

ALTERACIONES DEL METABOLISMO EN EL DESARROLLO DE LA NEUROPATIA INDUCIDA POR ORGANOFOSFATOS (OPIDN)

Biochemical changes during the development of organophosphorus ester-induced delayed neuropathy (OPIDN) their implication in the mechanism of action)

A. Plá; A.F. Hernández y E. Villanueva.

Departamento de Medicina Legal. Servicio de Toxicología. Facultad de Medicina, Hospital Universitario.

Avda. de Madrid, s/n. 18012 Granada.

RESUMEN

En la actualidad se acepta que la lesión bioquímica inicial en la axonopatía distal inducida por ésteres organofosforados (OPIDN) consiste en la inhibición progresiva de la esterasa neurotóxica (NTE). Sin embargo, la naturaleza y la secuencia de acontecimientos que ocurren tras el proceso de iniciación (inhibición y envejecimiento de la NTE) y preceden a la expresión clínica de la degeneración axonal es todavía desconocida.

En este trabajo se revisan las diferentes hipótesis sobre el desarrollo de la OPIDN con especial atención a las alteraciones bioquímicas posiblemente implicadas en su patogénesis. Los autores aportan los resultados de su propia experiencia en cuanto a las alteraciones del metabolismo energético en cerebro y nervio ciático de gallinas tratadas con TOCP. Se destaca la importancia de ampliar los conocimientos actuales sobre la etapa de desarrollo con vistas a la aplicación clínica en el diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones por compuestos organofosforados neurotóxicos.

Palabras clave: OPIDN, compuestos organofosforados, alteraciones bioquímicas.

SUMMARY

The initial biochemical lesion in the axonopathy induced by organophosphorus esters (OPIDN) is generally believed to be progressive inhibition of neurotoxic esterase (NTE). However, the nature and sequence of events which

follow initiation (inhibition and aging of NTE) and precede clinical expression of axonal degeneration is still unknown.

In this work the different hypothesis on the development of OPIDN are revised, with special attention to biochemical changes involved in its pathogenesis. The authors report their own results about the effects on energy metabolism in brain and sciatic nerve of hens treated with TOCP. The significance of extend our knowledge of the development period of OPIDN related to clinical application is emphasized.

key Words: OPIDN, organophosphorus compounds, biochemical changes.

INTRODUCCION

Algunos compuestos organofosforados, tras una dosis única, pueden producir una polineuropatía retardada (Johnson, 1982; Abou-Donia, 1981), consistente en una degeneración axonal distal simétrica que se presenta simultáneamente en el SNP y en algunos lugares del SNC. Este efecto se conoce como "Axonopatía distal central-periférica" o sencillamente como AXONOPATIA DISTAL, y no implica la inhibición de la acetilcolinesterasa sino de otra esterasa descubierta en el SN y denominada "Esterasa Neurotóxica" o "Neuropathy Target Esterase" (NTE). Se caracteriza por un "lapso" de una a tres semanas desde el momento de la intoxicación hasta que aparecen las manifestaciones clínicas.

La neuropatía retardada inducida por organofosfatos (OPIDN) ha sido objeto de gran atención principalmente debido a la importancia comercial y al intensivo uso de estos productos. Su utilización como insecticidas, aditivos del petróleo y modificadores de plásticos, plantea problemas toxicológicos de interés desde la perspectiva de la contaminación ambiental y la posibilidad de accidentes tóxicos en el manejo de estos productos. Otro aspecto importante en la problemática planteada por estos compuestos es el hecho de que la acción neurotóxica pueda producirse por una dosis única de algunos organofosfatos.

De acuerdo con Johnson (1982) el proceso de la OPIDN puede dividirse en tres fases:

- 1) Fase de iniciación.
- 2) Fase de desarrollo.
- 3) Fase de expresión.

En esencia, la OPIDN es iniciada por la fosforilación de una proteína en el SN (NTE). Se necesita además un segundo paso conocido como "envejecimiento" para que aparezca el efecto tóxico. El envejecimiento es normalmente una reacción rápida que implica la pérdida de un grupo ligado al átomo de fósforo, dejando un grupo fosforilo cargado negativamente unido a la proteína (NTE).

Los compuestos que envejecen son los que pueden desencadenar el proceso de la OPIDN, siempre que se alcance un cierto umbral en la inhibición de la NTE cerebral "in vivo". En animales de experimentación se ha visto que en cerebro, médula y nervios periféricos dicha inhibición debe llegar al 70-80% para que se manifieste la acción neurotóxica. En tal caso se puede predecir la aparición de síntomas clínicos aproximadamente 2 semanas después.

