luz, en vista de que, aunque heterogénea, la distribución del aminoácido incluye casi todos los estratos de la retina. Por ello, el efecto excitotóxico del ácido kaínico constituye una herramienta extremadamente útil ya que ha probado ser selectivo sobre diferentes regiones del Sistema Nervioso Central, en particular sobre la retina de varias especies (54,56), lesionando poblaciones celulares aparentemente relacionadas con vías glutamatérgicas. El ácido glutámico mismo, produce una degeneración de la retina interna posterior a su inyección en ratas (43) y ratones (44), así como en embriones de pollo (57), mientras que la inyección intraocular de ácido kaínico en el pollo provoca un patrón semejante, aunque más extenso, de perturbaciones en las zonas internas de la retina, incluyendo los somas de las células horizontales, las bipolares y las amacrinas, así como sus extensiones dendríticas y las conexiones sinápticas establecidas entre todas ellas y con los procesos de los fotorreceptores (58); cuando se detectan alteraciones en estos últimos, se limitan a hinchamientos moderados y en ocasiones se observan procesos de vacuolización en las esférulas terminales que contactan sinápticamente a las células horizontales y bipolares.

Estos resultados se han correlacionado con los decrementos cuantificados en las actividades de las enzimas involucradas en la síntesis del GABA, la dopamina y la acetilcolina, debidos probablemente a la pérdida de neuronas GABAérgicas, dopaminérgicas y colinérgicas respectivamente (48,58).

En la carpa, el mismo tratamiento con ácido kaínico provoca un esquema muy similar al observado en el pollo, siendo el blanco del fármaco la retina interna en casi toda su extensión, mientras que las células no afectadas fueron los fotorreceptores, las células de Muller, una población de células amacrinas y algunas ganglionares y la región correspondiente al nervio óptico (56).

Los resultados del presente trabajo muestran que la liberación de taurina inducida por la luz, ocurre en aquellas células de la retina que no fueron alteradas por el tratamiento con el ácido kaínico, es decir, los fotorreceptores, parcialmente las células de Muller y un número reducido de células de las capas internas de la retina.

Los análisis autorradiográficos de la retina marcada con taurina tritiada, han mostrado que la marca radioactiva se concentra principalmente en los fotorreceptores y en mucho menor grado en los estratos nuclear y plexiforme internos (34), no habiéndose descrito una acumulación preferencial de marca en las células gliales de la retina de pollo. Por otra parte, sabemos que el citoplasma glial se extiende a casi todo lo ancho de la retina y que su mayor porción se encuentra en la región interna del epitelio, por lo cual, si la taurina liberada por la fotoexcitación fuese de origen glial, la gran reducción en el grosor total de la retina (Fig. 2) producto del tratamiento con ácido kaínico, debería haber disminuído de manera impor

tante la tasa de salida del aminoácido en los ensayos de liberación. Los resultados son claros en este sentido, ya que no sólo dicha reducción no fué detectada, sino que incluso se aprecia un ligero aumento en los puntos de máxima respuesta al estímulo aplicado.

La presencia del ácido kaínico en la retina destruye un gran número de células de la capa nuclear interna, sin embargo no puede descartarse la posibilidad de que la respuesta de la taurina a la luz se origine en las células residuales.

Los estudios de Coyle y colaboradores (58) mostraron una vulnerabilidad diferencial entre las diversas poblaciones de células amacrinas al tratamiento con ácido kaínico. Los grupos celulares GABAérgicos y colinérgicos parecen ser destruidos por el kainato, mientras que las células dopaminérgicas son menos sensibles a este fármaco, por lo que podemos sugerir que las células amacrinas restantes sean dopaminérgicas. Más aún, hasta el presente no se han identificado células taurinérgicas en la retina y actualmente existe una controversia acerca de su existencia (59).

Las células ganglionares, por otra parte, poseen los niveles de taurina más bajos en comparación con el resto de estratos de la retina en 3 de 5 especies analizadas, la rana, el pollo y el conejo, hallándose en las dos restantes, en el gato y el mono, solo una zona con valores de concentración aún más pequeños (35).

La acumulación de marca radioactiva en estudios autorradiográficos, igualmente muestra que la zona de células ganglionares capta taurina con mucho menos avidez que los estratos como el de receptores o el del epitelio pigmentario en algunas especies (34).