Al proceso de *iniciación*, mediado por la NTE sigue una segunda etapa de *desarrollo* formada por una serie de acontecimientos a nivel celular y molecular con una extensión aproximada de una semana y de la que no se tiene conocimiento alguno. Probablemente en este período se gestan los posibles cambios metabólicos responsables de las alteraciones observadas posteriormente.

Finalmente, la tercera etapa de la OPIDN está representada por la *expresión* de las manifestaciones clínicas y se caracteriza por la degeneración de ciertos axones largos, que conlleva cambios motores y sensoriales en el sistema nervioso.

HIPOTESIS SOBRE EL DESARROLLO DE LA OPIDN

Como se ha indicado anteriormente, la secuencia de acontecimientos que tiene lugar desde la iniciación (inhibición de la NTE y envejecimiento) hasta la aparición de los signos clínicos de la OPIDN no se conoce en la actualidad. Johnson (1975, 1982) ha sugerido que tras la "iniciación" la carga negativa del enzima fosforilado y envejecido interaccionaría con un hipotético componente de membrana que tendría como consecuencia inmediata la interrupción de ciertos mecanismos fisiológicos de control con implicación de proteinquinasas y fosfatasas. En esta misma línea se desarrolla la hipótesis de Zech y Chemnitius (1987) concediendo un importante papel a las proteinquinasas del sistema nervioso.

La implicación del sistema proteinquinaasa en la OPIDN está apoyada por los efectos del soman sobre la actividad adenilciclase aislada de sinaptosomas (Sevaljevic et al., 1984) y las alteraciones en los niveles de fosfoproteínas sinaptosomales (O'Callaghany y Miller, 1984; Lapadula et al., 1985).

Por su parte, Abou-Donia (1981) propone que las proteínas diana (enzimáticas o estructurales) en los axones tienen funciones relacionadas con la producción de energía y su utilización para el mantenimiento del transporte axonal. De esta forma, la fosforilación de la NTE provocaría una alteración del transporte axonal que en definitiva sería la responsable de las alteraciones posteriores.

El retraso en la aparición del daño es consistente con la hipótesis de que se produce una lesión bioquímica en ciertas neuronas, sin una pérdida inmediata de actividad. Posiblemente se desarrolla una deficiencia dentro de

la neurona y es ésta la responsable, en último término, del fallo funcional y el daño estructural. Pero lo cierto es que en la actualidad no hay evidencias de una alteración metabólica definida consecutiva a la inhibición de la NTE.

ESTUDIOS BIOQUIMICOS EN LA ETAPA DE DESARROLLO DE LA OPIDN

Cuando se identificó la proteína diana como una esterasa con una determinada especificidad frente al sustrato fenil fenilacetato (PPA), las esperanzas se centraron en descubrir una ruta metabólica neuronal en la que estarían implicadas sustancias estructuralmente relacionadas con el PPA. De esta forma, la interrupción de dicha ruta metabólica por inhibición de la esterasa neurotóxica (NTE) provocaría una acumulación o una desviación de algunos intermediarios metabólicos y, consecuentemente, una deficiencia del producto final. Esto sería la causa del daño neuronal producido por los compuestos neurotóxicos.

Sin embargo, el descubrimiento de los agentes “protectores” capaces de inhibir la NTE sin producir neuropatía descartó la posible implicación del metabolismo de los compuestos tipo fenil fenilacetato. Desde entonces, se han hecho numerosos intentos para detectar cambios bioquímicos en la etapa de desarrollo de la OPIDN, que permitan esclarecer los acontecimientos que siguen a la inhibición y envejecimiento de la NTE, si bien los resultados obtenidos son hasta ahora poco alentadores.

A continuación, pasamos a reseñar los estudios realizados y los resultados más interesantes en relación a la patogénesis de la OPIDN.

1. Efectos sobre lípidos

Desde los primeros momentos, los lípidos han sido el centro de atención en los estudios bioquímicos de la OPIDN. Los resultados, en general, no son claros y como critica Johnson (1975) los trabajos sobre lípidos son difíciles de evaluar por la falta de información sobre los detalles experimentales así como por las técnicas utilizadas para su análisis.

La observación más interesante sobre el metabolismo lipídico es, sin duda, la hecha por Sheltway y Dawson (1969). Estos autores demostraron un incremento del 25% en la tasa de incorporación de P^{32} en el trifosfoinosítido de nervio ciático de gallinas tratadas con TOCP. No se detectaron cambios en ningún otro lípido y este efecto tampoco se encontró en el cerebro. Los polifosfoinosítidos son lípidos de membrana a los que actualmente se les atribuye un papel como segundos mensajeros celulares, participando activamente en numerosos procesos fisiológicos (Abdel-Latif, 1983). La posible implicación de estos lípidos en el desarrollo de la OPIDN sugerida por Sheltway y Dawson (1969) requiere, como sugiere Johnson (1975), confirmación con las

últimas técnicas disponibles en la actualidad, dada la dificultad metodológica de la extracción y análisis de dichos lípidos.