Otro posible sitio de liberación de la taurina serían las zonas

plexiformes o de contacto sináptico. En un sistema de perfusión, la taurina al igual que otros aminoácidos neuroactivos como el GABA o la glicina, se libera de la retina aislada en respuesta a estímulos despolarizantes tales como altas concentraciones de potasio, ouabaína y veratridina (60,61), sin embargo, en fracciones de sinaptosoma obtenidas de retina, se ha demostrado que los agentes despolarizantes mencionados no estimulan la liberación de taurina, mientras que las de GABA y glicina se ven claramente incrementadas (62). Estos resultados sugieren que la taurina no se libera en la retina de las terminales nerviosas, componentes fundamentales de las capas plexiformes.

Por tanto, a pesar de que la evidencia es indirecta, el estrato de fotorreceptores parece ser el sitio de origen más probable de la liberación de taurina inducida por estimulación luminosa. Esto halla fundamento en que dicho fenómeno se observa también en segmentos externos aislados de fotorreceptores (41), a pesar de que la curva de liberación en esa preparación es diferente, probablemente debido a la eliminación del resto de estructuras que puedan estar participando en el fenómeno.

Por lo que se refiere a las posibles funciones del fotorreceptor en las cuales podría estar participando la taurina, consideraremos en primer lugar, una acción a nivel de la fototransducción, en particular sobre los movimientos de calcio.

Durante la fotoexcitación, al incidir la luz sobre los conos y bastones de la retina, se produce una fotoactivación de las moléculas de rodopsina, proteína estructuralmente versátil que se encuentra embebida en los discos de membrana de los segmentos externos(63).

Esto produce una hiperpolarización de la membrana del fotorreceptor al cerrarse reversiblemente los canales de sodio, disminuyendo consecuentemente la corriente despolarizante que mantenía en un estado excitado a la célula. Sin embargo, este esquema es incompleto en lo referente al proceso de fototransducción, en el sentido de que se desconoce la identidad del mensajero intracelular responsable del evento, esto es, la transmisión del cambio que ocurre en el pigmento fotosensible localizado en los discos hasta la membrana plasmática, ya que la base estructural de ambos componentes está separado por un espacio físico claramente definido (64).

En 1973, Hagins y Yoshikami (65), postularon que la corriente oscura de conos y bastones era controlada por los niveles de iones calcio en el citoplasma. Este ión, altamente concentrado en el interior de los discos del fotorreceptor, sería liberado al citoplasma al ser absorbido un fotón, aumentando así su concentración intracelular y reduciendo la conductancia al sodio. Sin embargo, aunque existe fuerte evidencia en apoyo de un aumento de calcio libre dependiente de luz y de su efecto sobre la permeabilidad al sodio (66,67 68), al presente y a la luz de nuevas investigaciones en el campo que involucran a los nucleótidos cíclicos (69,70), se piensa que el esquema de este evento debe ser más complejo y es sujeto de estudio en la actualidad.

A este nivel, la taurina podría participar en el fenómeno fotoexcitatorio a través de la regulación de los flujos de calcio, los cuales si no son el evento único que rige la fototransducción, si juegan con seguridad un papel destacado en su realización. El vínculo entre los movimientos de calcio y la taurina ha sido establecido

en varios sistemas que incluyen preparaciones de tejido nervioso como sinaptosomas de cerebro y retina, así como en segmentos externos aislados de fotorreceptores (29,71). En dichos trabajos se observó que la taurina tiene diferentes efectos sobre la acumulación de calcio, dependiendo de la concentración externa de este ión. A niveles mayores de calcio de 2.5 mM, la taurina produce un marcado decremento en la acumulación de ^{45}Ca en fracciones de cerebro y retina, mientras que a concentraciones pequeñas de calcio del orden de 0.1 mM, la taurina incrementa la captación del calcio marcado, siendo este último efecto dependiente de la presencia de ATP en el medio de incubación.

Aunque el sistema de transporte de Ca sensible a taurina aún no ha sido caracterizado, los datos citados sugieren una participación del aminoácido en los mecanismos responsables de la regulación del calcio intracelular, posibilidad que puede ser enmarcada en los procesos fotodependientes que nos ocupan y que queda abierta a investigaciones ulteriores.