En cuanto al contenido lipídico también es digna de mención la observación hecha por Morazain y Rosenberg (1970) sobre la composición lipídica de nervios en especies susceptibles y no susceptibles, encontrando que diferencias semejantes aparecían entre nervio ciático que degeneraba tras la intoxicación por TOCP y el cerebro y nervio esplénico que no se afectaban. Estos autores aportan datos que muestran cómo en especies susceptibles la razón esfingomielina/fosfatidilcolina es mucho mayor que 1 mientras que en especies resistentes, como la rata, dicha razón es inferior a 1.

2. Estudios sobre proteínas

Los datos más interesantes en este apartado se refieren a la fosforilación de proteínas.

Aunque la fosforilación de proteínas ha sido reconocida durante muchos años como un mecanismo regulador del sistema nervioso, sólo muy recientemente se ha investigado su implicación en los mecanismos de neurotoxicidad.

La mayoría de los estudios sobre fosforilación de proteínas se deben al grupo dirigido por Abou-Donia y se han efectuado en los últimos 6 años. Hay que tener en cuenta no obstante, que muchos de esos trabajos son estudios *in vitro*, y que pueden no ser un fiel reflejo de lo que ocurre *in vivo*.

En animales tratados con TOCP, la fosforilación de proteínas aumenta 21 días después de la intoxicación (Abou-Donia et al., 1984; Patton et al., 1983, 1985 a, b, c y 1986). Los autores sugieren que esto se debe a la alteración de una proteinkinasa, basándose en que el tratamiento con TOCP no altera la actividad fosfatasa ni la cantidad de proteína y en que el TOCP aumenta la fosforilación de una gran variedad de sustratos proteicos. Además los resultados hallados por Patton et al. (1986) muestran una buena correlación entre el aumento de la fosforilación de proteínas y varias características de la OPIDN como la naturaleza del agente químico, la dependencia de la dosis y el tiempo, la edad y el sexo del animal así como la susceptibilidad de las diferentes especies.

En cualquier caso, la alteración descrita es bastante tardía (21 días tras la intoxicación) y en principio no sería una alteración bioquímica primaria implicada en el proceso patogénico conducente a la neuropatía. En ese momento, los signos clínicos de ataxia y parálisis son ya evidentes y es difícil establecer la relación del efecto observado con la lesión primaria en la OPIDN. Como señalan Abou-Donia et al. (1988), una alteración de la fosforilación de proteínas puede ser un efecto lateral o bien una consecuencia primaria o secundaria de la lesión producida.

TABLA I
ENZIMAS ESTUDIADOS EN LA OPIDN

Enzima	Efecto	Estudio	Tóxico	Referencia
Lipasa	0	In vitro	No especificado	Adams, 1965
Fosfolipasa				
Fosfocolina hidrolasa	+	In vitro	No especificado	Porcellati, 1966b
Fosfoetanolamina hidrolasa				
Proteasa neutra	+	In vivo	DFP - TOCP	Porcellati, 1961
Proteasa neutra	-	In vitro	Varios	Clouet y Waelsh, 1963
Fosfatasa ácida	+	In vivo	Leptofos - TOCP	Abou-Donia, 1978a,b.
MAP-proteasa	+	In vitro	Varios	Seifert y Casida, 1982.
Fosfatasa ácida	+	In vivo	TOCP	Glees, 1966
CNP	+	In vivo	DEF	Abou-Donia et al, 1985
CNP	-	In vivo	DFP-Leptofos-TOCP	Olajos et al, 1982
Colina acetil transferasa	+	In vitro	DFP	Goldberg et al, 1980
Adenil ciclasa	+/-	In vitro	Soman	Selvajevic et al, 1984
Proteínquinasa	+/-	In vitro	TOCP	Patton et al, 1986
Proteínfosfatasa	0	In vitro	TOCP	

0: Sin efecto.

+: Aumento de la actividad

-: Disminución de la actividad.

+/-: Alteración sin especificar.

CNP: 2',3'-nucleótido cíclico 3': fosfohidrolasa.

MAP-proteasa: Proteasa de proteínas accesorias de microtúbulos.

3. Actividades enzimáticas

Aunque son muchos los enzimas estudiados en la OPIDN los resultados son poco concluyentes en cuanto a la relación con el mecanismo de acción. En la Tabla I se incluye una relación de los enzimas afectados por los compuestos organofosforados neurotóxicos.

4. Efectos sobre el metabolismo energético

Un hecho que sorprende mucho a la hora de recopilar información de los estudios realizados sobre la fase de desarrollo es la inexistencia de trabajos sobre el metabolismo energético, siendo éste uno de los aspectos más abordados en otras neuropatías tóxicas en las que se ha llegado a encontrar una clara implicación de dicho proceso metabólico en su patogénesis.

El tejido nervioso es particularmente dependiente de glucosa como fuente de ATP (Hawkins y Mans, 1983) y se sabe también que el transporte axonal depende, a su vez, del ATP generado en la glucólisis (Sabri y Ochs, 1972). Se ha visto que el transporte axoplásmico en nervio ciático de gato es bloqueado *in vitro* por el ácido yodoacético (Ochs y Smith, 1971), un conocido inhibidor de la glucólisis. Esta alteración del transporte ocurre gradualmente requiriendo un intervalo de 1.5 - 2 horas para su plena manifestación. Este bloqueo retardado se atribuye a una inhibición irreversible y específica de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, enzima de la glucólisis y con un papel esencial en el mantenimiento del sistema de transporte (Sabri y Ochs, 1971). El bloqueo se acompaña de un marcado descenso en los niveles de ATP y fosfocreatina (Sabri y Ochs, 1972), lo que corrobora que el transporte es un proceso dependiente de energía.

Estos hechos condujeron a Sabri y colaboradores a estudiar la glucólisis como una posible ruta metabólica común que podía ser afectada por ciertas sustancias capaces de producir axonopatía distal. En la Tabla II se resumen los principales efectos de algunas neurotoxinas sobre enzimas implicados en la energética celular.

Estos resultados revelan la existencia de varios lugares en las rutas metabólicas para la obtención de energía que, al menos, *in vitro*, pueden ser afectadas por algunas neurotoxinas. Estas sustancias afectarían la glucólisis originando así la degeneración axonal por un mecanismo común, "disminución del aporte de energía química en la fibra nerviosa". (Sabri y Spencer, 1980).

Todo ello, junto al hecho de que en la OPIDN la etapa comprendida entre la inhibición de la NTE y la aparición de los signos clínicos es prácticamente desconocida y su posible relación con una alteración en el suministro energético a los axones, nos llevó a considerar el estudio de la vía glucolítica en cerebro

TABLA II
EFFECTOS DE COMPUESTOS NEUROTOXICOS SOBRE DIVERSOS ENZIMAS IMPLICADOS EN EL METABOLISMO ENERGETICO

TOXICO	GAPDH	PFK	NSE	SDH	MR	GPDH	LDH
2,5-Hexadiona	+	+	-	-	?I	+	-
Metil n-butiril cetona	+	+					-
Acilamida	+	+	+		-	+	-
Sulfuro de carbono	+	+		+	U		-

GAPDH: Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. PFK: fosfofructoquinasa. NSE: enolasa específica del sistema nervioso. SDH: succinato deshidrogenasa. MR: respiración mitocondrial. GPDH: glicerolfosfato deshidrogenasa. LDH: láctico deshidrogenasa.
 (+): inhibición. (-): no inhibición. (I): inhibición. (U): desacoplamiento.
 Tomado de Sabri y Spencer (1980).

y nervio ciático de gallinas tras la intoxicación con compuestos organofosforados capaces de producir una polineuropatía retardada.

En el estudio *in vitro* ensayamos varios compuestos organofosforados frente a enzimas glucolíticas (Hernández et al., 1988). Los compuestos neurotóxicos (mipafox, metamidofos, cresil saligenin fosfato) se ensayaron a concentraciones hasta 10 veces la concentración requerida para producir una inhibición de la NTE del 50% y no se detectó inhibición de los enzimas hexoquinasa (HK), fosfofructoquinasa (PFK), gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y láctico deshidrogenasa (LDH). Estos resultados contrastan con la inhibición de la glucólisis por otros compuestos neurotóxicos (ver Tabla II) y están en contra de la hipótesis común sugerida por Sabri y Spencer (1980) para las axonopatías distales.

Hemos realizado también un estudio *in vivo*, con gallinas tratadas con TOCP (500 mg/kg y 750 mg/kg) determinando las actividades enzimáticas anteriormente citadas en cerebro y nervio ciático, a los días 1, 3, 7 y 15 tras la administración del compuesto neurotóxico. Ninguna de las actividades enzimáticas mostró alteraciones en cerebro. Sin embargo como se muestra en la Tabla III, la PFK mostró un descenso estadísticamente significativo en nervio ciático a los 15 días tras la intoxicación con TOCP.

El efecto observado fue más intenso cuando las gallinas se trataron con 750 mg/kg.