Se ha sugerido, por otra parte, que la taurina podría estar participando en la fisiología del fotorreceptor en los procesos contráctiles. Agentes como la colchicina, la citocalasina-b y la vinblastina, conocidos por su capacidad para interferir y bloquear la actividad contráctil en múltiples sistemas, decremantan de manera dependiente de dosis la liberación estimulada por luz de taurina de la retina. Más aún, el metabolito fúngico citocalasina-b, a una concentración de 10 μM , bloquea completamente la respuesta de la taurina al estímulo luminoso (72).

Aunque la información detallada sobre eventos contráctiles en

el fotorreceptor es escasa, existen fenómenos descritos para aves, peces y vertebrados inferiores que involucran contracción y distensión de estructuras durante la adaptación a la luz. En una retina a adaptada a un ambiente de iluminación, el mioide del segmento interno de los conos se encuentra contraído, mientras que el de los bastones está alargado, siendo el estado inverso cierto para una retina adaptada a la obscuridad (73). Aunque este fenómeno no ha sido descrito para mamíferos, los estudios mormológicos han mostrado con sistentemente la presencia de microtúbulos en el segmento interno de varias especies (74).

La localización preferencial de la taurina en el segmento interno de los fotorreceptores así como en otros tejidos como corazón y músculo esquelético, junto con el bloqueo de su liberación in ducida por luz por agentes como la colchicina o la citocalasina-b, sugieren un posible vínculo entre los movimientos de taurina y los procesos contráctiles como los que ocurren en el fotorreceptor.

Otra posibilidad que se apoya en evidencia experimental muy só lida, es la que se refiere a la participación de la taurina como es tabilizador de membranas en los fotorreceptores. Esta posibilidad ha sido enfatizada por los resultados obtenidos por Hayes y colaboradores en el gato (39,75). Esta especie, al igual que el hombre, tiene una capacidad limitada de síntesis de taurina, por lo que el mantenimiento de sus niveles endógenos, depende casi exclusivamente del abastecimiento externo del aminoácido a través de la ingesta de alimentos ricos en taurina.

En los trabajos citados, se sometió a un grupo de gatos a una dieta libre de taurina suplementada con caseína como única fuente

protéica, la cual es baja particularmente en cisteína. Los resultados mostraron que paralelamente a una caída en los niveles de taurina en el plasma y en la retina, aparecían perturbaciones estructurales en los fotorreceptores, en particular a nivel de sus segmentos externos. Dichas alteraciones eran revertidas dentro de un rango de tiempo, simplemente por la adición de taurina a la dieta, sin embargo, si el tratamiento se continuaba durante 4 a 5 meses, la degeneración progresaba hasta alcanzar la muerte celular y por tanto la pérdida irreversible de la función visual.

Estos datos han sido reproducidos y ampliados en la rata, obteniéndose resultados muy semejantes a los descritos por Hayes y colaboradores. La rata es una especie con amplia capacidad de síntesis de taurina, por lo cual fué necesario implementar una nueva estrategia experimental para inducir un decremento en la concentración retinal del aminoácido. Basándonos en que la taurina presente en la retina de la rata es de origen remoto, esto es, no es sintetizada in situ y tiene que ser transportada al epitelio visual, se sometió un grupo de ratas a un tratamiento con guanido etansulfonato (GES), un análogo estructural de la taurina que bloquea su transporte por competencia por el acarreador membranal (76). Ha sido descrito en estudios previos, que la administración de GES a ratas produce una disminución en los niveles de taurina en diferentes órganos del cuerpo, incluyendo varias regiones del Sistema Nervioso (76).

En este sistema hemos encontrado que después de tres semanas de tratamiento, los fotorreceptores aparecen claramente alterados, principalmente a nivel de los segmentos externos, los cuales muestran desorganización membranal y vesiculación, además de la pérdida

de su forma cilíndrica característica. Seis semanas de administración del bloqueador, produjo perturbaciones profundas en el estrato de receptores. El desorden membranal en los discos de sus segmentos externos es muy elevado, detectándose alteraciones en estructuras más internas así como muerte celular (77).

La participación de la taurina en el mantenimiento de la estructura del fotorreceptor, también ha sido sugerida por resultados obtenidos en sistemas in vitro. Un efecto perturbador de la luz sobre la estructura de segmentos externos de bastones, ha sido descrito para retinas de rana in vitro (78) y de bovino (79,80), así como para la retina de mono en experimentos realizados in vivo (81).

En una preparación enriquecida de segmentos externos, obtenidos de retina de rana, se observó que la taurina es capaz de prevenir eficientemente las alteraciones producidas por la exposición a la luz, consistentes en alteraciones en la membrana plasmática, hinchamiento y vesiculación de los discos internos (82), características previamente detectadas en los modelos antes citados.