De nuestros resultados se desprende el hecho de que la disminución de la actividad PFK no es un efecto directo sobre la molécula enzimática, al comparar el comportamiento de la NTE y PFK (Tabla III). La relación de este hallazgo con una afectación del transporte (Moretto et al., 1987) no está clara, ya que un bloqueo del transporte afectaría, en principio, a otros enzimas glucolíticos que se sabe son transportados por un mismo mecanismo. La razón de la selectividad podría estar relacionada con el complejo mecanismo de regulación propuesto para la PFK (Soling y Brand, 1981; Evans et al., 1981).

Resultados preliminares realizados utilizando un protector (Fenilmetano-sulfonil fluoruro, PMSF) sólo y en diferentes combinaciones con el TOCP sugieren que la alteración encontrada podría estar relacionada con el envejecimiento de la NTE en la fase de iniciación.

La interpretación de nuestros resultados en cuanto a su implicación en el mecanismo de acción de la OPIDN no es fácil con los datos disponibles hasta el momento, planteando algunos interrogantes que en parte están siendo estudiados en la actualidad.

La primera cuestión que se plantea es si se trata de una alteración bioquímica primaria o secundaria del proceso tóxico. Al analizar esta cuestión surgen otras como:

- ¿Es un efecto exclusivo del TOCP o será también producido por otros organofosforados neurotóxicos?

TABLA III
ACTIVIDADES ENZIMATICAS EN NERVIOS CIATICOS DE GALLINAS
DESPUES DEL TRATAMIENTO CON TOCP (500 MG/KG)

ENZIMA	Días después del tratamiento				
	Control	1	3	7	15
HK-total	5.53 ± 0.29	4.97 ± 0.85	5.10 ± 0.87	5.47 ± 0.47	5.67 ± 0.71
HK-soluble	5.10 ± 0.30	4.43 ± 0.41	4.58 ± 0.64	5.60 ± 0.68	5.33 ± 0.34
PFK ^a	0.172 ± 0.021	0.178 ± 0.004	0.157 ± 0.021	0.176 ± 0.030	0.100 ± 0.047 ^{**}
GAPDH	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.08	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.03
LDH	0.63 ± 0.11	0.68 ± 0.04	0.68 ± 0.01	0.67 ± 0.06	0.69 ± 0.03

Las actividades enzimáticas se han expresado de la siguiente forma: HK y PFK (mU/mg proteína), GAPDH y LDH (U/mg proteína). Cada valor representa la media ± S.D. de 3 animales.

^aDatos de 3 experimentos independientes con 3 animales cada uno.

** p<0.01

- ¿Aparece este efecto en las neuropatías producidas por otros compuestos neurotóxicos (acrilamida, hexacarbonos, etc.)?

- ¿A qué se debe la selectividad por la PFK entre los enzimas estudiados?

En cuanto a si esta alteración bioquímica es relevante o no para las consecuencias tóxicas, su aparición tardía parece indicar que no es relevante, aunque nosotros pensamos que dicha alteración, si no es "primaria inmediata" podría ser una manifestación indirecta de un hecho anterior no identificado aún. Insistimos en que son pocos los datos disponibles para interpretar correctamente este hallazgo. Quedan, pues, por confirmar muchos puntos además de las cuestiones planteadas en cuanto a la relación del descenso de la actividad PFK con algún acontecimiento inmediatamente posterior a la iniciación (p. eje.: fosforilación de proteínas, afectación del transporte axonal) así como el hecho de que la disminución de la actividad PFK sea debida a una inhibición enzimática o a una disminución de la cantidad de enzima catalíticamente activa.

En conclusión, el descenso de la actividad PFK podría tener consecuencias importantes con una reducción en la energía disponible en las neuronas, pero queda por establecer la relación causal entre esa disminución de actividad y la patogénesis de la OPIDN.

5. Efectos sobre el transporte axonal

La afectación del transporte axonal estaría implicada en el desarrollo de la OPIDN según Abou-Donia (1981). Sin embargo, como él mismo reconoce, los resultados obtenidos con organofosfatos neurotóxicos han sido conflictivos. Recientemente, se han publicado dos trabajos que apuntan la posibilidad de una alteración del transporte. Padilla et al. (1983) encuentran una inhibición del transporte axonal lento en nervio ciático de gallina. Por su parte, Moretto et al. (1987) ha encontrado una inhibición del transporte axonal retrógrado en gallinas tratadas con di-n-butyl-2,2-diclorovinilfosfato (DBDCVP) en fibras sensitivas y motoras. El máximo efecto (reducción del 70%) aparecía a los 7 días tras la administración del tóxico, antes de la degeneración axonal y el comienzo de los síntomas clínicos de la neuropatía.

La utilización de controles adecuados permite a los autores concluir que el déficit en el transporte retrógrado está relacionado con la patogénesis de la OPIDN, y más importante aún, con el proceso de iniciación, siendo el único dato de interés descrito hasta el momento sobre una alteración precoz en la etapa de desarrollo y con posibles implicaciones en la patogénesis de la OPIDN.

6. Otros efectos

Kimmerle y Loeser (1974) encontraron una relación entre neurotoxicidad y niveles de cobre libre y ceruloplasmina en suero de gallinas en los primeros

días tras la intoxicación con TOCP y otros ésteres fosfóricos neurotóxicos. El hecho de que la administración crónica del quelante dietilditiocarbamato sódico produce en gallinas lesiones semejantes a las del TOCP (Howell y Edington, 1968) sugiere la posible implicación del cobre en la neuropatía. Sin embargo, Malone (1964) demostró que el déficit de cobre no modifica la susceptibilidad de la oveja a los efectos neurotóxicos del haloxón. Se ha sugerido que los cambios en los niveles de cobre interferirían ciertas actividades enzimáticas.

Recientes estudios han mostrado que DFP y TOCP son capaces de afectar a ciertos receptores de neurotransmisores (Alí et al., 1984).

Existe un trabajo (Freed et al., 1976) que indica la disminución de los niveles de dopamina en el cuerpo estriado de ratas atáxicas (detalles mal definidos) tras la administración de 35 dosis diarias de mipafox.

Se han realizado algunos intentos para implicar las alteraciones inmunológicas en el desarrollo de la OPIDN (Foil et al., 1980; Watanabe y Sharma, 1977), si bien los resultados fueron desalentadores. No obstante, aquellos detectaron alteraciones en algunos aspectos de la inmunidad celular en gallinas paralizadas tras el tratamiento con TOCP.

CONCLUSION

A la vista de los hechos considerados en los apartados anteriores, y de acuerdo con otros autores, consideramos que sigue vigente la necesidad de elucidar la secuencia de acontecimientos entre la fosforilación de la NTE y la degeneración axonal.

La importancia de ampliar nuestros acontecimientos sobre la etapa de desarrollo (la menos conocida de la OPIDN) es múltiple. El descubrimiento de las bases metabólicas de la axonopatía distal puede proporcionar las claves para el desarrollo de una terapéutica adecuada en tales situaciones. Puede también ayudar a esclarecer las lesiones metabólicas asociadas a neuropatías espontáneas y genéticas del tipo de las axonopatías distales. Además la identificación de las moléculas específicas necesarias para el mantenimiento de la integridad axonal y que son vulnerables a las neurotoxinas puede proporcionar un medio diagnóstico para el screening de la capacidad neurotóxica de gran número de sustancias químicas (esta es una de las aplicaciones de la NTE) así como predecir en clínica la aparición de una axonopatía tras una intoxicación aguda con un compuesto neurotóxico.

Si a todo ello unimos la importancia de los compuestos organofosforados, por su uso a gran escala como insecticidas y su papel como contaminantes ambientales, el tema se encuadra dentro de una línea del máximo interés desde el punto de vista toxicológico y sanitario.

Sólo un conocimiento exacto del mecanismo bioquímico responsable de las alteraciones observadas en la intoxicación por los distintos agentes

neuropáticos permitirá adoptar las medidas oportunas que garanticen la utilización de estos productos con el mínimo riesgo tóxico y aplicar el tratamiento específico en caso de producirse la intoxicación.