Todos estos resultados establecen, por una parte, el carácter esencial de la taurina para el mantenimiento integral del fotorreceptor, y por otra, refuerzan la idea de su participación en la fisiología visual en eventos desencadenados por la excitación luminosa. Más concretamente, el receptor en un estado fotoactivado aparentemente requiere de la presencia de taurina para conservar su estructura y capacidad de función, ya que en ausencia del aminoácido y en presencia de estimulación luminosa, o por exposición continua a la luz, manifiesta un patrón característico de perturbacio

nes que sólo pueden ser revertidas por la adición de taurina a su ambiente celular. La liberación del aminoácido por la fotoestimulación puede ser parte del mecanismo a través del cual ejerce su función, quizás para restablecer las condiciones preestimulatorias del fotorreceptor.

A pesar de que el cúmulo de datos que involucran a la taurina en una multitud de procesos es amplio, en la actualidad no es posible aún definir en un esquema completo y coherente los mecanismos y niveles de su participación en ellos. El avance del conocimiento en este sentido, requiere de nuevas investigaciones que profundicen en los principios que rigen el proceso fotoexcitatorio en particular, y de otras índoles para lo general, a través del uso de técnicas interdisciplinarias, a fin de que el acervo de información sea amplio en enfoques, y permita una visión general del papel fisiológico que la taurina desempeña en la retina y en general en los tejidos en los que está presente.

REFERENCIAS

1. Tiedemann, F. y Gmelin, L. (1827). Einige neue Bestandtheile der Galle des Ochsen. Ann. Physik. Chem. 9: 326-337.
2. Valenciennes, A. y Frémy, A. (1855). Recherches sur la composition de musculé dans la serie de animaux. Compt. Redn. 41: 735-741.
3. Jacobsen, J.G. y Smith, L.L.H. (1968). Biochemistry and Physiology of taurine and taurine derivatives. Physiol. Rev. 48: 571-576.
4. Chatagner, F. y Bergeret, P. (1952). Désulfination et decarboxylation enzymatiques de l'acide L-cysteine-sulfinique: sa transformation quantitative en alanine et hipotaurine. Biochim. Biophys. Acta. 9:141-147.
5. Cavallini, D., De Marco, C., Mandovi, B. y Stirpe, F. (1954). The biological oxidation of hipotaurine. Biochim. Biophys. Acta. 15: 301-303.
6. Sumizu, K. (1962). Oxidation of hipotaurine in rat liver. Biochim. Biophys. Acta. 63: 210-212.
7. Spaeth, D.G. y Schneider, D.L. (1976). Taurine metabolisms. Effects of diet and bile salt metabolism. En: Taurine (Editores: R. Huxtable y A. Barbeau) pp. 35-44. Raven Press, New York.
8. Florkin, M. y Schoffeniels, E. (1965). Euryalinity and the concept of physiological radiation. En: Studies in comparative biochemistry (Editor: K.A. Munday) pp. 6-40. Pergamon Press, London.
9. Huxtable, R. (1976). Metabolism and function of taurine in the heart. En: Taurine (Editores: R. Huxtable y A. Barbeau) pp. 99-120. Raven Press, New York.
10. Read, W.O. y Welty, J.D. (1963). Effect of taurine on epinephrine and digoxin-induced irregularities of dog heart. J. Pharmacol. Exp. Therap. 139: 283-289.

11. Welty, J.D. y Read, W.O. (1964). Studies of some cardiac effects of taurine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 144: 110-115.
12. Dolara, P., Agrresti, A., Giotti, A. y Pasquini, G. (1973). Effect of taurine on calcium kinetics of guinea pig heart. Eur. J. Pharmacol. 24: 352-358.
13. Huxtable, R. y Bressler, R. (1974). Elevation of taurine in human congestive heart failure. Life Sci. 14: 1353-1359.
14. Baskin, S.L. y Dagirmanjian, R. (1973). Possible involvement of taurine in the genesis of human dystrophy. Nature Lond. 245-464.
15. Mandel, P. y Pasantes-Morales, H. (1978). Taurine in nervous system. En: Reviews of neuroscience, Vol. 3. (Editores: S. Ehrenpreis e I. Kopin) pp. 157-193. Raven Press. New York.
16. Curtis, D.R. y Watkins, J.C. (1960). The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids. J. Neurochem. 6: 117-141.
17. Gruener, R. y Bryant, H.J. (1975). Excitability modulation by taurine. Action on axon membrane permeabilities. J. Pharmacol. Exp. Ther. 194: 514-521.
18. Aprison, M.H. y Werman, R. (1968). A combined neurochemical and neurophysiological approach to identification of central nervous system transmitters. En: Neurosciences Research Vol. 1 (Editores: S. Ehrenpreis y O.C. Solnitzky) pp. 143-174. Academic Press, New York.
19. Hruska, R., Huxtable, R. y Yamamura, H.I. (1978). High affinity, temperature-sensitive and sodium-dependent transport of taurine in rat brain. En: Taurine and neurological disorders. (Editores: A. Barbeau y R. Huxtable) pp. 109-117. Raven Press, New York.

20. Davidson, A.N. y Kaczmarck, L.K. (1971) Taurine as a possible neurotransmitter. Nature. 234: 399-402.
21. Haas, H.L. y Hosli, L.K. (1973). The depression of brain stem neurons by taurine and its interactions with strychnine and bicuculline. Brain Res. 52: 399-402.
22. Curtis, D.R., Hosli, L.K. y Johnston, G.A.R. (1968). A pharmacological study of the depression of the spinal neurons by glycine and related amino acids. Exp. Brain. Res. 6: 1-18.
23. Curtis, D.R., Duggan, A.W., Felix, D., Johnston, G.A.R. y McLennan, H. (1971). Antagonism between bicuculline and GABA in the cat brain. Brain Res. 33: 57-73.
24. Kacsmarck, L.K. y Davidson, A.N. (1972) Uptake and release of taurine from rat brain slices. J. Neurochem. 19: 2355-2362.
25. Orrego, F., Miranda, R. y Saldade, C. (1978). Electrically induced release of labeled taurine and alanine, glycine, glutamate and other amino acids from rat neocortical slices in vitro. Neurosci. 3: 1069-1076.
26. Collins, G.G.S. y Topiwala, S.H. (1974). The release of ¹⁴C-taurine from slices of rat cerebral cortex and spinal cord evoked by electrical stimulation and high potassium concentration. Proc. B. Pharmac. Soc. 1: 451-452.
27. Clarck, R.M. y Collins, G.G.S. (1975) The release of endogenous amino acids from the mammalian visual cortex. J. Physiol. 246: 16-20.
28. Dolara, O., Marino, P. y Buffoni, F. (1973). Effect of 2-aminoethanesulfonic acid (taurine) and 2-hidroxiethane sulfonic acid (isethionic acid) on calcium transport by rat liver mitochondria. Biochem. Pharmacol. 22: 2085-2094.

29. Pasantes-Morales, H. y Gamboa, A. (1980). Effect of taurine on $^{45}\text{Ca}^{++}$ accumulation in rat brain synaptosomes. J. Neurochem. 34: 244-246.
30. Neal, M.J. (1976). Amino acid transmitter substances in the vertebrate retina. Gen. Pharmac. 7: 321-332.
31. Lam, D.M.K., Su, Y.Y.T., Chin, C.A., Brandon, C., Wu, J.Y., Marc, R.E. y Lasater, E.M. (1980). GABAergic horizontal cells in the teleost retina. Brain. Res. Bull. 5:137-140.
32. Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Ledig, M. y Mandel, P. (1972). Free amino acids of chicken and rat retina. Brain Res. 41: 494-497.
33. Pasantes-Morales, H., Bonaventure, N., Wioland, N. y Mandel, P. (1973). Effect of intravitreal injection of taurine and GABA on chicken electroretinogram. Int. J. Neurosci. 5: 235-241.
34. Voaden, M.J., Lake, N., Marshall, J. y Morjaria, B. (1977). Studies on the distribution of taurine and other neuroactive amino acids in the retina. Exp. Eye Res. 25: 249-257.
35. Orr, H.T., Cohen, A.I. y Lowry, O.H. (1976). The distribution of taurine in the vertebrate retina. J. Neurochem. 26: 609-611.
36. Brotherton, J. (1962). Levels of free amino acids in abnormal rat retina. Exp. Eye Res. 1: 246-252.
37. Salceda, R., Cárabez, A., Pacheco, P. y Pasantes-Morales, H. (1979). Taurine levels, uptake and synthesizing enzyme activities in degenerated rat retinas. Exp. Eye Res. 28: 001-010.
38. Cohen, A.I., McDaniel, M. y Orr, H.T. (1973). Absolute levels of some free amino acids in normal and biologically fractionated retinas. Invest. Ophtal. 12: 686-693.