BIBLIOGRAFIA

1. ABDEL-LATIF, A.A.: Metabolism of phosphoinositides, en *Handbook of neurochemistry*. Lajtha, A. ed. Ed. Plenum Press. New York, 91-131, 1983.
2. ABOU-DONIA, M.B.: The role of acid phosphatase in delayed neurotoxicity induced by leptophos in hens. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 2055-2058, 1978 a.
3. ABOU-DONIA, M.B.: Increased acid phosphatase activity in hens following an oral dose of leptophos. *Toxicol. Lett.* 2: 199-203, 1978 b.
4. ABOU-DONIA, M.B.: Organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21: 511-548, 1981.
5. ABOU-DONIA, M.B.; PATTON, S.E. y LAPADULA, D.M.: Possible role of endogeneous protein phosphorylation in organophosphorus compounds-induced delayed neurotoxicity, en *Cellular and Molecular Neurotoxicity*. Narahasi T, ed. Ed. Raven Press. New York, 265-283, 1984.
6. ABOU-DONIA, M.B.; ABDO, M.K.; TIMMONS, P.P.; PROCTOR, J.E.: Brain acetylcholinesterase, acid phosphatase and 2', 3' cyclic nucleotide-3'-phosphohydrolase and plasma butyryl-cholinesterase activities in hens treated with a single dermal neurotoxic dose of S,S,S,-tri-n-butyl phosphoro-trithioate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 82: 461-473, 1985.
7. ABOU-DONIA, M.B.; LAPADULA, D.M. y CARRINGTON, C.D.: Biochemical Methods for Assessment of Neurotoxicity, en *Perspectives in Basic and Applied Toxicology*. Ballantyne, B. ed. Ed. Wright. London, 1-30, 1988.
8. ADAMS, C.W.M.: *Neurohistochemistry*, Ed. Elsevier. Amsterdam, 1965.
9. ALI, S.F.; ABOU-DONIA, M.B. y BONDY, S.C.: Modulation of avian muscarinic high affinity binding sites by a neurotoxic organophosphate. *Neurochem. Patol.* 2: 267-275, 1984.
10. CLOUET, D.H. y WAELSCH, H.: Amino acid protein metabolism of the brain. IX. The effect of an organophosphorus inhibitor on the incorporation of ¹⁴C-Lysine into the proteins of rat brain. *J. Neurochem.* 10: 51-63, 1963.
11. EVANS, P.R.; FARRANTS, G.W. y HUDSON, P.J.: Phosphofructokinase: structure and control. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 293: 53-62, 1981.
12. FOIL, L.D.; CHAMBERS, H.W.; STINSON, R.S. y GLICK, B.: Immunological aspects of tri-o-tolyl phosphate-induced neurotoxicity in chickens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56: 259-264, 1980.
13. FREED, V.H.; MARTIN, M.A; FANG, S.C. y KAR, P.P.: Role of striatal dopamine in delayed neurotoxic effects of organophosphorus compounds. *Eur. J. Pharmacol.* 35: 229-232, 1976.
14. GLEES, P.: A morphological and neurological analysis of neurotoxicity illustrated by tricresylphosphate intoxication in the chick. VIII. Neurotoxicity of drugs. *Proc. Eur. Soc. Study Toxicity*, 136-148, 1966.
15. GOLDBERG, A.M.; BROOKES, N. y BURT, D.R.: The use of spinal cord cell cultures in the study of neurotoxicological agents, en *Abstr. Int. Workshop on the application of tissue culture in toxicology*. Hooisma, J. ed. Ed. Soesterberg. Netherlands 71, 1980.
16. HAWKINS, R.A. y MANS, A.M.: Intermediary metabolism of carbohydrates and other fuels, en *Handbook of Neurochemistry*. 2ª Edición, vol. 3. Lajtha, A. ed. Ed. Plenum. New York, 259-294, 1983.
17. HOWELL, J.Mc.C. y EDINGTON, N.: The neurotoxicity of sodium diethyldithiocarbamate in the hen. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 27: 464-472, 1968.
18. JOHNSON, M.K.: The target for initiation of delayed neurotoxicity by organophosphate esters: biochemical studies and toxicological applications. *Rev. in Biochem. Toxicol.* 4: 141-212, 1982.
19. JOHNSON, M.K.: The delayed neuropathy caused by some organophosphorus esters: mechanism and challenge. *Crit. Rev. Toxicol.* 3: 289-316, 1975.
20. KIMMERLE, G. y LOESER, E.: Delayed neurotoxicity of organophosphorus compounds and cooper concentration in the serum of hens. *Environ. Qual. Saf.* 3: 173-178, 1974.