39. Hayes, K.C., Carey, R.E. y Schmidt, S.Y. (1975). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat. Science 188: 949-951.
40. Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Urban, P.F. y Mandel, P. (1974). The effect of electrical stimulation, light and amino acids on the efflux of ³⁵S-*taurine* from the retina of the domestic fowl. Exp. Brain Res. 19: 131-141.
41. Salceda, R., LópezColomé, A.M. y Pasantes-Morales, H. (1977). Light-stimulated release of ³⁵S-*taurine* from frog retinal rod outer segments. Brain Res. 135: 186-191.
42. Johnsson, G., Malfors, T. y Sachs, C. (1975). 6-hidroxidopamine as a denervation tool in catecholamine research. North Holland Publishing Co., Amsterdam.
43. Lucas, D.R. y Newhouse, J.P. (1957). The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. A.M.A. Arch. Ophtalmol. 58: 193-204.
44. Olney, J.W.(1969). Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of acutely evolving lesion. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 28: 455-474.
45. Olney, J.W., Hoo, U.L. y Rhee, V. (1971). Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system. Exp. Brain Res. 14: 61-76.
46. Herndon, R.M. y Coyle, J. (1977). Selective destruction of neurons by a transmitter agonist. Science 198: 71-72.
47. McGeer, D.G., McGeer, P.L. y Singh, K. (1978). Kainate-induced degeneration in neostriatal neurons: Dependency upon corticostriatal tract. Brain Res. 139: 381-383.

48. Schwarcz, R y Coyle, J.T. (1977). Kainic acid: neurotoxic effect after intraocular injection. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 16: 141-148.
49. Watkins, J.C., Davies, A., Evans, R.H., Francis, A.A. y Jones, A.W. (1981). Pharmacology of receptors for excitatory amino acids. En: Glutamate as a neurotransmitter. (Editores: E. Dichia ra y G.L. Gessa) pp. 263-273. Raven Press, New York.
50. Watkins, J.C. (1978). Excitatory amino acids. En: Kainic acid as a tool in neurobiology. (Editores: E.C. McGeer, J.W. Olney y P.L. McGeer) pp. 37-69. Raven Press, New York.
51. Fricke, U. (1975). Tritosol: A new scintillation cocktail based on triton X-100. Anal. Biochem. 63: 555-558.
52. Roberts, E. y Simonsen, D.G. (1973). Some properties of L-gluta mic descarboxilase in mouse brain. Biochem. Pharmacol. 12: 113-134.
53. Gomori, G. (1974). A rapid one-steep trichrome stain. Am. J. Clin. Pathol. 20: 661-664.
54. Coyle, J.T., Biziere, K. y Schwarcz, R. (1978). Neurotoxicity of excitatory amino acids in the neural retina. En: Kainic acid as a tool in neurobiology. (Editores: E.C. McGeer, J.W. Olney y P.L. McGeer) pp. 177-188. Raven Press, New York.
55. Karlsen, R.L. y Fonum, F. (1976). The toxic effects of sodium glutamate on rat retina: Changes in putative transmitters and their corresponding enzymes. J. Neurochem. 27: 1437-1441.
56. Yasulla, S. y Kleinschmidt, J. (1980). The effects of intraocu lar injection of kainic acid on the synaptic organization of the goldfish retina. Brain Res. 182: 287-301.

57. Reif-Lehrer, L., Bergenthal, J. y Honninen, L. (1975). Effects of monosodium glutamate on chick embryo in culture. Invest. Ophthalmol. 14: 114-124.
58. Schwarcs, R., Scholz, D. y Coyle, J.T. (1978). Structure-activity of kainic acid derivatives and glutamate analogues. Neuropharmacology. 17: 145-151.
59. López-Colomé, A.M. y Pasantes-Morales, H. (1980). Taurine interactions with chick retinal membranes. J. Neurochem. 34: 1047-1052.
60. López-Colomé, A.M., Erlij, D. y Pasantes-Morales, H. (1976). Different effects of calcium flux blocking agents on light and potassium stimulated release of taurine from retina. Brain Res. 113: 527-534.
61. Pasantes-Morales, H., Salceda, R. y López-Colomé A.M. (1980). The effect of colchicine and cytochalasin-b on the release of taurine from the chick retina. J. Neurochem. 34: 172-177.
62. López-Colomé, A.M., Salceda, R. y Pasantes-Morales, H. (1978). Potassium stimulated release of taurine from retina. Neurochem. Res. 3: 431-441.
63. Hubbell, W., Fung, K.K., Hong, K. y Chen, Y.S. (1977). Molecular anatomy and light dependent processes in photoreceptor membranes. En: Vertebrate Photoreception. (Editores: H.B. Barlow y P. Fatt). pp. 41-59. Academic Press, London.
64. Rodieck, R.W. (1973). The vertebrate retina. Principles of structure and function. pp. 70-124. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
65. Yoshikami, S. y Hagiwara, W.A. (1973). Control of the dark current in vertebrate rods and cones. En: Biochemistry and physiology of visual pigments. (Editor: H. Langer) pp. 245-255. Springer-Verlag,

New York.

66. Hagins, W.A. y Yoshikami, S. (1974). A role for Ca^{++} in excitation of retinal rods and cones. Exp. Eye Res. 18: 299-305.
67. Brown, J.E. y Pinto, L.H. (1974). Ionic mechanism for the photoreceptor potential of the retina of Bufo marinus. J. Physiol. 236: 575-591.
68. Bertrand, D., Fuortes, M.G.F. y Pochobradský, J. (1978). Actions of EGTA and high calcium on the cones in the turtle retina. J. Physiol. 275: 419-437.
69. Hubbell, W.L. y Bownds, D. (1979). Visual transduction in vertebrate photoreceptor. Annu. Rev. Neurosci. 2:17-34.
70. Farber, D. y Brown, B.M. (1978). Cyclic GMP: proposed role in visual cell function. Visual Res. 18: 497-499.
71. Pasantes-Morales, Ademe, R.M. y López-Colomé, A.M. Taurine effects on calcium transport in the retina. En: Actions of taurine in excitable tissues. (Editor: S. Baskin). Spectrum Press, en prensa.
72. Pasantes-Morales, H. y Quesada, O. (1981). The role of taurine in retina: Its association with contractile processes. En: The structure of the eye. (Editor: J.G. Hollyfield) pp. 61-66. Helsevier North Holland, New York.
73. Warren, R.H. y Burnside, B. (1978). Microtubules in cone and myoide elongation in the teleost retina. J. Cell Biol. 78: 247-259.
74. Uga, S., Nakao, F., Mimur, M. y Ikui, K. (1970). Some findings on the fine structure of the human photoreceptor cell. J. Electron Microscopy. 19: 71-84.
75. Hayes, K.C., Ravin, A.R. y Bernson, E.L. (1975). An ultrastructural study on nutritionally induced and reversed retinal degeneration in cats. Am. J. Pathol. 78: 505-524.

76. Huxtable, R., Laird, H.E. y Lippincott, S. (1979). The transport of taurine in heart and the rapid depletion of tissue taurine content by guanidino ethylsulfonate. J. Pharmacol. Exp. Ther. 211: 465-471.
77. Pasantes-Morales, H., Quesada, O., Cárabez, A. y Huxtable, H. Effect of the taurine transport antagonist guanidino ethylsulfonate and -alanine, on the morphology of the rat retina. J. Neurosci. Res., en prensa.
78. Scultze, M.J. (1866). Zur anatomie und Physiologie der retina. Arch. Mikrosk. Anat. 2: 175-181.
79. McConell, D.G. (1975). Relationships of the light-induced proton uptake in bovine retinal outer segments fragments to triton induced membrane disruption and to volume changes. J. Biol. Chem. 250: 1898-1906.
80. Meyer-Shultz, F., Pote, A., Williams, G. y Virmaux, N. (1973). Action progresive d'un détergent anionique sur de segments externes de la rétine de veau soumise on non a une stimulation prealbla. Cytobiologie. 7: 393-405.
81. Sykes, S.M., Robinson, W.G., Waxler, M. y Kuwabara, T. (1981). Damage to the monkey retina by broad-spectrum fluorescent light. Invest. Ophtalmol. Vis. Sci. 20: 425-434.
82. Pasantes-Morales, H., Ademe, R.M. y Quesada, O. (1981). Protective effect of taurine on the light-induced disruption of isolated frog rod outer segments. J. Nuerosci. Res. 6: 337-348.
-