21. LAPADULA, D.M.; PATTON, S.E. y ABOU-DONIA, M.B.: The relationship of tri-o-cresyl phosphate-induced delayed neurotoxicity to increased in vitro phosphorylation on hen brain and spinal cord proteins. *Fed. Proceed.* **44**: 609, 1985.
22. MALONE, J.C.: Toxicity of haloxon. *Res. Vet. Sci.* **5**: 17-22, 1964.
23. MORAZAIN, R. y ROSENBERG, P.: Lipid changes in tri-o-cresyl phosphate induced neuropathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **16**: 461-474, 1970.
24. MORETTO, A.; LOTTI, M.; SABRI, M.I. y SPENCER, P.S.: Progressive deficit of retrograde axonal transport is associated with pathogenesis of di-n-butyl-Dichlorvos axonopathy. *J. Neurochem.* **49**: 1515-1522, 1987.
25. O'CALLAGHAN, J.P. y MILLER, D.B.: Neuron-specific phosphoproteins as biochemical indicator of neurotoxicity effects of trimethyl-tin to the adult rat. *J. Pharmac. Exp. Ther.* **231**: 736-743, 1984.
26. OCHS, S. y SMITH, C.: Fast axoplasmic transport in mammalian nerve in vitro after block of glycolysis with iodoacetic acid. *J. Neurochem.* **18**: 833-843, 1971.
27. OLAJOS, E.J.; SHOPP, G. y ROSENBLUM, I.: Effect of Acute Organophosphorus exposure on 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase activity in hen neural tissue. *Neurotoxicology*, **3**: 146-150, 1982.
28. PADILLA, S.S.; LAPADULA, D.M. y REITER, L.W.: Alteration of slow axonal transport in hens treated with tri-o-cresyl-phosphate (TOCP). *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exper. Biol.* **42**: 870, 1983.
29. PATTON, S.E.; O'CALLAGHAN, J.P.; MILLER, D.B.; LAPADULA, D.M. y ABOU-DONIA, M.B.: Effect of oral administration of tri-o-cresyl phosphate on in vitro phosphorylation of membrane and cytosolic proteins from chicken brain. *J. Neurochem.* **41**: 897-901, 1983.
30. PATTON, S.E.; LAPADULA, D.M. y ABOU-DONIA, M.B.: Partial characterization of endogenous phosphorylation conditions for hen brain cytosolic and membrane proteins. *Brain Res.* **328**: 1-14, 1985 a.
31. PATTON, S.E.; LAPADULA, D.M. y ABOU-DONIA, M.B.: Comparison of endogenous phosphorylation of hen and rat spinal cord proteins and partial characterization of optimal phosphorylation conditions for hen spinal cord. *Neurochem. Intl.* **7**: 111-123, 1985 b.
32. PATTON, S.E.; LAPADULA, D.M.; O'CALLAGHAN, J.P.; MILLER, D.B. y ABOU-DONIA, M.B.: Changes in vitro brain and spinal cord proteins phosphorylation after a single oral administration of TOCP to hens. *J. Neurochem.* **45**: 1567-1577, 1985 c.
33. PATTON, S.E.; LAPADULA, D.M. y ABOU-DONIA, M.B.: Relationship of tri-o-cresyl phosphate induced delayed neurotoxicity to enhancement of in vitro phosphorylation of hen brain and spinal cord proteins. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **239**: 597-605, 1986.
34. PORCELLATI, G.: Proteinase activity of nervous tissues during experimental demyelination. *Proc. VIIIth Intern. Congr. Neurol.* 815-822, 1961.
35. PORCELLATI, G.: *Convegno Internazionale di studi sulla sclerosi multipla*. Cazzullo, C.L. ed. Ed. Gallarate: La Tipografica Varese, 195-206, 1966.
36. SABRI, M.I. y SPENCER, P.S.: Toxic distal axonopathy: biochemical studies and hypothetical mechanism, en *Experimental and Clinical Neurotoxicology*. Spencer P.S. y Schaumburg H.H. ed. Ed. Williams and Wilkins. Baltimore-London, 206-219, 1980.
37. SABRI, M.I. y OCHS, S.: Inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in mammalian nerve by iodoacetic acid. *J. Neurochem.* **18**: 1509-1514, 1971.
38. SABRI, M.I. y OCHS, S.: Relation of ATP and creatine phosphate to fast axoplasmic transport in mammalian nerve. *J. Neurochem.* **19**: 2821-2828, 1972.
39. SEIFERT, J. y CASIDA, J.E.: Possible role of microtubules and associated proteases in organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* **31**: 2065-2070, 1982.
40. SEVALJEVIC, C.; KRTOLICA, K. y BOSKOVIC, B.: The effect of soman poisoning on phosphorylating capability and adenylate cyclase activity of isolated synaptosomal membranes. *Biochem. Pharmacol.* **33**: 3714-3716, 1984.
41. SHELTHWAY, A. y DAWSON, R.M.C.: The metabolism of polyphosphoinositides in hen brain and sciatic nerve. *Biochem. J.* **111**: 157-165, 1969.
42. SOLING, H.D. y BRAND, I.A.: Covalent modification of phosphofructokinase by phosphorylation-dephosphorylation, en *Current Topics in Cellular Regulation*. Horecker, B.L. y Stadtman, E.R. eds., vol. 20, Academic Press, New York, 107-138, 1981.

MECANISMOS MOLECULARES DE ACCION TOXICO

43. WATANABE, P.G. y SHARMA, R.P.: Tri-o-tolyl phosphate neurotoxicity: lack of evidence for autoimmunologic involvement. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 6: 233-240, 1977.
44. ZECH, R. y CHEMNITIUS, J.M.: Neurotoxicant sensitive esterase. Enzymology and pathophysiology of organophosphorus ester-induced delayed neuropathy. *Progress Neurobiol.* 29: 193-218, 1987.

RECIBIDO 17 DE FEBRERO DE 1989; ACEPTADO 8 DE MAYO DE 1989.